

乳酸杆菌对断奶仔猪生长性能、养分表观消化率和消化酶活性的影响

王志祥¹, 乔家运¹, 王自恒², 戚鑫¹

(1 河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002; 2 清丰县粮食局, 河南 清丰 457300)

[摘要] 将72头28日龄三元杂交(杜×大×长)断奶仔猪随机分为3组, 每组4个重复, 每重复6头, 分别饲喂基础日粮、基础日粮+质量分数0.25%乳酸杆菌和基础日粮+质量分数0.25%乳酸杆菌+10 mg/kg黄霉素, 以研究乳酸杆菌对断奶仔猪生长性能、养分表观消化率和消化酶活性的影响。结果表明, 添加乳酸杆菌组均能显著提高断奶仔猪平均日采食量($P < 0.05$), 极显著提高平均日增重, 降低料重比($P < 0.01$); 显著提高仔猪饲料粗脂肪表观消化率($P < 0.05$), 极显著提高胰脏、十二指肠食糜脂肪酶和淀粉酶活性($P < 0.01$); 与单独添加乳酸杆菌相比, 乳酸杆菌与黄霉素配伍极显著降低了仔猪的日增重和十二指肠食糜脂肪酶和淀粉酶活性($P < 0.01$)。表明在断奶仔猪日粮中添加乳酸杆菌, 可显著提高仔猪生长性能及脂肪酶活性和粗脂肪表观消化率。

[关键词] 断奶仔猪; 乳酸杆菌; 消化率; 消化酶

[中图分类号] S816.32; S828.8⁺95

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671-9387(2006)04-0023-05

抗生素在畜禽日粮中的应用促进了畜牧业的发展, 同时也逐渐暴露出诸如病原菌产生耐药性^[1-2]和畜产品中药物残留超标^[3]等负面作用。寻找能替代饲用抗生素、无污染、无残留的绿色饲料添加剂已成为一种必然的趋势。酶制剂、酸化剂、中草药添加剂、微生态制剂等作为替代抗生素的绿色饲料添加剂越来越多地被应用到畜禽饲料中^[4]。有研究表明, 添加乳酸杆菌能够提高哺乳仔猪和断奶仔猪的生长性能^[5-6], 提高育肥猪对蛋白质的消化率^[7]。但也有研究认为, 乳酸杆菌对新生仔猪具有显著的促生长作用, 但对出生2周后的仔猪没有显著促生长效果^[8], 乳酸杆菌对生长猪回肠养分消化率没有表现出显著的提高效果^[9]。为了明确乳酸杆菌对断奶仔猪的作用效果, 本试验通过在断奶仔猪日粮中添加乳酸杆菌以及乳酸杆菌与抗生素配伍, 研究了其对断奶仔猪生长、养分消化率和消化酶活性的影响, 探讨了乳酸杆菌对断奶仔猪的作用机理。

1 材料与方法

1.1 试验动物

供试仔猪为28日龄健康断奶仔猪(杜洛克×大白×长白), 共72头。

1.2 试验设计

将72头供试猪随机分为3组, 每组4个重复, 每重复6头猪, 公母各半。其中对照组饲喂基础日粮内, 不含任何抗生素和微生态制剂; 试验1组饲喂基础日粮+质量分数0.25%乳酸杆菌(由河南农业大学牧医工程学院动物学实验室提供, 为液体制剂, 主要成分是4株复合乳酸杆菌, 活菌数为 4×10^8 /mL); 试验2组饲喂基础日粮+质量分数0.25%乳酸杆菌+10 mg/kg黄霉素。基础日粮配方及营养水平(计算值)见表1。

1.3 饲养管理

试验猪每天饲喂6次, 乳头式饮水器自由饮水, 常规饲养管理。每次饲喂前按添加量将乳酸杆菌均匀喷洒到饲料中, 立即饲喂。

1.4 生长性能试验

饲养试验为期6周, 在试验开始日和结束日的早晨, 以每重复为单位空腹称量仔猪体重, 同时计量耗料量, 计算日平均采食量、日平均增重和料重比。

1.5 消化试验

在饲养试验的第2周开始进行消化试验, 采用指示剂法测定养分表观消化率, 以4N-HCl不溶分为指示剂, 预试期5 d, 正试期3 d。粪样收集后立

° [收稿日期] 2005-12-12

[基金项目] 国家农业科技成果转化资金项目(2002410020069)

[作者简介] 王志祥(1965-), 男, 河南潢川人, 副教授, 博士, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: wzxhau@263.net

即加入体积分数10% H₂SO₄ 固氮,然后放入- 20 ℃冰箱中保存。饲料和粪样粗蛋白质、粗脂肪、钙、总磷含量按文献[10]的方法测定,4N-HCl 不溶灰分含量按文献[11]提供的方法测定。养分表观消化率计

算公式如下:
养分表观消化率/%= 1- ((饲料中指示剂含量×粪中某养分含量)/(饲料中某养分含量×粪中指示剂含量))×100%。

表1 基础日粮配方及营养水平
Table 1 Composition and nutrient levels of basic diet

原料名称 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient level	含量 Content
玉米 Corn	620 0	猪消化能/(MJ·kg ⁻¹) DE	13 75
大豆粕 Soybean meal	258 0	粗蛋白/(g·kg ⁻¹) CP	190 5
鱼粉 Fish meal	30 0	钙/(g·kg ⁻¹) Ca	8 1
乳清粉 W hey powder	30 0	总磷/(g·kg ⁻¹) TP	6 4
蔗糖 Sucrose	20 0	有效磷/(g·kg ⁻¹) AP	4 3
磷酸氢钙 CaHPO ₄	14 0	赖氨酸/(g·kg ⁻¹) Lys	11 0
石粉 Limestone	7 0	蛋氨酸/(g·kg ⁻¹) Met	3 0
盐 NaCl	3 0	苏氨酸/(g·kg ⁻¹) Thr	7 7
预混料 Premix	10 0		
植物油 Vegetable oil	8 0		

注:预混料向每千克全价料中提供微量成分:VA 5 500 IU,V_D₃ 500 IU,V_E 40 IU,V_B₁ 3 mg,V_B₂ 5 mg,V_B₁₂ 28 μg,泛酸15 mg,烟酸20 mg,胆碱550 mg,Mn 30 mg,Zn 100 mg,Fe 100 mg,Cu 150 mg,IQ 4 mg,Se 0 3 mg。

Note: The micro components in diet per kilogram provided by premix include: VA 5 500 IU,V_D₃ 500 IU,V_E 40 IU,V_B₁ 3 mg,V_B₂ 5 mg,V_B₁₂ 28 μg, Pantothenic acid 15 mg,N iccin 20 mg, Choline 550 mg,Mn 30 mg,Zn 100 mg,Fe 100 mg,Cu 150 mg,IQ 4 mg,Se 0 3 mg

1.6 消化酶活性的测定

1.6.1 样品的采集与处理 在试验结束后第2天,每个处理随机屠宰3头健康仔猪,取其胰脏和十二指肠食糜,在液氮中速冻,用于测定消化酶活性。按m(胰脏):m(水)=1:4和m(食糜):m(水)=1:3的比例,用高速组织捣碎机匀浆,12 000 r/min 4 ℃离心20 min,取上清液于1.5 mL离心管中,置-80 ℃冰箱内保存备用。

1.6.2 酶活性的测定方法 脂肪酶活性测定采用比浊法^[12],以纯化橄榄油为底物。酶活性单位定义为:在37 ℃水浴中,作用于底物10 min,能水解1 μmol底物的酶量,表中以10⁻⁴酶活单位表示。

α-淀粉酶活性测定采用碘-淀粉比色法^[13],以可溶性淀粉为底物。酶活性单位定义为:在40 ℃条件下与底物淀粉作用30 min,水解淀粉使吸光度降低0.1的酶量。

1.7 数据处理

试验数据以“平均值±标准差”表示,方差分析

和 Duncan 氏多重比较采用 SAS (6.12) 软件包 STAT 模块中的ANOVA 程序进行。

2 结果与分析

2.1 各处理仔猪的生长性能

由表2可知,各组仔猪初始体重无显著差异(P>0.05),结束时试验1组体重显著高于对照组和试验2组(P<0.05);对照组仔猪日均耗料显著低于试验1组(P<0.05),试验2组与对照组和试验1组均无显著差异(P>0.05);试验1组日增重极显著高于对照组和试验2组(P<0.01),料重比极显著低于对照组(P<0.01),试验2组与对照组间日增重和料重比均没有显著差异(P>0.05)。本试验结果表明,日粮中添加乳酸杆菌提高了仔猪日增重和采食量,降低了仔猪料重比,乳酸杆菌与抗生素同时使用的效果较单独使用乳酸杆菌的差。

表2 各处理仔猪日均耗料、日均增重和料重比

Table 2 Feed weight,ADFI,ADG and F/G of piglets for each group

组别 Group	初始体重/kg Begin weight	结束体重/kg Finish weight	日均耗料/ (g·头 ⁻¹ ·d ⁻¹) Average daily feed intake	日增重/ (g·头 ⁻¹ ·d ⁻¹) Average daily gain	料重比 Feed/gain
对照组 Control	10.10±1.14 a	20.51±1.96 b	602.29±48.67 b	247.86±38.87 B	2.43±0.24 B
试验1组 Group 1	10.51±0.55 a	24.27±2.67 a	720.56±110.98 a	327.62±36.25 A	2.20±0.13 A
试验2组 Group 2	10.15±0.61 a	21.64±2.00 b	631.17±72.90 ab	273.57±34.50 B	2.31±0.16 AB

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著(P<0.05),标不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。下表同。
Note: Data with different small letters were significant different (P<0.05), with different capital letters were extremely significant different (P<0.01). The following tables are the same

2.2 各处理仔猪对饲料中营养成分的表观消化率

由表3可知, 试验1组和试验2组对饲料中粗脂肪的表观消化率显著高于对照组($P < 0.05$), 3处理间对饲料中粗蛋白质、钙和总磷的表观消化率虽无显著差异($P > 0.05$), 但均呈现出试验1组> 试验2组> 对照组的趋势。表明向饲料中添加乳酸杆菌, 可

提高仔猪对饲料中粗脂肪的表观消化率, 并且对仔猪提高饲料粗蛋白质、钙和总磷的表观消化率也有一定作用。与对照组相比, 乳酸杆菌和抗生素配伍组与单独添加乳酸杆菌组在提高仔猪对饲料中营养成分表观消化率方面的效果相近。

表3 各处理仔猪对饲料中粗脂肪、粗蛋白质、钙和总磷的表观消化率

Table 3 Apparent digestibility efficiencies of EE, CP, Ca and TP of diets for each group					%
组别 Index	粗脂肪 Ether extract	粗蛋白质 Crude protein	钙 Calcium	总磷 Total phosphorus	
对照组 Control	42.33±3.75 b	76.80±2.46 a	38.32±2.08 a	39.21±1.39 a	
试验1组 Group 1	52.91±3.61 a	79.15±0.75 a	43.97±2.18 a	41.13±1.34 a	
试验2组 Group 2	49.89±3.02 a	77.63±1.30 a	43.89±5.40 a	39.45±4.47 a	

2.3 各处理组仔猪胰脏和十二指肠食糜中消化酶的活性

由表4可知, 无论是胰脏还是十二指肠食糜中, 脂肪酶和淀粉酶活性均以试验1组显著高于对照组($P < 0.01$); 试验2组十二指肠食糜中脂肪酶和淀粉酶活性均显著高于对照组($P < 0.01$); 胰脏中脂肪

酶和淀粉酶活性均表现为试验2组与对照组和试验1组间无显著差异($P > 0.05$)。表明添加乳酸杆菌提高了仔猪胰脏和十二指肠食糜中脂肪酶和淀粉酶的活性, 乳酸杆菌与抗生素配伍虽然也提高了十二指肠食糜中脂肪酶和淀粉酶的活性, 但提高幅度低于单独添加乳酸杆菌组。

表4 各处理组仔猪胰脏和十二指肠食糜脂肪酶和淀粉酶活性

Table 4 Activities of lipase and α -amylase in pancreatic gland and duodenum chymes of piglets for each group				
组别 Group	脂肪酶/ 10^{-4} U/L lipase		淀粉酶/U α -amylase	
	胰脏 Pancreatic gland	十二指肠食糜 Duodenum chyme	胰脏 Pancreatic gland	十二指肠食糜 Duodenum chyme
对照组 Control	21.89±3.01 B	1.78±0.36 C	4.31±0.31 B	3.38±0.36 C
试验1组 Group 1	31.33±2.44 A	20.54±1.24 A	5.61±0.17 A	17.51±4.64 A
试验2组 Group 2	27.35±3.76 AB	11.00±2.96 B	5.08±0.76 AB	11.32±1.10 B

3 讨论

微生态制剂可以帮助家畜建立和维持胃肠道正常的优势菌群, 刺激胃肠道分泌消化液, 提高养分消化率, 从而起到促进家畜生长的作用^[14-15]。乳酸杆菌是猪肠道正常菌群中重要的优势菌之一, 其对于改善肠道内环境、维持猪体内正常的微生态平衡具有十分重要的意义。Polman^[16]认为, 用乳酸杆菌饲喂仔猪, 日增重可提高8.4%, 饲料转化效率可提高6.8%。但韩春艳等^[8]研究认为, 乳酸杆菌对2周后仔猪没有表现出良好的促生长作用。本试验结果表明, 在断奶仔猪日粮中添加乳酸杆菌显著提高了断奶仔猪体重、日增重和饲料转化效率, 添加乳酸杆菌组与未添加组相比, 仔猪平均日增重提高了32.1%, 表现出良好的促生长效果。乔宏宇等^[17]认为, 仔猪处于应激期时使用活菌制剂的效果最好。本试验所选猪为刚断奶仔猪, 断奶应激大, 饲养环境差, 这可能是本试验表现出较好促生长效果的

原因之一。Kahraman等^[18]研究认为, 微生态制剂与抗生素配伍的效果优于单一添加微生态制剂, 体现出了二者的协同作用。本试验结果中, 添加黄霉素与乳酸杆菌配伍组的仔猪日均增重显著低于单独添加乳酸杆菌组, 料重比二者虽然没有显著差异, 但黄霉素与乳酸杆菌配伍组仍低于单独添加乳酸杆菌组, 表明黄霉素与乳酸杆菌间的配伍不但不能提高乳酸杆菌对断奶仔猪的促生长效果, 反而降低了乳酸杆菌的促生长效果, 这与Kahraman等^[18]的试验结果不一致。其原因可能是由于黄霉素杀灭或抑制了部分乳酸杆菌的活性, 使其没有达到足够数量以发挥有益作用。

Collington^[19]研究认为, 乳酸杆菌产生的酸性代谢产物可使肠道环境偏酸性, 而一般消化酶的最适pH均偏酸性(淀粉酶6.5, 糖化酶4.4), 有机酸的产生还可加强肠道的蠕动和分泌, 因此有利于营养物质的消化吸收。Maxwell等^[7]在育肥猪上的试验结果表明, 添加乳酸杆菌可提高猪对饲料粗蛋白质

的消化率。本试验中添加乳酸杆菌或乳酸杆菌与黄霉素配伍,均显著提高了饲料粗脂肪表观消化率,粗蛋白质、钙和总磷表观消化率与对照组相比虽然没有显著差异,但具有提高的趋势;与对照组相比,乳酸杆菌与黄霉素配伍组养分表观消化率变化趋势与单独添加乳酸杆菌组一致,但养分表观消化率仍低于单独添加乳酸杆菌组,这与两组仔猪的生长性能表现相一致。表明向断奶仔猪日粮中添加乳酸杆菌,可促进仔猪对饲料粗脂肪的消化;与单独添加乳酸杆菌相比,乳酸杆菌与黄霉素配伍具有降低饲料养分表观消化率的趋势。

许多微生物可以产生淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶等消化酶,从而提高饲料转化效率。益生菌能诱导动物内源消化酶的分泌,其在消化道中所产生的酶与动物体内的酶共同起作用,能提高饲料转化率。Collington^[19]认为,日粮中添加益生菌(多株乳杆

菌和粪链球菌混合物)可以显著提高仔猪小肠内容物中的碳水化合物酶活性,乳杆菌在细胞内外均可产生淀粉酶。有学者^[20]对肉鸡的试验结果表明,在饲料中添加0.1%嗜酸乳杆菌干培养物,显著提高了40日龄肉仔鸡的小肠淀粉酶活性($P < 0.05$),但脂肪酶及蛋白酶活性不受影响($P > 0.05$)。本试验中,添加乳酸杆菌显著提高了断奶仔猪胰脏和十二指肠食糜中淀粉酶和脂肪酶的活性($P < 0.01$),显著提高了断奶仔猪平均日增重和饲料粗脂肪表观消化率。据此认为,向日粮中添加乳酸杆菌后,仔猪生长性能的提高与仔猪脂肪酶活性和粗脂肪表观消化率的提高有关。乳酸杆菌和黄霉素配伍组食糜中淀粉酶和脂肪酶活性虽然较对照组提高,但仍显著低于单独添加乳酸杆菌组,3个组的淀粉酶和脂肪酶活性变化趋势与3组仔猪生长性能的变化趋势相同。

[参考文献]

- [1] Robyn L G, Carol R G. Appropriate regulation of antibiotics in livestock[J]. Boston College Environmental Affairs Law Review, 2000, 28(1): 39-77.
- [2] Mathew A G, Upchurch W G, Chattin S E. Incidence of antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli* isolated from commercial swine farms[J]. J Anim Sci, 1998, 76: 429-434.
- [3] Braude R. Antibiotics in animal feeds in Great Britain[J]. J Anim Sci, 1978, 46: 1425-1436.
- [4] Wenk C. Growth promoter alternatives after the ban on antibiotics[J]. Pig news and information, 2003, 24(1): 11-16.
- [5] Abe F, Ishibashi N, Shimamura S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets[J]. Journal of Dairy Science, 1995, 78(12): 2838-2846.
- [6] Jessen H. Biological effects of feeding pigs with *Lactobacillus acidophilus*[C]//Proc XI X Dairy Congr India [S l]: [s n], 1974: 579-586.
- [7] Maxwell C V, Buchanan D S, Owens F N. Effect of probiotic supplementation on performance, fecal parameters and digestibility in growing-finishing swine[J]. J Anim Sci Res Rep, 1983, 114: 157-161.
- [8] 韩春艳, 侯雨文, 刘志伟, 等. 不同日龄添加乳酸杆菌对早期断奶仔猪生长性能的影响[J]. 畜禽业, 2004, 171: 12-13.
- [9] Kovacs-Zomborszky M, Kreizinger F, Combos S. Data on the effects of the probiotic "Lacto sacc"[J]. Acta Veterinaria Hungarica, 1994, 42(1): 3-14.
- [10] 朱燕. 饲料品质检验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [11] 北京农业大学. 家畜饲养试验指导[M]. 北京: 农业出版社, 1979.
- [12] 王晋庸. 现代临床检验学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000.
- [13] 周景祥, 王桂芹, 余涛. 蛋白酶和淀粉酶活性检测方法探讨[J]. 中国饲料, 2001(11): 23-24.
- [14] Egorova O G, Moshkutelo I I, Gorodetskays A A. The efficiency of growing suckling piglets when adding the preparation frodo to the mixed food[J]. Russian Agricultural Sciences, 1998, 4: 23-27.
- [15] Fuller R. Probiotics in man and animals[J]. J Appl Bacteriol, 1989, 66: 365-378.
- [16] Pollman D S. Recent Advances in Animal Nutrition[M]//probiotics in pig diets London: Butterworth Press, 1986: 193-205.
- [17] 乔宏宇, 郎仲武, 董克苏, 等. 接续产酸型活菌制剂对仔猪生产性能的影响及机理初探[J]. 吉林农业大学学报, 1994, 16(2): 74-80.
- [18] Kahraman R, Ozpinar H, Abas I, et al. Effects of probiotic and antibiotic on performance of broilers[J]. Archiv fur Geflugelkunde, 2000, 64(2): 70-74.
- [19] Collington T K. The influence of inclusion of either an antibiotic or probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig[J]. Brit J Nutr, 1990, 64: 59-70.
- [20] 肉仔鸡日粮中添加乳杆菌属培养物对消化酶及细菌酶活性的影响[J]. 熊国远, 译. 饲料工业, 2001, 22(8): 38-41.

Effect of *L actobacillus* on grow th perform ance, nutrient digestibility and digestive enzyme activities of weaned piglets

WANG Zhi-xiang¹, QIAO Jia-yun¹, WANG Zi-heng², QI Xin¹

(1 College of Animal Husbandry and Veterinary, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;

2 Qingfeng County Food Bureau, Qingfeng, Henan 457300, China)

Abstract: Seventy-two 8-day-old weaned piglets (Duroc × Yorkshire × Landrace) were divided into three groups of four repeats. An experiment was conducted to study the effects of the supplementation of *L actobacillus* agents and the combination of *L actobacillus* and flavomycin in the basic diet on growth performance, nutrient digestibility and digestive enzyme activity of weaned piglets. The results showed that *L actobacillus* increased average daily feed intake ($P < 0.05$), average daily gain and decreased the feed/gain ratio ($P < 0.01$). *L actobacillus* increased apparently the digestibility of ether extract ($P < 0.05$) and the activities of amylase and lipase in pancreatic gland and duodenum chyme ($P < 0.01$) most significantly. The combination of *L actobacillus* and flavomycin decreased the performance of piglets and the activities of amylase and lipase in pancreatic gland and duodenum chyme ($P < 0.01$) comparing with the single use of *L actobacillus*. The results indicated that adding of *L actobacillus* in the diet could promote the performance of weaned piglets and the activity of lipase and digestibility of ether extract apparently.

Key words: weaned piglet; *L actobacillus*; digestibility; digestive enzyme

(上接第22页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)04-0019-EA

Study on cloning, expression and immunogenicity of the fragment C of tetanus toxin

JIANG Hui-ting^{1,2}, YU San-ke¹, FENG Peng¹, JIANG Hai-yan², WANG Xi-liang²

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medicine, Beijing 100071, China)

Abstract: To clone, express, purify protein and analyse the immunogenicity of the fragment C of tetanus toxin, the fragment C gene of tetanus toxin was amplified from *Clostridium tetani* genomic DNA by PCR. It was inserted into the high-expression vector pET32a, and expression of this plasmid in *Escherichia coli* BL21 (DE3) resulted in the production of a fusion protein. The recombinant fragment-C-thioredoxin proteins were purified significantly in one step by affinity chromatography, and then used to immunize mice and test the antibody titers. The result of SDS-PAGE showed that a specific recombinant protein was expressed, accounting for 28.19% of the soluble protein. Western blot analysis indicated that this product had certain antigenicity, and the final purity was 96.92%. 14 days after the third immunization the anti-tetanus antibody titers of the mice of the group rTTC were detected. The recombinant protein is an immunogenicity antigen of tetanus toxin and thus constructs a basis for the development of vaccine in the future.

Key words: tetanus toxin; fragment C; immunogenicity; protein C