

# 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡血液指标、肠道形态及生长性能的影响

王政<sup>1\*</sup>, 张大伟<sup>1</sup>, 郭秋芝<sup>2</sup>, 齐长海<sup>1</sup>, 袁江<sup>1</sup>

(1. 青岛尚德生物技术有限公司, 山东青岛 266061; 2. 山东省工业与信息化研究院, 山东济南 250013)

**摘要:** 本试验旨在研究日粮中添加植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡血液指标、肠道形态及生长性能的影响。选择1 000只1日龄白羽肉鸡, 随机分为4个处理组: 常温对照组(TN), 热应激对照组(HS), 热应激+抗生素组(AB)和热应激+植物乳酸杆菌组(LAC), 每个处理组10个重复, 每个重复25只鸡, 试验周期为42 d。AB组在日粮中添加15%的金霉素(300 mg/kg全价料), LAC组在饮水中添加植物乳酸杆菌( $1.0 \times 10^{10}$  CFU/g, 200 mg/kg饮水)。从21日龄开始, HS组、AB组和LAC每天进行8 h热应激, 温度为35℃、相对湿度为75%。结果表明: 与TN组相比, HS组的均重和欧洲指数显著降低, 而耗料增重比显著升高。AB组和LAC组的均重显著高于HS组, 其中LAC组采食量显著高于AB组。与TN组相比, HS组血液中的脂多糖(LPS)、白介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )和干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )水平显著升高, 而超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和总抗氧化能力(T-AOC)含量显著降低。与HS组相比, 添加植物乳酸杆菌显著降低了热应激条件下白色羽肉鸡血液中LPS、IL- $1\beta$ 、IFN- $\gamma$ 和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)水平, 显著提高了血液中SOD和GSH-Px水平, 其中LAC组LPS、炎症因子水平和抗氧化能力与TN组无显著差异。与TN组相比, HS组空肠绒毛高度/隐窝深度显著降低, 而隐窝深度显著升高。与HS组相比, LAC组的绒毛高度及绒毛高度/隐窝深度显著升高, 隐窝深度显著降低。LAC组的隐窝深度及绒毛高度/隐窝深度与TN组无显著差异。综上所述, 日粮中添加金霉素和植物乳酸杆菌缓解了热应激对白羽肉鸡血液指标、肠道形态和生产性能产生的不利影响, 并且植物乳酸杆菌的改善作用优于金霉素。

**关键词:** 植物乳酸杆菌; 白羽肉鸡; 热应激; 血液指标; 肠道形态; 生长性能

**中图分类号:** S831.5

**文献标识码:** A

**DOI 编号:** 10.19556/j.0258-7033.20210429-01

夏季高温会对家禽健康和生产性能产生不利影响, 是制约家禽养殖集约化发展的重要影响因素之一。周加义等<sup>[1]</sup>研究发现热应激破坏了家禽肠道微生物区系平衡, 促使肠道黏膜通透性增加, 引发氧化应激和肠道炎症反应, 因此通过营养调控改善热应激条件下动物的免疫机能和抗病能力受到越来越多的关注。植物乳酸杆菌(*Lactobacillus plantarum*)属于乳杆菌属, 是动物肠道黏膜最早定植的有益微生物之一, 其具有增强黏膜免疫、抑制有害菌生长、维持肠道菌群平衡的能力<sup>[2-3]</sup>, 是一种极具开发前景的微生态制剂。本试验旨在考察植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡的生产性能、肠道

形态及血液指标的影响, 为植物乳酸杆菌在实际生产中的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 植物乳酸杆菌( $1.0 \times 10^{10}$  CFU/g)由青岛根源生物技术集团有限公司提供, 白羽肉鸡(ROSS 308)购买自当地农场。

**1.2 试验设计** 试验于2020年12月在青岛根源生物技术集团有限公司研发中心动物实验室进行, 选择1 000只1日龄白羽肉鸡(公母各半), 随机分为4个处理组: 常温对照组(TN), 热应激对照组(HS), 热应激+抗生素组(AB)和热应激+植物乳酸杆菌组(LAC), 每个处理组10个重复, 每个重复25只鸡。试验周期为42 d。白羽肉鸡在铺有新鲜木屑和稻壳(1:1)的地面圈舍中养殖, 自由采食颗粒料和饮水。1日龄温度和相对

收稿日期: 2021-04-29; 修回日期: 2021-07-29

作者简介: 王政(1977-), 男, 河南人, 博士, 研究方向为动物消化道微生物, E-mail: wangzheng1977@126.com

\* 通讯作者

湿度分别保持为  $35 \pm 1.1^\circ\text{C}$  和  $65\% \pm 5\%$ , 之后每周降低  $2.8^\circ\text{C}$  直到 21 日龄到达  $26.7^\circ\text{C}$ , 该温度以及  $65\% \pm 5\%$  的相对湿度被认为是等热区域。从 21 日龄开始, TN 组白羽肉鸡温度保持在  $26.7^\circ\text{C}$ , 而 HS 组、AB 组和 LAC 组每天进行 8h 的热应激, 温度为  $35^\circ\text{C}$ 、相对湿度为 75%, 直到 42 日龄试验结束。除 AB 组外其他处理组白羽肉鸡的玉米豆粕型日粮和饮水中均不添加抗生素, AB 组在日粮中添加 15% 的金霉素 (300 mg/kg 全价料), LAC 组在饮水中添加植物乳酸杆菌 ( $1.0 \times 10^{10}$  CFU/g, 200 mg/kg 饮水)。本试验所使用的不含抗生素或球虫药的配方日粮符合或超过 1996 年 NRC 的标准, 试验日粮组成及营养水平见表 1。第 42 日龄试验结束时统计各处理组白羽肉鸡的生长性能, 每个处理组随机选取 12 只鸡进行屠宰。

表 1 试验日粮组成及营养水平 (风干基础)

指标	1~21 d	22~42 d
原料组成, %		
玉米	57.03	65.26
豆粕	34.82	27.63
棕榈油	2.62	2.02
预混料 <sup>①</sup>	0.34	0.32
磷酸二钙	1.37	0.96
盐	0.41	0.35
石灰石	1.70	1.65
碳酸氢钠	0.10	0.10
DL-蛋氨酸 (98.5%)	0.33	0.33
L-赖氨酸盐酸盐 (78%)	0.19	0.27
氯化胆碱 (60%)	0.10	0.10
营养水平 <sup>②</sup>		
代谢能, MJ/kg	12.63	12.83
粗蛋白, %	21.48	18.80
粗纤维, %	2.49	2.38
粗脂肪, %	5.32	4.93
蛋氨酸, %	0.63	0.61
蛋氨酸 + 赖氨酸, %	0.97	0.91
赖氨酸, %	1.33	1.20
钙, %	1.00	0.90
总磷, %	0.72	0.61
有效磷, %	0.45	0.35

注: ①预混料为每千克饲料提供: 维生素 D<sub>3</sub> 400 IU, 维生素 A 1 000 IU, 维生素 E 20 IU, 维生素 B<sub>12</sub> 0.02 mg, 维生素 K 15.5 mg, 叶酸 0.55 mg, 胆碱 2 500 mg, 维生素 B<sub>1</sub> 2.5 mg, 泛酸 15 mg, 吡哆醇 5 mg, 核黄素 6.5 mg, 铁 80 mg, 锌 40 mg, 铜 8 mg, 锰 60 mg, 硒 0.15 mg, 碘 0.35 mg。②营养成分均为计算值。

1.3 生长性能测定 第 28、35 和 42 日龄早晨以重复为 1 个单位 (每个重复 25 只鸡) 空腹 (称重前停饲 12 h) 统

计白羽肉鸡的体增重、耗料量和耗料增重比, 如果发生死亡则记录死亡率。欧洲指数 = (均重 × 成活率) / (日龄 × 耗料增重比) × 100%。

1.4 样品采集 第 42 日龄试验结束后, 每个处理组随机选取 12 只鸡颈静脉采血, 收集的全血静置 30 min 后于  $4^\circ\text{C}$  下  $2000 \times g$  离心 20 min, 收集血清保存于  $-20^\circ\text{C}$  便于进一步分析。采血后的鸡腹腔解剖, 取长约 2 cm 的一段空肠, 用无菌生理盐水将内容物冲洗干净后, 用 10% 福尔马林进行固定。

1.5 血液指标检测 每个处理组随机选取 12 只鸡屠宰, 收集血液离心后用 ELISA 法测定血清中的白介素  $1\beta$  (IL- $1\beta$ )、干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 和诱导型一氧化氮合成酶 (iNOS)。使用羟胺法测定血清中的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性<sup>[4]</sup>, 比色法测定总抗氧化能力 (T-AOC) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 含量<sup>[5-6]</sup>。以上试剂盒均购自上海纪宁工业有限公司, 测定方法参照说明书。

1.6 空肠肠道形态结构测定 每个处理组随机选取 12 只鸡屠宰后, 取长约 2 cm 的一段空肠, 用无菌生理盐水将内容物冲洗干净后, 用 10% 福尔马林固定 24 h 以上, 进行石蜡包埋, 连续切片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 显微镜测定空肠绒毛高度和隐窝深度。绒毛高度为绒毛顶端到隐窝入口处的垂直距离, 隐窝深度为隐窝入口到绒毛基部的垂直距离。

1.7 统计分析 试验数据经 Microsoft Excel 初步处理后, 利用 SPSS 16.0 统计软件进行方差分析, 如果方差分析结果显著, 则采用 LSD 法进行多重比较。分析采用基于不同处理方式和不同时间点为主效应的双因素方差法进行统计。

## 2 结果与分析

2.1 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡生长性能的影响 如表 2 所示, 与 TN 组相比, HS 组均重和欧洲指数显著降低, 而采食量和耗料增重比显著升高。AB 组和 LAC 组的均重显著高于 HS 组, 其中 LAC 组采食量显著高于 AB 组。

2.2 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡血液指标的影响 如表 3 所示, 与 TN 组相比, HS 组血液中内毒素 LPS 水平和炎症因子 IL- $1\beta$ 、IFN- $\gamma$  水平显著升高。LAC 组血液中的内毒素 LPS 水平和炎症因子 IL- $1\beta$ 、IFN- $\gamma$  和 iNOS 水平显著低于 HS 组, 与 TN 组没有显

表2 植物乳酸杆菌对热应激条件下第1-42日龄白羽肉鸡生长性能的影响

处理	均重, g	采食量, g	耗料增重比	欧洲指数
TN组	2994.58±96.58 <sup>a</sup>	4866.46±100.99 <sup>c</sup>	1.63±0.07 <sup>c</sup>	415.04±47.39 <sup>a</sup>
HS组	2484.50±78.79 <sup>c</sup>	5317.57±98.27 <sup>b</sup>	2.14±0.05 <sup>a</sup>	252.54±23.49 <sup>c</sup>
AB组	2652.92±195.88 <sup>b</sup>	5460.27±189.07 <sup>b</sup>	2.06±0.09 <sup>ab</sup>	297.16±43.09 <sup>bc</sup>
LAC组	2785.42±69.26 <sup>b</sup>	5683.86±133.46 <sup>a</sup>	2.04±0.01 <sup>b</sup>	321.15±11.94 <sup>b</sup>
P值	0.043	0.021	0.004	0.032

注: 同列数据肩标相同字母表示无显著性差异 (P>0.05), 不同字母表示差异显著 (P<0.05)。表4同。

著差异。而AB组血液中内毒素和炎症因子水平与HS组没有显著差异。

与TN组相比, HS组血液抗氧化酶SOD、GSH-Px和T-AOC含量显著降低。AB组和LAC组血液中SOD和GSH-Px含量均显著高于HS组, 其中LAC组血液中SOD、GSH-Px和T-AOC含量与TN组没有显著差异。

2.3 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡空肠肠道形态结构的影响 如表4所示, 与TN组相比, HS组空肠绒毛高度/隐窝深度显著降低, 而隐窝深度显著升高。AB组与LAC组的绒毛高度显著高于HS组。LAC组绒毛高度/隐窝深度显著高于HS组与AB组, 而隐窝深度显著低于HS组与AB组, 并且LAC组的隐窝深度及绒毛高度/隐窝深度与TN组没有显著差异。

### 3 讨论

3.1 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡生长性能的影响 本试验结果表明, 热应激显著降低了白羽肉鸡的均重和欧洲指数, 并显著提高了耗料增重比; 而日粮中添加金霉素和植物乳酸杆菌均显著提高了热应激条件下白羽肉鸡的均重。Jahromi等<sup>[7]</sup>研究发现在肉仔鸡日粮中添加*L. pentosus* ITA23和*L. acidophilus* ITA44可以改善热应激条件下的生产性能和耗料增重比。同样, Humam等<sup>[8]</sup>在肉仔鸡日粮中添加来自不同植物乳酸杆菌菌株的后生元(postboitics)制剂, 发现高温环境中

表4 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡空肠肠道形态结构的影响

处理	绒毛高度, μm	隐窝深度, μm	绒毛高度/隐窝深度
TN组	809.10±192.48 <sup>b</sup>	99.59±22.14 <sup>b</sup>	8.75±4.16 <sup>a</sup>
HS组	780.93±133.06 <sup>b</sup>	229.58±34.96 <sup>a</sup>	3.53±1.18 <sup>b</sup>
AB组	1041.59±98.45 <sup>a</sup>	202.82±41.31 <sup>a</sup>	5.27±0.88 <sup>b</sup>
LAC组	1137.27±261.75 <sup>a</sup>	128.02±28.97 <sup>b</sup>	9.12±2.30 <sup>a</sup>
P值	0.032	0.024	0.011

肉仔鸡的最终体重和耗料增重比得到显著改善。研究表明热应激会导致炎症因子水平升高, 激发动物机体的急性期应答反应, 导致宿主丧失食欲, 大量的肌肉组织发生分解代谢, 从而对生产性能产生不利影响<sup>[8-11]</sup>。本试验中热应激条件下添加金霉素和植物乳酸杆菌对白羽肉鸡生产性能的改善作用可能与金霉素和植物乳酸杆菌能有效降低炎症因子水平有关。

3.2 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡血液指标的影响 当动物处于应激状态时, 有少部分肠腔内毒素、共生菌和致病菌可穿越上皮屏障进入血液循环, 刺激局部肠道上皮细胞和免疫组织分泌炎症因子<sup>[12]</sup>。有研究表明益生菌能够下调炎症因子的表达并缓解肠道炎症的发生<sup>[13-15]</sup>。本试验结果表明, 热应激破坏了白羽肉鸡肠道屏障, 提高了血液中内毒素LPS和炎症因子IL-1β、IFN-γ含量, 而日粮中添加植物乳酸杆菌显著降低了热应激条件下白羽肉鸡血液中的内毒素和炎症因子水平。邢爽<sup>[16]</sup>研究发现热应激显著提高了白羽肉鸡肠道黏膜炎症因子IL-8和TNF-α mRNA的表达水平, 而添加植物乳酸杆菌A、B和干酪乳酸杆菌均可显著降低高温诱导的炎症因子水平, 这与本试验结果一致。

热应激会导致动物体内产生大量活性氧自由基, 降低机体清除自由基的能力, 引起脂质过氧化反应, 产生氧化应激, 造成细胞损伤<sup>[17-18]</sup>。本试验结果显示, 热应激显著降低了白羽肉鸡血清中抗氧化酶SOD、GSH-Px和T-AOC含量, 表明热应激对白羽肉鸡抗氧化能力产生

表3 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡血液指标的影响

指标	TN组	HS组	AB组	LAC组	P值
IL-1β, pg/mL	101.28±6.41 <sup>b</sup>	116.50±8.79 <sup>a</sup>	111.05±8.42 <sup>ab</sup>	104.85±7.38 <sup>b</sup>	0.043
IFN-γ, pg/mL	8.53±0.49 <sup>c</sup>	9.91±0.69 <sup>a</sup>	9.34±0.59 <sup>ab</sup>	9.15±0.40 <sup>bc</sup>	0.032
iNOS, ng/mL	3.44±0.28 <sup>ab</sup>	3.78±0.27 <sup>a</sup>	3.58±0.24 <sup>ab</sup>	3.43±0.28 <sup>b</sup>	0.027
LPS, EU/mL	9.67±1.07 <sup>c</sup>	11.88±0.86 <sup>a</sup>	11.03±1.09 <sup>ab</sup>	10.53±1.10 <sup>bc</sup>	0.033
SOD, ng/mL	1.88±0.19 <sup>a</sup>	1.42±0.09 <sup>c</sup>	1.65±0.17 <sup>b</sup>	1.85±0.22 <sup>ab</sup>	0.031
GSH-Px, ng/mL	35.27±2.74 <sup>a</sup>	25.99±1.90 <sup>b</sup>	31.40±3.36 <sup>a</sup>	32.47±4.24 <sup>a</sup>	0.037
T-AOC, U/mL	4.04±0.41 <sup>a</sup>	3.12±0.61 <sup>b</sup>	3.31±0.58 <sup>b</sup>	3.46±0.53 <sup>ab</sup>	0.026

注: 同行数据肩标相同字母表示无显著性差异 (P>0.05), 不同字母表示差异显著 (P<0.05)。

不利影响,而添加金霉素和植物乳酸杆菌均显著改善了热应激条件下白羽肉鸡的抗氧化能力,并且植物乳酸杆菌对动物抗氧化能力的改善作用优于金霉素。研究表明,抗氧化酶含量提高是由于 Nrf2 信号通路被激活引发的<sup>[19]</sup>。植物乳酸杆菌可以通过激活 Nrf2 信号通路增强抗氧化酶活性,从而缓解氧化应激带来的不利影响<sup>[20]</sup>。

**3.3 植物乳酸杆菌对热应激条件下白羽肉鸡空肠肠道形态结构的影响** 肠道是动物机体对营养物质进行消化和吸收的重要部位,小肠上皮细胞向肠腔内伸出的微绒毛结构增加了动物机体对营养物质的吸收面积。肠道极易受到热应激影响而产生大量自由基并通过脂质过氧化作用损害肠道上皮细胞结构,导致绒毛高度降低,隐窝深度变深,绒毛高度与隐窝深度比值降低<sup>[21]</sup>。本试验结果表明,热应激显著降低了空肠绒毛高度/隐窝深度,并显著提高了隐窝深度,而日粮中添加植物乳酸杆菌显著改善了热应激条件下白羽肉鸡空肠的肠道形态结构,这说明植物乳酸杆菌均具有维持肠道形态的作用,这可能是由于植物乳酸杆菌除具有抗氧化作用外,还可通过促进紧密连接蛋白的表达调节肠上皮细胞间的通透性,更有益于肠道形态的维持<sup>[8,17]</sup>。

## 4 结 论

本试验结果显示,热应激破坏了白羽肉鸡肠道形态结构、提高了血液中内毒素及炎症因子含量、降低了动物机体的抗氧化能力并对生产性能产生了不利影响。日粮中添加植物乳酸杆菌改善了热应激条件下白羽肉鸡血液指标和肠道形态结构,提高动物的生产性能,且植物乳酸杆菌的改善作用优于金霉素。

## 参考文献:

- [1] 周加义,高春起,严会超,等.热应激对畜禽肠道黏膜屏障功能影响及其损伤修复研究进展[J].饲料工业,2017,38(17):24-29.
- [2] 冯丽莉,张栋,荀一萍,等.植物乳杆菌的功能性及工业化应用研究进展[J].中国乳品工业,2018,46(3):35-37,64.
- [3] 刘耀文,徐明明,康克浪,等.植物乳杆菌的生理功能及其在鸡生产中的应用[J].广东饲料,2017,26(5):29-31.
- [4] Winterbourn C C, Hawkins R E, Brain M, et al. The estimation of red cell superoxide dismutase activity[J]. J Lab Clin Med, 1975, 85: 337-341.
- [5] Benzie I F F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay[J]. Anal Biochem, 1996, 239: 70-76.
- [6] Hafeman D G, Sunde R A, Hoekstra W G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat[J]. J Nutr, 1974, 104: 580-587.
- [7] Jahromi M F, Altaher Y W, Shokryazdan P, et al. Dietary supplementation of a mixture of Lactobacillus strains enhances performance of broiler chickens raised under heat stress conditions[J]. Int J Biometeorol, 2015, 60(7): 1099-1110.
- [8] Humam A M, Loh T C, Foo H L, et al. Effects of feeding different postbiotics produced by Lactobacillus plantarum on growth performance, carcass yield, intestinal morphology, gut microbiota composition, immune status, and growth gene expression in broilers under heat stress[J]. Animals, 2019, 9: 644.
- [9] Song J, Jiao L F, Xiao K, et al. Cello-ligosaccharide ameliorates heat stress-induced impairment of intestinal microflora, morphology and barrier integrity in broilers[J]. Anim Feed Sci Technol, 2013, 185: 175-181.
- [10] Al-Fataftah A R, Abdelqader A. Effects of dietary Bacillus subtilis on heat-stressed broilers performance, intestinal morphology and microflora composition[J]. Anim Feed Sci Technol, 2014, 198: 279-285.
- [11] Akhavan-Salamat H, Ghasemi H A. Alleviation of chronic heat stress in broilers by dietary supplementation of betaine and turmeric rhizome powder: dynamics of performance, leukocyte profile, humoral immunity, and antioxidant status[J]. Trop Anim Health Prod, 2015, 48: 181-188.
- [12] Shen L, Weber C R, Raleigh D R, et al. Tight junction pore and leak pathways: A dynamic duo[J]. Annu Rev Physiol, 2011, 73: 283-309.
- [13] Niewold T. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis[J]. Poult Sci, 2007, 86(4): 605-609.
- [14] Costa E, Uwiera R, Kastelic J P, et al. Non-therapeutic administration of a model antimicrobial growth promoter modulates intestinal immune responses[J]. Gut Pathog, 2011, 3(1): 1-15.
- [15] Steel H C, Theron A J, Cockeran R, et al. Pathogen- and host-directed anti-inflammatory activities of macrolide antibiotics[J]. Mediat Inflamm, 2012, 2012: 5842-5862.
- [16] 邢爽. 乳酸杆菌对热应激肉鸡盲肠菌群及肠黏膜屏障的影响[D]. 北京:中国农业科学院,2020.
- [17] Lin H, Ru R, Zhang Z Y. Peroxide status in tissues of heat stressed broilers[J]. Asian-Aust J Anim Sci, 2000, 13(10): 1373-1376.
- [18] 林海. 家禽热应激状态下的营养与生理反应[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2004:237-248.
- [19] Meng X, Chen H, Wang G, et al. Hydrogen-rich saline attenuates chemotherapy-induced ovarian injury via regulation of oxidative stress[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(6): 2277-2282.
- [20] 黄丽. 植物乳杆菌 C88 干预黄曲霉毒素 B1 毒性的分子机制[D]. 长春:东北师范大学,2019.
- [21] He X F, Lu Z, Ma B B, et al. Effects of chronic heat exposure on growth performance, intestinal epithelial histology, appetite-related hormones and genes expression in broilers[J]. J Sci Food Agric, 2018, 98: 4471-4478.

(责任编辑:周会会)