

非营养性饲料添加剂在 家禽饲料中的应用

单安山

东北农业大学



中国饲料业历程

- 中国饲料业改革开放后年平均发展速度保持在**20%**以上。
- 已完成了从手工作坊式的生产到世界第二大饲料生产国的飞越。成为我国重要的支柱产业之一，带动了种植业、养殖业的发展。
- 动物营养学研究领域也从单纯的营养性物质扩展到非营养性物质等其它相关领域。

中国畜牧业与饲料业数量增长

年份	畜牧业占农业 总产值 (%)	商品饲料产量 (万吨)
1978	13	<100
2005	34 (发达国家, 60-80)	10000 (世界第二)
2010 (规划)	50	13000

中国畜牧业生产水平与国际水平比较表

单位		中国	世界	美国
肉类总产量	千吨	55141	215537	35738
蛋类总产量	千吨	22195	52995	4724
奶类总产量	千吨	11063	547893	71260
肉人均占有量	千克	44.0	36.4	130.9
蛋人均占有量	千克	17.7	8.9	17.3
奶人均占有量	千克	8.8	9.2	261.0

严峻挑战

- 原料资源短缺
- 生产效率低下
- 人畜安全隐患
- 生态环境污染
- 畜产品品质下降

畜产品主要污染源

有害有毒物质残留污染畜产品：
有机农药、重金属等

药物残留：兽药、抗生素、兴奋剂等

病毒、细菌、寄生虫污染畜产品

动物性饲料原料

转基因饲料原料的潜在安全隐患

警钟常鸣

- **2005.11.13** 吉林市化工厂爆炸致松花江水污染
- **2004-2006** 禽流感
- **2002** 英国、日本等**30**多个国家报道发生的“军团菌病”（**LIGIONNAIRRE'S DISEASE**）
- **2001** 中国浙江“瘦肉精”事件，**60**多人住进医院
- **1999** 比利时发生“二恶英”（**DIOXIN**）事件，使饲料、畜产品大面积污染，波及西欧多个国家，损失超过百亿欧元
- **1987-1999** 流行于英国，发现于**30**多个国家的“疯牛病”（**MAD COW DISEASE**），造成巨大的经济损失和社会恐慌
- **1970-** 饲料用抗生素安全问题

解决问题的途径

- ✓ 为了开发饲料资源，提高饲料养分利用率，消除抗营养因子的不良影响，减少动物废物排泄对环境的污染，在家禽饲料中添加酶制剂
- ✓ 为了开发抗生素的替代品，生产绿色安全的畜禽产品，杜绝药物残留，消灭传染病，保持动物生态平衡，维持较高的生产水平，营养学家把寡聚糖、中草药与抗菌肽等非营养性添加剂引入饲料业

四个部分

酶制剂在家禽日粮中的应用

饲用寡聚糖的作用与应用

中草药营养调控作用

抗菌肽的生物学作用

第一部分

酶制剂在家禽日粮中的应用

- 1 家禽日粮中添加酶制剂的原因
- 2 酶制剂的作用机制
- 3 家禽日粮中酶制剂的分类
- 4 酶制剂的使用方式
- 5 酶制剂在家禽日粮中的应用效果
- 6 影响酶制剂添加效果的因素

1 家禽日粮中添加酶制剂的原因

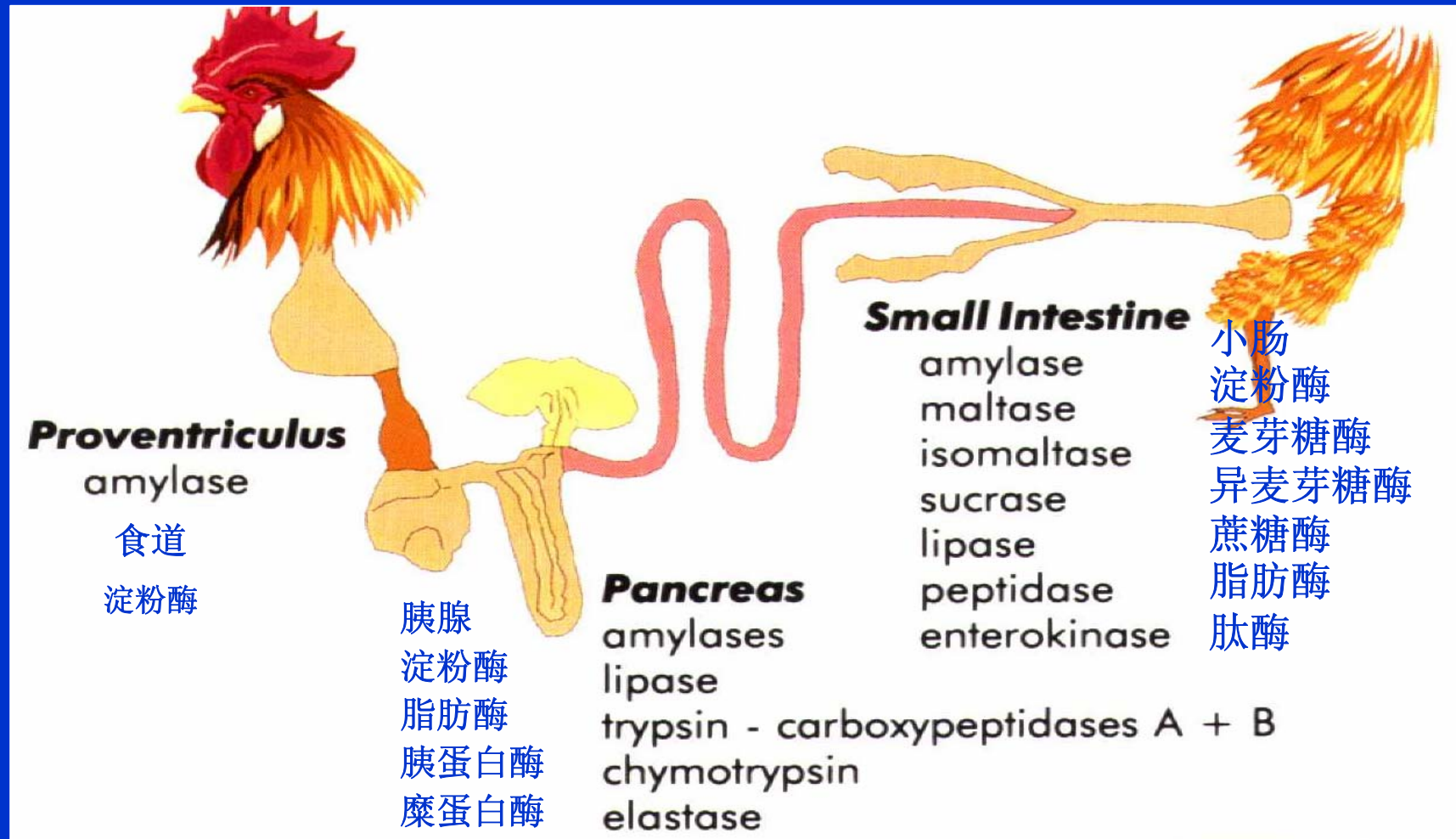
现代养禽业的特点

- ◆ 劳动生产率高
- ◆ 集约化程度高
- ◆ 产品生产率高

家禽消化道的特点

- 家禽的消化道较短
- 消化系统相对简单
- 饲料植物性来源的谷物为主

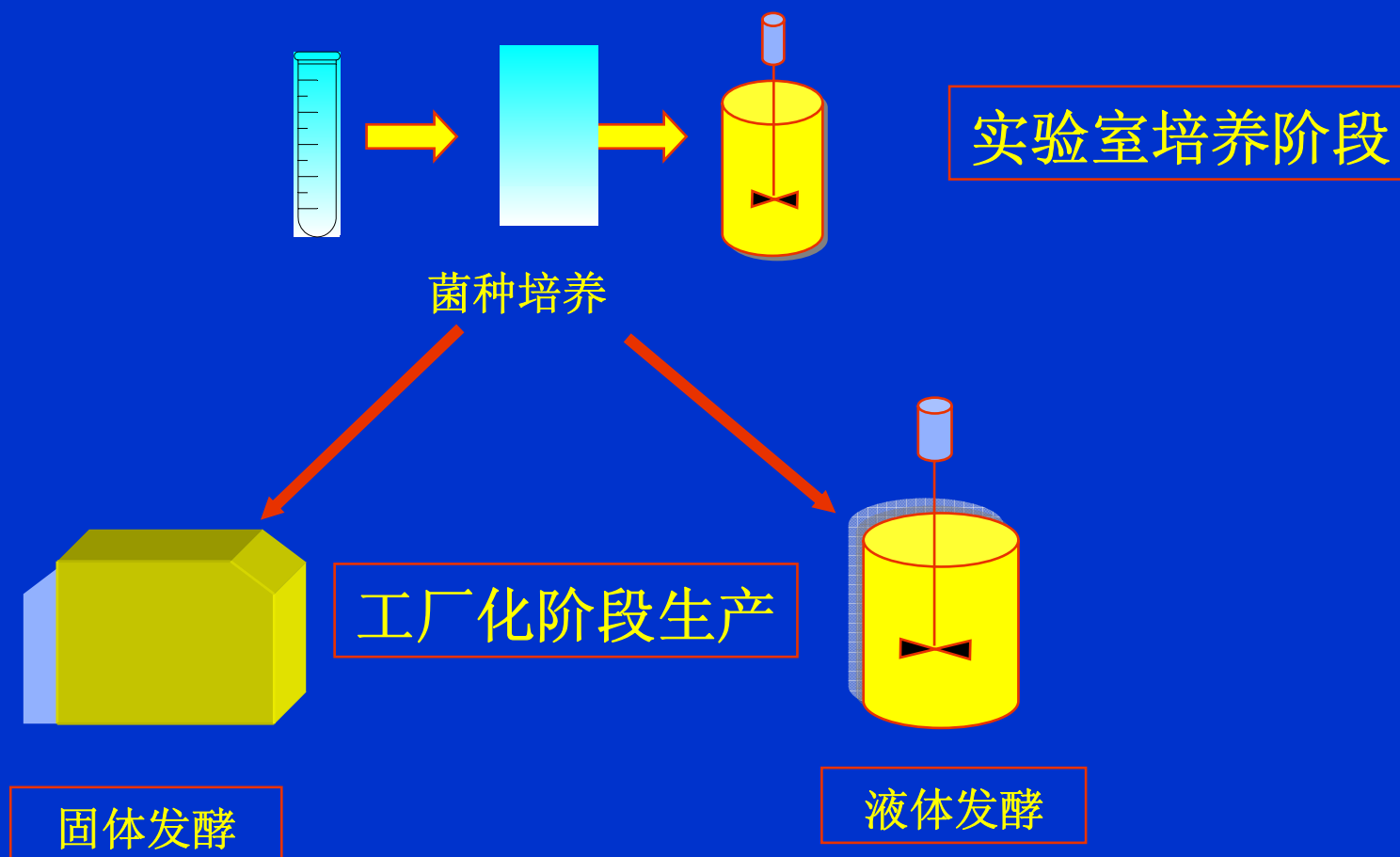
家禽消化道示意图



饲用酶制剂

饲料中加酶是近50年的事，但直至70年代，由于微生物发酵技术的发展才出现了饲料专用酶制剂。

酶制剂的生产工艺



2 酶制剂的作用机制

酶制剂的主要功能

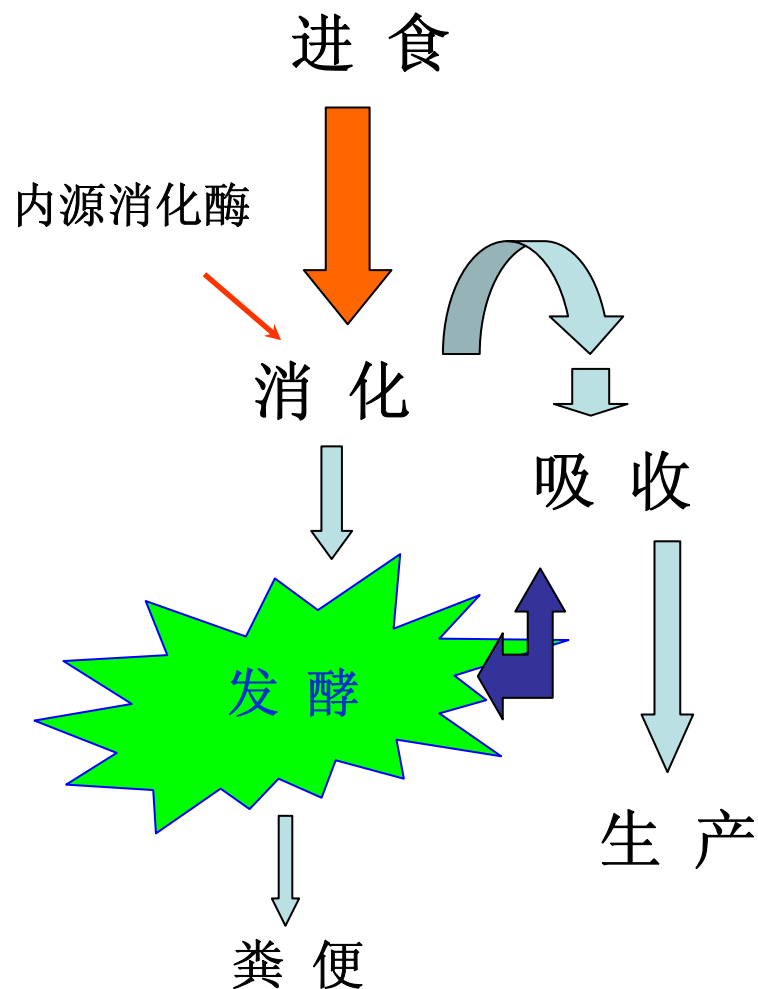
- 提高畜禽生产性能
- 改善动物健康
- 提高动物产品品质
- 提高饲料利用效率
- 减少环境污染
- 提高畜牧业经济效益

家禽日粮中添加酶制剂的作用机制

- **“粘性”机制** 麦类日粮中加入复合酶，降解水溶性**NSP**，降低食糜粘度，提高日粮**AME**和养分消化率、家禽生产性能。
- **“细胞壁”机制** 日粮中加入复合酶，降解谷物细胞壁物质，使细胞壁崩解，释放出被细胞壁包裹的养分，为动物所利用。
- **“微生物”机制** 日粮中加入复合酶，降解回肠**NSP**，减少微生物数量，提高回肠养分吸收利用率，减少家禽下痢等肠道疾病。
- **“补充消化酶”机制** 日粮中添加淀粉酶、蛋白酶等组成的复合酶，弥补幼禽内源酶分泌量不足，提高日粮养分的消化率。
- **“内分泌”机制** 麦类日粮中添加复合酶，提高家禽血液中**T3**、**T4**、促甲状腺素、胰岛素、胰岛素样生长因子- I、生长激素等激素水平，提高家禽的生产性能。
- **“消除抗营养因子”机制** 玉米-豆粕日粮中添加甘露聚糖酶和 α -半乳糖苷酶等组成的复合酶，降解豆粕中的**NSP**、棉籽糖和水苏糖，提高豆粕的代谢能和氮代谢率，提高肉仔鸡生长速度、饲料转化率和降低死亡率。
- **“退化淀粉”机制** 玉米-豆粕日粮中添加支链淀粉酶，降解玉米支链淀粉制粒高温时糊化、冷却和储存过程产生的“退化淀粉”，提高淀粉回肠末端消化率和肉仔鸡生产性能。

添加酶制剂的益处

- 提高日增重和采食量，改善料肉比
- 节约饲料资源，降低饲养成本
- 降低原料主要营养物质的变异，改善动物群体的整齐度
- 打破了传统动物营养概念的局限，有效地考虑了饲料的营养潜力，允许调整配方
- 降低由日粮引起消化不良等问题发生，减少动物排泄物的营养成分（特别是氮和磷）对环境的影响
- 提高经济效益



3 家禽日粮中酶制剂的分类

3.1 单一酶制剂

3.2 复合酶制剂

单一酶制剂

- **非淀粉多糖酶**：纤维素酶(**cellulase**)、内切木聚糖酶(又称戊聚糖酶,**xylanase**)、内切 β -葡聚糖酶 (β -**glucanase**)、甘露聚糖酶 (**mannase**) 等。
- **植酸酶(**phytase**)**：能降解饲料中植酸及其盐，消除其抗营养作用。
- **淀粉酶(**amylase**)**：是能够降解淀粉糖苷键的一类酶的总称，包括 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和异淀粉酶、糖化酶等。
- **蛋白酶 (**protease**)**：是能够降解蛋白质肽键的酶的总称，有酸性、中性和碱性之分。
- **脂肪酶 (**lipase**)**：是能够降解脂肪酯键的

复合酶制剂

一种或几种单一酶制剂为主体，加上其它单一酶制剂混合而成，或由一种或几种微生物发酵获得

- 以蛋白酶、淀粉酶等消化酶为主的饲用复合酶，此类酶制剂主要用于补充动物内源酶的不足。
- 以木聚糖酶或 β -葡聚糖酶为主的饲用复合酶，此类酶制剂主要应用于以及以麦类作物为饲料的日粮
- 以纤维素酶、果胶酶为主的饲用复合酶此类酶主要由木霉、曲霉和青霉直接发酵而成，主要作用为破坏植物细胞壁，使细胞中的营养物质释放出来，供进一步消化吸收。

4、酶制剂的使用方式

- 一是直接在根据经典的饲料营养参数设计的日粮中添加酶制剂，该方式简单易行，会提高畜禽生产性能，但将增加饲料成本；
- 二是根据酶制剂提高畜禽生产性能和改善饲料利用的程度，适当降低根据经典饲料营养参数设计的日粮营养水平或利用廉价饲料原料配制日粮，这样可以做到在保持动物生产性能不下降的情况下降低饲料成本。

✓酶制剂所能改进的饲料养分消化率的大小或相当的营养价值被称作营养改进值、营养当量、加酶日粮有效营养改进值（ENIV）等。

✓在制作配方时应用这些数值对经典的饲料营养参数进行调整后再进行计算就可以达到较高的精准度，实现真正的优化。

能量饲料

常见植物能量饲料原料使用相应酶制剂的 ENIV 值

项目		代谢能值 (MJ/kg)	加酶改善程度 (%)	代谢能 ENIV 值 (MJ/kg)	粗蛋白 (%)		
					粗蛋白值	加酶改善程度	蛋白质 ENIV 值
玉米	鸡	13.46	1.0~2.3	0.13~0.31			
	猪	13.38	1.1~2.8	0.15~0.38	7.8	8~15	0.6~1.2
小麦	鸡	12.71	4.0~6.3	0.50~0.79			
	猪	13.21	3.0~4.7	0.38~0.63	13.9	9.5~18.2	1.3~2.5
小麦麸	鸡	6.81	5.0~7.4	0.33~0.50			
	猪	8.69	3.4~4.8	0.29~0.42	15.7	9~15	1.4~2.4
次粉	鸡	12.50	3.0~4.5	0.38~0.57			
	猪	12.50	3.0~3.7	0.38~0.46	13.6	9~15	1.2~2.0
大麦	鸡	11.20	4.1~6.9	0.46~0.77			
	猪	12.67	4.2~6.6	0.54~0.84	13.0	7.5~13.8	1.0~1.8
稻谷	鸡	10.99	1.9~4.2	0.21~0.46			
	猪	10.62	2.4~3.7	0.25~0.40	7.8	3.8~9.2	0.3~0.7
米糠	鸡	11.20	3.3~5.2	0.38~0.59			
	猪	11.79	2.6~4.2	0.31~0.50	12.8	7.5~12.3	0.9~1.6

注: 1. 中国饲料成分及营养价值表 2004 年第 15 版(下表同);

2. 根据已有的研究报道, 结合饲料原料 ENIV 值的确定条件提出的估测值(下表同)。

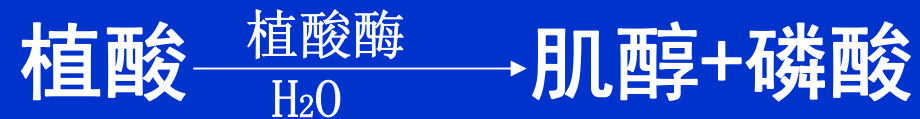
蛋白饲料

常见植物蛋白质饲料原料使用相应酶制剂的 ENIV 值

项目		代谢能值(MJ/kg)	加酶改善程度(%)	代谢能 ENIV 值(MJ/kg)	粗蛋白(%)		
					粗蛋白值	加酶改善程度	蛋白质 ENIV 值
豆粕	鸡	9.82	2.1~3.4	0.21~0.33			
	猪	12.41	1.3~2.4	0.17~0.29	44.0	8.2~11.0	3.6~4.8
菜籽粕	鸡	7.11	6.8~9.6	0.50~0.71			
	猪	9.32	4.5~6.0	0.42~0.56	38.6	9.0~13.5	3.5~5.2
棉籽粕	鸡	7.77	3.2~4.8	0.25~0.38			
	猪	8.15	3.6~4.6	0.29~0.38	47.0	8.5~10.5	4.0~5.0
花生粕	鸡	10.87	1.9~5.8	0.21~0.63			
	猪	10.70	2.3~4.9	0.25~0.52	47.8	6.5~9.0	3.1~4.3
向日葵仁粕	鸡	8.49	3.2~4.2	0.27~0.36			
	猪	9.28	2.7~4.1	0.25~0.38	33.6	6.5~9.5	2.2~3.2

5 酶制剂在家禽日粮中的应用效果

4.1 植酸酶



- 在以植物为主的日粮中，总磷的**60%到80%**为植酸盐。单胃动物不能利用这种形式存在的磷元素
- 植酸磷必须水解成正磷酸才能被动物利用，这一过程要靠植酸酶来完成

植酸酶特性

- 微生物植酸酶在pH值5.0，45–55℃范围内具有最高活性
- 微生物植酸酶在制粒和膨化过程中损失很大，分别为39.8%和73.2%
- 植物植酸酶的适宜pH值为5.5，低于4.0或高于7.0，植酸酶的活性基本丧失，适宜温度为50℃，在40–60℃范围内可保持较高的酶活
- 麦类籽实中的植酸酶具有良好的热稳定性。在体外条件下，微生物植酸酶和植物植酸酶均能有效分解饲料原料中的植酸磷

添加植酸酶的好处

- (1)可减少饲料中非植酸磷的需要量（包括动物蛋白提供的），从而降低饲料成本
- (2)植酸盐化合物可与其它元素结合，如**Zn**、**Ca**、**Mg**，因此，添加植酸酶也可释放其它重要的矿物质元素
- (3)提高了日粮磷的利用率将减少环境的负担

植酸酶的应用

- 肉鸡的玉米豆粕日粮中添加**800-1000u/kg**植酸酶就可达到较好效果
- 当添加**350u/kg**、**700u/kg**和**1050u/kg**在日粮中喂鸡，趾骨灰份提高**4-18%**，磷的利用率提高**3-15%**
- 玉米-糠麸-豆粕日粮中加**400**单位植酸酶可代替**2**克磷酸氢钙的用量
- 采食量可提高**5%-30%**

4.2 纤维素酶的应用

王玲等（2000）在以复合酶（主要成分为纤维素酶、木聚糖酶和 β -葡聚糖酶）制剂饲喂肉雏鸡的试验中发现，饲料干物质、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维和粗灰分的表观消化率均极显著提高，而粪中大肠杆菌数和空肠内容物粘度则极显著降低。

徐奇友（1998）试验，蛋鸡日粮分别添加0.1%，0.15%，0.5%的纤维素酶，结果添加0.5%的纤维素酶组在6-13周提高饲料消化率2.7%，在14-20周提高增重2.42%，提高饲料消化率2.46%，在整个试验期提高增重2.42%，提高饲料消化率1.11%，增重，饲料利用率与蛋壳强度都得到改善，并显著提高了产蛋率($p < 0.05$)。

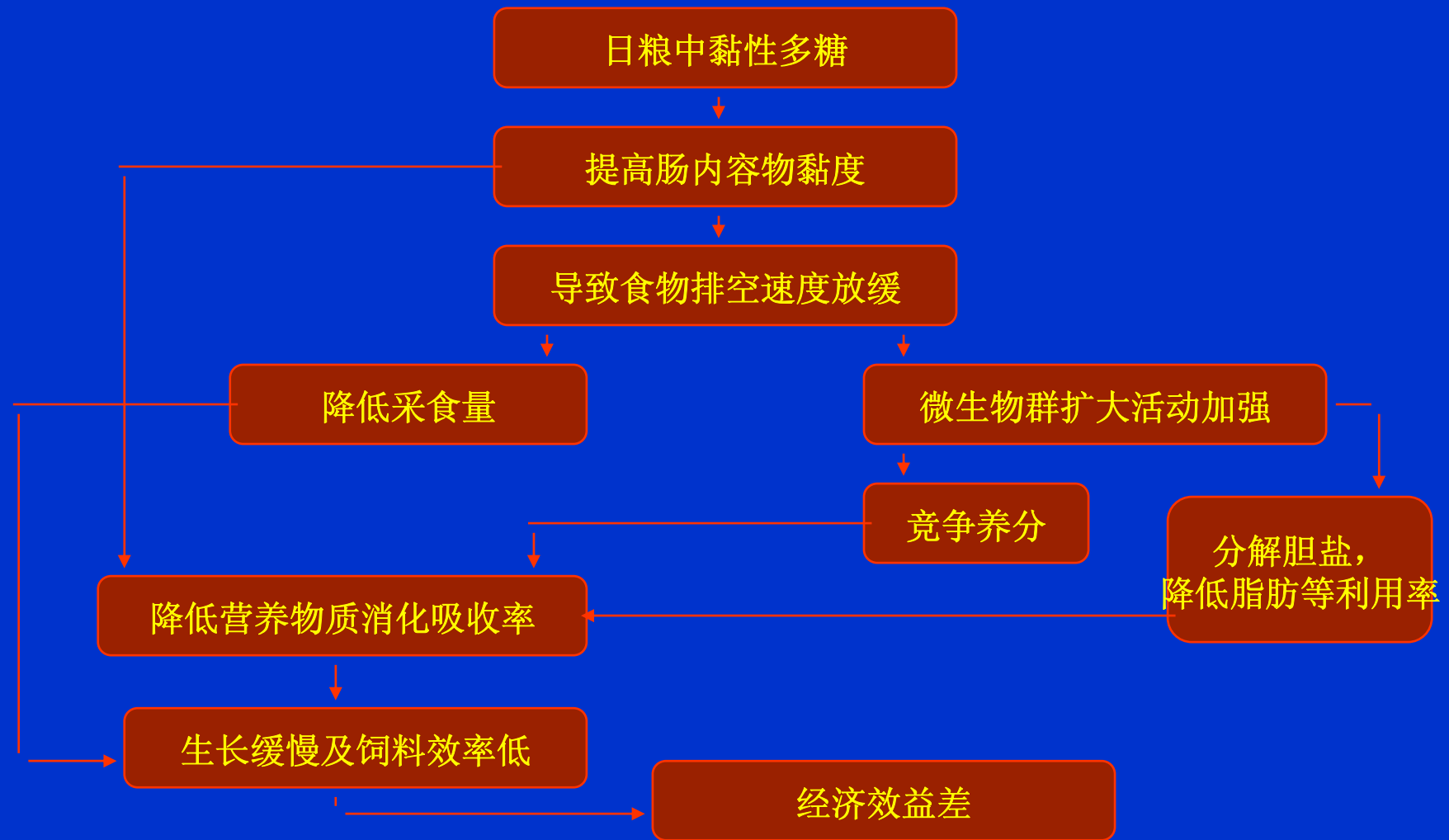
4.3 木聚糖酶与 β -葡聚糖酶

β -葡聚糖酶+大麦=小麦

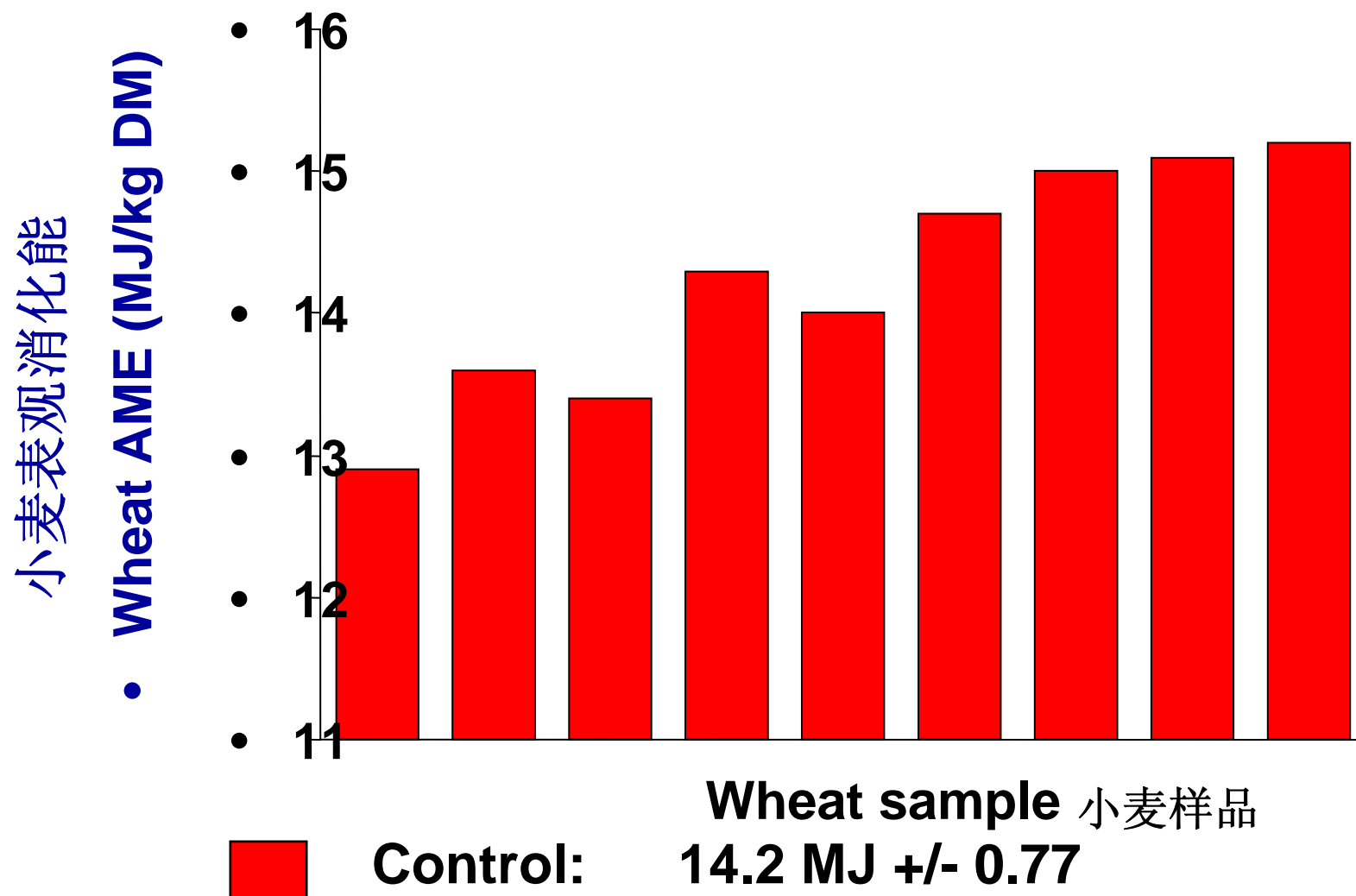
木聚糖酶+小麦=玉米

只有营养水平低于常规饲养标准条件下才有可能实现！

非淀粉多糖对家禽生产性能的影响机制



不同小麦表观代谢能变异（肉鸡）



木聚糖酶与 β -葡聚糖酶的应用

- **Choct** 等证实在低代谢能小麦型饲料中添加酶制剂饲喂**3-4**周龄肉仔鸡，可提高表观代谢能**24%**，饲料转化率提高**25%**
- 在肉仔鸡大麦型饲料中添加 β -葡聚糖酶可提高**17%**的增重速度和**19%**的饲料转化效率

4.4 其他酶制剂

β -甘露聚糖酶：可改善家禽对豆科籽实的养分利用率进而提高生产性能。

淀粉酶或蛋白酶：补充幼龄畜禽消化道内淀粉酶和蛋白酶分泌不足。

6 影响酶制剂使用效果的因素

- 酶制剂的来源与配伍
- 日粮结构及营养水平
- 饲料的加工与储存
- 动物因素

酶制剂的来源与配伍

- 酶制剂来源不同，其最佳酶活所需的温度和**pH**等条件也就不同，因而在畜禽消化道中特定的生理环境下，作用效果就不同。
- 不同菌株所产的酶，其耐高温加工、耐酸碱处理能力不同，因而在生产中应用的效果不同。

日粮结构及营养水平

- 酶制剂作用具有高度专一性，饲料原料营养价值受品种、土壤、气候以及饲料加工的影响，不同来源、产地以及品种的饲料其营养成分及抗营养因子含量、结构存在差异，因而对酶制剂的效应也就不同。
- 非淀粉多糖酶的效果在由品质较低的原料组成的日粮条件下会更明显。

饲料的加工与储存

- 酶是蛋白质，在饲料加工制粒过程中，在较高温度（**70-90度**）和较高水分（**16-18%**）下，酶很容易失活。
- 加酶饲料制粒温度在**80-85℃**时，肉鸡生产性能最好，而超过**85℃**将产生负面影响。
- 干燥的酶有较强的耐热性，在温度**90℃**，**30**分钟才失去活性，而同样的温度，在湿热蒸汽下，酶很快就失活
- 通过以下两种方法提高酶制剂稳定性：**1**、筛选耐高温的微生物菌株，目前已发现由细菌产生的 α -淀粉酶可以耐受**100℃**以上的高温；**2**、对酶制剂进行稳定化处理。目前常用包埋技术和载体结合技术

动物因素

- 肉仔鸡消化酶分泌的量同蛋仔鸡一致，但采食量却较蛋仔鸡大。
- 肉仔鸡可能需要额外的外源酶的添加以帮助其消化。
- 肉仔鸡日粮加酶效果可能优于蛋仔鸡
- 幼龄动物消化道发育不完善，内源消化酶分泌可能不足，应补充淀粉酶、蛋白酶以帮助消化。
- 而生长后期，由于日粮中低营养价值的原料含量增加，应相应补充纤维素酶，葡聚糖酶、木聚糖酶等以消除抗营养作用，提高饲料消化。

第二部分

寡聚糖的作用与应用

主要内容

- 1、饲用寡聚糖的概念与种类
- 2、寡聚糖在动物体内的消化和代谢
- 3、寡聚糖对动物肠道菌群的调控作用
- 4、寡聚糖对动物机体免疫功能的影响
- 5、寡聚糖在动物饲料中的应用效果
- 6、影响寡聚糖饲用效果的因素
- 7、寡聚糖的应用前景

发展历史

- 传统上寡聚糖被认为是饲料中的抗营养因子。
- 60年代，日本将其用在食品中作为免疫增强剂。
- 80年代，日本将其开发成饲料添加剂。
- 1994年，日本生产的三分之一该糖类物质用作饲料添加剂，40%的日本猪饲料中都添加了这类物质。
- 近年来，寡聚糖作为一种功能性非营养饲料添加剂，扩展了传统上碳水化合物仅作为能源物质的功能。目前，这类产品在亚洲、加拿大、欧洲的生产和使用都呈上升势头，且价格已下降到饲料业可接受的范围。

1、概 念

寡聚糖 (Oligosaccharides) 又称低聚糖或寡糖，是指2-10个单糖通过糖苷键连接形成直链或支链的一类糖。

饲用寡聚糖的种类

- 甘露寡糖(**MOS**)
- 果寡糖 (**FOS**)
- α -寡葡萄糖 (α -**GOS**)
- 寡乳糖 (**GAS**)
- 寡木糖 (**XOS**)
- β -寡葡萄糖 (β -**GOS**)
- 低聚焦糖 (**STOC**)
- 反式半乳寡糖 (**TOS**)
- 大豆寡糖

2、寡聚糖在动物体内的消化和代谢

- 哺乳动物对碳水化合物的消化主要限于 α -1, 4糖苷键，其产生的内源性消化碳水化合物的酶对其它糖苷键的分解能力较弱或不能分解。
- 除了由淀粉降解产生的麦芽糖或低聚糊精外，其它寡糖由于其结构中 α -1, 4糖苷键的比例小，在很大程度上不被哺乳动物消化，故称为非消化性寡聚糖
- 单胃动物消化道后部寄生着大量微生物，既能产生切断多聚糖或低聚糖末端糖苷键的酶，也能产生水解聚合链中间各种糖苷键的酶，因此能消化寡聚糖，其消化过程是：

NDG \Rightarrow 单糖 \Rightarrow 乳酸和丙酮酸 \Rightarrow 挥发性脂肪酸（VFA）、二氧化碳和水

3、寡聚糖对动物肠道菌群的调控作用

- 选择性促进有益菌的增殖

- **Kohmoto(1991)**发现， α -**GOS**可作为营养基质被双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌等代谢，而梭状芽孢杆菌、真杆菌、肠杆菌或大肠杆菌等有害菌对其不能利用或代谢利用率很低。
- **Wada(1990)**比较**FOS**、**XOS**及葡萄糖为营养基质，体外培养由消化道内分离出的不同细菌时，也得到相似的结果。
- **Bailey (1991)**用体外培养法检验了**20**种沙门氏菌对寡果糖的利用情况，结果发现，当以果寡糖作为培养基中唯一碳水化合物来源时，**20**种血清型的沙门氏菌都不能增殖。

- 阻止病原菌定植

- 研究表明，肠道病原菌必须首先与肠粘膜粘接才能在胃肠道定植和繁殖而致病。这种粘接是通过细菌表面外源凝集素与上皮细胞特异性的糖分子相结合（**Firon等，1987；Nathan等，1993**）。
- **Pusztai等（1991）**通过演示证明用特定的糖来结合细菌的外源凝集素或用特定的外源凝集素来结合肠粘膜上皮细胞表面糖脂或糖蛋白的糖残基，都可达到阻止细菌与肠粘膜结合，并把这一过程称为化学益生。

寡聚糖对断奶仔猪大肠杆菌数量的影响

组别	对照组	寡聚糖组			
		0.05%	0.1%	0.2%	0.35%
盲肠	7.41	7.36	7.03	6.88	7.36
结肠	7.25	7.06	6.80	6.82	7.00
直肠	7.59 ^a	7.36 ^{ab}	6.67 ^b	6.56 ^b	7.17 ^{ab}

肠道菌群数量用 $\text{Log}_{10}\text{cfu/g}$ 肠内容物表示。cfu: 菌落形成单位。a, b 不同表示差异显著 ($P<0.05$)

果寡糖对沙门氏菌感染的影响

组别	对照组	F O S		
		0.25%	0.50%	1.00%
17日龄	6.78	6.38	6.43	6.51
19日龄	5.70 ^A	5.33 ^B	5.35 ^B	5.26 ^B
21日龄 (阳性率/%)	75	75	75	25

沙门氏菌数量用 $\text{Log}_{10}\text{cfu/g}$ 肠内容物表示。a, b 不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

4、寡聚糖对动物机体免疫功能的影响

- 寡聚糖能与一定毒素、病毒、真核细胞的表面结合而作为这些外源抗原的佐剂,能减缓抗原的吸收,增加抗原的效价。
- 寡聚糖作为佐剂的效用可加强细胞和体液免疫性。
- 寡聚糖也具有抗原特性, 能够产生特异性的免疫应答。
- 甘露寡糖也可通过刺激肝脏分泌能与甘露糖结合的蛋白而影响免疫系统。这种蛋白质与细菌荚膜相粘结并触发一连串的补体。

5、寡聚糖在动物饲料中的应用效果

- 能促进仔猪生长、改善饲料转化率、减少腹泻率并防止便秘。
 - **TOS或FOS**（Hidaka等, 1985; Fukuyasu等, 1986; Hidaka等, 1986; Katta等, 1993; Nakamura, 1988; 夏中生等, 1999）、
 - **MOS**(Alltee, 1993)、
 - **GAS** (Bolden, 1993)

肉鸡饲用不同寡糖结果

- ❖ 日粮中添加不同种寡糖对肉仔鸡的生长性能和养分利用无显著作用 ($P > 0.05$)
- ❖ 甘露寡糖、大豆寡糖、果寡糖和异麦芽寡糖较对照组分别提高肉仔鸡盲肠内双歧杆菌的数量 53.82%、39.96%、42.23% 和 30.02%，差异显著 ($P < 0.05$)
- ❖ 日粮中添加不同种寡糖对肉仔鸡的免疫器官指数无显著作用 ($P > 0.05$)

寡聚糖对肉鸡、火鸡、犊牛、兔以及水产 动物生产性能的影响

作者（年份）	寡聚糖	动物	试验结论
Bastien(1990)	FOS	兔	体增重上升 6.4% ，料肉比下降 7.8% ，死亡率降低 32% 。
Onaarheim(1992)	MOS	鲑鱼	饲喂 5 周后用叩病袭击，发现幼鱼死亡率降低 28%
Maertens(1992)	GAS	兔	仔兔的下痢、死亡率下降。
Newman等(1993)	MOS	公犊牛	可显著提高 35 日龄体重，并降低 4~5 周龄时细菌性肺炎发病率（比对照组降低 70%~80% ）。

寡聚糖对肉鸡、火鸡、犊牛、兔以及水产动物 生产性能的影响（续）

作者 (年份)	寡聚糖	动物	试验结论
Lyons (1995)	MOS	鳟鱼苗	鳟鱼苗在体重 1g 到 7g 期间受冷水病原菌侵袭后死亡率高达 25% ，饵料中加入 MOS 使该阶段死亡率下降到 1% 。
木源稔等 (1995)	FOS	鱼	增重提高 22% ，饲料转化率改善 7.6% 。
Randy等 (1995)	MOS	火鸡	成活率提高 5.27% 、日增重提高 1.21g 、不可食部分减少。
吴天星 (1998)	FOS	肉鸡	肉鸡腹泻率降低 10%~12% ，成活率提高 10% ，增重增加 2.7%~6.5% 。

6、影响寡聚糖使用效果的因素

寡聚糖的种类

- 寡聚糖的种类不同，所产生的作用效果不同。目前所使用的寡聚糖产品大多为混合物且来源不同，产品中含有不同的寡糖、同种寡糖的不同聚合度、单糖、多糖及非糖类物质等可能是造成试验结果不一致的主要原因。

寡聚糖的添加量

添加量不足，则起不到明显的增殖效果；添加量过度，则不但大大增加饲料和饲养成本，起不到增加有益菌繁殖的效果，还可能造成动物腹泻。

- **Bailey**等（**1991**）喂给雏鸡**0.375%FOS**时几乎未观察到对沙门氏菌定植有影响，但喂给**0.75%FOS**时禽沙门氏菌定植数较对照组下降**12%**。
- **Orban**（**1994**）认为**2%**的**STOS**可能是应用到猪饲料中的一个上限，**4%**的添加量使猪增重降低**6%**。

寡聚糖与抗生素及益生菌的协同作用

- **MOS**和抗菌药（酒石酸嘧啶和呋喃唑酮组成）结合使用的效果较好（**Lyons,1994**）。
- 日本渡边直久等对**25**日龄仔猪饲养**5**周的试验结果显示：添加异麦芽寡聚糖提高**4%**的效率，而添加异麦芽寡聚糖与一种专用型微生物并用的试验，则有**8%**的增加效率。
- **Bailey**等（**1991**）在喂给雏鸡**0.75%FOS**+未确定**CE**培养物联合处理时,以沙门氏菌攻毒的雏鸡仅有**19%**被定植，而仅以**CE**培养物处理时定植率为**61%**。

寡聚糖、抗生素、益生菌对断乳仔猪生长性能的影响

组别	对照组	金霉素 50ppm	益生菌 0.15%	寡聚糖 0.1%	寡+金 0.1%+ 25ppm	寡+金 0.1%+ 12.5ppm
日增重 (g/d)	154.56 _c	153.09 _c	155.88 _c	169.32 _{bc}	230.04 _a	214.43 _{ab}
采食量 (g/d)	324.12	331.76	318.35	338.31	415.31	375.85
料肉比	2.21 ^{Aa}	2.18 ^{Aab}	2.04 ^{Ab} _c	2.00 ^{ABc}	1.80 ^{BCd}	1.75 ^{Cd}
腹泻率 (%)	32.94 ^{Aa}	27.78 ^{Ab}	27.99 ^A _b	20.16 ^B	10.71 ^C	12.06 ^C

a, b, c 不同表示差异显著 ($P<0.05$) ; A, B, C, 不同表示差异极显著 ($P<0.01$)

日粮组成

- 饲料中天然存在的寡聚糖：玉米中的**NDOs**含量是很低的，但大麦、小麦、大豆产品中包含大量的非消化糖类，如棉籽糖和水苏糖。
- **Risley**等（**1998**）报道，低水苏糖的大豆粕可改善早期断奶仔猪的生产性能。
- 张丽英等（**1999**）也报道大豆寡糖对断奶仔猪的生产性能有负效应，且主要发生在断奶后**2**周。
- 大麦、小麦、豆饼中寡聚糖的“掩盖或稀释效应”可能对试验的结果有影响。

动物种类

- 动物种类不同，其消化生理也不同，因此寡聚糖对其影响也不同。如**STOC**能增加家禽肠道双歧杆菌数量，并能显著增加生产性能，但对猪的肠道菌群和生产性能影响并不显著（**Orban,1997**）。

饲养环境

在良好的饲养条件下，日粮中添加寡聚糖可能不起显著效果。然而相关的添加剂如有机酸、抗生素、益生菌等对生产性能的影响也随饲养条件的变化很大。只有当生产性能的影响受肠道因素影响较大时，他们才能表现出显著的促生长作用（**Cole,1991; Ravindran and Kornegay,1993; Rosen,1995**）。

其它因素

Houdijk等（**1998**）报道，生长猪对寡聚糖的添加有一个适应期，他们在断奶仔猪日粮中添加了**FOS**或**TOS**,发现前三周对生长有抑制作用，但后三周有促进作用，弥补了前三周所带来的损失。

7、寡聚糖的应用研究展望

- 降低生产寡聚糖成本的新工艺、新方法
- 提高寡聚糖利用率的措施。
- 不同种类的寡聚糖在不同种类动物中的最佳用量，增殖效果，添加方式以及增殖机理。
- 研究寡聚糖与其它营养因素的拮抗或协同作用。
- 研究饲料中存在的天然寡聚糖对动物生产性能的影响。

第三部分

中草药的营养调控作用

主要内容

- 1 开发中草药添加剂的背景
- 2 抗生素替代品—中草药
- 3 中草药的营养调控作用
- 4 今后的工作

1、开发中草药添加剂的背景

抗生素的饲用

- 1929年英国的Fleming报道了青霉素的抗菌作用
- Moore（1946）首次发现饲料中添加链霉素可促进肉鸡生长发育
- 上世纪60年代后，抗生素在饲料中使用非常广泛
- 上世纪70年代以来，欧、美、日等国开始限制和禁止抗生素的使用

抗生素的作用

- 促进动物生长
- 改善饲料效率
- 杀菌、防治疾病
- 降低死亡率
- 提高繁殖性能
- 提高养殖效率和效益

饲用抗生素的潜在危害

- *动物体内和动物产品中的残留
- *抗生素的耐药性
- *体内细菌交替感染
- *生态学危害

问题解决的办法

- 改善饲养环境，提高动物状态
- 减少、限制抗生素的使用
- 人、畜抗生素分开
- 开发抗生素的替代品

饲用抗生素替代技术

- 药用植物及其提取物（中草药）
- 抗菌肽（抗菌蛋白）
- 益生菌（有益菌、生菌剂）
- 寡聚糖
- 酸化剂
- 合成药物
- 生物药物
- 其他

2、 抗生素替代品—中草药

- *毒副作用小，安全方便
- *无抗药性或抗药性极小，无残留
- *中草药资源丰富，价格低廉

研究和应用很多的中草药

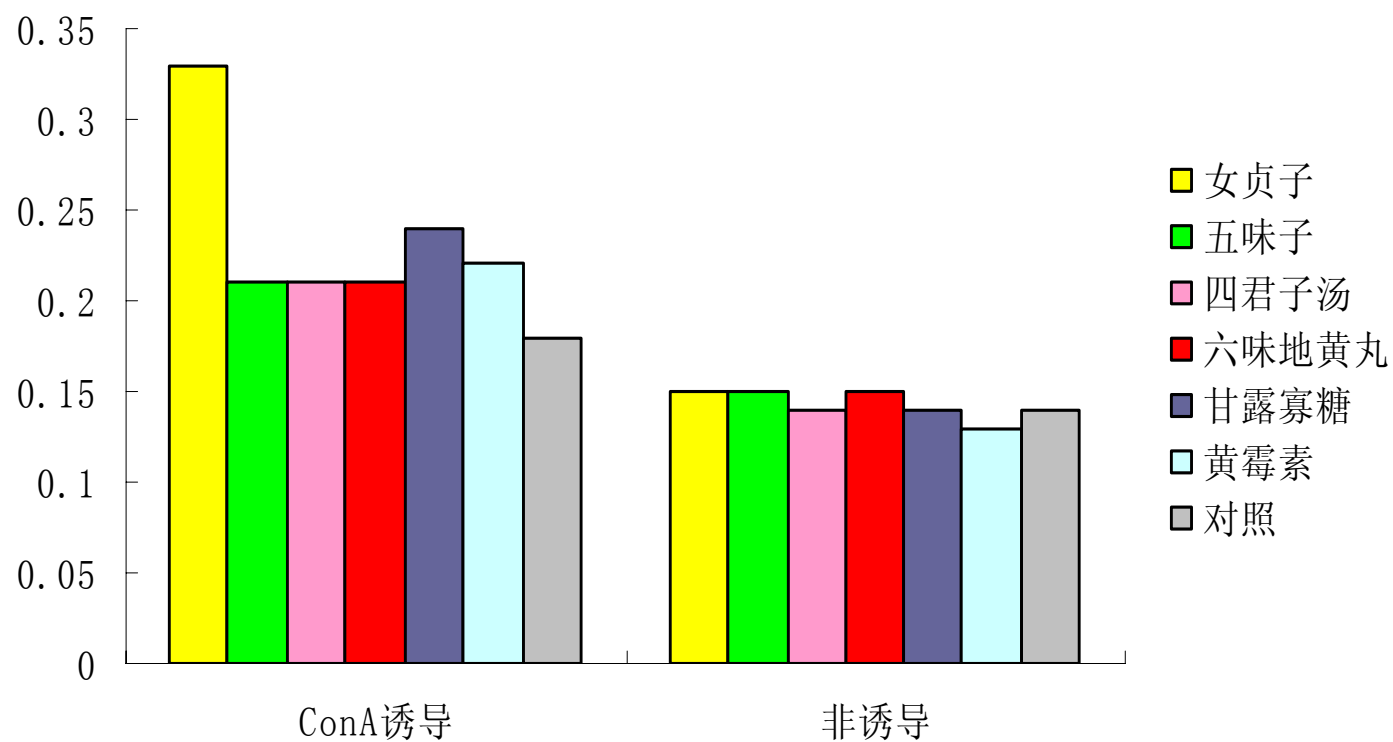
苍术、陈皮、何首乌、甘草、黄芪、
当归、党参、五加皮、苦参、黄芩、
刺五加、女贞子、五味子、白术、
干姜和枸杞等等。

中草药提取物的特点

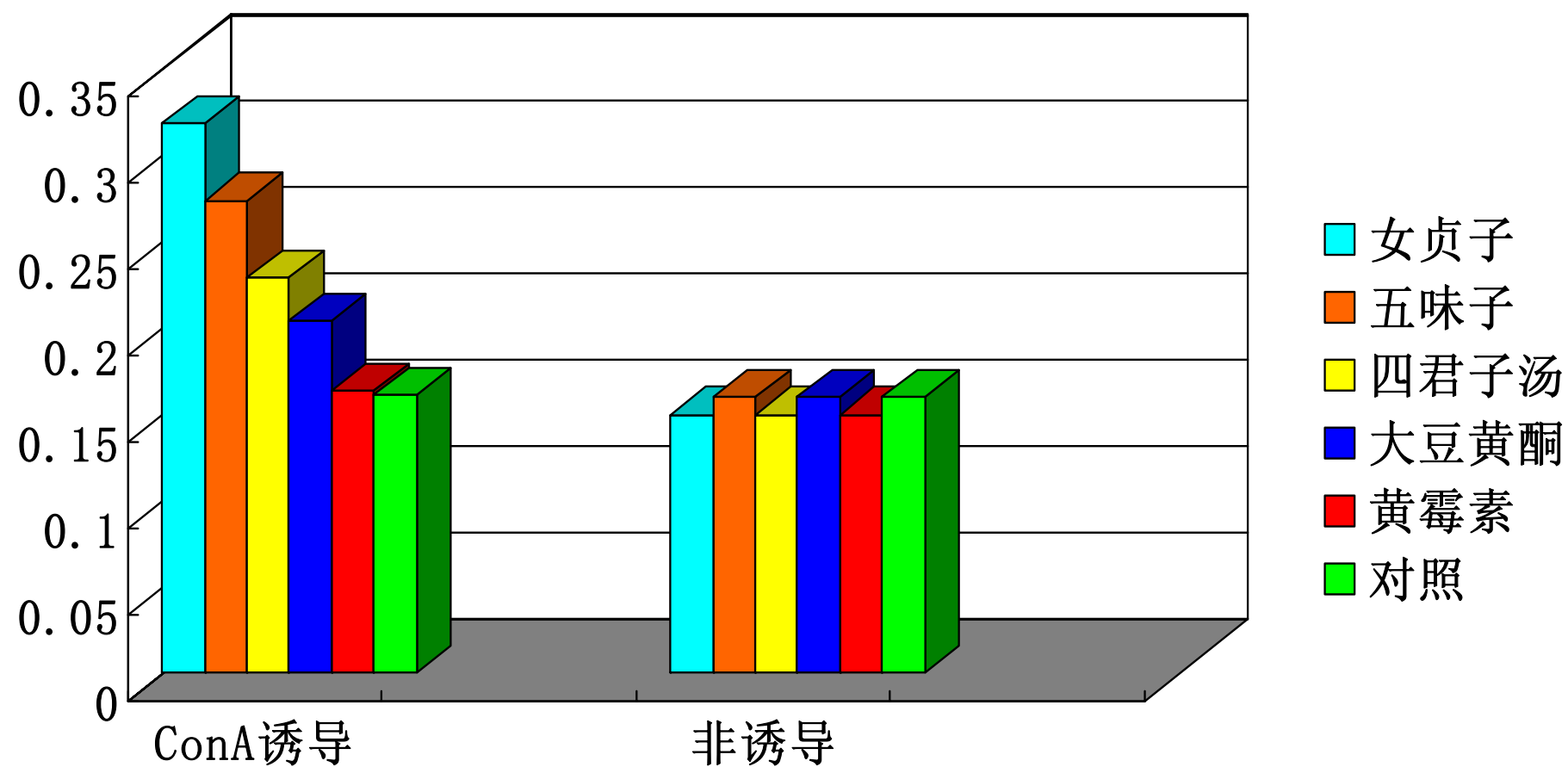
- *物理性状好
- *有效成分富集程度高
- *质量稳定
- *剂量小
- *饲用（服用）方便

3 中草药的营养调控作用

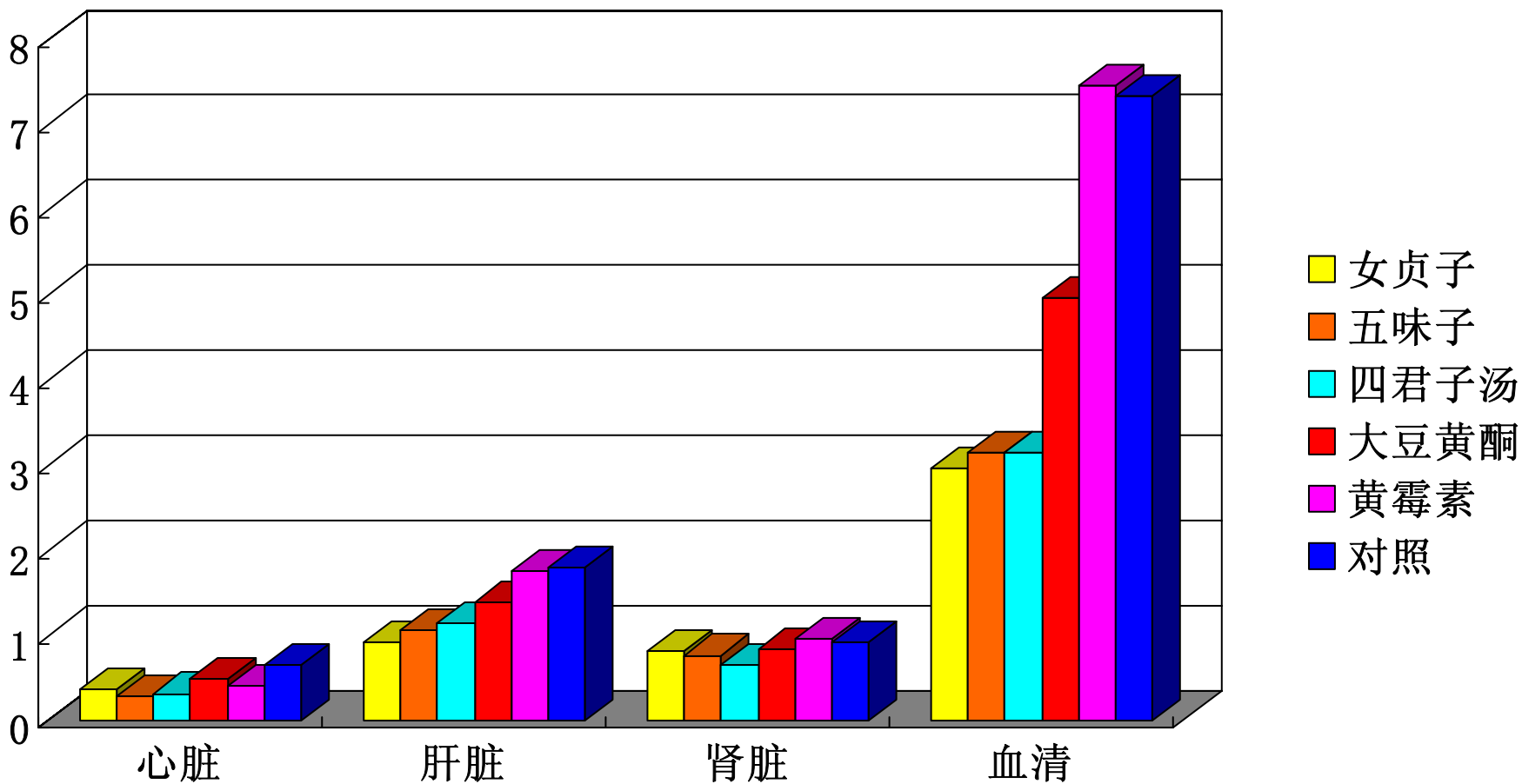
中草药对蛋雏鸡脾脏T淋巴细胞转化率的影响



中草药对产蛋鸡（热应激）脾脏T淋巴细胞的转化率的影响



中草药对蛋鸡抗氧化功能（丙二醛含量）的影响



五味子

有效成分分离与提纯

- *Schisandra chinensis*(SC) 为天然植物产品，兼有营养与药用两种属性，富含多糖、有机酸、维生素和微量元素。
- SC有增强免疫、抗氧化机能以及改善肠道菌群等作用
- 至于SC作为饲料添加剂在畜牧生产中的应用还很少有研究，是否具有提高免疫力及促生长作用，目前尚无一致的结论。
- 本课题研究五味子对畜禽生产性能、神经内分泌系统、免疫功能、血液生理生化指标、脂质稳定性等作用，探讨其对肉品质影响，并对其作用的分子机理进行深入地探讨。
- 以五味子乙素含量为考察指标，最佳提取工艺：8倍量乙醇，回流提取2次，2h/次，提取物中五味子乙素含量为1.84%。

样品	总木脂素含量	收率
五味子药材	0.988%	
水提取样品	0.208%	30%
回流提取样品	1.84%	26%
索氏提取样品	1.28%	24%

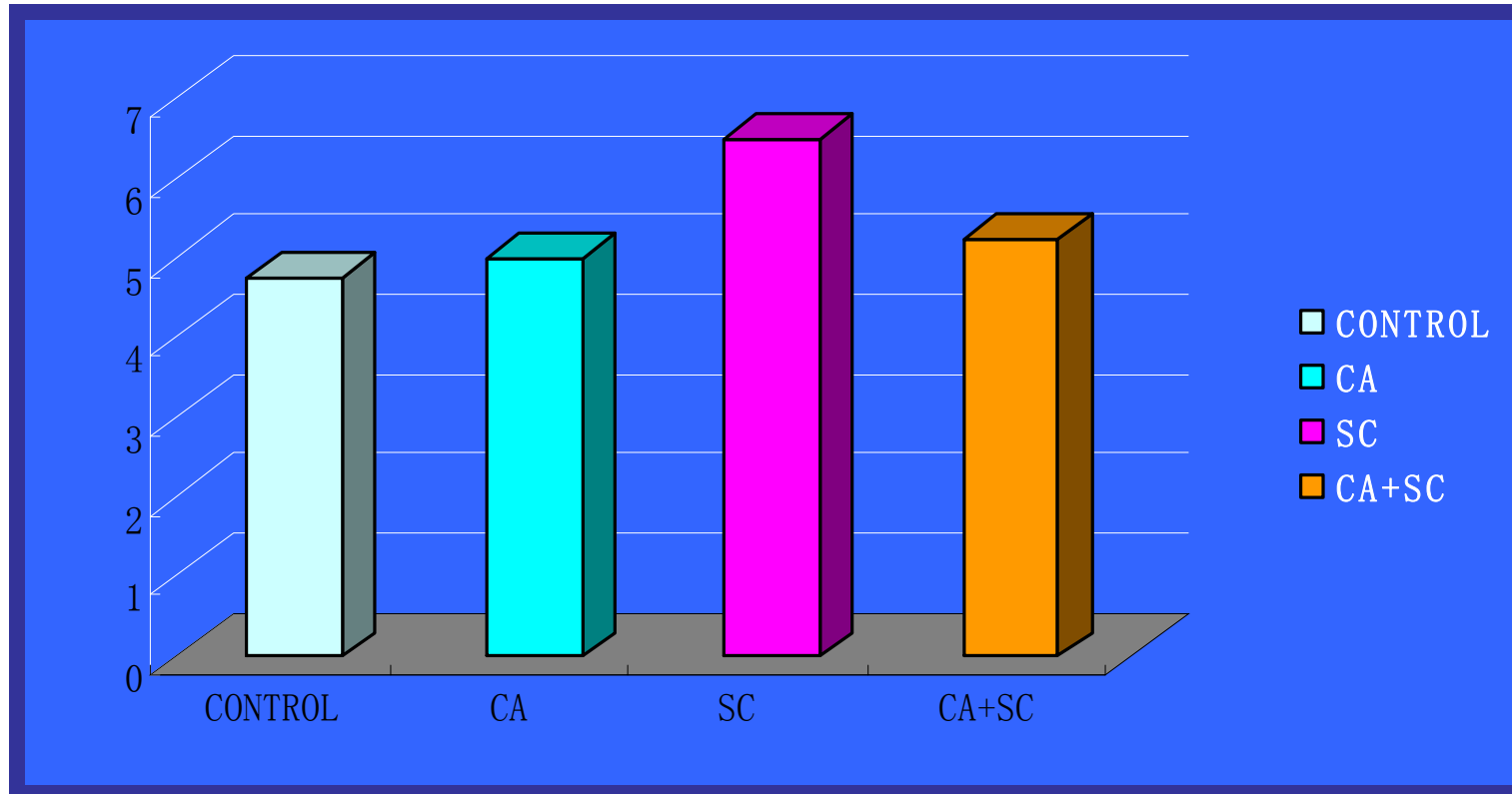
肉仔鸡试验结果

- 五味子总木脂素有促生长的趋势，添加**0.2%**五味子总木脂素可显著降低肉仔鸡腹脂率。
- 试验组胸肌率和对照组的均差异不显著，但各试验组的胸肌率都比空白对照有提高的趋势。
- 试验组的腿肌率与抗生素组差异不显著，但均比抗生素组高，分别高**0.24%**，**0.68%**，**0.12%**。
- 五味子乙醇提取物对抗氧化、肌肉品质和脂类代谢等相关数据正在统计当中。
- 五味子乙醇提取物体外抑菌和**H5**亚型禽流感抗体效价测定试验进行中。

仔猪试验结果

- 采用单因素完全随机分组设计，分别对**48**头（长白×大约克）猪从断奶、育成以及育肥三阶进行研究，设对照组（**Control**）、柠檬酸组（**CA**）、五味子组（**SC**）和**CA+SC**组共四个处理。
- 结果表明日粮中添加柠檬酸、五味子对断奶仔猪生产性能、脾脏相对重无显著影响，但添加**0.5%SC**显著提高猪瘟抗体效价（ **$P < 0.05$** ）。添加**1%CA**和**1%CA+0.5%SC**有提高的趋势，但差异不显著（ **$P > 0.05$** ）。

五味子与柠檬酸对断奶仔猪猪瘟抗体效价的影响



五味子、柠檬酸对断奶仔猪血清生化指标的影响

	Control	CA	SC	CA+SC
葡萄糖 GLU (mmol/L)	4.99 ± 0.78 ^a	5.25 ± 0.23 ^a	4.74 ± 1.03 ^a	4.13 ± 1.09 ^a
尿素氮 BUM (mmol/L)	5.83 ± 0.38 ^a	4.90 ± 0.75 ^{ab}	4.47 ± 0.31 ^b	4.67 ± 0.55 ^b
总蛋白 TP (g/dl)	36.50 ± 1.73 ^a	40.00 ± 2.00 ^a	38.25 ± 3.59 ^a	35.33 ± 3.79 ^a
谷草转氨酶AST (IU/L)	127 ± 19 ^a	117 ± 25 ^a	113 ± 16 ^a	100 ± 15 ^a
谷丙转氨酶 ALT (IU/L)	51.00 ± 6.06 ^a	49.50 ± 5.45 ^a	34.75 ± 5.12 ^b	40.50 ± 2.89 ^b
碱性磷酸酶 ALP (IU/L)	140 ± 18 ^a	132 ± 22 ^{ab}	101 ± 23 ^b	116 ± 27 ^{ab}

添加五味子与柠檬酸对仔猪 T_3 、 T_4 和胰岛素的影响

	Control	CA	SC	CA+SC
三碘甲腺原氨酸 T_3	0.63 ± 0.09^b	0.66 ± 0.04^b	0.61 ± 0.07^b	0.72 ± 0.06^a
甲状腺素 T_4	36.38 ± 1.32^a	32.72 ± 6.62^a	34.33 ± 2.14^a	33.36 ± 3.29^a
胰岛素 Ins	21.61 ± 3.11^a	22.17 ± 4.42^a	20.76 ± 1.23^a	20.98 ± 2.03^a

五味子组 (SC)、柠檬酸+五味子组 (CA+SC)

女贞子

有效成分分离与提纯

- 女贞子是一种补益类中草药，对动物细胞免疫、体液免疫、细胞因子等免疫功能有影响。
- 通过正交实验，对女贞子有效成分进行回流提取，确定最佳水提提取条件。
- 以齐墩果酸含量为考察指标，女贞子总皂甙水提最佳提取工艺：**2次**，固液比：**1:12**，提取时间：**1.5h**。

因素 试验号	A	B	C	D(空列)	平均含量 (%) (n=3)
1	1	1	1	1	0.6
2	1	2	2	2	0.82
3	1	3	3	3	0.85
4	2	1	2	3	1.13
5	2	2	3	1	1.06
6	2	3	1	2	1.47
7	3	1	3	2	0.73
8	3	2	1	3	1.20
9	3	3	2	1	1.53

肉仔鸡试验结果

- 0.2%女贞子水提物显著降低4w肉仔鸡肝脏MDA含量
- 0.1%、0.2%女贞子水提物均可显著降低6w肉仔鸡心或肝MDA含量
- 0.1%、0.2%女贞子水提物均可显著提高6w肉仔鸡肝脏GR活性
- 女贞子水提物对肉仔鸡生产性能、胴体品质、肌肉品质和脂类代谢等相关数据正在统计当中
- 女贞子水提物体外抑菌和H5亚型禽流感抗体效价测定试验进行中

3、沙棘

C18小柱和半制备高压液相色谱精制沙棘黄酮，结果表明此方法精制效果良好；实验表明，95%乙醇的综合效果最好，说明此法能有效地除去提取液中的多糖、鞣质等杂质；沙棘黄酮收率为70.87%，纯度为34.5%。

•在妊娠初期母猪饲料中添加沙棘黄酮（0.1g/kg），同时设对照（基础日粮），观察沙棘黄酮对其仔代肉品质的影响的试验已经开始。

沙棘各部位黄酮含量（%）

部 位	沙棘果渣	沙棘叶	沙棘果
脱脂醇提	1.67 ± 0.05	3.62 ± 0.14	4.13 ± 0.20
未脱脂醇提	0.98 ± 0.03	2.06 ± 0.08	0.88 ± 0.03
脱脂水提	1.09 ± 0.04	2.20 ± 0.11	3.33 ± 0.12
未脱脂水提	0.25 ± 0.01	1.47 ± 0.05	0.10 ± 0.01

下一步的工作

研究五味子、女贞子、沙棘提取物抗菌性能及对东北民猪和东农高低脂系肉仔鸡生长性能, 抗氧化性能、 MSTN 基因、 ob 基因、 LPL 基因等相关基因表达规律及肉质的影响。

第四部分

抗菌肽的生物学作用

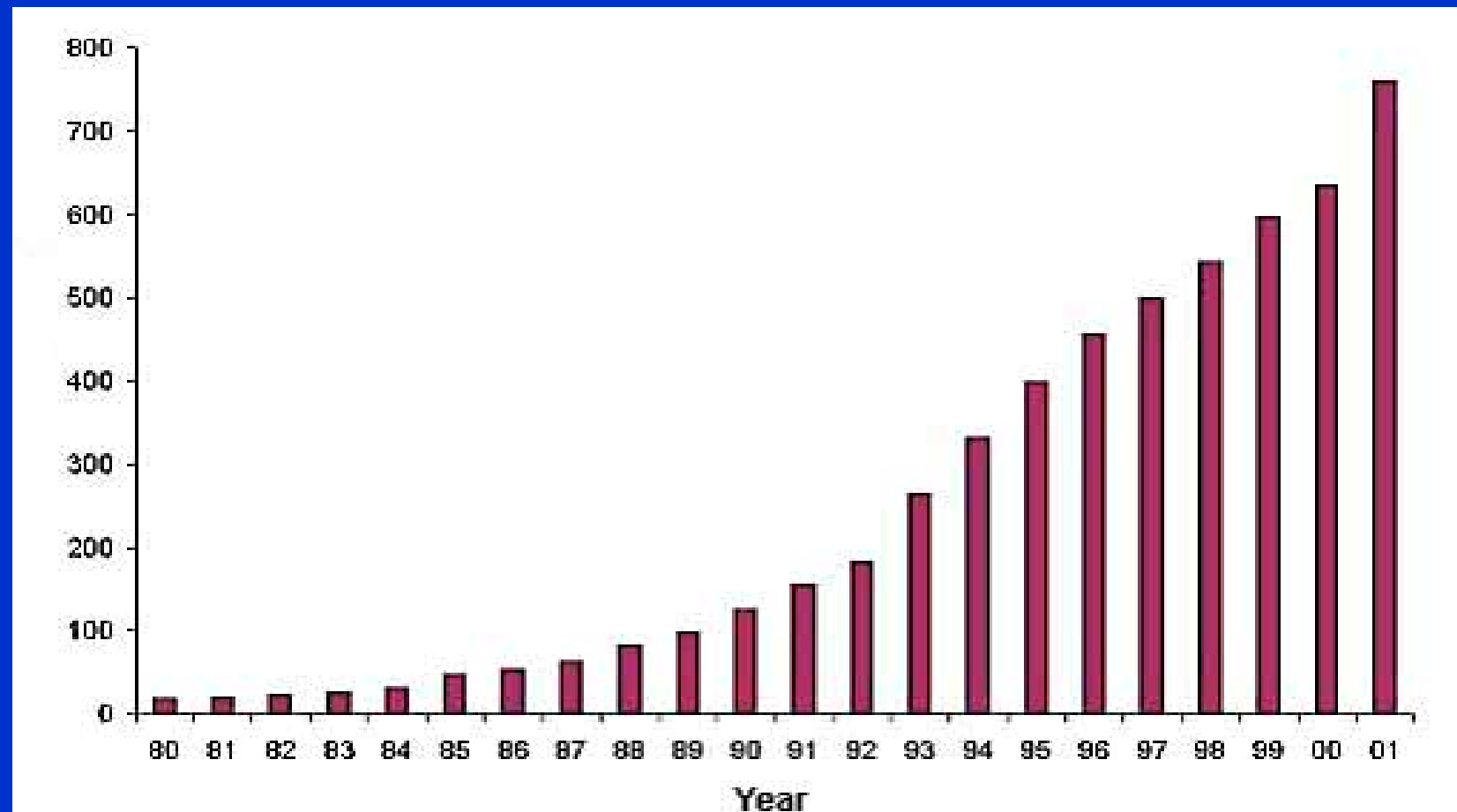
主要内容

- 1 抗菌肽的概念与特性
- 2 抗菌肽的分类
- 3 抗菌肽的结构
- 4 抗菌肽的作用机制
- 5 抗菌肽的分子生物学研究
- 6 抗菌肽的应用

1 抗菌肽的概念

- 抗菌肽(**Antibacterial Peptides**)是生物体产生的一种具有抗菌活性的多肽，多数抗菌肽具有分子小、带正电、两亲性、广谱抗菌等共同特点，它们在宿主先天性免疫和适应性免疫中有重要作用。

发现800多种内源性抗菌肽



2 抗菌肽的分类

按来源

昆虫抗菌肽、蛙类抗菌肽、鱼类抗菌肽、哺乳动物抗菌肽、微生物抗菌肽和病毒抗菌肽

抗菌肽的结构和三维构象的差异

具有 α 螺旋结构的线性肽；含有二硫键的 β 折叠结构；由一种或多种氨基酸为主构成的多肽；具有环形结构的多肽

合成部位不同

非核糖体合成的多肽和核糖体合成的多肽

生物化学特性

线型、环式、氨基酸组分等抗菌肽

3 抗菌肽的结构

一级结构:

目前发现的抗菌肽他们有**30**个氨基酸残基组成，不同来源的多肽的氨基酸序列具有较强的保守性且具有如下特点：

- ① **N** 端由碱性氨基酸残基组成。
- ② **C** 端均酰胺化。
- ③ 绝大多数肽在第二位为**Trp**，它对杀菌活性至关重要。
- ④ 分子量在**4K** 左右。

二级结构

- **α -螺旋**：具有近乎完美的双亲螺旋结构，即螺旋纵轴的一个侧面为带正电荷的亲水系，另一侧为疏水性氨基酸占优势的疏水区域。
- **β -折叠**：抗菌肽有许多保守序列，在N 端容易形成 α -螺旋，中间部分易形成 β -折叠或铰链，抗菌肽折叠之间具有二硫键连接。其典型的 β -折叠代表是最初发现于哺乳动物组织的防御素分子。

离子通道的形成模式图

A-大多数疏水性抗菌肽形成的跨膜螺旋束模型;

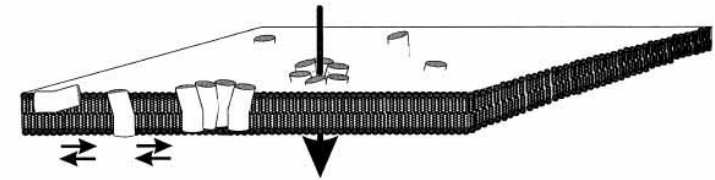
B-蛀洞模型;

C-地毯式模型;

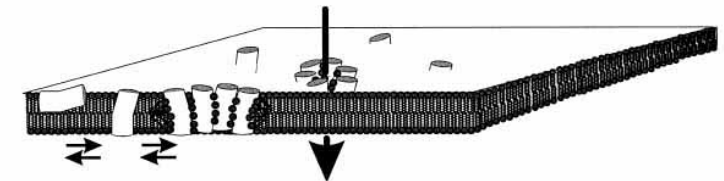
D-平面扩散模型;

E-变性剂样效应

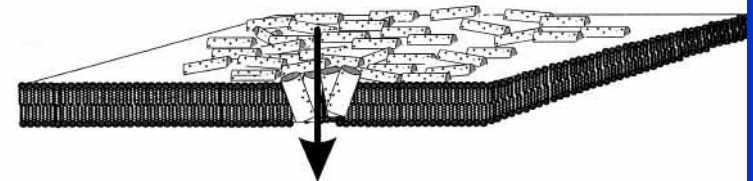
A



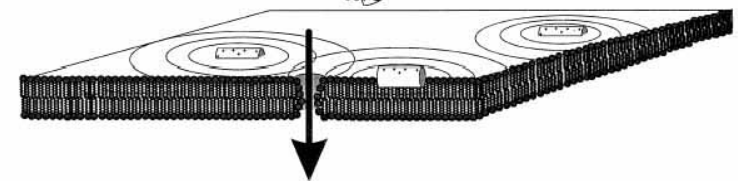
B



C



D



E



4 抗菌肽的作用机制

抗菌肽对细菌、真菌、原虫、病毒、癌细胞的杀伤作用。抑制细胞呼吸，抑制细胞外膜蛋白的合成，抑制细胞壁的形成，在细胞膜上形成离子通道。抗菌肽是先天性免疫因子，多种生物学功能，作用机制不同于传统抗生素

抗菌肽的作用特点

- 对多种病原体(细菌、病毒、真菌、寄生虫)和癌细胞具有杀伤或抑制作用,而对真核细胞不具细胞毒作用;
- 生物学活性稳定,在高离子强度和酸、碱环境中或100℃加热10min时仍具有杀P抑菌作用
- 能与宿主体内某些阳离子蛋白、溶菌酶或抗生素协同作用,增强其抗菌效应;
- 杀菌机制(菌细胞膜穿孔)与抗生素不同,不易产生抗菌肽耐药菌株;
- 能与细菌脂多糖(LPS)结合,即具有中和内毒素的作用,因此,对G-菌败血症和内毒素中毒性休克具有很好的防治作用;
- 调节细胞因子表达

抗菌肽与传统抗生素的比较

- **产生机制不同：**传统的抗生素主要是细菌的发酵产物，由酶促反应合成，而抗菌肽是由宿主基因编码在核糖体上合成的产物。
- **杀菌机制不同：**传统的抗生素大多数是通过抑制细菌细胞壁或**DNA**的合成而发挥作用，而抗菌肽主要通过带负电的微生物细胞膜直接作用，改变其通透性，造成膜的物理性损伤，导致细胞内容物外渗而死亡。
- **作用方式不同：**传统的抗生素作用涉及到和细菌胞膜上或胞内特异的受体结合，且受体类型有限，细菌容易通过变异而产生耐药性，抗菌肽的作用不涉及特定的受体，完全是阴阳离子的物理作用，它可以很快杀灭微生物而不产生抗性。

5 抗菌肽的分子生物学研究

- 抗菌肽克隆基因的表达研究
- 抗菌肽转基因研究

抗菌肽克隆基因的表达研究

人（年）	采用技术	抗菌肽
SangHyunKim （1998）	利用差异显示技术	Enbocin
Kang D（1996） 刘振义、屈贤铭（ 1999）	利用差异显示技术 利用差异显示技术	Lysozyme, Attacin 241bp片段
KimHS（1996） ParkIY（1998） 谢毅等（ 1990） 谢维（ 1996） 李燕红（ 1996）	PCR技术扩增技术 PCR技术扩增技术 人工合成和基因克隆表达 人工合成和基因克隆表达 人工合成	Buforin I Parasin I 天蚕抗菌肽B基因 家蚕抗菌肽CMIV基因 天蚕素A和蜂毒素杂合15肽基 因
吴映雅（ 1998）	利用柞蚕抗菌肽 D 基因片段与 碱性成纤维细胞生长因子（ bFGF ）构建融合基因	pVT2CDGF 转化酵母菌表达
刘鹏飞（ 1999）	人工合成	蛙皮素与蜂毒素的杂合 27 肽

抗菌肽转基因研究

抗菌肽转基因动物（或植物）研究

Reed WA（1997）	抗菌肽转基因小鼠的抑菌作用
Yarus（1996）	用转基因小鼠生产抗菌肽的实验研究
David Winder（1998）	转基因抗菌肽对肿瘤细胞生长的抑制作用
Kokoza（2000）	抗菌肽转基因蚊子的抗菌作用
贾士荣（1996）	抗青枯病的转基因马铃薯
黄大年（1997）	抗白叶枯病菌和细条病菌转基因水稻
丹尼斯·格雷	抗皮尔斯(PIERCE'S)病的转基因葡萄

5.1 Bovine Lactoferricin编码基因的合成 及在大肠杆菌中的表达研究

研究的基本情况

- 根据大肠杆菌密码子偏爱性，设计、合成了抗菌肽LfcinB的编码基因，构建表达载体pGEX-Th-LCB与pGEX-Th-Xa-LCB，经IPTG诱导，经蛋白质印迹分析表明，证明融合蛋白GST-Th-LfcinB与GST-Th-Xa-LfcinB成功获得表达。
- 经亲和层析柱纯化回收两种融合蛋白，纯度较高，达到95%以上，但产量较低，平均每升诱导细菌培养物仅获得19mg融合蛋白。两种融合蛋白的表达量占菌体蛋白总量的22%。
- 融合蛋白GST-Th-LfcinB经Thrombin作用后，得到具有抑菌活性的重组抗菌肽LfcinB，成功实现了抗菌肽LfcinB的异源表达，平均每升诱导细菌培养物获得LfcinB 200μg。

技术路线

构建原核表达载体pGEX-Th-LCB与pGEX-Th-Xa-LCB



转化E.coli BL21, IPTG诱导



超声波裂解细胞,

GST亲和层析柱纯化表达的融合蛋白

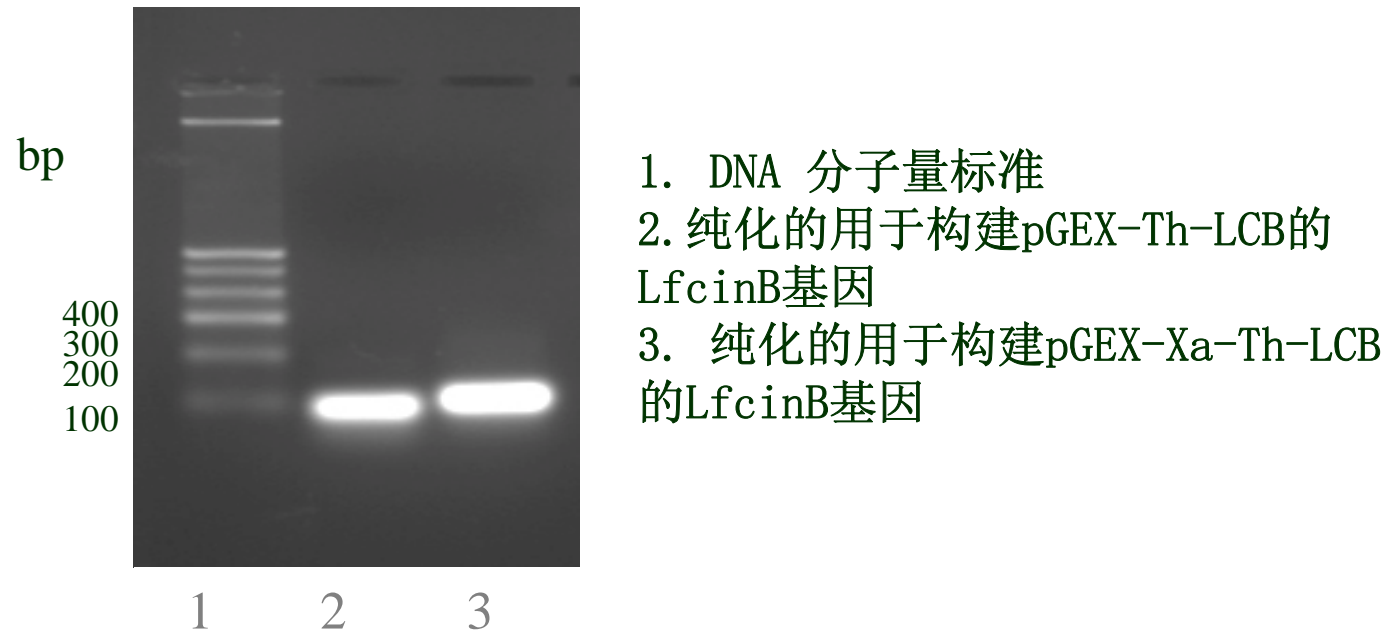


凝血酶Thrombin、Factor Xa裂解融合蛋白, 纯化rLfcinB



抑菌试验检测rLfcinB活性

多核苷酸的磷酸化、退火、连接及编码基因的纯化



纯化的合成LfcinB编码基因

四条多核苷酸经T4 DNA连接酶连接，形成完整的编码LfcinB的基因片段，分别为88bp与100bp，经2.5%凝胶电泳、纯化试剂盒回收后，分别得到两种纯化的基因片段。

1) pGEX-Th-LCB测序结果

TCTGGTTCCGCGTGGATCCTTCAAATGCCGCCGTTGGCAGTGGCGTATG
AAAAAACTGGGTGCGCCGTCTATTACCTGCGTGCGTCGCGCGTTCTAAG
AATTCCCGGGTCGACTCGAGCGGCCGCATCGTGACTGACTGACGATCTG
CCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTC
CCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAA
GCCCCGTCAGGGGCGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGGCGCA

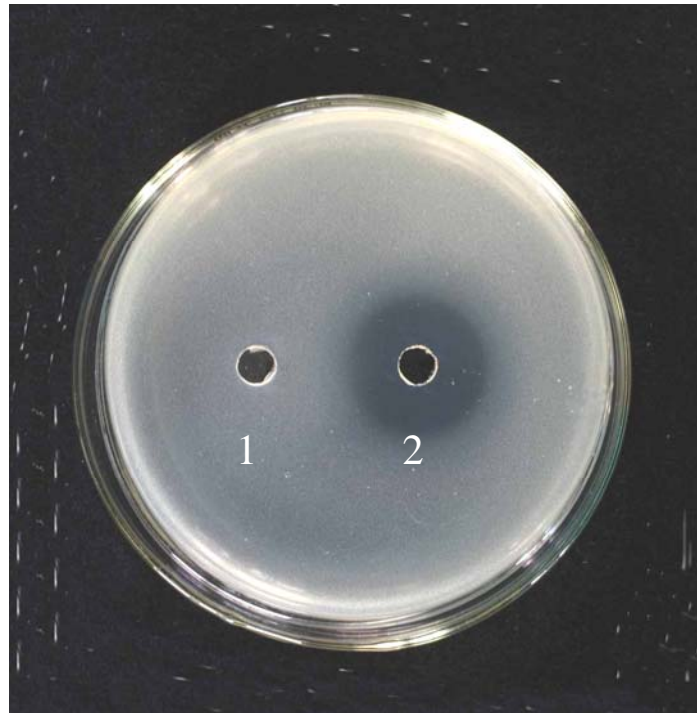
2) pGEX-Th-Xa-LCB测序结果

TCCAAAATCGGATCTGGTTCCGCGTGGATCCATCGACGGTCGTTTCAA
TGCCGCCGTTGGCAGTGGCGTATGAAAAAACTGGGTGCGCCGTCTATTA
CCTGCGTGCGTCGCGCGTTCTAAGAATTCCCGGGTCGACTCGAGCGGCC
GCATCGTGACTGACTGACGATCTGCCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGT
GAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGT
AAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCCGTCAGGGGCGCGTCAGC

纯化产物抗菌蛋白含量

Bradford方法测定蛋白质含量，平均每升培养基能够获得19mg融合蛋白GST-Th-LfcinB与GST-Th-Xa-LfcinB。

LfcinB的活性鉴定



1. 对照孔

2. 处理孔

重组LfcinB对金黄色葡萄球菌(*S. aureas* ATCC25923)的抑菌活性

下一步的工作

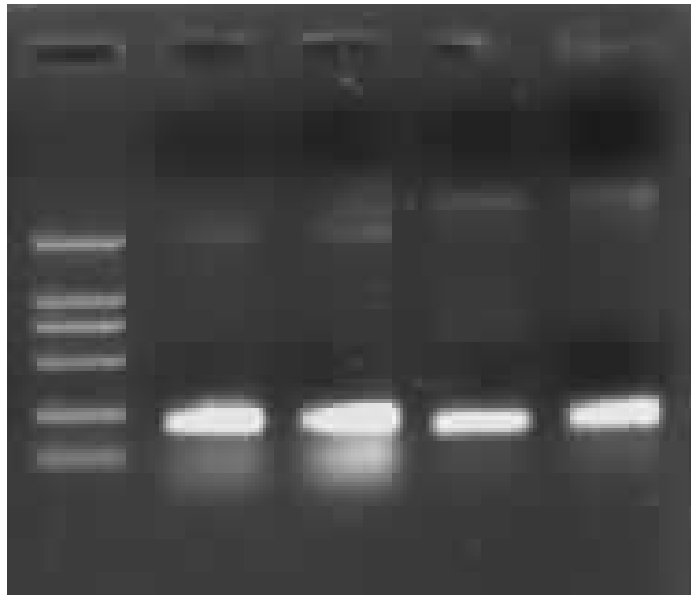
- 探索优化条件，增加表达量。
- 改造分子结构(Trp10)，提高抗菌功能。
- 探讨其生理代谢功能及对肉质的影响

5.2 鸡源抗菌肽的研究

研究的基本情况

- 早在1994年，Evans等发现了的禽抗菌肽Gallinacins 1-3（Gal1- Gal 3），和Gal 1 α ，并发现它们有广谱抗菌作用。Lynn等于2004年发现了7个新的鸡抗菌肽（Gal 4-Gal 10）和肝表达抗菌肽（AMP-2）。在此基础上，本课题组分别克隆了鸡Gal 6，Gal 8和Gal 9基因，并拟对它们的功能进行进一步探讨。
- 采集1月龄鸡肝脏组织，提取组织细胞总RNA，分别用鸡Gal 6，Gal 8和Gal 9特异引物，扩增三基因，对PCR产物进行回收→连接→转化→质粒提取→电泳鉴定确为目的片断的重组质粒，测序结果与预想的一致

鸡Gal-6, Gal-8和Gal-9基因扩增结果



- **Gal-6测序结果**

- CCAGGCCAAGCTT(HindIII)GCATGCCTGCAGGTCGACGATT
ATGAGAATCCTTTTCTTCCTTGTTGCTGTTCTCTTCTTCCTCT
TCCAGGCTGCTCCAGCTTACAGCCAAGAAGACGCTGACACC
TTAGCATGCAGGCAGAGCCACGGCTCCTGCTCTTTTGTGTC
ATGCCGTGCTCCTTCAGTTGACATTGGGACCTGCCGTGGTG
GGAAGCTGAAATGCTGCAAATGGGCACCTAGCTCCTAAAAT
CTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTTCGTAATCA
TGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACA
ATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAG
CCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCG
TTGCGCTCACTGCCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGC
CAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCG
GTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACT
CGCTGCGCTCGGTTCGTTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCT
CACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGG
ATAACGCAAGGAAANAACATGTGANCAAAAAGCCAGCAAA
AAGGNCAGGAAACCGTAAAAAAGGCCGCGNTGCTGGGGNT
TTTTCATAAGGTNCGCCCCCTGGAGANCATCACAAAAATC
GACGCTCAAGTCAGAAGGTGGGGGAAAACCCGACAGGACT
ATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCTGGNANCTNCCTCGTGNG
CTCTCCTGGTTCGACCTGCGCTTAACGGANAACCTGTCNCCTT

- **Gal-8测序结果**

GGTCAGTGCCAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACGATTATGAAGATCCTCTGCCTGCTCTTCGCTGTTCTC
CTCTTCCCTCTTCCAGGCTGCTCCAGGCTCAGCAGACCCACTTTTCCCTGACACCGTGGCATGCAGGACTCA
GGGGAATTTCTGCCGTGCTGGGGCATGCCCCCCCCACCTTCACCATCTCTGGGCAGTGCCATGGGGGGCTGT
TAAACTGCTGTGCCAAGATTCCGGCGCAGTAAAATCTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTCG
TAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGG
AAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGC
CCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCCG
TTTGC GTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGCTGCGGCGAGC
GGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACAT
GTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAAGCT
CCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAANTCAGAAGTGGCG

- **Gal-9测序结果**

- TATGGAGAAAGCGCCACGTCTCCCCGAGAGGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGG
TCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTACAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTT
TCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCA
GCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCC
TGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGC
GCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGC
CGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAA
TGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT
TGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGG
GGATCCTCTAGAGATT
ATGCAGATCCTGCCTCTCCTCTTTGCTGTCCTCCTCCTGATGCTCCAGGCAGAACCCAGGGCTGTCCCTTGCT
CGAGGATTACCCAGGACTGTGAGCGCCGTGGGGGCTTCTGCTCCACAAAGTCATGTCCTCCAGGGATCG
GCCGCATTGGCCTCTGCTCCAAGGAAGACTTCTGCTGCCGGAGCCGATGGTATTCCTGAAATCGTCGACCT
GCAGGCATGCAAGCTGGACTGCGAGGAAGTACSAWAACTACG

下一步的工作

- 构建Ga1-6、Ga1-8和Ga1-9基因原核表达载体，在E. coli中高效表达Ga1-6、Ga1-8和Ga1-9融合蛋白并进行分离、纯化
- 研究Ga1-6，Ga1-8和Ga1-9融合蛋白在体外抑菌和抗病毒作用
- 利用以上抗菌肽进行动物试验，研究其抗菌作用及对肉质的影响

存在问题

- 由于抗菌肽的分子小，所以直接从动植物组织中提取天然抗菌肽时，分离提纯存在一定的困难；
- 化学合成抗菌肽成本较高；
- 通过基因工程在微生物中直接表达抗菌肽基因，由于抗菌肽分子小，易被蛋白酶降解，而且表达产物可能对宿主有害，从而影响了基因的高水平表达；
- 与传统抗生素相比，某些抗菌肽的抗菌活性还不够理想。

解决办法

- ✓ 改造已有抗菌肽和设计新抗菌肽分子；
- ✓ 提高生产效率，降低成本；
- ✓ 生产出一种新型、高效、低毒、广谱的抗菌肽。

6 抗菌肽的应用

- 抗菌肽主要成分为易消化吸收的氨基酸，可作为畜禽饲料添加剂取代抗生素。
- 目前，广东省应用抗菌肽基因转化酵母进行高效表达，经发酵条件优化，生产抗菌肽酵母制剂，用作畜禽及水产饲料添加剂，代替抗生素预防及治疗仔猪白痢和雏鸡白痢有明显效果。
- 浙江大学汪以真（**2005**）对猪乳铁蛋白基因进行克隆、表达并将其产物用作断奶仔猪饲料添加剂，发现其产物对断奶仔猪生长性能、免疫和抗菌肽基因表达均有一定的调节作用。

理论和实践为抗菌肽作为新型绿色饲料添加剂提供了理论和实践基础。

谢谢大家, 敬请赐教!

