

Tu-2 制剂对肉兔生产性能及肠道微生物菌群的影响

顾雅君¹, 李秀敏¹, 刘建荣¹, 王世英^{2*}, 李 宾³

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 河北农业大学 生命科学学院, 河北 保定 071001;

3. 河北省科学院 微生物研究所, 河北 保定 071051)

摘要: 选用 500 只体质量相近的 35 日龄健康肉兔, 随机分成试验组和对照组。对照组饲喂基础日粮, 试验组 35~59 日龄饲喂添加 0.1% Tu-2 制剂的基础日粮, 之后停止饲喂 Tu-2 制剂, 以探究 Tu-2 制剂对肉兔生产性能及肠道微生物菌群的影响。结果显示: 添加 0.1% 的 Tu-2 制剂后, 肉兔平均日增体质量提高 12.84%, 料重比降低 11.67%, 腹泻率下降 43.75%; 第 8~25 天, 试验组肉兔粪便中芽孢杆菌、双歧杆菌、乳酸菌数量分别提高 34.51%、43.73%、30.89%, 大肠杆菌数量降低 30.56%; 停喂 Tu-2 制剂后, 试验组肉兔生产性能及粪便中菌群数量等指标又逐渐接近对照组。可见, Tu-2 制剂可改善肉兔肠道生态环境, 有效预防腹泻, 提高饲料转化率。

关键词: 肉兔; Tu-2 制剂; 微生物菌群; 腹泻; 生产性能

中图分类号: S829.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2014)05-0164-04

Effects of Tu-2 Preparation on Microbial Flora in Intestinal Tract and Growth Performance of Meat Rabbit

GU Ya-jun¹, LI Xiu-min¹, LIU Jian-rong¹, WANG Shi-ying^{2*}, LI Bin³

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

2. College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China;

3. Microbiology Institute, Hebei Academy of Sciences, Baoding 071051, China)

Abstract: Five hundred 35 day sold meat rabbits of similar mass and health were selected. Meat rabbits were divided into test group and control group randomly. Meat rabbits of the control group were fed with the basic diet. The test group were supplemented with 0.1% Tu-2 preparation from 35 days old to 59 days old. Then Tu-2 preparation was stopped adding. The changeable regular of microbial flora in meat rabbit manure and growth were observed and recorded. The results showed after adding 0.1% Tu-2 preparation meat rabbits weight increased by 12.84% on the average, material weight ratio and diarrhea rate fell by 11.67% and 43.75%; average number of bacillus, bifidobacterium and lactobacillus increased by 34.51%, 43.73% and 30.89% respectively, while the number of *Escherichia coli* decreased by 30.56% compared with the control group from eighth to fifth day. When Tu-2 preparation was stopped, the relative indexes of the test group closed to the control group gradually. Therefore, Tu-2 preparation can improve the ecological environment of meat rabbit intestinal tract and prevent diarrhea effectively and improve feed conversion rate.

Key words: meat rabbits; Tu-2 preparation; microbial flora; diarrhea; growth performance

收稿日期: 2014-01-12

基金项目: 国家星火计划项目(2010GA105010); 河北科技支撑计划项目(12227107D-1); 河北大学自然科学研究计划项目(12010-195)

作者简介: 顾雅君(1962-), 女, 河北辛集人, 副研究员, 本科, 主要从事微生物及生物化学方面的研究。

E-mail: yajun4502@163.com

* 通讯作者: 王世英(1963-), 男, 河北安平人, 教授, 本科, 主要从事农业微生物方面的研究。E-mail: wsy99999@126.com

兔肉具有高蛋白质、高赖氨酸、高消化率和低脂肪、低胆固醇、低能量“三高三低”的特点,越来越受到人们的青睐。与其他单胃家畜相比,肉兔的消化道有许多特殊之处,如盲肠极为发达,在所有单胃草食动物中兔的盲肠比例最大,盲肠酷似一个天然的发酵袋,其中含有大量微生物。但肉兔易腹泻,腹泻病是肉兔养殖过程中危害最大的疾病,其发病率和死亡率都较高,尤其是 2 月龄以内的仔、幼兔较为多发。经调查,在肉兔死亡病例中约 80% 由腹泻引起。肉兔腹泻大多由于微生物菌群失调造成,在某些条件下,肠道微生态系统被破坏,肠道正常菌群种类、数量和比例发生异常变化,偏离正常的生理组合,转变为病理性组合状态,导致肉兔饲料转化率、生长迟缓^[1-2]。

添加益生菌可以净化动物体内环境,帮助维持肠道内正常的菌群平衡,扶植正常微生物菌群,补充肠道内的有益菌群,形成优势菌群,进而抑制有害菌的生长繁殖,达到防治腹泻的目的^[3-11]。国内外关于用益生菌治疗腹泻,提高肉兔生产性能的报道较多。全军^[12]用益生菌培养物使肉兔的日增体质量提高了 24.87%、腹泻率降低 18.7%。陈桂银^[13]用芽孢杆菌等提高了肉兔生产性能,降低了死亡率。郭添福^[14]在断奶仔猪饲料中添加酵母菌,结果显示,肠道黏膜的巨噬细胞明显增多,加强了抵抗细菌感染的能力。

枯草芽孢杆菌 Tu-2 菌株是从健康肉兔肠道中筛选、发酵后处理得到的益生菌,对肉兔肠道腹泻病原菌有拮抗作用,并对一些消化酶(纤维素酶、蛋白酶等)活性有提高作用^[13]。目前,尚未见有关 Tu-2 制剂对肉兔生产性能等方面作用效果的报道。为此,本试验测定供试肉兔的生产性能及粪便中的芽孢杆菌、双歧杆菌、乳酸菌、大肠杆菌数量,研究 Tu-2 制剂对肉兔肠道微生物菌群的影响,为进一步探讨 Tu-2 制剂在肉兔养殖业的推广应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

枯草芽孢杆菌 Tu-2 制剂:从肉兔肠道中分离、筛选枯草芽孢杆菌 Tu-2 菌株,然后经发酵处理制备而成。

供试动物购自北京新西兰肉兔养殖场大庄兔养殖基地。

分离、鉴定用培养基分别为 BBL 培养基(双歧杆菌)、EMB 培养基(大肠杆菌)、MRS 培养基(乳酸

菌)、PCA 培养基(芽孢杆菌)。基础日粮由大庄兔养殖基地提供,其组成与营养水平见表 1。

表 1 基础日粮组成与营养水平

原料	含量/%	营养成分	含量
玉米	30.0	消化能/(MJ/kg)	10.40
花生秧(风干)	36.0	粗蛋白质/%	15.85
食盐	0.8	粗纤维/%	11.92
麸皮	15.0	粗脂肪/%	3.01
豆粕	16.2	蛋氨酸+胱氨酸/%	0.47
磷酸氢钙	1.0	赖氨酸/%	0.67
预混料(1)	0.5~1.0	钙/%	1.40
		磷/%	0.58

注:(1)预混料为每千克饲料提供:维生素 A 8 000 IU、维生素 D 1 000 IU、维生素 B₁ 4 mg、维生素 B₂ 6 mg、维生素 B₆ 6 mg、Fe 120 mg、Zn 120 mg、I₂ 0.25 mg、Se 0.2 mg。

1.2 饲养管理和取样方法

选取 35 日龄肉兔 500 只,随机平均分成试验组和对照组。试验组在 35~59 日龄基础日粮中添加 0.1% Tu-2 制剂,之后停喂 Tu-2 制剂,对照组饲喂基础日粮。单笼饲养,内外环境一致,每天定时添料,记录各组的采食量,饲养 75 d 出栏。分别在 35、59、75 日龄时准确称体质量,计算平均日采食量、平均日增体质量和料重比,并计算每组肉兔腹泻率和死亡率。

采集对照组和试验组新鲜粪便样品。第 1~10 天每天取 1 次样,第 11~21 天每 3 d 取 1 次样即分别于第 13、16、19 和第 21 天取样,第 22~40 天每 5 d 取 1 次样,第 40 天单独取样。

1.3 肉兔粪便中微生物菌群的分离培养

取 0.5 g 新鲜肉兔粪便样品,采用 10 倍梯度稀释法稀释至 10⁻⁶,选择至少 3 个稀释度,每个稀释度作 3 个平行,分别涂布于 EMB、MRS、BBL 培养基上,接种量为 100 μL。37℃ 恒温培养 24 h,选择平板菌落数在 50~200 个的进行计数,分别检测粪便中大肠杆菌、乳酸菌和双歧杆菌数量。检测芽孢杆菌数量时,将肉兔粪便放置 2~3 d(芽孢杆菌充分形成芽孢)制成悬浮液,将悬浮液于 80℃ 水浴 10 min,再用 10 倍梯度稀释平板法,无菌操作接种于 PCA 培养基上,37℃ 恒温培养(其他同前)。

1.4 数据处理

试验数据用 SPSS 软件进行统计分析,用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 Tu-2 制剂对肉兔生产性能的影响

由表 2 可知,在添加 Tu-2 制剂期间(第 1~25

天),与对照组相比,试验组腹泻率下降 43.75%,死亡率下降 29.41%,料重比降低 11.67%,平均日增体质量提高 12.84%,均达显著水平($P<0.05$);当停饲 Tu-2 制剂后(第 26~40 天),与对照组相比,试验组

腹泻率降低 17.65%,死亡率降低 11.11%,平均日增体质量提高 7.65%,料重比降低 5.41%,均达显著水平($P>0.05$)。表明 Tu-2 制剂具有提高肉兔生产性能的作用,但停饲后其作用会逐渐降低甚至消失。

表 2 各组肉兔的生产性能

试验时间/d	兔日龄	组别	平均日采食量/g	平均日增体质量/g	料重比	腹泻率/%	死亡率/%
1~25	35~59	对照组	2 273±33.35	717.20±32.37	3.17	8.0	3.4
		试验组	2 273±33.35	809.31±24.51	2.80	4.5	2.4
26~40	60~75	对照组	3 699±44.72	1 088.00±31.33	3.40	3.8	1.8
		试验组	3 699±44.72	1 176.94±72.40	3.14	3.0	1.6
1~40	35~75	对照组	5 972±83.00	1 805.20±63.22	3.31	11.8	5.2
		试验组	5 972±83.00	1 916.25±96.32	3.12	8.5	3.7

2.2 Tu-2 制剂对肉兔粪便中微生物菌群数量的影响

由图 1 可以看出,饲喂 0.1% 的 Tu-2 制剂后第 5~7 天,试验组粪便中的微生物菌群数量与对照组差异达到最大值,且在试验第 8~25 天基本稳定。第 8~25 天,与对照组相比,试验组肉兔粪便中的平均芽孢杆菌、双歧杆菌、乳酸菌的数量分别提高 34.51%、43.73%、30.89%,而大肠杆菌数量降低

30.56%,均达到显著水平($P<0.05$)。与停饲第 1 天比较,停饲 Tu-2 制剂后第 40 天(75 日龄)试验组粪便中的芽孢杆菌、双歧杆菌和乳酸菌数量分别降低 12.61%、8.76%、12.0%,而大肠杆菌数量增加 20.35%。添加 0.1% 的 Tu-2 制剂后,试验组肉兔粪便中的有益菌数量比对照组不同程度提高,有害菌数量降低;当停饲 Tu-2 制剂后,试验组有益菌数量逐渐减少,并越来越接近于对照组。

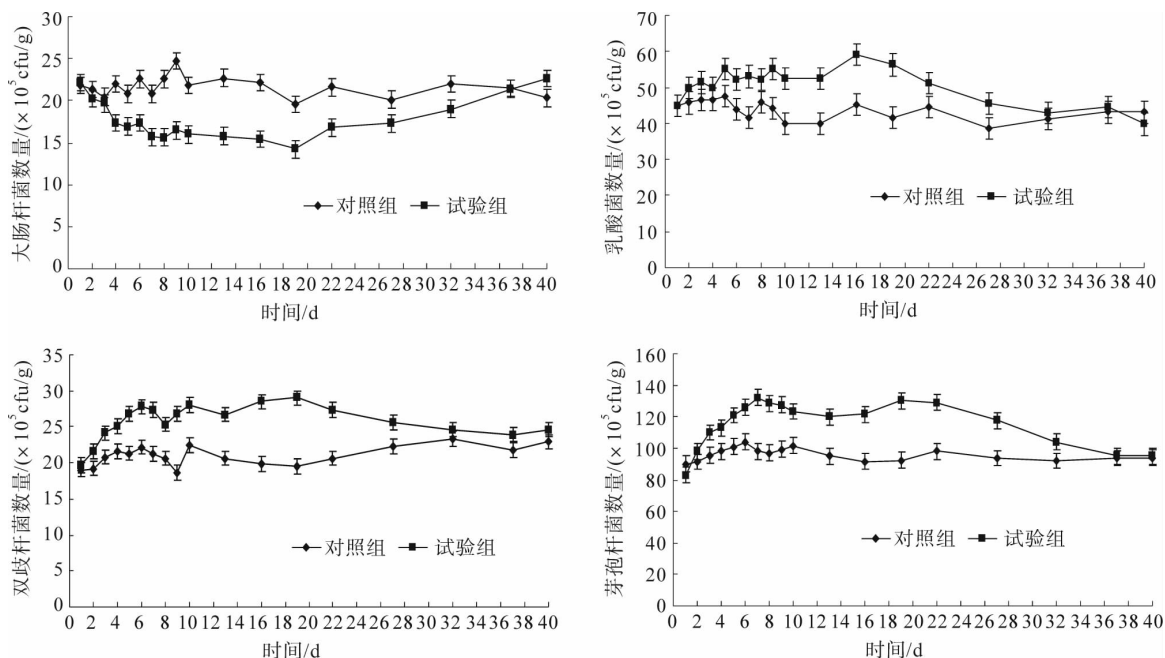


图 1 各组肉兔肠道菌群数量

3 结论与讨论

本研究表明,饲喂 Tu-2 制剂后,肠道菌群数量变化不明显,这是由于 Tu-2 制剂在肠道内定植需经过适应阶段,方能建立新的微生态环境,第 7 天与对照组差异最大,之后菌群数量保持相对平稳水平。

饲喂 0.1% 的 Tu-2 制剂后,肉兔粪便中的有益菌芽孢杆菌、双歧杆菌和乳酸菌数量增多,而有害菌大肠杆菌数量明显下降。说明 Tu-2 制剂进入肉兔肠道后,改变了菌群数量。外源添加益生菌可以有效减少病原微生物在动物肠道中的数量,为动物成长提供一个健康的肠道环境^[15-17], (下转第 175 页)

- tor1[J]. *Nature*, 1999, 40: 265.
- [4] Chen Y, Hu C, Hsu C K, *et al.* Targeted disruption of the melanin-concentrating hormone receptor-1 results in hyperphagia and resistance to diet-induced obesity [J]. *Endocrinology*, 2002, 143(7): 2469-2477.
- [5] Ghosh T. Studies on codon usage in *Entamoeba histolytica* [J]. *International Journal for Parasitology*, 2000, 30: 715-722.
- [6] Wright F. The effective number of codon's used in a gene[J]. *Gene*, 1990, 87(1): 23-29.
- [7] 魏星灿, 贾青, 陶隽, 等. 猪 *Cbl* 基因的生物信息学分析[J]. *河南农业科学*, 2013, 42(12): 129-132.
- [8] 王丁科, 阎萍, 梁春年, 等. 牦牛 *IGF2* 内含子的遗传多态性及其遗传效应分析[J]. *华北农学报*, 2009, 24(2): 107-111.
- [9] 杨洪一, 孙立娜, 张杰, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒抗原表位预测[J]. *河南农业科学*, 2013, 42(8): 67-70.
- [10] 胡慧艳, 贾青, 陶隽, 等. 家猪 TBP 蛋白结构与理化性质的生物信息学分析[J]. *河南农业科学*, 2014, 43(3): 128-132.
- [11] 李易. 基因进化的同义与非同义替代计算及统计检验的比较分析[J]. *曲靖师范学院学报*, 2006, 25(6): 1-8.
- [12] 董娇, 周军, 辛培尧, 等. 不同植物 *LDOX/ANS* 基因的生物信息学分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2010, 29(5): 815-822.
- [13] 薛永常, 聂会忠, 刘长斌. 木质素合成酶 C3H 基因的生物信息学分析[J]. *生物信息学*, 2009, 7(1): 13-17.
- [14] Shichida Y, Imai H. Visual pigment: G-protein-coupled receptor for light signals[J]. *Cell Mol Life Sci*, 1998, 54: 1299-1315.
- [15] Ebrey T, Koutalos Y. Vertebrate photoreceptors[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2001, 20(1): 49-94.
- [16] Bellingham J, Foster R G. Opsins and mammalian photoreception[J]. *Cell Tissue Res*, 2002, 309: 57-71.
- [17] Bjursell M, Gerdin A K, Ploj K, *et al.* Melanin-concentrating hormone receptor 1 deficiency increases insulin sensitivity in obese leptin deficient mice without affecting body weight[J]. *Diabetes*, 2006, 55(3): 725.

(上接第 166 页) 促进有益菌的繁殖, 通过抑制有害菌的生长, 纠正肠道的功能紊乱, 维持肠道菌群平衡(其机制尚待进一步探讨), 提高机体免疫力, 从而使肉兔发生腹泻病几率减少。肉兔的平均日增体质量提高、料重比降低, 养殖肉兔的经济效益提高。当停饲该制剂后, 试验组粪便中微生物菌群又逐渐接近对照组。说明 Tu-2 制剂在肉兔肠道中具有一定的滞留效应, 但不是常驻菌群。同时也提示应连续饲喂 Tu-2 制剂。

参考文献:

- [1] 向凌云, 张秀江, 刘德海. 预防幼兔腹泻的新概念新方法[J]. *特种经济动植物*, 2008(5): 15-17.
- [2] 周雨霞, 侯先志. 益生菌与肠道疾病[J]. *中国微生物生态学杂志*, 2006, 18(2): 147-148.
- [3] 张燕, 季海峰, 徐炜玲. 益生菌对动物肠道微生物生态学影响的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2007, 34(3): 15-17.
- [4] 许维娜. 益生菌的研究进展[J]. *生物技术世界*, 2012, 54(5): 33.
- [5] 张恒业, 李自刚, 白继武. 免源微生态制剂在豫丰黄幼兔肠道的定植性研究[J]. *郑州牧业工程高等专科学校学报*, 2011, 31(1): 4-6.
- [6] 赵泮峰, 任战军, 王洪阳. 早期断乳幼兔腹泻内因分析[J]. *饲料工业*, 2010, 31(23): 52-54.
- [7] 赵淑集, 吴成业. 水产饲用益生菌的作用机理及功效[J]. *天津农业科学*, 2010(5): 58-62.
- [8] 黄良策, 周凌云, 卜登攀, 等. 益生菌对泌乳后期奶牛生产性能的影响[J]. *华北农学报*, 2012, 27(B12): 406-409.
- [9] 卫龙兴, 戴连群, 陆林才, 等. 仔猪饲喂益生菌制剂效果研究[J]. *现代农业科技*, 2011(1): 326.
- [10] 吴代圣, 吕李明, 丁建华. 复合益生菌发酵饲料饲喂生长育肥猪效果分析[J]. *现代农业科技*, 2011(1): 326.
- [11] 冯凡, 蒋启欢, 曾凯, 等. 益生菌作用机制及筛选方法研究进展[J]. *现代农业科技*, 2011(22): 52-54.
- [12] 仝军, 王建永, 赵超. 益生菌制剂对肉兔应用效果的影响研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(24): 13105-13106, 13108.
- [13] 陈桂银. 益生菌在兔营养中的应用(中)[J]. *中国养兔杂志*, 2007(3): 31-33.
- [14] 郭添福. 酵母培养物对保育猪的生长性能、肠道健康和免疫应答的影响[J]. *江西饲料*, 2010(1): 15.
- [15] Lee K W, Lee S H, Lillehoj H S, *et al.* Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry and immune characteristics in broiler chickens [J]. *Poultry Science*, 2010, 89(2): 203-216.
- [16] LeBon M, Davies H E, Glynn C, *et al.* Influence of probiotics on gut health in the weaned pig[J]. *Livestock Science*, 2010, 133(1-3): 179-181.
- [17] Fuller R. Probiotics in man and animals[J]. *Appl Bacteriol*, 1989(66): 366-378.