

网络出版时间:2019-01-14 09:36

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2019.07.002

网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20190114.0935.004.html

卷心菜浆液对肉鸡肠道发育和盲肠菌群的影响

杨建平¹,李新锋¹,张艳平²,石志芳¹,徐秋良¹,张晓根³,黄炎坤¹

(1 河南牧业经济学院 河南省饲料资源开发及安全评价工程技术研究中心,河南 郑州 450046;

2 西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌 712100;3 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450002)

【摘 要】 【目的】研究卷心菜浆液对肉鸡肠道菌群的影响,为卷心菜浆液作为天然绿色饲料添加剂的安全性评估提供参考。【方法】选取健康、体质量相近的 1 日龄肉仔鸡 150 只,随机分为 3 组,每组 5 个重复,每个重复 10 只鸡。对照组鸡饲喂基础日粮,试验 I、II 组鸡分别饲喂添加 15 和 20 g/kg 卷心菜浆液的基础日粮,试验期 42 d。于试验 42 d 屠宰,采集各组鸡肠道和盲肠内容物,分析卷心菜浆液对肉仔鸡生产性能、肠道发育和肠道菌群的影响。【结果】①与对照组相比,试验 II 组肉仔鸡的平均日采食量、结束体质量和平均日增重均显著增加($P<0.05$)。②与对照组相比,试验 I、II 组肉仔鸡的十二指肠绒毛长度和回肠平滑肌厚度显著提高($P<0.05$)。③与对照组相比,试验 I 组肉仔鸡肠道菌群 α 多样性指数升高,试验 II 组肉仔鸡 α 多样性指数降低,但差异均不显著($P>0.05$)。④门水平上,与对照组相比,试验 II 组变形菌门菌群的相对丰度显著升高($P<0.05$),试验 I、II 组放线菌门和软壁菌门的相对丰度显著降低($P<0.05$)。属水平上,与对照组相比,试验 I 组粪球菌属的相对丰度显著升高($P<0.05$),柔嫩梭菌属、*Ruminococcaceae*_UCG-014 和双歧杆菌属的相对丰度显著降低($P<0.05$);试验 II 组的拟杆菌属、*Ruminococcaceae*_UCG-005 和 *Anaerofilum* 的相对丰度显著升高($P<0.05$),柔嫩梭菌属、*Ruminococcaceae*_UCG-014 和 *Ruminoclostridium*_9 的相对丰度显著降低($P<0.05$)。⑤多样品比较分析表明,对照组、试验 I 组和试验 II 组的菌群结构存在差异。【结论】饲粮中添加 20 g/kg 卷心菜浆液能够显著提高肉仔鸡生产性能,促进其肠道的发育,改变盲肠的菌群结构。

【关键词】 卷心菜;肉仔鸡;肠道发育;盲肠菌群

【中图分类号】 S831.5

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2019)07-0006-09

Effect of cabbage slurry on intestinal development and cecum microflora of broilers

YANG Jianping¹, LI Xinfeng¹, ZHANG Yanping², SHI Zhifang¹,
XU Qiuliang¹, ZHANG Xiaogen³, HUANG Yankun¹

(1 Feed Resources Development and Safety Evaluation Engineering Research Center of Henan Province,

Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou, Henan 450046, China; 2 College of Animal Science and

Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3 School of Food and Bioengineering,

Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: 【Objective】 The aim of the present study was to investigate the effect of cabbage slurry on cecum microflora of broilers, which would provide reference for the safety assessment of cabbage slurry as a natural green feed additive. 【Method】 A total of 150 one-day-old broilers with similar health and weight were selected and divided into 3 groups randomly, with 5 replicates in each group and 10 broilers in each

【收稿日期】 2018-05-03

【基金项目】 河南省科技攻关项目(201210110300,15210211089);河南牧业经济学院重点学科建设项目;河南牧业经济学院科研创新团队建设项目

【作者简介】 杨建平(1964—),男,河南卫辉人,高级畜牧师,主要从事动物营养学研究。E-mail:jpyang918@163.com

【通信作者】 徐秋良(1971—),男,江西万年人,副教授,博士,主要从事畜禽遗传育种与繁殖研究。E-mail:xuqiuliang@163.com

replicate. The control group was fed with basal diet. The experimental groups I and II were fed with the basal diet adding 15 and 20 g/kg cabbage slurry, respectively, and the experiment period was 42 days. The intestinal and cecal contents of each group were collected on day 42 of the experiment. Then, the effects of cabbage slurry on performance, intestinal development and intestinal flora of broilers were tested. 【Result】

① Compared with the control group, the average daily feed intake, end weight and average daily gain of broilers in group II were significantly increased ($P < 0.05$). ② Compared with the control group, the height of duodenal villi and the thickness of ileal smooth muscle in group I and II were significantly increased ($P < 0.05$). ③ Compared with the control group, the alpha diversity index of experiment group I increased, while the alpha diversity index of experiment group II decreased without significant difference ($P > 0.05$). ④ In the phylum level, compared with the control group, the relative abundance of the Proteobacteria was increased significantly in the experimental group II ($P < 0.05$). The relative abundances of actinomycetes and soft walled bacteria in group I and group II were decreased significantly ($P < 0.05$). In the genus level of group I, compared with the control group, the relative abundance of *Coproccoccus* was increased significantly ($P < 0.05$), while the relative abundances of *Faecalibacterium*, *Ruminococcaceae*_UCG-014 and *Bifidobacterium* were decreased significantly ($P < 0.05$). In the genus level of group II, compared with the control group, the relative abundances of *Bacteroides*, *Ruminococcaceae*_UCG-005 and *Anaerofilum* were increased significantly ($P < 0.05$), while the relative abundances of *Faecalibacterium*, *Ruminiclostridium*_9, and *Ruminococcaceae*_UCG-014 were decreased significantly ($P < 0.05$). ⑤ Comparative analysis of multiple samples showed that there were differences in microbial structure between control group, group I and group II. 【Conclusion】 The addition of 20 g/kg cabbage slurry in the diet can significantly promote the development of intestinal tract in broilers and change the structure of the cecum microbe.

Key words: cabbage; broilers; intestinal development; cecum microbe

当前,肉鸡生长性状的定向选育及精准化养殖模式虽提高了肉鸡对饲料的利用率,但肉鸡高强度的消化吸收致使其消化系统负荷过重,易造成肠道内菌群失调,肠黏膜的完整性受到破坏,从而引发肠道疾病。研究发现,肠道中的微生物菌群结构对于宿主的营养消化吸收、免疫系统发育、机体能量代谢等具有重要的生理调节作用^[1],并对畜禽肠道健康有直接影响,植物提取物、益生菌和寡糖等可以调节肠道微生物菌群结构,从而实现对相关机能的调节,有利于畜禽健康和生产性能的提高^[2]。

卷心菜属十字花科、芸薹属植物,为甘蓝的变种,其富含蛋白质、脂肪、膳食纤维、锌、硒等多种营养成分^[3];每 100 g 新鲜卷心菜中,含碳水化合物约 3.52 g,蛋白质 1.14 g,膳食纤维 0.97 g,维生素 E 0.76 mg。卷心菜中的吲哚-3-乙酸及黄酮醇、绿原酸、酚类物质等生物活性物质,可以防治心血管病和糖尿病,提升机体解毒能力和免疫力等^[4]。卷心菜还含有一种抗溃疡因子,该因子能加速创面的愈合,对胃和十二指肠溃疡有疗效^[5]。卷心菜中的硫代葡萄糖苷(glucosinolates, GLs)含量丰富^[6],具有杀菌

和抗氧化等作用^[7]。虽然卷心菜的营养价值早已为人们所熟知,但关于其对畜禽生产性能的影响鲜有报道^[8]。本试验旨在研究卷心菜对肉鸡生产性能、肠道发育和盲肠菌群结构的影响,为卷心菜浆液在肉鸡生产中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用健康罗斯 308 肉仔鸡,购自大用集团。卷心菜购自蔬菜市场,取新鲜无腐烂的卷心菜叶片粉碎成糊状,经测定,新鲜卷心菜叶片中干物质质量分数为 9.53%,总酚含量为 3.15 mg/g,氯化甲硫氨基酸(维生素 U)含量为 5.31 mg/g。

肉鸡 1~21 和 22~42 日龄基础日粮参照 NRC (1994)和中国肉鸡饲养标准(NY/T 33—2004)配制,日粮组成及营养水平见表 1。

1.2 试验设计及饲养管理

选取 150 只 1 日龄、体质量相近(42 ± 2.64) g/只的健康罗斯 308 肉仔鸡,采用单因子试验设计,随机分为 3 个处理组(对照组,试验 I、II 组),每

组 5 个重复,每个重复 10 只鸡。对照组鸡饲喂基础日粮,根据预试验结果,试验 I 组、II 组鸡分别饲喂在基础日粮中添加 15 和 20 g/kg 卷心菜浆液的日粮^[8],现拌现喂。试验在郑州市中牟县中亚养鸡场

进行,试验肉鸡按重复分笼饲养,鸡舍每天 24 h 人工光照,自由采食和饮水;按常规方法进行饲养管理、消毒和免疫。试验期 42 d。

表 1 肉鸡基础日粮配方及营养水平
Table 1 Formula and nutrition level of broilers basal diet

项目 Item	组成 Compose	日龄/d Age of day	
		1~21	22~42
配方 Formula	玉米/(g·kg ⁻¹) Corn	500.00	520.00
	豆粕/(g·kg ⁻¹) Soybean meal	230.00	220.00
	玉米蛋白粉/(g·kg ⁻¹) Corn gluten meal	30.00	30.00
	棉粕/(g·kg ⁻¹) Cottonseed meal	100.00	100.00
	豆油/(g·kg ⁻¹) Soybean oil	20.00	20.00
	次粉/(g·kg ⁻¹) Wheat middling and reddog	84.80	76.80
	石粉/(g·kg ⁻¹) Stone powder	14.00	12.00
	磷酸氢钙/(g·kg ⁻¹) Calcium hydrogen phosphate	8.00	8.00
	食盐/(g·kg ⁻¹) NaCl	3.20	3.20
	预混料/(g·kg ⁻¹) Premix	10.00	10.00
营养水平 Nutrition level	代谢能/(MJ·kg ⁻¹) Metabolic energy	12.30	12.50
	粗蛋白/(g·kg ⁻¹) Crude protein	208.00	202.00
	粗纤维/(g·kg ⁻¹) Crude fiber	19.00	22.00
	钙/(g·kg ⁻¹) Ca	11.00	9.00
	总磷/(g·kg ⁻¹) Phosphorus	5.00	4.80
	赖氨酸/(g·kg ⁻¹) Lysine	12.30	12.30
	蛋氨酸/(g·kg ⁻¹) Methionine	2.80	2.80
	苏氨酸/(g·kg ⁻¹) Threonine	5.90	5.90

注:预混料为每千克饲料提供:维生素 A 10 000 IU,维生素 D 2 500 IU,维生素 E 50 mg,维生素 K₃ 2 mg,维生素 B₁ 2 mg,维生素 B₂ 10 mg,维生素 B₆ 1 mg,维生素 B₁₂ 5 g,生物素 25 μg,烟酸 50 mg,泛酸 10 mg,叶酸 2 mg,胆碱 1 200 mg,Ca 156 g,Fe 20 mg,Cu 10 mg,Mn 100 mg,Zn 100 mg,Se 0.25 mg,I 0.5 mg,Co 0.2 mg。饲料中粗蛋白、粗纤维、氨基酸、钙、磷为实测值,其余为计算值。

Note:The premix provides below for basal diet per kilogram:vitamin A 10 000 IU,vitamin D 2 500 IU,vitamin E 50 mg,vitamin K₃ 2 mg,vitamin B₁ 2 mg,vitamin B₂ 10 mg,vitamin B₆ 1 mg,vitamin B₁₂ 5 g,biotin 25 μg,nicotinic acid 50 mg,pantothenic acid 10 mg,folic acid 2 mg,choline 1 200 mg,Ca 156 g,Fe 20 mg,Cu 10 mg,Mn 100 mg,Zn 100 mg,Se 0.25 mg,I 0.5 mg,and Co 0.2 mg. Crude protein,crude fiber,amino acid,calcium and phosphorus in feed were measured values,and the rest values were calculated.

1.3 卷心菜浆液对肉仔鸡生长性能的影响

每日给料前,以每个重复为单位收集剩余饲料,称质量,喂料量减去剩余料量即为每组的采食量。试验结束时称量试验鸡体质量,计算平均日采食量、平均日增重和料重比。

1.4 卷心菜浆液对肉仔鸡肠道发育的影响

于试验第 42 天,每个处理组随机选取接近平均体质量的 5 只肉仔鸡,空腹 12 h,称质量后屠宰,剪取十二指肠、空肠和回肠部位肠管各 3 cm,放入体积分数 10%的福尔马林中固定。24 h 后取出,修整后,冲水过夜,梯度乙醇脱水、二甲苯透明,浸蜡、包埋、切片(片厚 5 μm)后用苏木精-伊红(HE)染色。光镜下观察和比较各组肉鸡肠道组织形态结构,应用 Motic 显微镜和显微图像分析系统,进行肠道形态学观察,并检测每组肉鸡不同肠段的绒毛长度、隐

窝深度和平滑肌厚度。

1.5 卷心菜浆液对肉鸡盲肠菌群的影响

1.5.1 盲肠及内容物的采集与处理 于试验第 42 天,每个处理组随机选 4 只体质量接近平均值的肉仔鸡,空腹 12 h,称质量后屠宰,选取肠道无鼓胀、内容物无水状黏液的 4 只肉仔鸡的盲肠内容物作为微生物菌群测序样本,装入灭菌冻存管中,经液氮速冻后,转移到-80 ℃冰箱中保存。

1.5.2 盲肠内容物微生物菌群的测定 盲肠内容物菌群测定委托北京诺禾致源科技股份有限公司利用 Illumina HiSeq 测序平台完成,对细菌 16S 核糖体 RNA (16S rRNA)编码基因的 V3、V4 区进行高通量测序。

(1)基因组 DNA 的提取、PCR 扩增和纯化。采用 CTAB 方法提取盲肠内容物菌群的基因组

DNA,之后利用 1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 的纯度和浓度。取适量样品于离心管中,使用无菌水稀释样品至 1 ng/ μ L,备用。针对 16S rRNA 基因 V3、V4 区,委托北京诺禾致源科技股份有限公司设计带有样本区分标签的特异性引物,保守区引物序列为 341F:5'-CCTACGGGRBG-CASCAG-3'和 806R:5'-GGACTACNNGGGTATC-TAAT-3'(由上海生工进行引物合成和纯化)。以稀释后的基因组 DNA 为模板,进行 PCR 扩增,采用 Phusion[®] High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真酶反应体系,以确保扩增效率和准确性,依据试剂厂家提供的说明书进行 PCR 反应。PCR 产物进行 2%的琼脂糖凝胶电泳检测,对目的条带(400~450 bp)使用 GeneJET 胶回收试剂盒(Thermo Scientific)回收 PCR 产物,将胶回收纯化后的 PCR 产物利用核酸定量荧光仪(Qubit 2.0 Fluorometer,Thermo Scientific)检测其浓度和纯度。

(2)文库构建与测序。使用 TruSeq[®] DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 试剂盒构建文库。对构建好的文库使用 Qubit 和 Agilent Bioanalyzer 2100 system 进行定量,确认文库合格后,使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序。

1.5.3 生物信息学分析 各样品数据截去标签和引物序列后,使用 FLASH 对数据进行拼接得到原始数据,经 Qiime 软件过滤、UCHIME Algorithm 软件去除嵌合体后,得到有效数据。用 Uparse 软件对有效数据在 97%水平上进行操作分类单元

(OTU)聚类。

(1)菌种多样性曲线。用 R 软件绘制稀释曲线,评估测序深度。

(2) α 多样性指数。各样品的数据经均一化处理后,采用 Qiime 软件进行菌群 α 多样性指数分析。

(3)菌群相对丰度分析。采用 Mothur 法与 SILVA 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析(阈值:0.8~1),获得分类学信息并分别在门和属水平上统计各样本菌群的相对丰度。

(4)多样品比较分析。采用 Qiime 软件进行菌群多样品比较分析,绘制主坐标分析图。使用 Py-NAST 软件与 GreenUene 数据库进行多序列比对,利用得到的所有 OTUs 代表序列,绘制 UPGMA 聚类分析图。

1.6 数据统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对肉仔鸡肠道发育指标、盲肠微生物样品复杂度和相对丰度进行单因素方差分析(one-way ANOVA)及 Duncan 氏法和 LSD 法多重比较检验,显著水平为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 卷心菜浆液对肉仔鸡生长性能的影响

卷心菜浆液对肉仔鸡生长性能的影响如表 2 所示。由表 2 可知,与对照组相比,试验Ⅱ组肉仔鸡的平均日采食量、结束体质量和平均日增重均显著增加($P<0.05$),料重比无显著变化($P>0.05$);试验Ⅰ组上述指标与对照组和试验Ⅱ组均无显著差异($P>0.05$)。

表 2 不同卷心菜浆液组肉仔鸡生长性能的比较

Table 2 Comparison of growth performance in broilers of different cabbage slurry groups

组别 Group	初始体质量/ (g·只 ⁻¹) Initial body weight	结束体质量/ (g·只 ⁻¹) End body weight	平均日采食量/ (g·只 ⁻¹) Average daily intake	平均日增重/ (g·只 ⁻¹) Average daily gain	料重比 Feed body weight ratio
对照组 CK	42.15±2.43	2 747.52±150.57 b	108.77±8.99 b	65.50±4.94 b	1.66±0.15
试验Ⅰ组 GroupⅠ	41.82±2.85	2 859.33±197.36 ab	112.83±8.27 ab	67.02±5.81 ab	1.66±0.14
试验Ⅱ组 GroupⅡ	42.03±2.64	2 945.16±201.49 a	114.68±9.24 a	69.29±6.01 a	1.65±0.09

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),表 3 和表 5 同。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$), the same for Table 3 and Table 5.

2.2 卷心菜浆液对肉仔鸡肠道发育的影响

由表 3 可知,与对照组相比,试验Ⅰ、Ⅱ组肉仔鸡十二指肠绒毛长度显著增大($P<0.05$),隐窝深度和平滑肌厚度均无显著差异($P>0.05$)。3 组肉仔鸡空肠绒毛长度、隐窝深度和平滑肌厚度均无显著差异($P>0.05$)。与对照组相比,试验Ⅰ、Ⅱ组肉仔鸡回肠平滑肌厚度显著增大($P<0.05$),绒毛长

度和隐窝深度无显著差异($P>0.05$)。

2.3 卷心菜浆液对肉仔鸡盲肠菌群的影响

2.3.1 盲肠内容物微生物菌群 采用 CTAB 方法成功提取得到 12 份高质量的盲肠内容物菌群基因组 DNA,其 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 均为 1.8~2.0,质量浓度均大于 20 ng/ μ L;PCR 产物也被成功纯化,符合建库要求。最终成功建库,顺利上机,获得了高通量测

序结果。

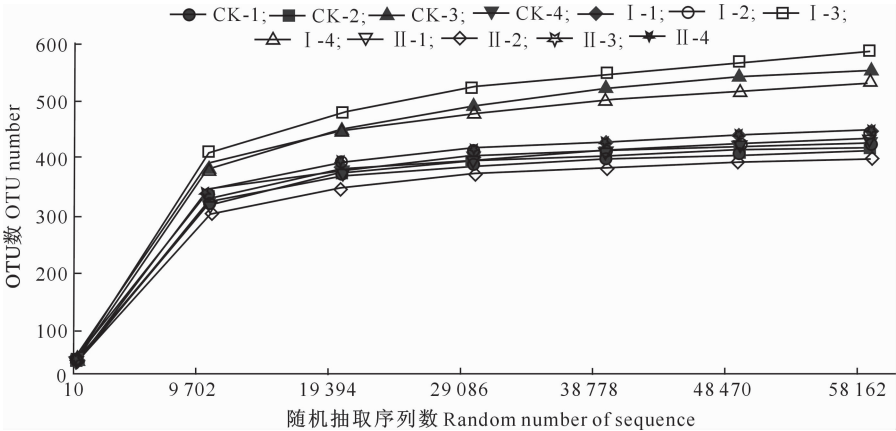
2.3.2 生物信息学分析 下机数据经过质量控制与过滤,共得到了 822 655 条高质量的细菌 16S rRNA 的 V3、V4 区序列,平均每个样品 68 555 条,序列长度主要集中在 407~413 bp。将所有序列进

行聚类,以序列相似度为 97%的阈值划分 OTU,去除无法聚类和没有获得注释信息的序列,共产生 5 323个 OTUs,其中对照组、试验 I 组和试验 II 组分别含有 1 759,1 923 和 1 641 个 OTUs。

表 3 不同卷心菜浆液组肉仔鸡肠道发育的比较				
Table 3 Comparison of intestinal development in broilers of different cabbage slurry groups				
组织 Tissue	组别 Group	绒毛长度 Villus height	隐窝深度 Crypt depth	平滑肌厚度 Smooth muscle
十二指肠 Duodenum	对照组 Control group	1 078.21±64.62 b	86.12±7.11	110.98±13.31
	试验 I 组 Group I	1 217.40±82.19 a	103.41±12.08	109.95±9.93
	试验 II 组 Group II	1 228.79±40.97 a	98.97±7.95	116.21±8.24
空肠 Jejunum	对照组 Control group	812.00±78.68	80.16±7.93	157.11±14.62
	试验 I 组 Group I	852.99±90.09	71.33±7.21	179.04±17.57
	试验 II 组 Group II	905.57±70.15	85.73±9.72	172.25±10.97
回肠 Ileum	对照组 Control group	705.29±57.15	70.42±7.09	143.36±14.96 b
	试验 I 组 Group I	737.37±38.76	62.37±4.03	165.80±7.82 a
	试验 II 组 Group II	758.07±46.52	71.61±4.26	176.91±15.73 a

(1)菌种多样性曲线。稀释曲线可以直接反映测序数据量的合理性,并可间接反映样品中菌种的丰富程度。当曲线趋于平坦时,说明测序数据量渐近合理。从样品中随机抽取一定测序量的数据,统计其所代表的菌种数目(即 OTU 数目),用抽取的

测序数据量与对应的菌种数来构建稀释曲线,结果见图 1。由图 1 可知,随着 OTU 数目的增大,所有样品曲线均趋于平缓,说明实际测序量足以覆盖群落菌种组成,能够真实反映群落各菌种间的相对比例关系。



CK. 对照组; I. 试验 I 组; II. 试验 II 组; 1, 2, 3, 4. 代表组内样本; 图 2, 图 3 同
CK. Control group; I. Group I; II. Group II; 1, 2, 3, 4. Samples in the same group. The same for Fig. 2 and Fig. 3

图 1 肉仔鸡盲肠菌群多样性的稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction of cecal microflora diversity in broilers

(2) α 多样性指数。由表 4 可知,试验 I 组的菌种数量、菌种丰富度 Chao 1 指数、菌群多样性 Ace 指数和香农指数(Shannon)较对照组升高,但差异均不显著($P>0.05$);试验 II 组的 4 个指标较对照组降低,差异也不显著($P>0.05$)。

表 4 不同卷心菜浆液组肉仔鸡盲肠菌群 α 多样性指数的比较				
Table 4 Comparison of the alpha diversity index of cecal bacteria in broilers of different cabbage slurry groups				
组别 Group	菌种数量 Number of strains	菌种丰富度 Chao 1 指数 Chao 1 index	菌群多样性 Ace 指数 Ace index	香农指数 Shannon index
对照组 CK	439.75±84.42	495.59±120.12	492.75±117.54	5.89±0.27
试验 I 组 Group I	480.75±90.79	555.75±114.56	543.66±122.76	6.12±0.15
试验 II 组 Group II	410.25±22.87	473.75±37.17	463.76±35.82	5.53±0.64

(3)菌群相对丰度。从各组肉仔鸡盲肠菌群分布看,在微生物分类门水平上,共检测到 13 个菌门,分别是厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、软壁菌门、蓝藻菌门、绿弯菌门、互养菌门、纤维杆菌门、暗黑菌门、螺旋体门、芽单胞菌门和黏胶球形菌门。其中,厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门和软壁菌门是 3 组共有的优势菌群(丰度>1%),这些微生物占肉鸡盲肠微生物的 99.09%以上。由表

表 5 不同卷心菜浆液组肉仔鸡盲肠共有菌群在门水平上的相对丰度比较

Table 5 Comparison of relative abundance of cecal flora in broilers of different cabbage slurry groups on the phylum level						
组别 Group	厚壁菌门 Firmicutes	拟杆菌门 Bacteroidetes	变形菌门 Proteobacteria	放线菌门 Actinobacteria	软壁菌门 Tenericutes	蓝藻菌门 Cyanobacteria
对照组 CK	78.23±8.21	12.24±4.27	0.83±0.44 b	3.90±2.73 a	2.50±1.53 a	0.15±0.06 b
试验Ⅰ组 GroupⅠ	80.10±2.22	14.85±4.38	2.22±1.56 ab	1.04±0.81 b	0.90±0.36 b	0.59±0.13 ab
试验Ⅱ组 GroupⅡ	74.85±4.66	18.43±3.69	4.80±2.31 a	0.67±0.36 b	0.32±0.15 b	0.83±0.72 a

在属分类水平上,共检测到 26 个共有优势菌属(丰度>1%),其中有 12 个共有优势菌属差异显著($P<0.05$),分别是拟杆菌属、别样杆菌属、*Ruminococcaceae*_UCG-014、柔嫩梭菌属、*Barnesiella*、*Anaerofilum*、*Ruminiclostridium*_9、*Ruminococcaceae*_UCG-005、粪球菌属、*Ruminiclostridium*_5、*Lachnoclostridium*和双歧杆菌属。由表 6 可知,试验Ⅰ组粪球菌属的相对丰度较对照组显著升高($P<0.05$),*Ruminococcaceae*_UCG-014、柔嫩梭菌属和双歧杆菌属的相对丰度较对照组显著降低

5 可知,试验Ⅰ组厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和蓝藻菌门的相对丰度较对照组升高,但差异不显著($P>0.05$),放线菌门和软壁菌门的相对丰度较对照组显著降低($P<0.05$);试验Ⅱ组拟杆菌门的相对丰度较对照组升高,但差异不显著($P>0.05$),变形菌门和蓝藻菌门的相对丰度较对照组显著升高($P<0.05$),放线菌门和软壁菌门的相对丰度较对照组显著降低($P<0.05$)。

($P<0.05$);试验Ⅱ组 *Anaerofilum*、*Barnesiella*、拟杆菌属和 *Ruminococcaceae*_UCG-005 的相对丰度较对照组显著升高($P<0.05$),柔嫩梭菌属、*Ruminococcaceae*_UCG-014、*Ruminiclostridium*_9、别样杆菌属、*Ruminiclostridium*_5、*Lachnoclostridium*和双歧杆菌属的相对丰度较对照组显著降低($P<0.05$);试验Ⅱ组 *Lachnoclostridium*、*Ruminococcaceae*_UCG-014 和 *Ruminiclostridium*_9 的相对丰度较试验Ⅰ组显著降低($P<0.05$)。

表 6 不同卷心菜浆液组肉仔鸡盲肠共有菌群在属水平上的相对丰度比较

Table 6 Comparison of the relative abundance of cecal flora in broilers of different cabbage slurry groups on the genus level				
分类 Category	属名 Genus name	对照组 Control group	试验Ⅰ组 GroupⅠ	试验Ⅱ组 GroupⅡ
拟杆菌门 Bacteroidetes	拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	7.56±5.32 b	12.19±3.56 ab	14.94±2.43 a
	别样杆菌属 <i>Alistipes</i>	3.48±1.86 a	1.68±0.52 ab	1.43±0.89 b
	<i>Barnesiella</i>	0.39±0.21 b	0.64±0.37 ab	1.22±0.71 a
厚壁菌门 Firmicutes	柔嫩梭菌属 <i>Faecalibacterium</i>	12.20±2.05 a	7.01±3.47 b	5.11±2.01 b
	<i>Ruminococcaceae</i> _UCG-014	6.60±0.69 a	2.69±0.37 b	1.66±0.28 c
	<i>Anaerofilum</i>	0.16±0.10 b	1.97±0.98 ab	3.05±2.81 a
	<i>Ruminiclostridium</i> _9	4.07±0.55 a	4.09±0.84 a	2.27±0.51 b
	<i>Ruminococcaceae</i> _UCG-005	2.54±0.87 b	3.84±0.83 ab	4.10±1.07 a
	<i>Ruminiclostridium</i> _5	1.93±0.67 a	1.27±0.22 ab	0.87±0.32 b
	<i>Lachnoclostridium</i>	1.82±0.44 a	1.85±0.45 a	1.04±0.39 b
放线菌门 Actinobacteria	粪球菌属 <i>Coprococcus</i> _1	0.74±0.14 b	1.94±0.97 a	1.27±0.51 ab
	双歧杆菌属 <i>Bifidobacterium</i>	3.46±2.36 a	0.53±0.56 b	0.51±0.50 b

注:同行数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Note:Different lowercase letters in each row indicate significant difference ($P<0.05$).

(4)多样品比较。主坐标分析(PCoA)结果能反映各个样本间差异的大小,样本间距离越近,表示样本间菌群组成越相似。由图 2 可知,对照组、试验Ⅰ

组和试验Ⅱ组的样本明显分离,表明 3 个组的菌群结构存在差异。但相对而言,试验Ⅰ组菌群结构与对照组差异较小,试验Ⅱ组菌群结构与对照组差异

较大。由图 3 可知,对照组、试验 I 组与试验 II 组 II-3 和 II-4 聚为一支,试验 II 组 II-1 和 II-2 聚为另一支,该结果与主坐标分析 II-1 和 II-2 聚在一起的结果基本一致。

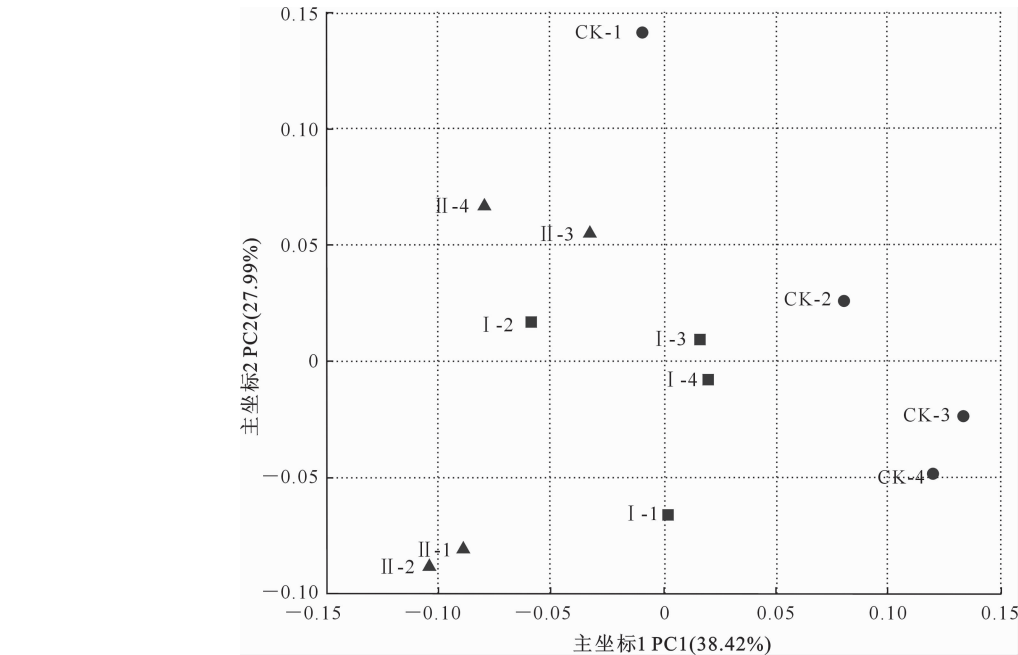


图 2 不同卷心菜浆液组肉仔鸡盲肠菌群的主坐标(PcoA)分析
Fig. 2 PcoA plot analysis of cecal microflora in broilers of different cabbage slurry groups

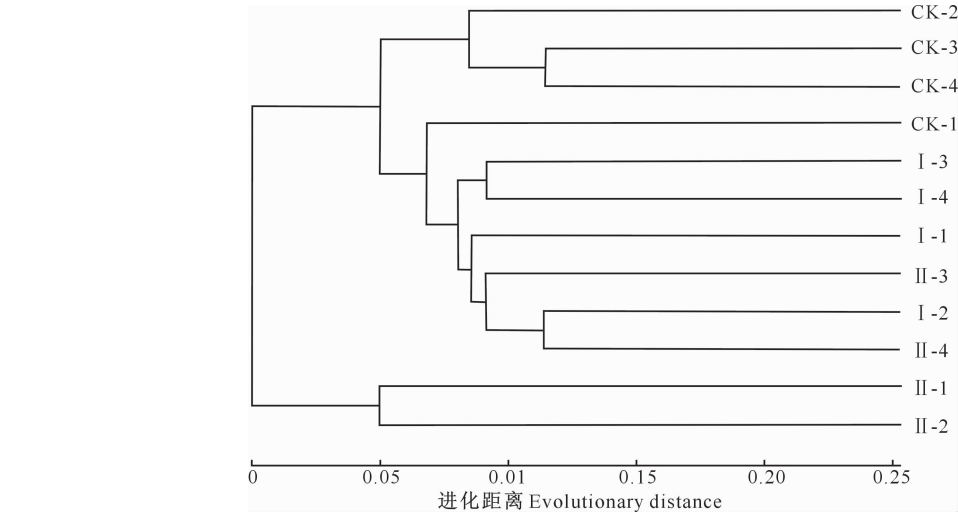


图 3 不同卷心菜浆液组肉仔鸡盲肠菌群的 UPGMA 聚类树
Fig. 3 UPGMA plot of cecal microflora in broilers of different cabbage slurry groups

3 讨论

小肠正常的结构与功能是营养物质被消化与吸收的基本保证,肠绒毛长度、隐窝深度、肠壁厚度等是衡量小肠消化吸收功能的重要指标^[9-10]。本研究发现,在日粮中添加卷心菜浆液可以增加肉仔鸡十二指肠的绒毛长度和回肠平滑肌厚度,促进小肠绒毛发育,提高肉仔鸡的日增重和出栏体质量。

Joanna 等^[11]研究发现,人类饮食可影响肠道菌

群的组成,进而影响其代谢产物的种类和数量,并对人的健康产生影响。本试验结果表明,日粮中添加 15 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡盲肠菌群 α 多样性指数较对照组升高,添加 20 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡盲肠菌群 α 多样性指数较对照组降低。

Tilg 等^[12]研究发现,厚壁菌门和拟杆菌门菌群在营养物质的消化吸收和宿主能量代谢中起着重要作用。放线菌门菌群在动物肠道中数量较少,但双歧杆菌属菌群对动物机体健康起着不可忽视的作

用^[13]。本试验发现,日粮中添加 15 和 20 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡,放线菌门和软壁菌门菌群相对丰度均较对照组显著降低;但添加 20 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡,变形菌门和蓝藻菌门的相对丰度较对照组显著提高,拟杆菌门的相对丰度也有增加趋势,具体原因有待进一步研究。

在属水平上,肉仔鸡盲肠菌群在组内个体之间差异较大,可能与宿主基因型有关^[14],也可能与饲养环境、肉鸡品种、研究方法和饲料配方不同有关^[15-16]。本试验结果表明,日粮中添加 20 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡,盲肠拟杆菌门的拟杆菌属相对丰度较对照组显著增加,这对宿主分解多糖^[17]、加快肠黏膜血管形成^[18]、提高宿主免疫力^[19]和维持肠道微生态平衡^[20-21]等有重要作用;添加 15 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡,盲肠厚壁菌门的粪球菌属相对丰度较对照组显著增加,*Ruminococcaceae*_UCG-014 和柔嫩梭菌属相对丰度较对照组显著降低;添加 20 g/kg 卷心菜浆液的肉仔鸡,盲肠厚壁菌门的 *Ruminococcaceae*_UCG-005 和 *Anaerofilum* 相对丰度较对照组显著升高,*Ruminococcaceae*_UCG-014、柔嫩梭菌属、*Ruminiclostridium*_5 和 *Lachnospirillum* 相对丰度较对照组显著降低,说明卷心菜浆液对厚壁菌门的不同菌属具有双向调节作用;日粮中添加卷心菜浆液的 2 个试验组,放线菌门的双歧杆菌属相对丰度均较对照组显著降低,其对肉仔鸡肠道健康的影响还需要进一步研究。

卷心菜浆液能够改变肠道菌群结构,可能与其富含硫代葡萄糖苷和多酚类物质有关^[22]。硫代葡萄糖苷与黑芥子酶接触,被水解成异硫氰酸盐^[23],而异硫氰酸盐具有杀菌、抗虫、抗氧化等作用^[7]。卷心菜中的多酚类物质,能选择性地抑制肠道致病菌,减少类杆菌、肠球菌和葡萄球菌等有害微生物的比例^[24-25]。肉仔鸡日粮中添加卷心菜浆液对改善肠道菌群结构和维护肠道健康有利,可促进肉仔鸡生长性能的提高。

[参考文献]

[1] Pan D, Yu Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet [J]. Gut Microbes, 2014, 5 (1): 108-119.

[2] Stanley D, Hughes R J, Moore R J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98 (10): 4301-4310.

[3] 俞晓琴. 甘蓝营养价值及春季栽培技术 [J]. 上海蔬菜, 2011

(5): 27-28.

Yu X Q. Nutrient value of cabbage and cultivation technique in spring [J]. Shanghai Vegetable, 2011(5): 27-28.

[4] 黄德娟, 刘罗发, 王彩霞, 等. 抗辐射植物抗损伤作用研究进展 [J]. 中国辐射卫生, 2010, 19(1): 126-128.

Huang D J, Liu L F, Wang C X, et al. Research progress on anti-radiation effects of radiation resistant plants [J]. Radiation Health in China, 2010, 19(1): 126-128.

[5] 吴园芳. 紫甘蓝花色苷分离、鉴定及性质研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2012.

Wu Y F. Purification, identification and properties of purple cabbage anthocyanins [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2012.

[6] 何 娜. 结球甘蓝富集 γ -氨基丁酸工艺研究及其超细微粉开发 [D]. 南京: 南京农业大学, 2013.

He N. Study on γ -aminobutyric acid enrichment technology in cabbage and development of ultragrind powder [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.

[7] Guo R F, Yang G F, Wang Q M. Effect of sucrose and mannitol on the accumulation of health-promoting compounds and the activity of metabolic enzymes in broccoli sprouts [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 128(3): 159-165.

[8] 杨建平, 李新锋, 姬向波, 等. 卷心菜浆液对肉鸡生长性能、血液生化指标和免疫器官指数的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2017, 35 (12): 94-97.

Yang J P, Li X F, Ji X B, et al. Effects of cabbage slurry on growth performance, blood biochemical indexes and immune organ index of broilers [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2017, 35(12): 94-97.

[9] Chang H, Lai X R. Fabrication of natural sensitizer extracted from mixture of purple cabbage, roselle, wormwood and seaweed with high conversion efficiency for DSSC [J]. J Nanosci Nanotechnol, 2016, 16(2): 2072-2075.

[10] Seong G U, Hwang I W, Chung S K. Antioxidant capacities and polyphenolics of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) leaves [J]. Food Chem, 2016, 199: 612-618.

[11] Joanna K C, Gatarek P, Chartrand M S. Is there a relationship between intestinal microbiota, dietary compounds, and obesity? [J]. Trends in Food Science and Technology, 2017, 70: 105-113.

[12] Tilg H, Moschen A R. Microbiota and diabetes: an evolving relationship [J]. Gut, 2014, 63(9): 1513-1521.

[13] Pompei A, Cordisco L, Amaretti A, et al. Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(1): 179-185.

[14] Carmody R N, Gerber G K, Luevano J M, et al. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota [J]. Cell Host Microbe, 2015, 17(1): 72-84.

[15] Choi J H, Kim G B, Cha C J. Spatial heterogeneity and stability of bacterial community in the gastrointestinal tracts of broiler chickens [J]. Poultry Science, 2014, 93 (8): 1942-1950.

- [16] 李 可, 罗建杰, 孟 昆, 等. 不同益生菌对肉鸡肠道菌群结构的影响 [J]. 动物营养学报, 2015, 27(11): 3516-3526.
Li K, Luo J J, Meng K, et al. Effects of different probiotics on the structure of intestinal microflora in broilers [J]. Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(11): 3516-3526.
- [17] Torok V A, Robert J H, Mikkelsen J H, et al. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials [J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(17): 5868-5878.
- [18] Thaddeus S S, Lora V H, Jeffrey I G. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via paneth cells [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(24): 15451-15455.
- [19] Hooper L V. Bacterial contributions to mammalian gut development [J]. Trends in Microbiology, 2004, 12(3): 129-134.
- [20] Sears C L. A dynamic partnership: celebrating our gut flora [J]. Anaerobe, 2005, 11(5): 247-251.
- [21] Hooper L V, Melissa H W, Anders T, et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine [J]. Science, 2001, 291(2): 881-885.
- [22] Biddle A, Stewart L, Blanchard J, et al. Untangling the genetic basis of fibrolytic specialization by Lachnospiraceae and Ruminococcaceae in diverse gut communities [J]. Diversity, 2013, 5(3): 627-640.
- [23] 姜子涛, 张清峰, 李 荣. 异硫氰酸酯的产生、化学性质及测定方法 [J]. 中国调味品, 2005, 30(4): 9-14.
Jiang Z T, Zhang Q F, Li R. Production, chemical properties and determination of isothiocyanates [J]. China Condiment, 2005, 30(4): 9-14.
- [24] Huws S A, Kim E J, Lee M R, et al. As yet uncultured bacteria phylogenetically classified as Prevotella, Lachnospiraceae incertae sedis and unclassified Bacteroidales, Clostridiales and Ruminococcaceae may play a predominant role in ruminal biohydrogenation [J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(6): 1500-1512.
- [25] 杨 华, 叶发银, 赵国华. 膳食多酚与肠道微生物相互作用研究进展 [J]. 食品科学, 2015, 36(3): 223-226.
Yang H, Ye F Y, Zhao G H. Research progress on interaction between dietary polyphenols and intestinal microbes [J]. Food Science, 2015, 36(3): 223-226.

(上接第 5 页)

- [13] Lei Q, Zelman A K, Kuang E, et al. Transduction of graded Hedgehog signaling by a combination of *Gli2* and *Gli3* activator functions in the developing spinal cord [J]. Development, 2004, 131(15): 3593-3604.
- [14] Dahmane N, Sánchez P, Gitton Y, et al. The sonic hedgehog-Gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis [J]. Development, 2001, 128(24): 5201-5212.
- [15] Jiang Q L, Wang J M, Jiang S, et al. Large-scale real-time titration of green-fluorescence-protein-marked recombinant retrovirus: comparison with standard titration method [J]. Journal of First Military Medical University, 2003, 23(10): 1101.
- [16] Ma Y, Erkner A, Gong R, et al. Hedgehog-mediated patterning of the mammalian embryo requires transporter-like function of dispatched [J]. Cell, 2002, 111(1): 63-75.
- [17] Ishibashi M, McMahon A P. A sonic hedgehog-dependent signaling relay regulates growth of diencephalic and mesencephalic primordia in the early mouse embryo [J]. Development, 2002, 129(20): 4807-4819.
- [18] Liu W, Li G, Chien J S, et al. Sonic hedgehog regulates otic capsule chondrogenesis and inner ear development in the mouse embryo [J]. Developmental Biology, 2002, 248(2): 240-250.
- [19] Suh J M, Gao X, McKay J, et al. Hedgehog signaling plays a conserved role in inhibiting fat formation [J]. Cell Metabolism, 2006, 3(1): 25-34.
- [20] Cousin W, Fontaine C, Dani C, et al. Hedgehog and adipogenesis: fat and fiction [J]. Biochimie, 2007, 89(12): 1447-1453.
- [21] Rachel D, Mullen, Stephanie C C, et al. Roles of the LHX3 and LHX4 LIM- homeodomain factors in pituitary development [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2007, 265/266: 190-195.
- [22] He T C, Zhou S, Da Costa L T, et al. A simplified system for generating recombinant adenoviruses [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998, 95(5): 2509-2514.
- [23] Crystal R G, Harvey B G, Wisnivesky J P, et al. Analysis of risk factors for local delivery of low-and intermediate-dose adenovirus gene transfer vectors to individuals with a spectrum of comorbid conditions [J]. Human Gene Therapy, 2002, 13(1): 65-100.
- [24] Ge Q, Ilves H, Dallas A, et al. Minimal-length short hairpin RNAs: the relationship of structure and RNAi activity [J]. Rna, 2010, 16(1): 106-117.
- [25] Vlassov A V, Korba B, Farrar K, et al. shRNAs targeting hepatitis C: effects of sequence and structural features, and comparison with siRNA [J]. Oligonucleotides, 2007, 17(2): 223-236.