

饲料营养研究进展

2018 年版

蒋宗勇 李爱科 主编

中国畜牧兽医学学会动物营养学分会

第八届全国饲料营养学术研讨会学术组

编 委 会

主 编： 蒋宗勇 李爱科

副主编： 刘作华 侯永清 贾 刚 齐广海 王文杰 刁其玉

编 委： 武书庚 高秀华 薛 敏 杨飞云 王薇薇 王永伟 王 蕾 乔家运 黄金秀

责 编：	T01	饲料原料	王文杰	T06	反刍动物饲料	刁其玉
	T02	饲料添加剂	王 蕾	T07	水产饲料	薛 敏
	T03	生物饲料	李爱科	T07	特产饲料	高秀华
	T04	猪饲料	黄金秀	T08	饲料分析检测	贾 刚
	T05	禽饲料	武书庚	T08	营养价值评定	贾 刚

撰稿人：	敖长金	卜登攀	蔡辉益	车炼强	陈 达	陈代文	陈 亮	陈 婷
	陈 伟	陈晓阳	陈小玲	崔艳军	邓翌曦	邓雪娟	刁其玉	丁洛阳
	窦秀静	方正锋	冯 斌	冯定远	伏春燕	高开国	高 侃	哈斯额尔敦
	何 军	何增国	贺 喜	侯永清	胡良宇	胡 杰	黄承飞	黄志清
	计 成	蒋林树	蒋宗勇	李爱科	李德发	李岚捷	李福昌	李 健
	李军涛	李胜利	李 瑞	李伟忠	李宗军	廖 波	林 海	林 森
	林 燕	刘 磊	刘晶晶	刘宽博	刘 岭	刘建新	刘旺景	刘小芳
	刘玉兰	罗海玲	罗钧秋	罗 茜	罗玉衡	马 露	马满鹏	马青山
	马志远	毛湘冰	慕春龙	木其尔丽	彭 燮	彭 健	朴香淑	齐广海
	秦贵信	阮 栋	萨茹丽	单安山	宋 丹	宋雨默	牛俊丽	石惠宇
	孙加节	谭支良	汤 伟	田子罡	童津津	屠 焰	万晓莉	王翠芳
	王 典	王二旦	王 蕾	王凤来	王斐然	王洪荣	王家俊	王佳堃
	王军军	王梦芝	王 敏	王 朋	王 晶	王 丽	(广东农科院、粮科院)	
	王 荣	王珊珊	王 爽	王薇薇	王卫国	王卫卫	王晓翠	王永伟
	王志跃	汪海峰	万 晶	温晓鹿	武书庚	吴 德	吴 涛	吴天佑
	吴维达	肖 勘	杨 斌	杨海明	杨雪芬	易 丹	尹华俊	刁欠云
	解竞静	谢石力	徐柏林	徐 林	徐美娟	徐盛玉	徐子伟	胥 蕾
	闫素梅	姚军虎	姚 琨	于继英	余 冰	虞 洁	俞少博	夏伟光
	张海军	张宏福	张 华	张吉华	张 军	张 莉	张 帅	张婷婷
	张文举	张秀敏	张亚男	张永亮	赵景鹏	曾艳琴	赵 勤	郑春田
	赵丽红 (中农大, 中海洋大)	郑 萍	钟和局	周 刚	周 航	周小秋		
	朱 翠	朱 鑫	朱伟云	卓 勇	Jérôme Bindelle	Qianwen Ding		
	Ahmed Mohamed Fouad	Rolf Erik Olsen	Chao Ran	Einar Ringø	anbo Wang			
	Anran Wang	Yalin Yang	Zhen Zhang	Zhigang Zhou				

前 言

金秋十月，中国畜牧兽医学会动物营养学分会主办、国家粮食和物资储备局科学研究院（牵头单位）、中国农业科学院饲料研究所、天津市畜牧兽医研究所、动物营养学国家重点实验室、中国粮油学会饲料分会承办，“第八届全国饲料营养学术研讨会”于2018年10月17日至19日在天津召开，会议围绕“质量、安全、绿色、环保”主题，开展饲料科学和动物营养研究的学术交流和研讨，展现近年来我国科研工作者在本领域的最新科研成果。《饲料营养研究进展-2018》，征集内容涵盖饲料营养研究领域的最新研究热点、研究报告等，范围包括：T01 饲料原料开发利用；T02 饲料添加剂研发利用；T03 生物饲料开发利用技术；T04 猪饲料营养；T05 家禽饲料营养；T06 反刍动物饲料营养；T07 水产、特产动物等饲料营养；T08 饲料分析检测、营养价值评定等相关论文。《饲料营养研究进展-2018》汇编了我国动物营养与饲料科学领域的一批专家的最近研究成果，重点展示了饲料原料和饲料添加剂领域前沿科研成果及创新产品，是我国饲料行业从业人员了解近年国内科技创新成果的理想读本。

考虑到作者版权、发表的需要，本论文集未申请正式书刊号，仅作为与会者交流参考。因此，论文集保留完整的文献，以供读者参考。论文集收录论文，基本保留作者投稿时的状态，虽然格式不一，但能反映作者团队对该领域的理解和认识。

因排版需要，在审定和汇编过程中，我们对部分综述有文字加工和适当删减。在编辑过程中，得到了各位作者的密切配合和中国畜牧兽医学会动物营养学分会及审校人员的支持和帮助，在此一并表示真诚的感谢。

因部分来稿较迟、我们的编校水平有限，文集中一定还有许多不尽如人意的地方，敬请读者批评指正。

编者

2018.10

目 录

T01 饲料原料

大豆凝集素对动物肠道上皮细胞结构和功能的影响	秦贵信 潘 丽 6
影响猪饲料原料有效能值的关键化学成分	13
.....胡 杰 刘 岭 张 帅 李军涛黄承飞 朴香淑 王凤来 李德发 王军军	13
饲料霉菌毒素吸附剂研究进展	徐子伟 万 晶 24
南方木本饲料的开发利用	张永亮 陈 婷 孙加节 习欠云 陈晓阳 36
我国芋头资源分布和饲用情况	于继英 田子罡 徐美娟 张吉华 蔡辉益 44
饲料加工中微生物交叉污染与防控技术研究进展	王卫国 谢石力 刘小芳 59
日粮纤维调节猪肠道微生物组和肠黏膜屏障功能的研究进展	66
.....吴维达 张莉 解竞静 陈 亮 张宏福	66

T02 饲料添加剂

抗菌肽的结构, 功能与应用	单安山 王家俊 窦秀静 朱 鑫 徐 林 李伟忠 82
沙葱提取物在舍饲肉羊养殖中的应用研究进展	91
.....敖长金 刘旺景 哈斯额尔敦 萨茹丽 木其尔 王翠芳	91
壳聚糖的生物学活性及其在奶牛生产中的应用研究进展	童津津 蒋林树 97
酶制剂功能从提高营养消化到降低营养代谢	冯定远 106
日粮中添加天然抗氧化剂对羊肉脂肪酸组成的影响研究进展	罗海玲 116
短链脂肪酸调控断奶前犊牛胃肠道健康发育机制	马 露 卜登攀 122

T03 生物饲料

肠道栖居菌与宿主互作调控粘膜屏障功能的研究进展	汪海峰 邓翌曦 崔艳军 刘建新 130
猪肠道微生物及其营养调控	罗玉衡 余 冰 何 军 毛湘冰 车炼强 陈代文 144
黄曲霉毒素生物降解现状及未来发展趋势	计 成 赵丽红 152
我国生物发酵饲料研究与应用进展	邓雪娟 于继英 刘晶晶 陈 达 王卫卫 蔡辉益 160
发酵饲料资源开发及应用技术研究进展	174
.....王永伟 宋 丹 李爱科 王薇薇 周 航 王 丽 刘宽博	174
益生元在动物营养中开发应用的研究进展	赵丽红 汤 伟 马青山 张 军 何增国 187
饲用乳酸菌的开发利用研究进展	199
.....王薇薇 周 航 王 丽 刘宽博 廖波 王永伟 宋 丹 李爱科	199

T04 猪饲料

仔猪营养与抗病力关系研究进展	213
.....余 冰 毛湘冰 虞 洁 何 军 郑 萍 罗玉衡 罗钧秋 黄志清 陈代文	213
仔猪肠道损伤模型的建立	王 蕾 易 丹 吴 涛 侯永清 225
断奶仔猪肠上皮屏障损伤修复及其营养调控研究进展	肖 勘 刘玉兰 237
妊娠母猪脂代谢、繁殖性能及营养调控	彭健 246

肌肉发育与营养调控.....	黄志清 陈小玲 余冰 虞洁 陈代文	258
动物肠道微生物-肠-脑轴的研究进展	高侃 慕春龙 朱伟云	266
猪碳水化合物营养及其平衡模式.....	余冰 郑萍 罗钧秋 罗玉衡 陈代文	270
中国瘦肉型仔猪有效能需要模型建立.....	温晓鹿 王丽 朱翠 杨雪芬 高开国 蒋宗勇	277
胆汁酸的营养生理作用及其稳态调控研究进展		292
王朋 方正锋 林森 宋雨默 钟和局 尹华俊 吴德 车炼强 林燕 徐盛玉 冯斌 李健		292
种母猪营养研究进展.....	吴德 方正锋 车炼强 徐盛玉 卓勇 钟和局 彭燮	306
T05 禽饲料		
单胃动物内源氨基酸损失的测定方法及影响因素研究进展	贺喜 李瑞	321
鸡蛋蛋清品质的营养调控研究.....	齐广海 王晓翠 武书庚 张海军 王晶	332
饲料营养价值快速评定技术：适用范围与局限性	赵景鹏 林海	343
肉鸭与蛋鸭营养需要研究进展		352
.....Ahmed Mohamed Fouad 阮栋 王爽 陈伟 夏伟光 张亚男 罗茜 郑春田		352
中型鹅营养需要与饲料研究进展	王志跃 胥蕾 杨海明 万晓莉	374
T06 反刍动物饲料		
辣木作为新型饲料在反刍动物营养和日粮的应用技术	张婷婷 刁其玉	382
植物提取物对反刍动物瘤胃发酵的调控作用及其机制	张华 蒋林树	388
断奶犊牛饲粮纤维和非纤维性碳水化合物组成和来源	屠焰 李岚捷 马满鹏	400
幼龄反刍动物消化道微生物演替与消化道发育调控	俞少博 杨斌 王珊珊 王佳	409
反刍动物瘤胃碳水化合物代谢过程中的能量损失	李宗军 姚军虎	420
精氨酸对奶牛乳腺酪蛋白合成的影响及其分子机制		432
.....王梦芝 王洪荣 胡良宇 丁洛阳 周刚 吴天佑 徐柏林		432
Meta 分析研究饲粮中性洗涤纤维/淀粉对奶牛生产性能和乳成分合成的影响		443
.....牛俊丽 王典 赵勐 张文举 卜登攀 马露		443
维生素 A 对奶牛乳腺氧化应激的减缓作用机制	闫素梅 石惠宇	456
奶牛营养与饲料研究进展	姚琨 王斐然 王二旦 李胜利	465
反刍家畜瘤胃氢代谢和甲烷减排调控策略		479
.....曾艳琴、马志远、王荣、张秀敏、谭支良、王敏		486
T07 特产和水产动物饲料		
乙酸盐对家兔脂肪代谢的调控机制	李福昌 伏春燕 刘磊	486
鱼类蛋白质高效利用技术研究进展	周小秋	500
Use of probiotics in aquaculture of China-a review of the past decade		513
.....Anran Wang Chao Ran Yanbo Wang Zhen Zhang		
Qianwen Ding Yalin Yang Rolf Erik Olsen Einar Ringø J��me Bindelle and Zhigang Zhou		513

大豆凝集素对动物肠道上皮细胞结构和功能的影响

秦贵信 潘 丽

(吉林农业大学动物科学技术学院, 吉林省动物营养与饲料科学重点实验室, 动物生产及产品质量安全省部共建教育部重点实验室)

摘要: 大豆凝集素是大豆抗营养因子中重要的一种, 根据其结构特点, 这种抗营养因子会通过与胃肠道上皮细胞特异性结合, 影响动物对营养物质的消化吸收。本文就大豆凝集素的结构特点、主要抗营养作用以及大豆凝集素对动物肠道健康的影响进行了简述, 并且强调了大豆凝集素对动物肠道结构和功能的影响, 为大豆凝集素抗营养机制的深入研究提供了重要的信息。

关键词: 大豆凝集素; 抗营养作用; 肠道健康; 细胞增殖; 凋亡途径

1 大豆凝集素的概念及主要结构

大豆凝集素 (Soybean agglutinin, SBA) 是大豆中能够与 N-乙酰基-D-半乳糖胺或半乳糖特异性结合的糖蛋白, 分子质量为 120 kDa^[1], 是大豆抗营养因子中重要的一种, 主要分布于大豆的籽粒及饼粕中, 对豆科植物与固氮菌间的共生起到非常重要的作用。

SBA 具有豆科植物凝集素典型的四级结构, 含四个亚基, 亚基的分子量约 30 kDa。SBA 的四个亚基上分别含有金属离子 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} ^[1,2], 在这两种金属离子上均含有 4 个蛋白结合配体和 2 个水结合配体^[3], 是 SBA 与糖发生特异性结合的关键部位。

SBA 与糖结合的活性主要是取决于分子肽链中的活性基团, 而非凝集素分子中的糖链。SBA 和寡糖结合的特异性与组成凝集素糖结合区域中的保守氨基酸残基有密切关系^[3,4]。SBA 的所有亚基上均有一个单独且固定的糖结合位点, 每个亚基中均含有 4 个 N-乙酰半乳糖胺的特异性结合位点, 通过氢键与糖特异性结合, 不会改变 SBA 的结构^[5]。

2 大豆凝集素的主要抗营养作用

SBA 的抗营养作用主要是通过 SBA 与动物的肠道上皮细胞发生特异性结合而引起的。由于 SBA 结构的稳定性, 残留在大豆饲料中的 SBA 进入到动物胃肠道内后, 能抵抗消化酶的降解作用, 并与小肠粘膜上皮细胞特异性结合, 进而导致其产生抗营养作用。

SBA 的抗营养作用主要表现在抑制动物的生长性能、影响动物对营养物质的消化吸收、影响肠道的健康及生物学功能。在细胞水平上, 主要影响细胞与细胞间的相互作用, 细胞迁移, 增殖, 分裂, 凋亡, 激活淋巴细胞, 破坏癌细胞等^[6-8]。

2.1 大豆凝集素对动物生长的抑制作用

SBA 对动物的生长具有显著性抑制作用, 且 SBA 对动物的生长抑制作用随着动物种属、年龄以及大豆凝集素的剂量等存在差异。其中 SBA 对单胃动物的影响远大于反刍动物。

采用 SBA 饲喂 0-21 d 的雏鸡来研究 SBA 对雏鸡生长的影响, 研究发现 0-7 d 的雏鸡生长受到了显著抑制作用。张柏林等 (2010) 在肉仔鸡日粮中添加不同水平的 SBA 发现, SBA 显著降低了肉仔鸡的平均日采食量, 影响肉仔鸡生长性能, 当日粮中添加 0.1% SBA 显著增

加了肉仔鸡的小肠长度及重量^[9]，影响其对营养物质的消化吸收。

SBA 会诱导大鼠小肠肠壁肥大，使小肠过度增生，会造成机体营养物质浪费，表现为大鼠生长抑制^[10]。李振田等（2003）研究发现，SBA 能显著抑制大鼠生长，而且这种抑制作用会随着日粮中 SBA 的作用时间和作用浓度的增加而增加，当日粮中 SBA 的含量达到 2.0 mg/g 时，20 d 大鼠的增重与对照组相比显著降低了 23%^[11]。

SBA 对仔猪的生长也有显著的抑制作用。李鹏等（2010）综述指出，在仔猪日粮中添加高剂量的 SBA，仔猪体重显著减轻，并且 SBA 对仔猪的生长抑制作用要强于雏鸡^[12]。

2.2 大豆凝集素对动物营养物质吸收及代谢的影响

SBA 影响动物对饲料中营养物质的吸收及代谢，其中对氮代谢的影响比较显著，衡量指标主要为营养物质的消化率和沉积率。

研究显示，中等剂量的 SBA 会影响大鼠的消化吸收能力，增加尿氮和粪氮的排出量，减少氮的沉积率，导致氮的负平衡，表现出生长抑制^[13]；当日粮中 SBA 含量达到 0.8 mg/g 时，粪氮损失显著增加，氮的表观消化率则显著降低^[11]。在仔猪基础日粮中添加纯化 SBA 发现回肠总氮排出量增加。Salgado 等（2002）的研究中，凝集素会使动物血管和肠道通透性增大，使蛋白质等营养物质从肠道和血液中流失^[14]，造成营养损失。

2.3 大豆凝集素对动物消化道健康的影响

在 SBA 的抗营养作用中，对动物消化道健康的影响更为显著。由于 SBA 结构的稳定性，SBA 会抵抗体内、体外消化酶的降解作用^[15]，当动物采食含有残留 SBA 的日粮后，会对肠道的结构和功能产生一定程度的负面影响。被动物采食的 SBA 在不同种属动物空肠中的残留、结合以及内吞作用存在明显差异，且其在同种动物不同肠道部位食糜中的残留率也不同。

SBA 与肠道上皮细胞结合作用，会破坏刷状缘膜，进而改变肠道形态，并且激活一些能够改变中间代谢过程的信号传递。当小肠受到 SBA 的破坏后，还会通过增加肠道粘膜上皮的通透性，破坏肠道完整性，导致残留在肠道内的 SBA 以及一些毒素进入机体，降低机体的免疫力。且当 SBA 的浓度达到一定程度时，还会显著抑制细胞增殖，促进细胞凋亡。SBA 产生的这些作用会对动物的肠道健康产生很大程度的负面影响，进而影响动物机体对营养物质的吸收及代谢。

以下就 SBA 在动物肠道中的结合特点、对肠道形态和结构、肠上皮细胞完整性、细胞增殖以及凋亡等生物学功能的影响做了详细的描述，并且阐述了 SBA 影响动物肠上皮细胞增殖与凋亡的可能信号途径。

2.3.1 大豆凝集素在动物肠道中的结合特点

SBA 与小肠上皮细胞的结合作用取决于 SBA 与糖结合的特异性。秦贵信等（2008）研究表明，SBA 与不同种属动物空肠中的残留、结合和内吞作用存在明显差异^[16]。同一区段肠道内，SBA 在单胃动物小肠中的内吞率和结合率高于反刍动物，这可能是由于反刍动物瘤胃微生物对 SBA 的活性的降解作用，因此 SBA 对反刍动物的影响表现为不显著^[17-18]。

在单胃动物中，兔子和鸡的内吞率最大，而结合率最小，表明兔子和鸡的小肠对 SBA 的通透性较高，内吞入细胞内，易引起全身性的抗营养作用^[19]。猪和狗的结合率最大，内吞率较低，表明猪和狗肠道上皮细胞膜上含有大量 SBA 的糖结合蛋白，凝集素通过与肠道上皮细胞特异性结合，影响肠道的结构及细胞的生物学功能，影响营养物质的消化吸收。

此外，SBA 在同种动物不同肠道部位食糜中的残留率不同，对于羊，鸡，兔子，猪和狗这几种动物同一肠段残留率的共同特点是：由十二指肠到结肠，残留率呈逐渐下降趋势，由此可见大豆凝集在动物消化道内的抗降解特性^[20]。

2.3.2 SBA 对动物肠道形态和结构的影响

SBA 会引起动物胃和小肠细胞形态结构和新陈代谢的改变，并且激活一些能够改变中间代谢过程的信号传递。

SBA 会通过肠道上皮细胞结合，破坏刷状缘膜，进而改变肠道形态。当火鸡日粮中添加 0.048% SBA 使小肠绒毛高度增加，影响肠道上皮细胞的形态和结构^[21]。饲喂大鼠 SBA 1 h 后，空肠绒毛明显缩短，空肠黏膜形态发生变化^[6]。

在 SBA 对仔猪小肠上皮细胞形态和结构影响的相关研究中，随着 SBA 作用浓度增加，仔猪小肠上皮细胞形态及细胞数量发生了明显的改变，主要表现为细胞单位密度减少，细胞与细胞之间的轮廓模糊。当 SBA 浓度达到 2.0 mg/mL 时，对细胞形态的影响更为显著，可显著观察到细胞已无饱满充实感，无法清晰分辨出细胞的轮廓，且细胞数量明显减少^[22]。

2.3.3 大豆凝集素对动物小肠上皮细胞完整性的影响

肠道粘膜屏障是机体的第一道防御屏障，可有效阻止肠道内有害微生物以及毒素的侵害^[23]，上皮细胞的完整性对动物的生长发育乃至健康都起到重要的作用。已有多位研究者开展了 SBA 对肠道上皮细胞完整性的研究。当小肠受到 SBA 的破坏后，会增加肠道粘膜上皮的通透性，导致残留在肠道内的 SBA 以及其他毒素进入机体，降低机体的免疫力。

肠碱性磷酸酶使衡量肠道上皮细胞完整性的一个重要指标之一，对维持肠道上皮细胞的完整性具有重要的作用^[24,25]。Rouanet 等（1985）通过饲喂大鼠含有 0.25% SBA 的日粮发现，SBA 会引起肠碱性磷酸酶等活性降低^[26]，变现为肠道上皮细胞膜的通透性增加，营养物质流失，使大鼠生长受到了抑制。日粮中的 SBA 会增加断奶仔猪肠道的通透性，引起肠道内蛋白质等营养物质的流失^[14]。Bol-Schoenmakers 等（2010）研究显示，不同水平 SBA 处理细胞，引起通透性增加，导致细胞外碱性磷酸酶的含量增加^[27]。

SBA 除了通过影响肠碱性磷酸酶的活性引起细胞通透性改变外，还可通过引起紧密连接蛋白在细胞膜表面的分布和表达量的改变，引起细胞膜的完整性的破坏。Pan 等（2013）研究显示，SBA 可显著性降低紧密连接蛋白 occludin 和 claudin-3 蛋白的相对表达量，使细胞间的连接强度降低，进而促使细胞膜通透性增加以及细胞膜完整性的破坏^[28]。

2.3.4 大豆凝集素对动物小肠上皮细胞增殖与凋亡的影响

细胞增殖，分裂，分化与衰老的正常与否直接决定机体自身的稳定性及健康，当细胞的

这些生物学功能出现异常时，会造成动物机体生物学功能的紊乱，造成疾病的发生和发展。

Bakke-McKellep 等（2008）研究者发现 SBA 对大西洋蛙鱼肠道消化吸收存在显著的影响，抑制肠道上皮细胞的增殖^[30]。SBA 对仔猪小肠上皮细胞的增殖活力也存在显著的抑制作用^[28]，Pan 等（2017）通过对 SBA 抗营养机制的进一步研究揭示，SBA 主要通过阻滞细胞由 G1 期向 S 期转变，显著降低细胞周期蛋白 CDK4，Cyclin E 和 Cyclin D1 mRNA 的表达量，使 IPEC-J2 细胞周期停滞于 G0/G1 期，从而减少细胞的有丝分裂，表现为细胞增殖抑制^[31]。除此之外，SBA 促使大鼠小肠微绒毛萎缩^[29,11]。

SBA 除了会显著抑制动物小肠上皮细胞增殖外，还会促使肠道细胞的凋亡。李振田的研究结果显示，当饲喂大鼠含有 2 mg/mL SBA 日粮后，肠道结构发生改变，刷状缘脱落，并且在肠腔内出现大量的上皮细胞，由此反映出 SBA 对大鼠肠道细胞凋亡的影响^[11]。对于仔猪小肠上皮细胞，低剂量的 SBA 不会引起 IPEC-J2 细胞凋亡，当其浓度达到一定程度时，会随着 SBA 浓度的增加而加剧细胞凋亡^[32]。

由此可见，SBA 对细胞增殖、周期和凋亡等生物学功能均会产生不同层面的负面影响。

2.3.5 大豆凝集素引起动物小肠上皮细胞增殖与凋亡的可能信号途径

SBA 的抗营养作用直接关系到机体的健康，这些抗营养作用在很大程度上限制了大豆在动物饲料中的应用。因此，越来越多的研究者关注于 SBA 对动物机体的抗营养机制。目前，关于 SBA 引起细胞增殖与凋亡改变的机制尚不完善。Pan 等（2017, 2018）从整联蛋白及 SBA 的结构和功能出发，将二者结合起来考虑，发现 SBA 通过与骨架蛋白 α -辅肌动蛋白结合间接引起整联蛋白基因表达量的改变，进而引起细胞增殖及凋亡的变化。除此之外，在 SBA 引起仔猪小肠上皮细胞增殖与凋亡改变的机制中，不同整联蛋白亚基在 SBA 引起 IPEC-J2 细胞不同生物学功能的改变过程发挥着不同的作用。其中，整联蛋白 $\alpha 2$ ， $\alpha 6$ 和 $\beta 1$ 参与了 SBA 引起的 IPEC-J2 细胞周期改变过程，而 $\alpha 2$ ， $\alpha 3$ ， $\alpha 6$ ， $\beta 1$ 和 $\beta 4$ 则参与到 SBA 引起的 IPEC-J2 细胞凋亡过程^[31,32]。这可能与不同整联蛋白亚基在 SBA 引起 IPEC-J2 不同的细胞生物学功能的改变过程中，产生不同细胞信号以及自身主要发挥的生物学功能有关。然而，这只是 SBA 引起仔猪肠道上皮细胞凋亡机制一条途径，为了更加完善 SBA 的引起细胞凋亡的机制，仍需要大量研究者对其机制进行更加深入的分析 and 更加全面的研究。

除了整联蛋白以外，还可能存在其他的蛋白参与 SBA 引起仔猪小肠上皮细胞生物学功能的改变过程。由于 SBA 与肠上皮细胞的特异性结合是其产生抗营养作用的前提条件，因此我们可以从 SBA 特异性结合蛋白入手，分析 SBA 特异性结合蛋白的结构和功能，找出参与细胞生物学功能的相关蛋白。Pan 等（2017, 2018）前期研究结果证实，在 SBA 特异性结合蛋白中质谱检测评分较高的一类蛋白是细胞骨架蛋白。细胞骨架蛋白是细胞重要的组成部分，对维持细胞的形态与功能至关重要。当细胞形态发生改变时，其细胞生物学功能也会发生改变。因此，SBA 可能会通过与细胞骨架蛋白特异性结合，将信号传递至细胞，进而影响细胞的增殖与凋亡等生物学功能^[31,32]。

然而，这些骨架蛋白与 SBA 之间的具体信号转导机制仅是我们的一个猜测，预探知这些蛋白是否会参与 SBA 引起的细胞生物学功能的改变，仍需要大量的研究加以证实和完善。

3 结语

本文就 SBA 的结构特点、主要抗营养作用及其对动物肠道健康的影响进行了综述，强调了 SBA 对动物肠道结构和功能的作用。正是由于像 SBA 这样抗营养因子的存在，大豆蛋白在畜禽饲料行业中的利用效率受到了限制。本文通过对前期的研究进展以及大量关于 SBA 抗营养机制的文献总结发现，SBA 通过与肠道上皮细胞发生特异性结合，影响肠道的结构和功能，产生抗营养作用，而且动物肠道上皮细胞膜上的多种蛋白在 SBA 引起动物肠道结构和功能发生改变中发挥中重要的作用，这些研究不断揭开了日粮中 SBA 引起仔动物肠道损伤以及抗营养作用的黑箱。

SBA 抗营养机制的不断揭示，有利于探明 SBA 引起仔猪乃至畜禽对大豆利用效率降低的原由，为避免 SBA 抗营养作用所致的健康与生产性能问题提供基础，减少不必要的经济损失。此外，探索 SBA 的抗营养机制对于保障人类食品及动物饲料安全也具有重要意义。

参考文献

- [1] Lotan R, Siegelman H W, Lis H, et al. Subunit structure of soybean agglutinin[J]. J. Biol. Chem., 1974, 249: 1219-1224.
- [2] Jaffe C L, Ehrlich-Rogozinski S, Lis H, et al. Transition metal requirements of soybean agglutinin[J]. Febs Letters, 1977, 82(2): 191-6.
- [3] De Boeck H, Lis H, van Tilbeurgh H, et al. Binding of simple carbohydrates and some of their chromophoric derivatives to soybean agglutinin as followed by titrimetric procedures and stopped flow kinetics[J]. J. Biol. Chem., 1984, 259: 7067-7074.
- [4] Halder S, Surolia A, Mukhopadhyay C. Impact of glycosylation on stability, structure and unfolding of soybean agglutinin (SBA): an insight from thermal perturbation molecular dynamics simulations.[J]. Glycoconjugate Journal, 2015, 32(6): 1-14.
- [5] Sinha S, Mitra N, Kumar G, et al. Unfolding Studies on Soybean Agglutinin and Concanavalin A Tetramers: A Comparative Account[J]. Biophys. J., 2005, 88: 1300-1310.
- [6] Grant A L, Holland R E, Thomas J W, et al. Effects of dietary amines on the small intestine in calves fed soybean protein[J]. J. Nutr., 1989, 119: 1034-1041.
- [7] Maxwell J E. Soybeans : cultivation, uses and nutrition[J]. Vet. Parasitol., 1986, 19(3-4): 281-293.
- [8] Yau T, Dan X, Ng C C W, et al. Lectins with potential for anti-cancer therapy[J]. Molecules, 2015, 20: 3791-3810.
- [9] 张柏林, 秦贵信, 孙泽威, 等. 大豆凝集素处理对肉仔鸡生长性能及小肠发育的影响[J].

- 大豆科学, 2010, 29(2): 292-294.
- [10] Zang J J, Li D F, Wang JR, et al. Soybean agglutinin induced both direct and cholecystokinin-mediated pancreatic enzyme synthesis in rats[J]. Anim. Sci, 2006b, 82(5): 645-652.
- [11] 李振田. 大豆凝集素的检测, 纯化和对大鼠抗营养机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003
- [12] 李鹏, 付永平, 张辉. 大豆凝集素的研究进展[J]. 粮油加工(电子版), 2010, 7: 81-83.
- [13] Li Z T, Li D F, Qiao S Y. Effects of soybean agglutinin on nitrogen metabolism and on characteristic of intestinal tissues and pancreas in rats[J]. Arch. Anim. Nutr., 2003b, 57: 369-380.
- [14] Salgado P, Freire J P B, Mourato M, et al. Comparative effects of different legume protein sources in weaned piglets: nutrient digestibility, intestinal morphology and digestive enzymes[J]. Livest. Prod. Sci., 2002, 74(2): 191-202.
- [15] Carbanaro M, Cappelloni M, Nicoli S, et al. Solubility-digestibility relationship of legume proteins[J]. J. Agr. Food Chem., 1997, 45: 3387-3394.
- [16] 秦贵信, 张玲玲, 王利民, 等. 大豆凝集素在不同种属动物小肠中残留、结合和内吞特点的比较研究[J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44(15): 25-28.
- [17] Lalles J P, Tukur H M, Toullec R, et al. Analytical criteria for predicting apparent digestibility of soybean protein in preruminant calves[J]. J. Dairy Sci., 1996, 79(3): 475-482.
- [18] Sissons J W. Anti-nutritional properties of soybean antigens in calves[J]. Vet. Immunol. Immunop., 1991, 24(2): 97-112.
- [19] Pusztai A, Clarke E M W, Grant G, et al. The toxicity of Phaseolus vulgaris lectins. Nitrogen balance and immunochemical studies[J]. J. Sci. Food Agr., 1981, 32(10): 1037-1046.
- [20] 王利民. 大豆凝集素在不同种属动物体内的消化动力学及抗营养作用比较研究[D]. 吉林农业大学, 2007.
- [21] Fasina Y O, Classen H L, Garlich J D, et al. Response of turkey poults to soybean lectin levels typically encountered in commercial diets. 2. Effect on intestinal development and lymphoid organs.[J]. Poul. Sci., 2006, 85(5): 870.
- [22] 潘丽. 大豆凝集素对仔猪小肠上皮细胞机械屏障功能的影响[D]. 吉林农业大学, 2014.
- [23] Reid G, Sobel J D. Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infection: a review[J]. Rev. Infect. Dis., 1987, 9(3): 470-87.
- [24] Bates J M, Akerlund J, Mittge E, et al. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota[J]. Cell Host Microbe, 2007, 2(6): 371-382.
- [25] Geddes K, Philpott D J. A New Role for Intestinal Alkaline Phosphatase in Gut Barrier

- Maintenance[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(1): 8-12.
- [26] Rouanet J M, Lafont J, Creppy A, et al. Effects of dietary kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins in growing rats[J]. *Nutr. Rep. Int.*, 1985, 31: 237-244.
- [27] Bol-Schoenmakers M, Fiechter D, Raaben W, et al. Intestinal alkaline phosphatase contributes to the reduction of severe intestinal epithelial damage[J]. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010, 633(1-3): 71-77.
- [28] Pan L, Qin G, Zhao Y, et al. Effects of soybean agglutinin on mechanical barrier function and tight junction protein expression in intestinal epithelial cells from piglets[J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, 14: 21689-21704.
- [29] Pusztai A, Ewen S, Grant G, et al. Relationship between survival and binding of plant lectins during small intestinal passage and their effectiveness as growth factors [J]. *Digestion*, 1990, 46: 308-316.
- [30] Bakke-McKellep A, Penn M, Chikwati E, et al. In vitro effects of various anti-nutritional factors on intestinal glucose absorption and histology in Atlantic salmon[J]. In *Book of Abstracts from XIII ISFNF-International Symposium on Fish Nutrition and Feeding*; Brazil. Florianopolis, 2008: 1-5.
- [31] Pan L, Zhao Y, Yuan Z, et al. The Integrins Involved in Soybean Agglutinin-Induced Cell Cycle Alterations in IPEC-J2[J]. *Mol. Cells*, 2017, 40(2): 109-116.
- [32] Pan L, Zhao Y, Farouk M H, et al. Integrins Were Involved in Soybean Agglutinin Induced Cell Apoptosis in IPEC-J2[J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, 19(2): 587.

Effects of Soybean Agglutinin on the Structure and Function of animal intestinal epithelial cells

Gui-xin Qin, Li Pan

(Jilin Agricultural University, College of Animal Science and Technology, Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Key Laboratory of Animal Production, Product Quality and Security, Ministry of Education)

Abstract: Soybean agglutinin is an anti-nutritional factors contained in soybean, according to the structure characteristics of soybean agglutinin, it can bind to the surface of intestinal epithelial cells in mammalian, and affect the metabolic process of the intestinal epithelial cells. The purpose of this review is to describe the structure, the anti-nutritional functions of soybean agglutinin and the effects of soybean agglutinin on the health of the animal's intestines, with an emphasis on the effects of soybean agglutinin on animal intestinal structure and function, which will provide more important information on the anti-nutritional mechanism of soybean agglutinin in-depth study.

Keyword: soybean agglutinin, anti-nutritional functions, intestinal health, cell proliferation, apoptosis pathway

影响猪饲料原料有效能值的关键化学成分

胡杰 刘岭 张帅 李军涛 黄承飞 朴香淑 王凤来 李德发 王军军*

(中国农业大学动物科技学院, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 饲料的有效能可用于猪的维持、生长、繁殖和泌乳, 饲料原料品种、种植年份、气候环境、储存条件、加工工艺等多种因素均会造成饲料原料理化参数及有效能值的变异。研究表明, 猪饲料原料中多种化学成分与饲料原料的有效能值显著相关, 通过建立基于不同饲料原料化学成分的预测方程可以较为准确地评定其有效能值, 从而达到精准配方的目的。本文就猪常用饲料原料中理化参数和有效能值的变异情况、影响猪饲料原料有效能值的关键化学成分、基于猪饲料原料化学成分预测其有效能值的数学模型及其在饲料配方中的应用作一综述, 以期进一步深化对饲料原料与有效能值间构效关系的认知、并推动猪饲料的精准配制。

关键词: 猪; 饲料原料; 有效能; 预测; 化学成分; 精准配方

生猪是我国畜牧业的支柱产业^[1], “十二五”以来, 我国生猪存栏量、出栏量和猪肉产量均稳居世界第一^[2]。在猪肉生产过程中, 饲料成本占总成本的 70%以上^[3], 而饲料能量则是饲料配方中需考虑的重要因素。因此, 对不同饲料原料的有效能值进行评定是十分必要的。NRC (2012)^[4]等提供的饲料原料有效能数据大多是预测值或基于已发表参考文献的平均值, 并不能真实反映饲料原料的变异情况, 而饲料原料的有效能值很大程度上受其某些化学成分的影响^[5-8], 通过揭示影响猪饲料原料有效能值的关键化学成分、建立基于不同饲料原料化学成分的预测方程可以较为准确地评定其有效能值, 并在饲料配制过程中予以精确把握。本文就猪常用饲料原料中理化参数和有效能值的变异情况、影响猪饲料原料有效能值的关键化学成分、基于猪饲料原料化学成分预测其有效能值的数学模型及其在饲料配方中的应用作一综述, 以期深化对饲料原料与有效能值间构效关系的认知、并推动猪饲料的精准配制。

1 猪常用饲料原料理化参数及有效能值的变异

猪饲料原料理化参数包括容重、千粒重、颗粒大小、化学成分等指标, 饲料原料品种、种植年份、气候环境、种植地区、降雨量、储存条件、加工工艺等多种因素均会造成饲料原料理化参数以及有效能值的变异。王红亮^[9]测定了 19 个不同产地大麦的化学成分含量, 研究显示包括粗蛋白 (CP) 等 7 种常规成分的变异系数超过 10%。李全丰^[10]采集同一地区不同品种的玉米对其常规理化参数进行检测, 发现不同品种玉米的容重变异系数较大, 化学成分中中性洗涤纤维变异系数达到 5.95%, DE 和 ME 均差异显著 ($P < 0.05$)。Liu 等^[11]指出膨化玉米比常规玉米的 DE 显著提高 5.54% ($P < 0.05$)。研究报道大麦去皮后可以显著提高 ($P < 0.01$) 大麦的 DE 和 ME, 这可能是由于大麦皮中含有较多纤维成分, 而纤维成分具有抗营养特性^[12]。Kraler 等^[13]发现发酵小麦麸中的淀粉 (St)、粗纤维 (CF) 以及粗脂肪 (EE)

基金项目: 国家自然科学基金 (31630074), 国家生猪产业技术体系建设专项 (CARS-35)

作者简介: 胡杰 (1995—), 男, 山西阳泉人, 硕士研究生, 研究方向为猪营养。E-mail: brhagh@163.com

*通讯作者: 王军军, 教授, 博士生导师。E-mail: jkywj@hotmail.com

含量与小麦麸原料相比有较大变化。此外,饲料原料颗粒大小是造成有效能值变异的一个重要因素, Liu 等^[14]指出 DDGS 的颗粒尺寸由 818 μm 降低至 595 μm 时, 其 DE 有显著提升 ($P<0.05$)。Rojas^[37]也发现玉米的 DE 和 ME 随颗粒尺寸减小 (865 μm ~339 μm) 而线性增加 ($P<0.05$)。NRC(2012)^[4]重新修订了众多饲料原料的化学成分含量和有效能值, 说明不同时期的饲料原料的理化参数和能值会发生变化。而且, 动物品种、体重阶段等对有效能值也有影响, 谢飞^[15]研究表明谷物的有效能值在猪的不同体重阶段存在差异, 配制日粮时应充分考虑猪的体重阶段对有效能值的影响。

2 影响猪饲料原料有效能值的关键化学成分

2.1 文献综述

已有大量研究利用饲料原料中的化学成分建立预测方程来预测其有效能值, 并且取得了良好的预测效果。饲料原料由于其组成结构不同, 影响其有效能值的化学成分也不尽相同。EE、St、中性洗涤纤维 (NDF)、粗灰分 (ash)、GE 与玉米 DE 的相关性较高 ($P<0.01$), 而 St、DE、EE、NDF、ash 则是影响玉米 ME 的关键化学成分。其中, NDF 与 ash 对玉米的有效能值均呈现负效应^[16], 玉米副产品中的第一关键化学成分为半纤维素 (HC)^[17]。张志虎等^[18]研究发现麦麸中与 DE 相关性最高的成分依次为 St、NDF、CF 和酸性洗涤纤维 (ADF), 由 St 所建立的单因子或多因子 DE 预测方程具有较高的相关系数 (coefficient of correlation, R^2) 和偏低的残差标准差 (residual standard deviation, RSD); EE 与 CP 虽然和 DE 无显著相关性 ($P>0.05$), 但将其引入预测方程时能够增加方程预测的准确性。王红亮^[19]指出影响大麦有效能值的第一关键化学成分为 ADF, Fairbairn^[20]也有同样结论, 单由该因子为变量建立的预测方程就有较高的 R^2 , 当引入 NDF 和 GE 时可以改善 DE 模型的预测性能。小麦粉副产品中 St 和 CF 变异较大, Huang 等^[21]建立了小麦制粉副产品的有效能值预测模型, NDF 在建模过程中可以作为唯一的预测因子且具有良好的预测效果。高粱是重要的谷物饲料原料, 其所含的抗营养因子单宁 (tannin) 是影响 DE、ME 的重要因素, 高粱中 tannin 含量每升高 1 %, ME 与 DE 可降低 200kcal/kg, ADF 则是预测高粱有效能值的第二关键化学成分^[22]。油脂中含有较多的多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA), Su 等^[35]报道通过油脂中 PUFA、油酸 (oleic acid, C18:1)、硬脂酸 (stearic acid, C18:0) 建立的 DE 与 ME 预测方程有较高的准确度。

蛋白质饲料原料在猪饲料配方中具有不可替代的作用, 它可以为猪的正常生长和生命活动提供各种氨基酸和能量, 对其有效能值的测定也是研究热点。贺喜等^[23]报道预测大米蛋白 DE 和 ME 的最佳化学成分为 NDF, EE 虽然和 DE 无显著相关性 ($P>0.05$), 但由 EE、CF 也可以建立准确性较高的预测方程。玉米 DDGS 按其加工工艺是否提油可以分为提油型和全油型, 研究发现建立玉米 DDGS 分类模型要比全类模型效果更好, 影响二者 DE 的第一关键化学成分均为纤维类成分 (CF 和 NDF); 分析玉米 DDGS 成分与 ME 的相关关系时, NDF 仍然为最高相关因子; EE 对于全油类至关重要, 但 EE 与提油类没有显著相关性 ($P>0.05$), EE 在建立预测方程过程中也未有改善预测效果的作用^[25-26]。Li 等^[27]发现豆粕

中 DE 与 CF、ADF、NDF 负相关 ($P<0.05$), 而 DE 是影响豆粕 ME 的关键因子, 相关系数为 0.85 ($P<0.01$), CP 可提高豆粕 ME 预测模型的准确度。朱良等^[28]研究报道棉籽粕 CP 与 DE 相关性最高, 相关系数达到 0.82 ($P<0.01$), 而通径分析表明 NDF 对 DE 的贡献较高。因此, 棉籽粕中 CP 与 NDF 是影响 DE 的关键化学成分, 去酚棉籽粕中影响 DE 的关键化学成分为 ADF^[29]。李明^[30]发现菜籽饼粕中分别单独由 ADF 和 NDF 建立的 DE 一元预测模型效果较好, 当引入其他变量时反而会增加模型的 RSD 值。花生粕 DE 与 NDF、ADF、GE 均有显著相关性 ($P<0.05$), 其中 NDF 的 R^2 最高, 为 - 0.82 ($P<0.01$), 当 CP、GE 引入 NDF 对 DE 的预测模型时可以取得最佳效果, ME 与 NDF 的 R^2 达到 - 0.77 ($P<0.05$)^[32]。Liu 等^[33]指出 CP 与葵花粕的 DE 和 ME 显著正相关 ($P<0.05$)。

白酒糟是酿酒过程中的副产品, 理化参数变异较大, CF 是影响其 DE 的第一关键化学成分^[34]。施传信^[24]在建立全脂米糠有效能值预测模型时发现 AEE 是最佳关键化学成分, 而当方程中引入 CP、St、NDF、ADF 等成分时可以改善模型的预测性能, DE 与 ME 均受到全脂米糠中 CP 的影响 ($P<0.05$)。

2.2 规律性探究

2.2.1 影响不同猪饲料原料有效能值的第一关键化学成分

通过对文献查阅, 影响不同猪饲料原料 DE 与 ME 的第一关键化学成分见表 1。

表 1 影响不同猪饲料原料 DE 与 ME 的第一关键化学成分

Table 1 The first key chemical components affecting the DE and ME value in feed ingredients of pigs

饲料原料 Feed ingredients	消化能 Digestible energy	代谢能 Metabolizable energy
玉米 Corn	EE	St
玉米副产品 Corn co-products	HC	HC
麦麸 Wheat bran	St	—
高粱 Sorghum	Tannin	Tannin
油脂 Lipid source	PUFA	PUFA
白酒糟 Distiller grains	CF	—
豆粕 Sobeal meal	CF	—
大麦 Barley	ADF	ADF
脱酚棉籽蛋白 DCP	ADF	—
小麦制粉副产品 Wheat milling by-products	NDF	NDF
大米蛋白 Rice protein	NDF	NDF
玉米干酒糟及可溶物 Corn DDGS	NDF	NDF
花生粕 Penut meal	NDF	NDF
菜籽饼粕 Rapeseed meal	ADF/NDF	—
棉籽粕 Cottonseed meal	CP	—
葵花粕 Sunflower seed meal	CP	CP
全脂米糠 Full-fat rice bran	AEE	AEE

麦麸和玉米 St 含量丰富, St 对其有效能值影响较大。油脂是供能物质, 玉米和全脂米糠中油脂较多, 因此 EE 作为第一关键化学成分影响玉米 DE 和全脂米糠有效能值。当用油

脂作为饲料原料时，脂肪酸是与能值相关的主要因素，且最佳预测因子为 PUFA。高粱中的单宁是一种抗营养成分，会降低动物对营养物质的利用率和吸收率，对高粱的有效能值影响较大，将其作为饲料使用时应充分考虑其抗营养特性。对于大多数饲料来说，影响其 DE 与 ME 的第一关键化学成分还是纤维类成分（NDF、ADF 和 CF），以 NDF 居多，这与孙献忠^[15]的报道一致，但在植物性蛋白质饲料原料中，葵花粕和棉籽粕的第一关键化学成分是 CP。

2.2.2 CP、EE 和 ash 对有效能值的贡献

除纤维类物质外，CP、EE 和 ash 影响多数饲料原料的有效能。玉米、麦麸、高粱、豆粕、棉籽粕和花生粕，CP 虽然与 DE 无显著相关性（ $P>0.05$ ），但其作为模型预测自变量时均可提高预测效果；小麦制粉副产品、全脂米糠和葵花粕中的 CP 与 DE 和 ME 相关性均显著（ $P<0.05$ ）。这说明 CP 对能量有一定的贡献，对 DE 的影响更多一些，May 等^[36]也有此报道。玉米、麦麸、大米蛋白和全脂米糠的最优 DE 预测方程中均有 EE，玉米、大麦和全脂米糠中 ash 与 DE 和 ME 显著相关（ $P<0.05$ ），ash 是玉米 DDGS 中第二或第三关键化学成分^[25]，表明 EE 与 ash 对饲料原料有效能值的贡献不容忽视。

2.2.3 关键化学成分的组合效应

一般，与饲料原料有效能值相关性显著（ $P<0.05$ ）的化学成分均为影响其有效能值的关键化学成分，但几乎所有饲料原料的最优预测模型均非全部关键化学成分的组合，甚至会引入其他无相关因子，可能是因子间的互作导致了预测模型不同组合效果的差异。已有文献报道中，除玉米 ME 及玉米副产品的有效能值预测模型外（表 2），其他饲料原料的最优 DE 和 ME 预测模型均包含第一关键化学成分（其含量并不一定最高^[23,27,28,32]），证明了饲料原料中的第一关键化学成分对其有效能值的主导影响。大部分最优预测模型因子数为 1~3，且三因子预测方程居多。

2.2.4 关键化学成分的正负效应

从营养学角度看，EE、CP 等是供能物质，预测模型中的系数应为正值；CF、NDF、ADF、ash 等较难被猪肠道消化吸收，系数应为负值。但在 Anderson^[17]、Li^[18]等预测模型中却相反，无法用营养学理论解释。可能原因是方程中由于截距的存在，使这些成分更多起到校正模型的作用；也有可能与加工工艺导致相关化学成分间的关联变化有关。

2.2.5 有效能之间的相关关系

总结文献表明，在玉米、大米蛋白、全脂米糠、玉米 DDGS、花生粕以及葵花粕中 GE 与 DE 间具有显著正相关性（ $P<0.05$ ），且在葵花粕 DE 预测方程中引入 GE 可以提高模型预测精确度；在玉米、大麦、全脂米糠、玉米 DDGS、豆粕、葵花粕和小麦副产品中，DE 与 ME 显著正相关（ $P<0.05$ ），豆粕的最佳预测方程中就含有 DE（见表 2），而 DE 可以改善玉米副产品预测模型的性能；GE 与 ME 在高粱、大米蛋白和玉米 DDGS 中显著正相关（ $P<0.05$ ）。

表 2 生长猪能量饲料原料有效能预测方程

Table 2 Prediction equations for available energy of energy ingredients in growing pigs

饲料原料 Feed ingredients	消化能 Digestible energy/MJ/kg, *: Kcal/kg	代谢能 Metabolizable energy/MJ/kg, *: Kcal/kg	资料来源 references
玉米 Corn	*DE=1062.68+ 49.72EE+ 0.54GE +9.11St (R ² =0.62)	*ME = 671.54 +0.89DE-5.57NDF-(191.39 × ash) (R ² =0.87)	LI 等 ^[16]
玉米副产品 Corn co-products	*DE = - 7471+1.94GE-50.91EE+ 13.20St × (18.04×OM digestibility) (R ² =0.90) DE=0.32St-1.66EE+8.70 (R ² =0.93, RSD=0.25)	*ME=0.90GE-29.95TDF (R ² =0.72)	Anderson 等 ^[17]
麦麸 Wheat bran	DE=-0.91×CF-0.71×CP+33.80 (R ² =0.76, RSD=0.35) DE=2.901	—	张志虎 ^[18]
大麦 Barley	0.296ADF+0.018NDF+ 0.708GE (R ² =0.92) DE = 3 526 - 92.8ADF (R ² =0.85)	ME=6.442 - 0.299×ADF+0.022×NDF+ 0.498×GE (R ² =0.92)	王红亮 ^[19] Fairbain 等 ^[20]
小麦制粉副产 品 Wheat milling by-products	DE = 19.2-0.016NDF (R ² =0.94, RSD=0.58)	ME = 16.9-0.0136NDF (R ² =0.94, RSD=0.50)	Huang 等 ^[21]
高粱 orghum	*DE = 6 974 - (236×tannin) - 43.27×ADF) +24.96CP-0.71GE(R ² =0.96)	*ME=3 973-62×tannin-27.24 × ADF (R ² =0.94)	Pan 等 ^[22]
油脂 Lipid source	DE = 34.15 + 0.07PUFA + 0.21 × C 18:0 - 0.04 × C18:1 (R ² =0.84)	ME = 33.37 + 0.07 × PUFA + 0.20 × C18:0 - 0.04 × C18:1 (R ² =0.85)	Su 等 ^[35]

注：原料为干基状态，下表同。

3 基于猪饲料原料化学成分预测其有效能值的数学模型

本文搜集整理了已发表的相关文献中基于猪饲料原料化学成分预测其有效能值的最佳预测方程，按照饲料原料特性分类归纳，详见表 2，表 3 和表 4。

表 3 生长猪植物蛋白类饲料原料有效能预测方程

Table 3 Prediction equations for available energy of protein ingredients in growing pigs

饲料原料 Feed ingredients	消化能 DE, MJ/kg, *: Kcal/kg	代谢能, ME/MJ/kg, *: Kcal/kg	净能 NE /MJ/kg, *: Kcal/kg	资料 Source
大米蛋白 Rice protein	DE=22.17-0.51NDF (R ² =0.50, RSD=0.93) DE=18.58-0.49CF+0.31EE (R ² =0.70, RSD=0.77)	ME=21.42-0.74×NDF (R ² =0.52, RSD=1.30)	—	贺喜等 ^[23]
玉米干酒糟及可溶物 Corn DDGS	*DE=1 874- (21.35×NDF) + (0.65×GE) - (99.84×CF) (R ² =0.86) *DE=1 601- (54.48×TDF) + (0.69×GE) + (731.5×BD) (R ² =0.91)	*ME=1 463- (32.43×NDF) + (0.79×GE) - (54.52×ash) -68.82×CF (R ² =0.86) *ME=4 558+ (52.26×EE) - (50.08×TDF) (R ² =0.85)	—	李平 ^[11]
玉米全油类干酒糟及可溶物 Corn full-oil DDGS	*DE = -643-(94.52×CF) + (1.14×GE)-(22.89×NDF) (R ² =0.83)	*ME = 7 898-(42.08× NDF)- (136.17×ash) + (101.19×EE)- (103.83×CP) (R ² =0.90)	*NE= -740.49 - 43.82× CF+ 161.98× ash + 0.765×DE (R ² =1.00, RSD=1.25)	Shurson ^[26]
玉米提油类干酒糟及可溶物 Corn de-oil DDGS	*DE = 4 338-(36.75×NDF) + (32.99×CP)-(67.10×CF) (R ² =0.95)	*ME= 4 066-(46.30×NDF) + (45.80×CP)-(106.19×ash) (R ² =0.94)	—	—
豆粕 Sobean meal	DE = 38.44 - 0.43×CF - 0.9× GE+0.11×ADF (R ² =0.67)	ME = 2.74 + 0.97×DE - 0.06×CP (R ² =0.79)	NE = 0.75 DE +0.043 ADF - 2.18 (R ² =0.89)	Li 等 ^[27]
棉籽粕 Cottonseed meal	DE= - 14.38+0.557×GE+0.320 95×CP-0.012 68×NDF (R ² =0.72) DE = 15. 40-0. 27×ADF (R ² = 0. 91,RSD =0.27)	—	—	朱良等 ^[28]
脱酚棉籽蛋白 DCP	DE = 14.88- 0.29×ADF+0.25×E E (R ² = 0.94, RSD = 0.22)	—	—	Shen 等 ^[29]
菜籽饼粕 Rapeseed meal	DE=16.20-0.10×NDF (R ² = 0.63, RSD = 0.49) DE=16.32-0.15ADF (R ² = 0.63, RSD = 0.49)	—	NE=1.14DE+0.46 ×CP-25.24 (R ² =0.96)	李明 ^[30] 李忠超 ^[31]
花生粕 Penut meal	DE = 0.18 + 0.73 GE + 0.08 CP - 0.14 NDF (R ² = 0.97, RSD = 0.10)	ME= 17.78 - 0.17 ×NDF (R ² = 0.59, RSD = 0.51)	—	Li 等 ^[32]
葵花粕 Sunflower seed meal	DE= - 4.90+0.14×CP-0.08× CF+0.71×GE (R ² = 0.89, RSD = 0.27)	ME=1.14+0.87×DE (R ² = 0.93, RSD = 0.20) ME= - 4.90-0.05×NDF+0.66× GE+0.16×CP (R ² = 0.96, RSD = 0.14)	—	Liu 等 ^[33]

表 4 生长猪纤维饲料原料有效能预测方程

Table 4 Prediction equations for available energy of fiber ingredients in growing pigs

饲料原料 Feed ingredients	消化能 Digestible energy/MJ/kg, *: Kcal/kg	代 谢 能 energy/MJ/kg, *: Kcal/kg	Metabolizable	资料来源 references
白酒糟 Distiller grains	$DE=16.128-0.370 \times CF-0.093 \times ADF+0.131 \times NDF$ ($R^2=0.937$, $RSD=0.69$)	—	—	李云萍 ^[34]
全脂米糠 Full-fat rice bran	$DE=7.78-0.09 \times CP+0.25 \times AEE+0.05 \times ST$ $0.08 \times NDF+0.29 \times ADF-0.13 \times Ash-1.8 \times Ca+2.43 \times TP$ ($R^2=0.92$)	— $ME=6.22+0.22CP+0.28AEE+$ $0.02ST+0.14NDF+0.30ADF$ ($R^2=0.61$)		施传信 ^[24]

4 猪饲料原料有效能值预测模型在饲料配方中的应用

在制定动物饲料配方时，确定其中的有效能值非常关键，关系到饲料是否能够满足动物维持、生长等能量需要。在饲料配方和配制过程中准确把握原料变异，是实现精准日粮配制的基础。通过湿化学检测方法或近红外预测技术获得猪饲料原料常规成分含量，结合猪饲料原料有效能值预测模型可以快速、简便和较为准确地评定不同饲料原料中的有效能值。但应注意的是现有模型大多数适用于生长猪，仔猪、育肥猪和母猪的能量预测模型还有较大空缺。此外，和 ME 与 DE 体系相比，NE 体系可以更准确地评定饲粮中的能值，可以更加合理地利用副产物和低蛋白日粮，运用 NE 预测生产性能更加准确，还可减少配方成本。因此，猪饲料原料 NE 预测模型具有更加广泛的应用前景。

5 小 结

有效能值是猪饲料原料的重要指标，众多因素会导致猪饲料原料中有效能值的变异，而饲料原料中的某些化学成分与其有效能值显著相关。建立基于饲料原料化学成分的有效能值预测方程，可以实现对有效能值的动态评定、弥补直接引用相关数据的缺陷。不同饲料原料中影响其有效能值的化学成分较多，但第一关键化学成分占据主导地位，其在大多数预测方程中是必不可少的一个因素。应注意的是：现有模型大多适用于生长猪，仔猪、育肥猪和母猪的能量预测模型还有较大空缺；对猪饲料原料 NE 的测定较少，对影响 NE 的关键因子研究尚有待进一步展开。以上两方面应是未来猪饲料原料有效能值评定的热点和主要方向。

参考文献：

- [1] 张广安.中国猪业现状以及未来发展趋势[J].兽医导刊,2017(11):9–11.
- [2] 中国猪业发展势头可喜[J].猪业观察,2016(3):37.
- [3] LANGE C F M D,BIRKETT S H.Characterization of useful energy content in swine and poultry feed ingredients[J].Canadian Journal Animal Science,2005,85(3):269–280.
- [4] NRC.Nutrient requirements of swine[S].11th ed.Washington D.C.:National Academy Press,2012:4–5.

- [5] SOL C, CASTILLEJOS L, López-Vergé S, et al. Prediction of the digestibility and energy contents of non-conventional by-products for pigs from their chemical composition and *in vitro* digestibility[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017(234):237–243.
- [6] KIM M J, HOSSEINDOUST A R, CHOI Y H, et al. An evaluation of metabolizable energy content of main feed ingredients for growing pigs when adding dietary lysophospholipids[J]. *Livestock Science*, 2018(210):99–103.
- [7] 黄强. 小麦制粉副产品猪有效能值和氨基酸消化率的研究[D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2015:40–64.
- [8] 潘晓花, 杨亮, 庞之洪, 等. 猪饲料有效能值预测模型的构建[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(5):1450–1460.
- [9] 王红亮. 大麦猪有效能预测方程及改善方法的研究[D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2017:17–27.
- [10] 李全丰. 中国玉米猪有效营养成分预测方程的构建[D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2014:18–50.
- [11] LIU H, WAN H, XU S, et al. Influence of extrusion of corn and broken rice on energy content and growth performance of weaning pigs[J]. *Animal Science Journal*, 2016, 87(11):1386–1395.
- [12] WANG H, SHI M, XU X, et al. Partial dehulling increases the energy content of barley fed to growing pigs and can be comparable to corn[J]. *Asian-Australas Journal of Animal Sciences*. 2016, 30(4):562–568.
- [13] KRALER M, SCHEDLE K, DOMIG K J, et al. Effects of fermented and extruded wheat bran on total tract apparent digestibility of nutrients, minerals and energy in growing pigs[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 197(13):121–129.
- [14] LIU P, SOUZA L W O, BAIDOO S K, et al. Impact of DDGS particle size on nutrient digestibility, DE and ME content, and flowability in diets for growing pigs[J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(13):4925–4932.
- [15] 谢飞. 不同体重阶段猪常用饲料原料有效能比较研究[D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2017:33–39.
- [16] LI Q F, ZANG J J, LIU D W, et al. Prediction corn digestible and metabolizable energy content from its chemical composition in growing pigs[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2014, 5(3):1–8.
- [17] ANDERSON P V, KERR B J, WEBER T E, et al. Determination and prediction of digestible and metabolizable energy from chemical analysis of corn coproducts fed to finishing pigs[J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(4):1242–1254.
- [18] 张志虎, 唐受文, 王思宇, 等. 麦麸猪消化能与能量消化率预测方程的建立[J]. *动物营养学*

报,2012,24(10):1903–1911.

[19] 王红亮.大麦猪有效能预测方程及改善方法的研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2017:17–31.

[20] FAIRBAIN S L,PATIENCE J F,CLASSEN H L,et al.The energy content of barley fed to growing pigs: characterizing the nature of its variability and developing prediction equations for its estimation[J].Journal of Animal Science,1999,77(6):1502–1512.

[21] HUANG Q,SHI C X,SU Y B,et al.Prediction of the digestible and metabolizable energy content of wheat milling by-products for growing pigs from chemical composition[J].Animal Feed Science and Technology,2014(196):107–116.

[22] PAN L,LI P,MA X K,et al.Tannin is a key factor in the determination and prediction of energy content in sorghum grains fed to growing pigs[J].Journal of Animal Science,2016,94(7):2879–2889.

[23] 贺喜,陈达图,胡官波,等.生长猪大米蛋白消化能、代谢能的评定及预测模型研究[J].动物营养学报,2015,27(6):1740–1749.

[24] 施传信.全脂米糠猪有效能值与养分消化率研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2015:17–29.

[25] 李平.国产不同生产工艺玉米 DDGS 生长猪能量与氨基酸消化率研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2014:13–38.

[26] SHURSON G.Effects of corn-DDGS composition on digestible and metabolizable energy value and prediction in growing pigs[J].Journal of Animal Science,2013,91(7):3231–3243.

[27] LI Z,WANG X,GUO P,et al.Prediction of digestible and metabolisable energy in soybean meals produced from soybeans of different origins fed to growing pigs[J].Archives of Animal Nutrition,2015,69(6):473–486.

[28] 朱良,贺喜,李敏,等.生长猪棉籽粕消化能的评定及估测模型研[J].动物营养学报,2013,25(4):819–826.

[29] SHEN J,CHEN D,GUANBO H U,et al.Evaluation and prediction model of digestible energy of degossypolized cottonseed protein for growing pigs[J].Chinese Journal of Animal Nutrition,2014,26(8):2262–2269.

[30] 李明.菜籽饼粕饲料猪消化能及养分消化率预测模型的研究[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2011:14–24.

[31] 李忠超.生长猪植物蛋白原料净能推测方程的构建[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2017:32–79.

[32] LI Q,PIAO X,LIU J,et al.Determination and prediction of the energy content and amino acid digestibility of peanut meals fed to growing pigs[J].Archives of Animal Nutrition,2014,68(3):196–

210.

[33] LIU J,XU X,ZHAO P F,et al.Evaluation of energy digestibility and prediction of digestible and metabolisable energy in sunflower seed meal fed to growing pigs[J].Italian Journal of Animal Science,2015,14(1):35–38.

[34] 李云萍.生长猪白酒糟消化能及养分消化率预测模型的研究[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2012:18–26.

[35] SU Y B,BI X H,MA X K,et al.Determination and prediction of the digestible and metabolizable energy content of lipid sources fed to growing pigs[J].Animal Feed Science and Technology,2015(209):119–127.

[36] MAY R M,BELL J M.Digestible and metabolizable energy values of some feeds for the growing pig[J].Canadian Journal of Animal Science,1971,51(2):271–278.

[37] ROJAS O J,STEIN H H.Effects of reducing the particle size of corn grain on the concentration of digestible and metabolizable energy and on the digestibility of energy and nutrients in corn grain fed to growing pigs[J].Livestock Science,2015(181):187–193.

[38] ZANOTTO D L,GUIDONI A L,PASSOS A A,et al.Effects of exogenous enzymes and particle size on corn energy values for growing pigs[J].Thesaurus Boletín Del Instituto Caro Y Cuervo,2010(34):51–71.

[39] ĐURO V,RADMILO Č,SLAĐANA R,et al.Importance of feed structure (particle size) and feed form (mash vs. pellets) in pig nutrition—A review[J].Animal Feed Science and Technology,2017(233):133–144.

Key Chemical Components Affecting the Available Energy of Feed Ingredients in Pigs

HU Jie LIU Ling ZHANG Shuai LI Juntao Huang Chengfei Piao Xiangshu Wang
Fenglai LI Defa WANG Junjun*

*(State Key Laboratory of Animal Nutrition, College of Animal Science and Technology, China
Agricultural University, Beijing 100193, China)*

Abstract: The available energy of feed can be used for the maintenance, growth, reproduction and lactation of pigs. A number of factors including varieties, growing years, climate, storage condition, processing technology et al can lead to the variation of physical and chemical parameters and available energy value of feed ingredients. Studies have shown that the correlation between chemical components and available energy of feed ingredients of pigs is significant. Establishing prediction equations for different feed ingredients based on the chemical composition is a great way to evaluate the available energy so as to achieve the goal of accurate diet formulation. In this paper, the variation of physical and chemical parameters and available energy value in main feed ingredients of pigs, key chemical components affecting available energy of feed ingredients in pigs, mathematical models predicting available energy based on chemical components and application of models in feed formulation are reviewed. It is expected to deepen the cognition of structure-function relationship between feed ingredients and available energy and promote accurate diet formulation of pigs.

Key words: pig; feed ingredients; available energy; prediction; chemical components; accurate diet formulation

*Corresponding author, professor, E-mail: JKYWJJ@HOTMAIL.COM

*Corresponding author, professor, E-mail: JKYWJJ@HOTMAIL.COM

饲料霉菌毒素吸附剂研究进展

徐子伟¹ 万晶²

(1.浙江省农业科学院畜牧兽医研究所, 杭州 310021; 2.浙江省农业科学院农村发展研究所, 杭州 310021)

摘要: 霉菌毒素是危害畜牧业的主要风险因子之一。全球每年约有 25% 的农产品污染霉菌毒素, 我国霉菌毒素污染情况尤为严重, 与饲料污染关系密切的霉菌毒素主要有黄曲霉毒素 B₁、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、伏马毒素、T-2 毒素、赭曲霉毒素 A 等。饲料中添加毒素吸附剂是目前应用最为广泛的脱毒方法。本文综述了饲料霉菌毒素污染情况、毒性作用、毒素吸附剂研究进展。重点围绕污染情况严重且吸附难度较大的呕吐毒素和玉米赤霉烯酮, 进行吸附剂种类、作用机理与效果的探讨, 结合本团队通过对蒙脱石的改性提高吸附剂效率和改善动物生产性能的研究结果, 展示了解决饲料霉菌毒素污染问题的方案, 并对进一步研究开发提出策略和建议。

关键词: 霉菌毒素吸附剂; 呕吐毒素; 玉米赤霉烯酮; 蒙脱石; 改性

霉菌毒素是霉菌在生长繁殖过程中产生的对人类、动物和农作物具有毒性的次级代谢产物, 广泛存在于饲料原料及饲料中, 对人和动物的健康均可造成影响。据统计, 全球每年约有 25% 的农产品受到不同程度的霉菌毒素污染。全球气候异常、耕作制度单一和长期使用化肥, 是霉菌毒素污染趋于严重的原因。在我国, 因受种植方式、贮藏方式、长江流域和华南地区的高温高湿天气以及消费者习惯的影响, 农产品霉菌毒素污染危害尤为严重。以往出口欧盟食品违例事件中, 相对于公众熟知的重金属、食品添加剂及农药残留等原因, 霉菌毒素超标原因导致的事件比例最高。因此, 霉菌毒素的有效防控已成为行业高度关注的问题。

1 饲料霉菌毒素污染现状

污染饲料及饲料原料的霉菌毒素, 大多由曲霉属 (*Aspergillus*)、镰刀菌属 (*Fusarium*) 和青霉菌属 (*Penicillium*) 霉菌产生, 主要包括黄曲霉毒素 (aflatoxins, AFs)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)、单端孢霉烯族毒素[如脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON, 即呕吐毒素)、雪腐镰刀菌烯醇 (nivalenol, NIV) 及 T-2 毒素]、玉米赤霉烯酮 (zearalenone, ZEA) 和伏马毒素 (fumonisins, FBs) 等。2009—2011 年, 对全球涵盖玉米、大豆、豆粕、小麦、酒糟蛋白饲料 (distillers dried grains with solubles, DDGS) 和饲料的 7 049 个样品中霉菌毒素含量检测结果发现, 81% 的样品至少检出 1 种毒素, AFs、ZEA、DON、FBs 和 OTA 检出率分别为 33%、45%、59%、64% 和 28%, DON 和 FBs 检出率最高^[1]。由于饲料原料加工过程中的毒素浓缩效应, 加工副产品如玉米蛋白粉、DDGS 等的霉菌毒素超标情况严重^[2]。因贮藏环境潮湿与高温, 青贮饲料易于霉菌生长, 霉菌毒素含量约是其他饲料原料的 3 倍^[3]。

由于大多数霉菌可以产生多种霉菌毒素, 故饲料及饲料原料中多种毒素同时存在的情况

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-35); 浙江省农业 (畜禽) 新品种选育重大科技专项 (2016C02054)

作者简介: 徐子伟 (1956—), 男, 浙江永康人, 研究员, 博士生导师, 从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: xzwfyz@sina.com

较为普遍^[4]。据报道,欧洲 82%的饲料样品污染霉菌毒素,其中 DON、T-2 和 FBs 污染率最高,75%的样品中检出 2 种及以上霉菌毒素^[5]。对全球配合饲料中霉菌毒素污染情况调查后发现,90%以上的样品霉菌毒素污染呈阳性,65%的样品中存在 2 种及以上的霉菌毒素,其中 DON 污染率最高^[6]。2011-2014 年,波兰 1 384 个饲料及原料样品中, DON 和 ZEA 检出率最高,其中玉米中检出率分别达到 89%和 92%,青贮玉米中检出率分别达到 86%和 88%,全价饲料中超过 90%的样品同时检出 DON 和 ZEA,95%的饲料至少污染其中 1 种毒素^[7]。2017 年我国饲料原料及饲料霉菌毒素检测结果表明, DON 污染较为严重, AFs 超标率呈下降趋势, ZEA 和 DON 的超标率呈上升趋势^[8]。百奥明公司 2017 年中国饲料及原料霉菌毒素污染情况的调查报告显示,送检玉米及玉米副产物中 DON 阳性率高达 98%,豆粕、麸皮、杂粕中 DON 阳性率为 100%,猪饲料和禽饲料中 DON 阳性率分别为 99%和 100%, DON 阳性率较前几年呈上升趋势^[9]。

2 饲料中霉菌毒素对动物的危害

不同霉菌毒素中毒会引起动物不同的生理反应和临床症状,不同种类动物对霉菌毒素的吸收、分布、代谢和降解的差异又导致其对霉菌毒素敏感性的不同。

DON 具有很强的肠道毒性,猪对 DON 最为敏感,猪肠道可吸收较多的 DON(可达 55%), $1\sim 2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 DON 就能引起猪的毒性效应^[10]。猪摄入 DON 污染饲料初期表现为采食量下降,并出现胃肠道反应(如恶心、呕吐、腹泻、神经性厌食),胃肠性出血,免疫功能紊乱,进而导致日增重下降,饲料营养效率降低^[11]。对 1968-2010 年间已有报道的实验数据进行元分析(meta-analysis)发现, DON 污染组较对照组的猪采食量和体增重均下降 26%^[12]。相比较而言,家禽肠道对 DON 的吸收量仅为 5%~20%^[13],肠道微生物可将 DON 降解为低毒的 DOM-1。此外,由于家禽消化道较短,食物在消化道中停留的时间较少,且其对 DON 的口服生物利用率较低,这些都导致家禽对 DON 的敏感程度远远低于猪^[14]。反刍动物瘤胃微生物可将 DON 转化为无毒的形式,因此反刍动物对 DON 较不敏感,奶牛连续摄入 10 周 DON 含量为 $6.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 饲料后才出现拒食现象^[15]。

ZEA 具有雌激素样作用,能造成动物急性中毒,给畜牧场造成巨大经济损失。它与雌激素受体结合,导致动物体雌激素功能障碍及生殖障碍^[16]。猪对 ZEA 最为敏感,摄入含有 $1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ZEA 饲料 3~7 d 后即可观察到雌激素综合征,母猪或仔猪出现阴户和乳头红肿、阴道和子宫肿大,严重时发生阴道或直肠脱垂^[17]。ZEA 中毒可引起猪性早熟,导致母猪发情周期延长、假情、假孕和产仔性能下降等症状。家禽对 ZEA 最不敏感,饲料中 ZEA 含量超过 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,才可观察到家禽中毒现象。

黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁) 是一种很强的肝毒素和肝致癌剂,肝脏是其首要靶器官^[18],在畜禽中,雏鸭对其最为敏感。动物体长期受 AFB₁ 侵害,会导致日增重下降,产蛋量或产奶量减少,疾病易感性增加,饲料转化效率下降,严重时会产生肿瘤和畸形^[5]。

OTA 具有很强的肾脏毒性和免疫毒性,可造成肾小管间质纤维结构和机能异常,肾小

球基底膜变薄^[19]，严重时可致癌、致畸并导致机体神经系统受损。猪急性摄入 OTA 时，会导致肾脏疾病的发生，饲喂含有 1~1.4 mg·kg⁻¹ OTA 的饲料，其采食量和日增重均下降。饲料中 OTA 含量为 0.5 mg·kg⁻¹ 时，即可观察到鸡 OTA 中毒症，OTA 含量超过 2 mg·kg⁻¹ 时，家禽出现肾脏损伤^[15]。反刍动物对 OTA 较不敏感。

伏马毒素 B₁ (fumonisin B₁, FB₁) 的首要靶器官是肝脏和肾脏，该毒素对动物体有心血管毒性和致癌性。猪对 FB₁ 最为敏感，反刍动物和家禽次之。猪摄入 FB₁ 污染饲料，可导致肺水肿和胸膜腔积水，并伴有胰脏和肝脏损伤^[20]。

由于饲料及饲料原料中多种毒素并存，导致毒素间发生非常复杂的联合毒性作用，包括加性效应、协同效应和拮抗效应等。其毒性作用与毒素种类、剂量、作用时间等因素有关。孙桂菊等^[21]单独或联合饲喂大鼠 AFB₁ (0.05 mg kg⁻¹) 和 FB₁ (0.1 mg kg⁻¹) 30 d，发现 2 种毒素在大鼠体内存在加性效应或协同效应，加重了动物机体的氧化损伤。Chen 等^[22]报道指出，DON (1 mg kg⁻¹) 和 ZEA (0.25 mg kg⁻¹) 联合作用于猪时，可导致猪血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量显著减少，血清谷氨酰转移酶、天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶活性显著增加 ($P<0.05$)，猪瘟抗体水平显著下降 ($P<0.05$)，肝脏、脾脏、淋巴、子宫和肾脏等脏器形态发生严重病变，联合毒性效应强于单独作用时产生的毒性效应。Grenier 等^[23]在研究 DON (3 mg kg⁻¹) 和 FBs (6 mg kg⁻¹) 单独或联合对断奶仔猪的毒性作用，发现联合作用较单一作用对仔猪造成的病理组织学变化和免疫抑制更显著。

3 霉菌毒素吸附剂的研究

在饲料中添加吸附剂是目前应用最为广泛的毒素脱毒方法。吸附剂与毒素通过疏水结合、静电吸引、氢键配位等方式形成稳定的毒素-吸附剂复合体，经过消化道而不被动物体吸收并排出体外，从而降低毒素的生物利用率，减少血液和靶器官中的毒素含量^[24]。霉菌毒素吸附剂种类繁多，主要包括硅铝酸盐类化合物、酵母细胞壁类物质、乳酸菌、植物纤维、活性炭及高分子多聚物等。吸附剂的物理结构（总电荷及电荷分布、孔径大小、表面积、总容量等）及毒素的特性（极性、溶解性、分子量、立体结构以及电离条件下的电荷分布及电离常数等）直接影响吸附剂对毒素的吸附效果。

3.1 硅铝酸盐吸附剂

硅铝酸盐是由硅氧四面体和铝氧八面体通过共用氧联结形成的含氧酸盐矿物质。硅铝酸盐矿物质有较大的比表面积，部分具有亲水性的负电荷表面，立体结构内存在大量的纳米微孔及可交换阳离子，高价阳离子可被低价阳离子置换，使层内电荷不平衡，形成负电荷吸附中心，从而具有吸附各种阳离子和极性分子的能力^[25]。被用作霉菌毒素吸附剂的硅铝酸盐主要包括沸石、水合铝硅酸钠钙 (hydrated sodium calcium aluminosilicates, HSCAS) 以及含有铝酸盐、硅酸盐和一些可置换金属阳离子的黏土。膨润土是一类以蒙脱石为主要矿物成分的层状硅铝酸盐黏土，具有较大的比表面积和大量可交换的阳离子，可吸附 AFBs、ZEA、OTA、FBs 等霉菌毒素，尤其对 AFBs 的吸附效果最好。钙基蒙脱石可在 5 min 内即结合 AFB₁，

2 h 达到平衡^[26]，且形成的复合体在不同酸碱条件下不易解吸附^[27]。沸石是一种含有水架状结构的铝硅酸盐矿物，晶体结构包括铝硅酸盐骨架、阳离子交换孔道、空洞以及潜在相的水分子，可吸附 AFs、FBs 等霉菌毒素^[18]。HSCAS 晶胞结构内的高价 Si^{4+} 、 Al^{3+} 可被低价阳离子置换，从而形成负电荷吸附中心，吸附具有亲电性的 AFs，但对 FBs、DON 等吸附效果不佳^[28]。市售的硅铝酸盐类吸附剂如钠基膨润土、沸石和海泡石等对 AFB_1 吸附效果较好，但对 DON 及 ZEA 的吸附效果较差。DON 所带基团极性较弱，且亲电性差，硅铝酸盐类吸附剂较难通过电荷吸附的方式与之结合。

研究者们试图用有机改性法、酸活化法和负载络合物法等方法对硅铝酸盐进行化学修饰，增加其表面疏水性，提高其对低极性霉菌毒素的吸附能力^[29-30]。常规的有机改性方法难以提高硅铝酸盐对低极性毒素如 DON 的吸附性，Döl 等^[31]在 DON (8.6 mg kg^{-1}) 和 ZEA (1.2 mg kg^{-1}) 联合污染饲料中添加 0.4% 的有机改性蒙脱石并不能缓解毒素对仔猪的毒性。Wang 等^[32]以非离子表面活性剂 OP-10 改性蒙脱石 (NMts)，改性后蒙脱石化学结构、活性炭含量、表面疏水性等特征均发生变化。NMts 可吸附极性毒素 AFB_1 和弱极性毒素 ZEA，显著提高 AFB_1 和 ZEA 的吸附率分别至 2.78 mg g^{-1} 和 8.54 mg g^{-1} 。Sun 等^[33]使用季铵盐改性有机累托石 (二八面体云母和二八面体蒙皂石组成的 1:1 规则间层矿物质)，改性剂插入有机累托石层间，层间距增大，疏水性增加，提高了对 AFB_1 和 ZEA 的吸附能力。总之，硅铝酸盐类化合物对 AFB_1 有较好的吸附效果，可改善动物食用 AFB_1 污染饲料所产生的黄曲霉中毒症，但是其对 ZEA、OTA、DON 的吸附性能较差。通过有机改性，可望提高其吸附性。

3.2 生物活性吸附剂

生物类吸附剂，主要包括乳酸菌、酵母细胞壁和植物纤维，该类吸附剂可将毒素黏附在其细胞壁上形成复合物，从而达到去除毒素的目的。

乳酸菌细胞表面具有疏水性，一些乳酸菌 (如鼠李糖乳杆菌) 可在小肠中通过细胞壁肽聚糖、多糖和磷壁酸与毒素作用吸附 AFB_1 和 ZEA，乳酸菌细胞壁氨基酸组成直接影响其对低极性毒素 (ZEA、DON) 的吸附稳定性^[34]。不同乳酸菌菌株吸附毒素能力及种类各不相同。Niderkorn 等^[35]研究了 29 种乳酸菌和丙酸菌对 DON 的吸附效果，发现乳酸菌对 DON 的吸附效率为 10%~55%，高于丙酸菌。

酵母细胞壁上存在蛋白质、脂类及包括葡萄糖和甘露糖在内的多糖，可通过氢键、离子键和疏水作用力等对霉菌毒素产生吸附作用。酵母细胞壁吸附毒素的主要有效成分为葡甘露聚糖。Karman 等^[36]发现，酵母葡甘露聚糖能缓解 AFs 污染日粮对肉仔鸡生产性能的影响，降低对组织器官的毒性作用。但改性葡甘露聚糖对 DON 的吸附效果较差，对 DON 的解毒作用仅为活性炭的 37%~57%，聚合葡甘露聚糖对缓解仔猪 DON 负面影响无效果^[37]。甘露寡糖、 β -葡聚糖以及酵母细胞壁-膨润土混合物可缓解 DON 对猪免疫系统的不良影响，但并不能缓解 DON 对猪生产性能的负面作用^[38]。Tamura 等^[39]研究发现，低甲基酰胺化果胶可有效吸附小鼠肠道中的 DON。

植物纤维含有丰富的纤维素、半纤维素和木质素，其微孔结构可吸附霉菌毒素。研究发现，红酒制作过程中产生的葡萄渣可在体外吸附 AFB₁、ZEA、OTA 和 FBs 等毒素^[40]，小麦纤维可减少 OTA 对动物体的不利影响^[41]。但通过体外研究发现，谷物纤维和苹果纤维对 DON 的吸附率低于 2%^[42]。壳聚糖是一种天然的高分子材料，主要存在于海鲜加工过程中的生物废物。已有报道指出，壳聚糖聚合物可吸附 OTA、AFB₁、ZEA 及 FB₁，但对 DON 吸附效果不佳^[43]。

3.3 活性炭类吸附剂

活性炭是最早被使用的毒素吸附剂材料，也曾是唯一对 DON 具有较好吸附效果的吸附剂材料^[44]。活性炭具有较大的比表面积（500~3 500 m² g⁻¹），在水溶液中大多可吸附 AFs、OTA、DON、ZEA 等多种霉菌毒素，且对毒素的吸附不受 pH 影响，具有饱和性^[45-47]。然而，活性炭作为吸附剂用在动物体上却常常难以缓解霉菌毒素引起的中毒症状。究其原因，是由于活性炭的选择吸附能力较差，在吸附毒素的同时也会对饲料中的维生素等营养物质进行吸附，被饲料中的某些营养成分所饱和而失去了对霉菌毒素的吸附能力。碳纳米材料由非常小的碳原子结构单元构成，具有极大的比表面积和丰富的孔结构。Zahoor^等^[48]使用甘蔗烧制并与 FeCl₃·6H₂O 作用制备磁性碳纳米吸附剂，铁氧化物固定在碳纳米材料上，该吸附剂可缓解 AFB₁ 对家禽生产性能的负面影响。

3.4 高分子材料

聚乙烯吡咯烷酮（polyvinyl pyrrolidone, PVP）、交联聚乙烯吡咯烷酮（polyvinyl polypyrrolidone, PVPP）、消胆胺等高分子材料也被用于研发毒素吸附剂。PVP、PVPP 是不溶性高分子极性多孔性两性化合物，具有极强的吸附性和选择性，脱毒效果较强。体外吸附试验中，PVP 对 ZEA 的最大吸附量为 0.3 mg g⁻¹，PVPP 对 ZEA 的最大吸附量则高达 2.1 mg g⁻¹；在 AFB₁ 污染饲料（6.2 ug kg⁻¹）中添加 0.05% PVPP，可显著降低 AFB₁ 对肉鸡生产性能的影响（ $P < 0.05$ ），降低 AFB₁ 在血清、脏器中的残留量^[49]。消胆胺是一种季铵盐阴离子交换树脂，其吸附性与其离子交换功能有关，体外试验中消胆胺对 OTA 和 ZEA 的最大吸附量可达到 9.6 mg g⁻¹ 和 3.0 mg g⁻¹^[50]，但是对 DON 的吸附率极低^[51]。Avantaggiato 等^[52]研究发现，消胆胺可减少猪食用 ZEA 污染饲料所产生的雌激素过高症状。腐殖酸类物质是动植物体腐解后形成的一种天然有机高分子化合物，具有较大的内表面积，较强的吸附、交换、络合和螯合能力。研究表明，腐殖质可有效吸附 DON^[30]，但动物试验显示，饲料中添加腐殖质并不能降低动物血液中 DON 的含量，提示腐殖质并非有效的 DON 吸附剂^[53]。

4 作者团队研究进展

作者团队自 2011 年起涉足饲料霉菌毒素污染情况调查及消除研究。与畜禽养殖业密切相关的毒素有 AFs、DON、ZEA、FBs，其中 FBs 资料积累还不多，吸附剂对 AFs 的吸附率较高，因此，我们重点瞄准 DON、ZEA 研究。首先调查近年来霉菌毒素污染情况，抽测 70 个饲料及饲料原料样品，ZEA 检出率 82.86%，超标率 21.43%，其中 DDGS 中 ZEA 检出率

最高，达 100%；抽测 42 个饲料及饲料原料样品，DON 检出率 95.22%，超标率 40.48%，DDGS、玉米及部分全价料中 DON 超标率最高。检测结果证实，ZEA 和 DON 污染情况严重。同时抽取市售 6 种吸附剂，体外测定吸附率，对 AFs 的吸附率 91.9%-99.0%；对 DON 的吸附率 3.8%-14.9%；对 ZEA 的吸附率除 1 个在 90%以上，其余为 17.8%-35.9%。因此，针对近年来饲料中污染严重且缺乏高效吸附剂的 DON、ZEA 进行吸附剂研发。

吸附剂设计的思路：通过对蒙脱石进行改性，即在蒙脱石原有功能（物理吸附、化学吸附等）基础上，定向强化表面积、层间距、表面活性，以期提高对低极性毒素的吸附性。包括（1）水化改性，使蒙脱石层状结构的大片段变为小片段，增加比表面积；（2）离子交换与插层，将蒙脱石的层间距由 1.5 nm 提高至 4~5 nm；（3）对片层表面进行活性处理，增加对非极性分子的吸引作用。通过改性，使蒙脱石形成巨大的比表面积和分散性，促进吸附肠道毒素，形成致密网状膜，保护肠道；以巨大的空间片层吸附大分子毒素；改变了片层表面活性，增强对分子极性较弱毒素的吸附。所用助剂不同，片层表面活性不同，表面亲水亲油特性也不同，创制出分别适于吸附 DON 和适于吸附 ZEA 的 2 个吸附剂产品，对其吸附效果进行了体内外试验。

4.1 DON 吸附剂 FCC

改性蒙脱石 FCC 的制作过程主要是蒙脱石煅烧后，助剂分子插入柱撑片层后增加其比表面积及层间距，蒙脱石层间距由 1.5 nm 提高至 4~5 nm；同时对片层表面进行活性处理，增加其亲水性。对 8 种市售毒素吸附剂、1 种活性炭和 3 种改性蒙脱石进行体外吸附试验评价，筛选出我们研发的一种改性蒙脱石（代号 FCC）为综合最佳，其对 DON 的吸附率为 94.9%，而活性炭对 DON 的吸附率也只有 40.4%。在此基础上，在体外模拟胃肠道环境下检测吸附剂对 DON 的吸附能力及吸附剂-DON 稳定性。研究发现，FCC 对 DON 不仅有高吸附性，且不易解吸附。在 pH 8.0 的条件下，FCC 对 DON 的最大吸附量为 4.69mg g^{-1} 。由于 DON 的靶器官是肠道，以 IPEC-J2 细胞系作为评价细胞系，考察了不同浓度 DON 对细胞的影响。结果表明，DON 含量为 0.2、0.5、1.0、 $2.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时，FCC 处理 24 h 后均显著提高了各种浓度 DON 暴露下的细胞相对存活率（ $P<0.05$ ）。

对 FCC 进行动物试验验证，选取 200 头健康状况良好的 36 ± 4 日龄断奶仔猪，进行自然霉变饲料（DON 1.6 mg kg^{-1} ，其他毒素含量较少）中添加吸附剂 FCC 的试验。饲喂断奶仔猪 14 d 后，不加 FCC 的霉变饲料组（DON 组）较正常饲料组（NC 组，DON 0.5 mg kg^{-1} ，其他毒素含量较少）平均日增重（ADG）下降 21.24%（ $P<0.05$ ），料重比（F/G）上升 15.15%（ $P<0.05$ ）；添加 FCC 的霉变饲料组（DON+FCC 组）较 DON 组 ADG 提高 17.11%（ $P<0.05$ ），F/G 下降 10.53%（ $P<0.05$ ）。DON 对断奶仔猪肠道形态结构、机体抗氧化能力和免疫性能产生不利影响，添加 FCC 可缓解这些不利影响。该技术已授权国家发明专利（专利号：ZL 201310469425.2）。猪场试用显示，日粮中添加 FCC 可显著减轻和缓解 DON 对断奶仔猪的不利影响^[54-55]。

4.2 ZEA 吸附剂 FCO

FCO 的制作过程主要是：蒙脱石片层中插入长碳链分子，使其一端在片层间，一段游离在片层表面，同时在片层表面活化处理，由 C-H 造成亲油性，可吸附大分子非极性毒素 ZEA。经体外检测，FCO 对 ZEA 的吸附性与进口品牌高效吸附剂达到同一水平，均在 90% 以上；同时体内验证试验表明，自然霉变饲料中（ZEA $975.7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）添加 FCO 可明显缓解 ZEA 对 30 kg 小母猪生产性能的负面影响，降低血液中 ZEA 水平。

5 霉菌毒素吸附剂前景展望

目前，大部分吸附剂主要材料为硅铝酸盐。但硅铝酸盐仅能吸附极性较强的霉菌毒素，对 DON、ZEA 等弱极性毒素吸附效果不佳。因此，如何通过物、化改性或复配等研发出能高效吸附 DON、ZEA 毒素，又能避免微量营养物质被大量吸附，同时不影响饲料口感的新型吸附剂，是未来饲料毒素吸附剂研究的方向。同时，筛选对毒素具有高效降解作用的降解菌并广泛表达其产生的酶，研发在动物体内可直接高效降解毒素的环保型吸附剂，则是更为遥远但更为彻底的解决方案。

参考文献：

- [1] RODRIGUES I, NAEHRER K. A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed[J]. *Toxins*, 2012, 4(9): 663-675.
- [2] 敖志刚. 霉菌毒素对亚太地区饲料业的挑战和应对策略[J]. *饲料广角*, 2009(9):22-25.
- [3] DRIEHUIS F, SPANJER M C, SCHOLTEN J M, et al. Occurrence of mycotoxins in feedstuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(11):4261-4271.
- [4] STANCIU O, JUAN C, MIERE D, et al. Occurrence and co-occurrence of Fusarium, mycotoxins in wheat grains and wheat flour from Romania[J]. *Food Control*, 2016, 147:147-155.
- [5] STREIT E, SCHATZMAYR G, TASSIS P, et al. Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—focus on Europe[J]. *Toxins*, 2012, 4(10):788-809.
- [6] 王金勇. 2011 年全球霉菌毒素调查报告[J]. *中国畜牧杂志*, 2012, 48(14):49-52.
- [7] KOSICKI R, BŁAJET-KOSICKA A, GRAJEWSKI J, et al. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2016, 215:165-180.
- [8] 龚阿琼, 陈晖, 全明旭, 等. 2017 年我国饲料原料及饲料毒素检测分析[J]. *中国饲料*, 2018(5):91-93.
- [9] 百奥明. 2017 年百奥明原料与饲料霉菌毒素检测报告 [EB/OL]. <http://www.feedtrade.com.cn/technology/microbial/science2/2018-02-07/2017592.html>, 2018-02-07/2018-07-10.

- [10] GHAREEB K, AWAD W A, BÖHM J, et al. Impacts of the feed contaminant deoxynivalenol on the intestine of monogastric animals: poultry and swine[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2015, 35(4):327-337.
- [11] PESTKA J J. Deoxynivalenol: toxicity, mechanisms and animal health risks[J]. *Animals Breeding & Feed*, 2008, 137(3):283-298.
- [12] ANDRETTA I, KIPPER M, LEHNEN C R, et al. Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in growing pigs[J]. *Animal*, 2012, 6(9):1476-1482.
- [13] CAVRET S, LECOEUR S. Fusariotoxin transfer in animal[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2006, 44(3):444-453.
- [14] GRENIER B, APPELEGATE T J. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: meta-analysis of published experiments in animals[J]. *Toxins*, 2013, 5(2):396-430.
- [15] BOUDERGUE C, BUREL C, DRAGACCI S, et al. Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety[J]. *Efsa Supporting Publications*, 2009.
- [16] ZINEDINE A, SORIANO J M, MOLTÓ J C, et al. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2007, 45(1):1-18.
- [17] 计成. 饲料中玉米赤霉烯酮的生物降解[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(10):2949-2955.
- [18] GREGORIO M C D, NEEFF D V D, JAGER A V, et al. Mineral adsorbents for prevention of mycotoxins in animal feeds[J]. *Toxin Reviews*, 2014, 33(3):125-135.
- [19] PFOHL-LESZKOWICZ A, HADJEBA-MEDJDOUB K, BALLEST N, et al. Assessment and characterisation of yeast-based products intended to mitigate ochratoxin exposure using in vitro and in vivo models[J]. *Food Additives & Contaminants Part A Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 2015, 32(4):604-616.
- [20] MORGAVI D P, RILEY R T. An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2007, 137(3):201-212.
- [21] 孙桂菊, 王少康, 王加生. 伏马菌素 B₁ 和黄曲霉毒素 B₁ 对大鼠的联合毒性[C]// 中国毒理学会全国学术会议论文. 2005:186-186.
- [22] CHEN F, MA Y, XUE C, et al. The combination of deoxynivalenol and zearalenone at permitted feed concentrations causes serious physiological effects in young pigs[J]. *Journal of Veterinary Science*, 2008, 9(1):39-44.
- [23] GRENIER B, LOUREIRO-BRACARENSE A P, LUCIOLI J, et al. Individual and combined effects of subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins in piglets[J]. *Molecular*

- Nutrition & Food Research, 2011, 55(5):761-771.
- [24] VILA-DONAT P, MARÍN S, SANCHIS V, et al. A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination[J]. Food & Chemical Toxicology, 2018, 114(4): 246-259.
- [25] PHILLIPS T D, SARR A B, GRANT P G. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay[J]. Natural Toxins, 2010, 3(4):204-213.
- [26] PIMPUKDEE K, KUBENA L F, BAILEY C A, et al. Aflatoxin-induced toxicity and depletion of hepatic vitamin A in young broiler chicks: protection of chicks in the presence of low levels of NovaSil PLUS in the diet.[J]., 2004, 83(5):737-44.
- [27] 李娟娟, 索德成, 苏晓鸥. 3 种吸附剂对黄曲霉毒素 B₁ 吸附能力的研究[J]. 中国农业科学, 2009, 42(11):4027-4034.
- [28] NEEFF D V, LEDOUX D R, ROTTINGHAUS G E, et al. In vitro and in vivo efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to bind and reduce aflatoxin residues in tissues of broiler chicks fed aflatoxin B₁[J]. Poultry Science, 2013, 92(1):131-137.
- [29] 曾路, 严春杰, 谌刚,等. 不同硅酸盐矿物材料对霉菌毒素吸附性能的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(8):64-66.
- [30] SABATER-VILAR M, MALEKINEJAD H, SELMAN M H, et al. In vitro assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxicoses[J]. Mycopathologia, 2007, 163(2):81-90.
- [31] DÖLL S, GERICKE S, DÄNICKE S, et al. The efficacy of a modified aluminosilicate as a detoxifying agent in Fusarium toxin contaminated maize containing diets for piglets[J]. Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition, 2010, 89(9-10):342-358.
- [32] WANG G, LIAN C, XI Y, et al. Evaluation of nonionic surfactant modified montmorillonite as mycotoxins adsorbent for aflatoxin B₁ and zearalenone[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2018, 518:48-56.
- [33] SUN Z, SONG A, WANG B, et al. Adsorption behaviors of aflatoxin B₁, and zearalenone by organo-rectorite modified with quaternary ammonium salts[J]. Journal of Molecular Liquids, 2018, 264(15):645-651.
- [34] KABAK B, Dobson A D W, VAR I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(8):593-619.
- [35] NIDERKORN V, BOUDRA H, MORGAVI D P. Binding of Fusarium mycotoxins by fermentative bacteria in vitro[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 101(4):849-856.
- [36] KARAMAN M, BASMACIOGLU H, ORTATATLI M, et al. Evaluation, of the detoxifying,

- effect, of yeast, glucomannan, on aflatoxicosis, in broilers, as assessed, by gross, examination, and histopathology[J]. *British Poultry Science*, 2005, 46(3):394-400.
- [37] DÄNICKE S, GOYARTS T, VALENTA H. On the specific and unspecific effects of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent on piglets when fed with uncontaminated or with *Fusarium* toxins contaminated diets[J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2007, 61(4):266-275.
- [38] SHEHATA S, RICHTER W, SCHUSTER M, et al. Effect of deoxynivalenol (DON) on growing pigs and its modification by modified yeast cell wall or modified yeast cell wall and bentonite[J]. *Mycotoxin Research*, 2004, 20(1):42-48.
- [39] TAMURA C, NAKAUMA M, FURUSAWA H, et al. Formulation of a pectin gel that efficiently traps mycotoxin deoxynivalenol and reduces its bioavailability[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 93(2):747-752.
- [40] AVANTAGGIATO G, GRECO D, DAMASCELLI A, et al. Assessment of multi-mycotoxin adsorption efficacy of grape pomace[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(2):497-507.
- [41] AOUDIA N, CALLU P, GROSJEAN F, et al. Effectiveness of mycotoxin sequestration activity of micronized wheat fibres on distribution of ochratoxin A in plasma, liver and kidney of piglets fed a naturally contaminated diet[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2009, 47(7):1485-1489.
- [42] TANGNI E K. Occurrence of mycotoxins in beer, exposure assessment for consumers and development of biological detoxification options for the control of ochratoxin A during brewing[J]. Thesis, 2003.
- [43] ZHAO Z, LIU N, YANG L, et al. Cross-linked chitosan polymers as generic adsorbents for simultaneous adsorption of multiple mycotoxins[J]. *Food Control*, 2015, 57:362-369.
- [44] WEI Z, SUN X, LI Z, et al. Highly sensitive deoxynivalenol immunosensor based on a glassy carbon electrode modified with a fullerene/ferrocene/ionic liquid composite[J]. *Microchimica Acta*, 2011, 172(3-4):365-371.
- [45] HUWIG A, FREIMUND S, KÄPPELI O, et al. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents[J]. *Toxicology Letters*, 2001, 122(2):179-188.
- [46] CAVRET S, LAURENT N, VIDEMANN B, et al. Assessment of deoxynivalenol (DON) adsorbents and characterisation of their efficacy using complementary in vitro tests[J]. *Food Additives & Contaminants Part A Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 2010, 27(1):43-53.
- [47] 吴延兵. 改性非金属矿物对霉菌毒素吸附效果的初步研究[D]. 南京: 南京农业大学,

2009.

- [48] ZAHoor M, KHAN F A. Adsorption of aflatoxin B1 on magnetic carbon nanocomposites prepared from bagasse[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2018, 11(5): 729-738.
- [49] 王彦军. 饲料添加聚乙烯基吡咯烷酮防治鸡黄曲霉毒素 B1 中毒的临床效果的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006.
- [50] RAMOS A J, HERNÁNDEZ E, PLÁ-DELFINA J M, et al. Intestinal absorption of zearalenone and in vitro study of non-nutritive sorbent materials[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 1996, 128(1-2):129-137.
- [51] AVANTAGGIATO G, SOLFRIZZO M, VISCONTI A. Recent advances on the use of adsorbent materials for detoxification of *Fusarium* mycotoxins[J]. *Food Additives & Contaminants*, 2005, 22(4):379-388.
- [52] AVANTAGGIATO G, HAVENAAR R, VISCONTI A. Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2003, 41(10):1283-1290.
- [53] DÄNICKE S, BROSIG B, KLUNKER L R, et al. Systemic and local effects of the *Fusarium*, toxin deoxynivalenol (DON) are not alleviated by dietary supplementation of humic substances (HS)[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2012, 50(3-4):979-988.
- [54] 邓波,万晶, 徐子伟,等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇吸附剂对断奶仔猪生长性能、血清生化指标及肠道形态的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(5):1294-1301.
- [55] 万晶, 邓波, 吴杰, 等. 饲料呕吐毒素脱毒方法研究进展[J]. *浙江农业科学*, 2014(9):1450-1454.

Advances in Research on Adsorbents of Mycotoxins in Feed

XU Ziwei¹ WAN Jing²

(1. *Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China*; 2. *Institute of Rural Development, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China*)

Abstract: Mycotoxin contamination is one of the major risk factors that threat animal husbandry. Unfortunately, about 25% of the world's harvested crops are contaminated by mycotoxins each year. This situation is particularly serious in China. The mycotoxins including aflatoxin B₁ (**AFB₁**), deoxynivalenol (**DON**), zearalenone (**ZEA**), fumonisins (**FBs**), T-2 toxin and ochratoxin A (**OTA**) are closely related to feed contamination. To decontaminate and/or detoxify mycotoxin-contaminated feed, the most prevalent approach is the inclusion of sorbent materials in feed. The present review gives an overview of the mycotoxin contamination in feed, describes their adverse effects on animals' health, and classifies mycotoxin adsorbing agents. Focus on DON and ZEA, which are contaminated seriously in feed and difficult to be adsorbed, adsorbent types, action mechanism and effects are summarized. Combined with our work to modify montmorillonite as the adsorbents for DON and ZEA that can improve mycotoxin adsorbing rate and animal performance, projects to solve the problem with feed mycotoxin contamination are showed. Some novel strategies and advices on mycotoxin adsorbents are also proposed in this paper.

Key words: mycotoxin adsorbents; deoxynivalenol; zearalenone; montmorillonite; modify

(Author, XU Ziwei, professor, E-mail: xzwfyz@sina.com)

南方木本饲料的开发利用

张永亮 陈 婷 孙加节 习欠云 陈晓阳

(广东省动物营养调控重点实验室, 广东省饲料产业体系, 国家生猪种业工程技术中心, 动物科学学院,
华南农业大学)

摘要: 在我国传统饲料资源日趋紧张的现实情况下, 木本饲料作为一种待开发的饲料资源, 日益受到了研究者们的重视。开发利用木本植物饲料资源, 对促进我国畜牧业稳定发展意义重大。本文对国内外木本饲料的发展和利用现状进行了总结。另外, 综述了木本饲料的特点、营养价值以及在动物养殖中的应用效果。旨在为木本饲料的研究和开发提供参考。

关键词: 木本饲料 饲料资源 养殖业

我国是畜牧业生产大国, 也是消费大国。目前, 我国饲料生产面临饲料资源总量不足, 以粮食为主的能量饲料不足, 蛋白质饲料严重短缺, 尤其是蛋白饲料严重匮乏。2017 年我国进口大豆达 9554 万吨(农产品期货网), 对外依存度已经高达 87%。苜蓿的进口已经达 150 万吨。为了解决我国饲料粮的短缺以及维护粮食安全, 必须寻求新的饲料资源。

1 我国木本饲料资源现状

木本饲料是指乔木、灌木、半灌木及木质藤本植物的嫩枝叶、花、果实、种子、及其副产品, 既可以直接被放牧利用, 又可以通过采集、刈割、加工后饲喂畜禽, 国际上称之为 Wood grass 和 Woody forage (靖德兵等, 2003)。我国有木本植物 8000 余种, 其中可以用作木本饲料的种类约 1000 多种(唐亚等, 2002), 是世界上木本饲用植物资源最丰富的国家之一。如果将我国木本饲用植物产量的 1/5 用作饲料, 就相当于目前全国饲料用粮的 3 倍。木本饲用植物资源根据其外貌特征可大致分为灌木、阔叶乔木、针叶乔木、木质藤本、竹类 etc (靖德兵等, 2003; 孙祥等, 1999)。

目前, 世界各地对木本饲料的开发利用已进行了相应的研究。非洲东部地区的农民种植了大量的木本饲料植物, 用来饲养奶牛和山羊。据统计, 在东非至少有 4 万的农民种植朱樱花, 而且每年能带来将近 220 万美元的净收入(KINGAMKONO, 2003)。除朱樱花外, 还种植了银合欢属、本土木本饲料桑树和田菁属(Franzel and Wambugu, 2007)、大叶合欢(Larbi et al., 1996)等。在亚洲, 有 13 种木本饲料植物被农民广泛使用, 并被纳入反刍动物饲养系统(Speedy and Pugliese, 1992)。澳大利亚种植有大量木本饲料植物, 主要有金雀花、银合欢、滨藜(Lefroy, 2002)。在北美, 克拉豆越来越多地被农户用来直接放牧或是制成青贮饲料加以利用(Shelton et al., 2005)。山蚂蝗属和大叶千斤拔由于能够适应于酸性土壤, 在南美洲被当作有开发潜力的木本饲料(Jank et al., 2005)。

中国木本植物资源丰富, 总数达到了一千种以上, 位居世界之最。如果其产量的 1/5 用作饲料, 就相当于目前全国饲料用粮的 3 倍(靖德兵, 2003)。内蒙古自治区饲用木本植物有 19 科 127 种(王承斌, 1987), 青海省有 53 科 128 属 500 种(范青慈等, 1998), 新疆维

吾尔自治区有约 15 科 54 属 210 种（张清斌和陈玉芬，1996），河西走廊东部木本饲用植物共有 27 科 66 属 238 种（万国栋，2004），贵州有种子植物 227 科 127 属 4716 种，其中木本植物 2306 种（孙建昌等，2006），具体的种类有针叶乔木类的马尾松，阔叶乔木类刺槐、槐树、构树、桑树、拓木、泡桐、肥牛树、银合欢、羊蹄甲等，竹类的如箭竹、刺刚竹等，灌木类的有白刺花、胡枝子、锦鸡儿、山蚂蝗等，木质藤本植物的有黎豆及葛属植物等。海南省的木本植物种类也较多，一共约有 45 科 97 属 189 种，包括阔叶乔木 25 科 56 属 122 种 9（如枫香、面包果、大叶相思、红花天料木等），阔叶灌木 20 科 41 属 66 种，以及少量针叶乔木（刘国道和罗丽娟，1998）。

中国木本饲料的发展具有悠久的历史，早在东汉时期，人类利用采集新鲜木本饲料叶饲喂畜禽，而对木本饲料进行加工树叶饲料进行研究开始于 20 世纪 70 年代末。目前在我国作为饲料研究的树种有 50 余种，其中，桑树、辣木、柠条、胡枝子研究较多。近 5 年，我国在木本植物用于饲料方面已申请了一些专利。如“一种桑叶发酵饲料配料及其生产方法和用途”（201410102720）、“一种以桑树的茎杆、叶为主要原料制制备生物饲料的方法”（201410560160）、“一种禽畜用木本植物饲料的种植方法”（200710107869）、“辣木粉鱼用全价颗粒饲料及其生产方法”（CN201210428864.4）、“一种辣木猪饲料”（CN201210184458.8）、“一种辣木提取物及其制备方法和辣木饲料添加剂”（CN201210169831.2）。

2 南方主要木本饲料的营养价值

我国木本植物资源极为丰富，共计有 900 余种分布较广的天然或人工栽培的乔、灌木可用作饲料，全国每年仅各种乔木类幼嫩枝、叶的产量就有约 5 亿吨，具有巨大的资源优势和生产潜力（曾明义等，1989）。与草本饲料相比，木本饲料具有较高的营养成分，特别是蛋白质和钙的含量。有关研究表明，木本饲料的粗蛋白含量比禾草饲料高 54.4%，钙的含量比禾草饲料高 3 倍，粗纤维则比禾草饲料低 62.5%，灰分和磷的含量与禾草饲料相近（李忠喜等，2007）。木本饲料产量高，同等面积上饲料林的产量可比草本高 2~4 倍。

辣木（*Moringa*）为白花菜目辣木科辣木属植物，是多年生热带落叶小乔木，原产于印度和非洲的干旱或半干旱地区，被称为“生命之树、神奇之树”。辣木叶片、嫩荚、嫩芽、花朵、嫩茎和根均可食用，且含多种矿物质、维生素和药理活性成分，现被广泛种植于亚洲、非洲和中美洲的热带、亚热带国家或地区。目前，全世界约有 14 个品种，使用最广，栽培规模最大的是印度传统辣木种（*Moringa oleifera*）。我国大陆上世纪 60 年代就已引进辣木，在 2003 年云南省热带作物科学研究所又从国外引入以上 3 个较常食用品种，目前辣木在我国主要种植在云南、广东、广西、海南、福建、四川、贵州等省份部分地区。辣木有动物生长所需要的一切营养物质，含有 27.37% 的粗蛋白、8.67% 的脂肪、47.43% 碳水化合物，每 100 g 叶片中还含有约 2.36g 钙、41.88 mg 维生素 A 等（刘昌芬等，2004）。辣木叶粉绝大多数营养成分含量均高于奶粉、黄豆粉、肉松、胡萝卜干、脱水蔬菜等常见食物，其中矿物质元素钙、镁、铁、维生素 A、维生素 C 和维生素 E 含量分别是奶粉和鲜牛奶的 3.4 倍和 9

倍、5 倍和 34 倍、11.28 倍和 45.13 倍、296.95 倍和 1744.58 倍、18.47 倍和 73.9 倍、324.31 倍和 741.29 倍，表现出辣木独特的营养价值（刘昌芬和李国华，2004）。另外，氨基酸在辣木中总量达到 20.49%，种类达到 17 种，其中谷氨酸含量最高，占总氨基酸含量的 14.52%。而且，辣木中还含有 11 种人体必需的氨基酸，尤其是赖氨酸和苏氨酸含量比较丰富（饶之坤等，2007）。与辣木叶相比，100 g 辣木梗粉中粗蛋白含量 11.2 g，粗脂肪含量 2.6 g，粗纤维含量 28.6 g（闫文龙等，2008），其中粗蛋白和粗脂肪的含量显著低于辣木叶干粉的含量（27.37g/100g 和 8.67g/100g）；而 100g 辣木根中蛋白含量仅为 6.47g（闻向东等，2006），显著低于辣木叶和梗中蛋白含量。

我们测定了辣木叶和茎叶粉的在猪的消化参数，具体如表 1 所示。

表1 辣木叶粉和辣木茎叶粉的能值及可消化营养成分

项目	辣木叶粉	辣木茎叶粉	项目	辣木叶粉	辣木茎叶粉
消化能 (MJ/kg)	13.93±0.58	13.27±0.15	可消化粗纤维 (%)	7.20±0.01	11.03±0.01
代谢能 (MJ/kg)	13.29±0.86	12.55±0.13	可消化粗脂肪 (%)	4.81±0.01	4.08±0.01
粗灰分 (%)	10.71±0.01	9.72±0.01	可消化粗蛋白质 (%)	23.31±0.35	12.52±0.61
钙 (%)	1.45±0.01	1.12±0.01	总磷 (%)	0.60±0.01	0.38±0.01

桑树（*Morus alba*）是桑科桑属多年生木本植物。桑叶营养含量丰富，作为饲料对畜禽体内蛋白质合成具有较高的营养价值（何雪梅等，2004）。同时桑叶中的矿物质，维生素含量也比较丰富，甚至超过一些水果和蔬菜（李正涛和花旭斌，2000）。目前在畜禽养殖上的使用价值已经得到广泛认可，饲料桑在长江流域、黄河流域的栽培已形成规模。研究表明，成熟桑叶约含水分 75%，干物质 25%。以干物质为基础，桑叶中粗蛋白含量 15%~30%，粗脂肪 4%~10%，粗纤维 8%~12%，无氮浸出物 30%~35%，粗灰分 8%~12%，钙 1%~3%，磷 0.3%~0.6%（张爱芹，2008；李勇和苗敬芝，1999）；同时含有 18 种氨基酸，动物必需和半必需的氨基酸占总量的 50%以上（何雪梅等，2004），尤其是在糖代谢和蛋白质代谢过程中起重要作用的几种氨基酸（如谷氨酸、赖氨酸、蛋氨酸等）含量高，作为畜禽饲料对其体内蛋白质合成具有重要意义。每 100 克桑叶中还含有维生素 B1 0.5~0.8mg，维生素 B2 0.8~1.5mg，维生素 B5 3~5mg，维生素 B11 0.5~0.6mg，维生素 C 30~40mg，维生素 E 30~40mg，烟酸 4.05mg，胡萝卜素 7.44mg，视黄醇 0.67mg（杨贵明，2003）。桑叶粉与苜蓿粉相比，粗蛋白含量高 10.61%、粗脂肪低 12.5%、粗纤维低 50%、碳水化合物高 32.14%、灰分和总能量相当。比较桑叶与苜蓿、甘薯和大豆粕的氨基酸组成，桑叶中氨基酸种类更丰富，含量更高，苜蓿、甘薯和大豆粕中都只有 12 种氨基酸，桑叶中含有 18 种，特别是 8 种动物必需氨基酸含量丰富，在畜禽饲料中加入桑叶有利于调节饲料氨基酸平衡。此外还含有相当多的生物活性物质。例如谷甾醇、胡萝卜素、叶绿素、异槲皮素、叶黄素、槲皮素和紫云英素等。这些物质可抗菌、增强有机体的自免疫能力，促进保健，有利于动物的健康快速生长。桑树作为饲料生物产量高，一般可达 25-45t/ha，而黑麦草为 17-25t/ha，

甘蔗最高也只达 42t/ha。桑叶(及嫩枝)几乎对所有家畜都有良好的适口性。当动物首次接触桑叶时，一般很容易接受而无采食障碍。如果动物已熟悉桑叶，则它会优先采食桑叶而不是其他饲草。

构树（*Broussonetia papyrifera*）为桑科构树属落叶乔木，蛋白质、氨基酸、维生素、碳水化合物及微量元素等营养成分十分丰富。粗蛋白质平均含量仍高达 20%以上，同时含有 16 中氨基酸成分，为优质的饲料原料。2015 年国务院启动了构树扶贫项目。近年来，湖南、海南、重庆、广西、贵州等省大规模种植构树，面积达 30 万亩。旨在发展种植-特色养殖-品牌产品的产业链。

三种木本饲料均能被动物消化利用。桑叶粉的猪消化能为 9.66 MJ/kg，可消化粗蛋白为 15.33%；构树叶粉消化能为 10.54 MJ/kg，可消化粗蛋白为 17.41%。我们比较了三种木本饲料的蛋白质消化率（表 2），均在 80%以上。

表2 三种木本饲料猪的蛋白质消化率

项目	对照组	桑叶	构枝叶	辣木叶
含量/%	13.04	13.61	13.31	13.39
消化率/%	85.26±1.64a	89.25±1.00b	89.44±1.92b	85.00±3.54a

3.木本饲料在畜禽养殖中的应用

已有研究表明，辣木、桑树和构树在畜禽养殖中合理应用，不仅替代部分饲料，还可提高健康水平、生产性能和产品品质。饲养育肥猪添加鲜桑叶后，体重变化较常规饲养有所增加，试验组猪平均日增重为 576 克，对照组为 340 克（刘爱君等，2007）。桑叶不仅对育肥猪生长性状有显著影响，猪精饲料中添加桑叶也能提高母猪繁殖性能（郭建军等，2010）。在繁殖母猪饲料中添加 3%和 5%桑叶粉，结果表明试验组母猪繁殖率、仔猪成活率比对照组分别提高 12%、12%和 5.62%、4.08%，差异显著。构树作为一种优质的非常规蛋白饲料资源，叶粗蛋白含量高达 18-24%，作为新型饲料原料具有巨大开发潜力。许建等（许健，2005）就报道了用构树叶做饲料喂猪不但绿色环保，适口性好，利用率高，而且猪生长速度快，屠宰率高。在生长肥育猪日粮中加入 20-25% 构树叶替代麦麸和米糠，虽其增重效果与对照组没有显著差异，然而每公斤增重成本降低了 2.74-3.05%（彭超威和程幼学，1992）。用秸秆及酒糟等来发酵构树叶，发酵后气味芬芳，柔软多汁，适口性好，营养价值明显提高，用发酵构树叶替代部分精饲料饲喂生长猪可取得良好增重效果，而添加未经发酵的构树叶可导致育肥猪增重缓慢（陶兴无等，2008）。夏中生（夏中生等，2008）试验指出生长猪能较好的消化构树叶粉，在生长猪配合饲料中添加构树叶粉用量达 20%左右，对猪的采食量和生长增重无不利影响。

以 5%的辣木粉替代蛋鸡日基粮中豆粕，对蛋鸡产蛋量、鸡蛋品质、鸡蛋孵化成功率没有显著负影响（Tesfaye et al., 2014）。在肉鸡木薯饲料中可最大限度地添加 5%的辣木叶粉，

对肉鸡生产效率和血液学指标均不产生有害影响 (Olugbemi et al., 2010)。将桑叶粉添加到蛋鸡日粮中, 可明显提升鸡蛋品质, 桑叶粉中的胡萝卜素、叶黄素等色素会沉积到蛋黄中, 使蛋黄颜色加深 (章学东等, 2012); 随着桑叶粉添加量的增加, 蛋黄中胆固醇的含量也逐渐减少 (Kamruzzaman et al., 2012)。在肉鸡日粮中添加 10% 的桑叶粉, 可获得最高的饲料转化率和平均体质量增量 (Chowdary et al., 2009)。肉鸡饲料中添加桑叶粉, 能有效地减少肉鸡血液中总胆固醇和低密度脂蛋白含量, 增加高密度脂蛋白、血糖、白蛋白含量 (Park and Kim, 2012); 在日粮中添加桑叶粉, 可显著提高淮南麻黄鸡鸡肉中的苏氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸含量, 从而改善鸡肉的风味 (吴东等, 2013); 以含 3% 桑叶粉的日常饲喂出栏前 4 周的肉鸡, 使鸡肉更加细腻, 香味更浓郁, 口感更好。此外, 添加桑叶粉还能降低鸡粪中氨气的含量, 改善养鸡环境 (Sudo et al., 2009)。三黄鸡能较好的利用构树叶中的粗蛋白, 日粮中添加 1.5%~2% 的构树叶即可提高蛋鸡生产性能及蛋品质 (李艳芝等, 2010, 何国英, 2005)。饲料中使用 2%~6% 构树叶粉饲喂良凤花肉鸡, 良凤花肉鸡生产性能、血清生化指标、胴体性状以及饲料养分利用率与对照组相比, 均无显著变化, 证明构树叶粉饲养良凤花肉鸡可行 (吴健平等, 2010)。

参考文献

1. 曾明义, 徐载春, 周洪群. 1989. 中国木本饲料的应用及前景展望. 四川草原. 2: 8-11
2. 崔茂忠, 曹社会. 2005. 柠条叶粉对肥育猪的饲养效果研究. 黑龙江畜牧兽医. 10: 62-63
3. 范青慈, 黄金嗣, 杨阳. 1998. 青海省木本饲用植物资源分布特点及作用. 青海草业. 7(3): 31-35.
4. 郭宝忠. 2006. 介绍几种喂猪的叶粉和草粉饲料. 中国农村科技. 7: 33-33.
5. 郭建军, 张会文, 李晓滨, 齐雪梅, 金晓东, 任亚琪, 崔素伟. 2010. 日粮中添加桑叶粉对种公牛精液品质的影响. 当代畜牧. 10: 38-39.
6. 郭志芬. 1989. 我国南方重要的木本饲料资源及其综合利用. 自然资源. 4: 9-15
7. 何国英. 2005. 非常规饲料-构树叶 (LBP) 的营养价值评定研究 [D] (Doctoral dissertation, 南宁: 广西大学).
8. 何雪梅, 廖森泰, 刘吉平. 2004. 桑树的营养功能性成分及药理作用研究进展. 蚕业科学. 30(4): 390-394
9. 靖德兵, 李培军, 寇振武, 张春桂, 张海荣, 常士俊. 2003. 木本饲用植物资源的开发及生产应用研究. 草业学报. 12(2): 7-13.
10. 赖志强, 钟坚. 1991. 银合欢及其开发利用. 广西林业科技. 20(2): 82-86.
11. 李艳芝, 李茜, 王彦超, 侯海锋, 史万玉, 钟秀会, 郑长山. 2010. 构树叶对蛋鸡生产性能及蛋品质的影响. 中国家禽. 32(15): 26-29.
12. 李勇, 苗敬芝. 1999. 桑叶的功能性成分及保健制品的开发. 中国食物与营养. 3: 25-25
13. 李正红, 周朝鸿, 谷勇, 张建云. 2001. 中国木豆研究利用现状及开发前景. 林业科学研究

究.14(6): 674-681

14. 李正涛, 花旭斌.2000.桑叶汁饮料的开发. 食品科技. 1: 45-45
15. 李忠喜, 张江涛, 王新建, 刘飞, 朱延林, 钟显.2007.浅谈我国木本饲料的开发与利用. 世界林业研究. 20(04): 49-53
16. 刘爱君, 李素侠, 吴国明, 房金武, 李汝卫, 王颖, 马双马. 2007. 鲜桑叶对育肥猪增重效果的对比. 中国牧业通讯.18:76-77.
17. 刘昌芬, 李国华. 辣木的营养价值.2004. 热带农业科技. 27(1): 4-7
18. 刘昌芬,伍英,龙继明.2004.不同品种和产地辣木叶片营养成分含量.热带农业科技.26(4): 1-2
19. 刘国道,罗丽娟.1998.海南木本饲用植物资源考察及营养价值评价. 草地学报. 6(1): 59-67
20. 吕福基, 袁杰, 李正洪, 曹坤贤, 何志云, 李莲年, 冯敏. 1995. 木豆籽实饲喂肉猪研究. 饲料工业.16(7): 29-31.
21. 倪耀娣, 宫新城, 王春光, 许丽. 2006. 银合欢对肉鸡的临床毒性及减毒实验观察. 中国兽医杂志. 42(7): 36-37.
22. 彭超威, 程幼学. 1992. 构树叶饲喂生长肥育猪试验. 广西农业科学. 3(1)
23. 彭晓培,张孝和,肖西山.2010.桑饲料在蛋鸡日粮中含量上限的评估. 当代畜牧. 10: 29-31.
24. 饶之坤, 封良燕, 李聪, 何严萍, 欧灵澄, 何帽等. 2007.辣木营养成分分析研究. 现代仪器.13(2): 18-20
25. 苏海涯, 吴跃明, 刘建新. 2002. 桑叶中的营养物质及其在反刍动物饲养中的应用. 中国奶牛.1: 26-28
- 26.孙建昌,杨艳,方小平,等.2006.贵州木本饲料植物资源及开发利用研究.贵州林业科技.3: 1-4.
27. 孙祥. 1999.中国木本饲用植物资源及其开发利用. 内蒙古草业. 3: 21-30.
28. 唐亚, 陈克明, 谢嘉穗, 陈建中.2002.发展木本饲料前景及其在水土保持中的地位. 水土保持研究. 4: 150-154
29. 陶兴无,柳志杰,张求学,闵伶俐,周明英.2006.构树叶发酵工艺及饲喂生长猪试验.武汉工业学院学报. 25(3): 5-7
30. 万国栋. 2004. 河西走廊东部木本饲用植物资源及其利用. 草业科学: 21(10): 9-12
31. 王承斌. 1987. 内蒙古的木本饲用植物资源. 中国草地. 5: 1-5.
32. 王梓贞,王闯,李琪.2015.我国发展木本饲料的前景和展望.饲料与畜牧.5: 38-40.
- 33.闻向东,王淑萍,李庆华.2006.印度辣木根化学成分分析.农产品加工学刊.7:66-67
34. 吴东, 钱坤, 周芬, 陈丽园, 夏伦志, 任项宏,吕永彪.2013. 日粮中添加不同比例桑叶对淮南麻黄鸡生产性能的影响. 家畜生态学报. 34(10):39-43.
35. 吴志勇, 戴征煌, 欧阳延生, 娄佑武, 张毅, & 夏宗群. (1996). 截叶胡枝子粉饲喂肉鸭

的效果观察. 江西畜牧兽医杂志, 2, 16-17.

36. 夏中生, 何国英, 廖志超, 黄所含, 唐亮, 刘丹, 周虹. 2008. 构树叶粉用作生长肥育猪饲料的营养价值评价. 粮食与饲料工业.12: 37-38.

37. 许健. 2005. 新型饲料——构树. 中国牧业通讯. 22: 63-65.

38. 闫文龙, 任安祥, 黎红妹, 余敏嫦, 贺银凤. 2008. 辣木梗粉主要营养成分测定及对肉鸡生长的影响. 安徽农业科学.36(18): 7644-7645

39. 杨贵明. 2003. 桑叶作畜禽饲料的营养价值及应用技术. 农业科技通讯.3: 22-23

40. 杨玉芬, 卢德勋, 许梓荣. 2003. 日粮纤维对仔猪生产性能和养分消化率影响的研究. 江西农业大学学报. 25(2): 299-303

41. 张爱芹. 2008. 畜牧业新型饲料源——桑叶的营养价值及青贮技术. 甘肃农业. 218(9): 60

42. 张清斌, 陈玉芬. 1996. 新疆野生木本饲用植物评价及其开发利用. 草业科学. 13(6): 1-4.

43. 章学东, 李有贵, 张雷, 范京辉, 钟石, 李庆海, 楼立峰. 2012. 桑叶粉对蛋鸡生产性能, 蛋品质和血清生化指标的影响研究. 中国家禽. 34(16): 25-28

44. Chowdary, N. B., V Rajan, M., Dandin, S. B. 2009. Effect of poultry feed supplemented with mulberry leaf powder on growth and development of broilers. The IUP Journal of Life Sciences. 3(3): 51-54.

45. Franzel, S., Wambugu, C. 2007. The uptake of fodder shrubs among smallholders in East Africa: Key elements that facilitate widespread adoption. Hare, MD and Wongpichet, K.(eds), 203-222.

46. Jank, L., do Valle, C. B., Carvalho, P. D. F., Reynolds, S. G., Frame, J. 2005. New grasses and legumes; Advances and perspectives for the tropical zones of Latin America. Eds SG Reynolds and J. Frame FAO, 55-79.

47. KINGAMKONO, M. 2003. Dissemination of *Calliandra calothyrsus* in Marangu, Mshiri, Masai villages in Moshi Rural District, Tanzania.

48. Larbi A, Smith J W, Kurdi I O, et al. 1996. Feed value of multipurpose fodder trees and shrubs in West Africa: edible forage production and nutritive value of *Millettia thonningii* and *Albizia lebbek*. Agroforestry Systems. 33: 41-50.

49. Le Houérou, H. N. 2000. Utilization of fodder trees and shrubs in the arid and semiarid zones of West Asia and North Africa. Arid Soil Research and Rehabilitation, 14(2): 101-135.

50. Lefroy, E. C. 2002. Forage trees and shrubs in Australia: their current use and future potential.

51. Olugbemi, T. S., Mutayoba, S. K., & Lekule, F. P. 2010. Effect of *Moringa* (*Moringa oleifera*) inclusion in cassava based diets fed to broiler chickens. International Journal of Poultry Science. 9(4): 363-367.

52. Park, C. I., & Kim, Y. J. 2012. Effects of Dietary Supplementation of Mulberry Leaves Powder on Chicken Meat Quality Stored during Cold Storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 32(2): 184-189.
53. Shelton, H. M., Franzel, S., Peters, M. 2005, June. Adoption of tropical legume technology around the world: analysis of success. In *Grassland: a Global Resource*. Proc. XX IGC. Wageningen Academic Publ. Dublin, UK (pp. 149-166).
54. Speedy, A., Pugliese, P. L. 1992. Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock. FAO.
55. Sudo, M., Kuramoto, H., Iso, M. 2000. Studies on functional poultry eggs. Effects of mulberry leaves on quantity of eggs. *Bull. Ibaraki prefectural Poultry Experiment Station*, 33, 21-34.
56. Tesfaye, E. B., Animut, G. M., Urge, M. L., Dessie, T. A. 2014. Cassava root chips and *Moringa oleifera* leaf meal as alternative feed ingredients in the layer ration. *The Journal of Applied Poultry Research*, japr920.

我国芋头资源分布和饲用情况

于继英^{1,2} 田子罡^{2,3} 徐美娟⁴ 张吉华⁵ 蔡辉益^{1,6}

(1. 生物饲料开发国家工程研究中心, 北京 100081; 2. 天津博菲德生物科技有限公司, 天津, 301906; 3. 博益德(北京)生物科技有限公司, 北京 100081; 4. 抚州市临川温泉绿宝土鸡种养专业合作社, 临川, 344100; 5. 烟台金富基生物科技有限公司, 莱阳, 265216; 6. 中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081 ;)

摘要: 芋头是粮蔬兼用型作物。我国年产鲜芋头约180万吨, 在其种植和加工产业中伴生的可饲用资源估测约有81万吨。芋头和茎叶中含有的草酸钙针晶体和单宁具有刺激性, 宜青贮、发酵或熟制后饲用, 且在日粮中的用量可达20%而不影响动物生产性能。芋头种植需肥量大, 可用于消纳猪场的沼液。本文综述了我国芋头主产地分布和饲用资源蕴藏量, 可供芋头饲用资源的产业化处理时参考。

关键词: 芋头; 主产地; 产量; 抗营养物质; 饲用效果;

芋头 (*Coiocasia esculenta* L.) 为天南星科芋的地下球茎, 也称芋艿、毛芋, 是粮菜兼用作物, 营养丰富, 保健价值高, 广为栽培于世界上热带和亚热带沼泽区^[1]。尼日利亚^[2]、加纳^[3]、中国芋头产量^[4]居全球前三 (表1)。芋头、山药和木薯是尼日利亚的重要食物、饲料和工业原料粉作物。在老挝, 芋头食用, 柄和叶通常与米糠或玉米一起煮熟后喂猪^[5]。本文综述了我国芋头主产地分布和饲用资源蕴藏量, 可供芋头饲用资源的产业化处理时参考。

表1 2008年芋头产量 (万吨) 前20名国家和地区^[6]

国家	产量	国家	产量	国家	产量	国家	产量
尼日利亚	538.7	巴西	22.5	科特迪瓦	9.36	加蓬	5.6
加纳	168.83	日本	17.97	泰国	7.85	所罗门群岛	4.4
中国	163.86	埃及	15.2	斐济	7.4	几内亚	3.12
喀麦隆	120	卢旺达	11.06	刚果	6.62	利比里亚	3
巴布亚新几内亚	28.5	菲律宾	11.6	布隆迪	5.8		
马达加斯加	24	中非共和国	10			合计	1185.37

1 芋头资源分布

1.1 全球芋头资源分布

受芋头价格周年变动的影 响, 全球芋头年种植区域分布和产量变化较大 (表2)。1998 年全球芋头芋的种植面积106.6万hm², 产量655.4万吨以上, 非洲、亚洲和大洋洲种植面积和产量分别为87.6、14.4和4.6万hm², 445.2、181.9和28.3万t^[7]。1999年, 在亚洲, 中国、日

² 基金项目:天津市科技计划项目-新型生物发酵饲料产品核心技术的研发(17PTYJNC00010); 抚州市科学技术局项目-谷芽牌低胆固醇功能土鸡蛋 (20153CX25100); ² 作者:于继英,女,汉族,1966 年生,江西人,博士,高级工程师,主要研究方向为饲料资源开发和应用; E-mail: jane_jeweler@163.com; 电话 13466588246; *通信作者: 蔡辉益,男,1963 年生,重庆人,动物营养学博士、二级研究员、博导; 主要研究方向为家禽营养与饲料添加剂技术; 主要集中在动物营养需要参数、动物微生态营养、饲料添加剂、生物发酵饲料以及饲料资源生物学价值评定等领域; E-mail: caihuiyi@caas.cn。

本、菲律宾和泰国的芋头年产量分别为138.7、25.5、11.8和5.4万t，在大洋洲，巴布亚新几内亚、萨摩那、所罗门群岛、刚果和斐济的产量分别为16、3.7、2.8、2.7、2.1万t。到2002年，全球芋的种植面积107.77万hm²，其中80%在非洲，15%分布在亚洲，均产6.1t/hm²。2006年全球芋头种植面积约 180 万hm²，除印度、孟加拉、缅甸、印度尼西亚、巴布亚新几内亚和古巴等国，全球产量约 1190 万 t^[8]。2009年，我国芋头种植8.24万hm²，产量139万t，均产16.95-45 t/hm²^[9]；巴西大芋种植1万hm²，年产22.5万t，单产20吨/hm²；老挝种植1.2万hm²，喀麦隆种植1万hm²^[10]。2014年，全球芋头1020万t，尼日利亚、中国、喀麦隆、加纳、巴布亚新几内亚产量较高，分别为330、180、160、130、30万t^[11]。2017年，全球产量约1100万吨，约60%产于非洲，40%产于亚洲^[7]，少部分产于加勒比海和大洋洲，我国芋头产量约占全球总量的18%。

表2 全球芋头产量情况^[6]

年份	1961	1998	2002	2006	2008	2014	2017
种植面积（万hm ² ）	106.6	-*	107.77	180	-	-	-
全球产量（万t）	400	655.4	657.4	1190	1185	1020	1100

注*：-表示未查到数据。

1.2 我国芋头主产地及其产量

芋头喜高温湿润气候条件，我国以珠江流域及台湾栽培最多，长江及淮河流域次之，然后是胶东半岛，福建、江西、湖南、江苏、山东等省常年种植面积和产量较大（表3，图1和图2）。

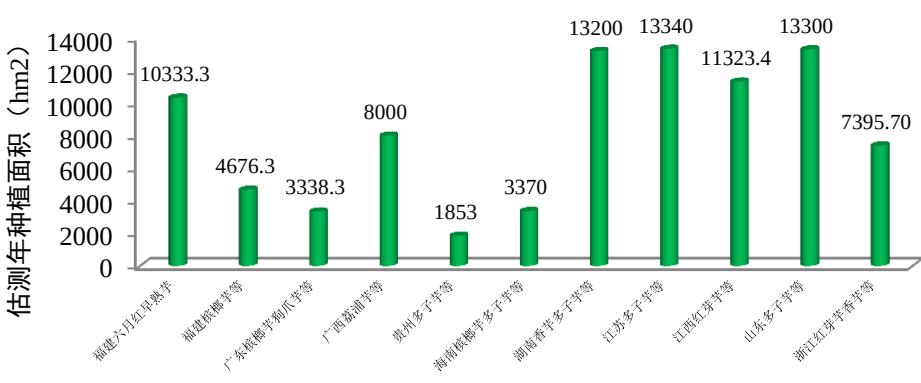


图1 我国芋头主产地估测年种植面积（数据来源，根据表3标注参考资料整理）

依球茎的分球习性的不同，芋头分为魁芋（槟榔芋、荔浦芋、江永香芋、奉化芋）、多子芋（红芽芋、香沙芋、莱阳8520白芋）和多头芋（狗爪芋）（表3）。广西荔浦芋，广东乐昌超级芋头，湖南江永香芋是全国产量较大的槟榔芋品种。江西铅山、福建龙岩和浙江金华盛产红芽芋。莱阳8520多子毛芋则为华北区加工型产品的代表。多头芋种植量较少，仅在广东清流区、广西宜山、福建等地有狗爪芋栽培^[12]。

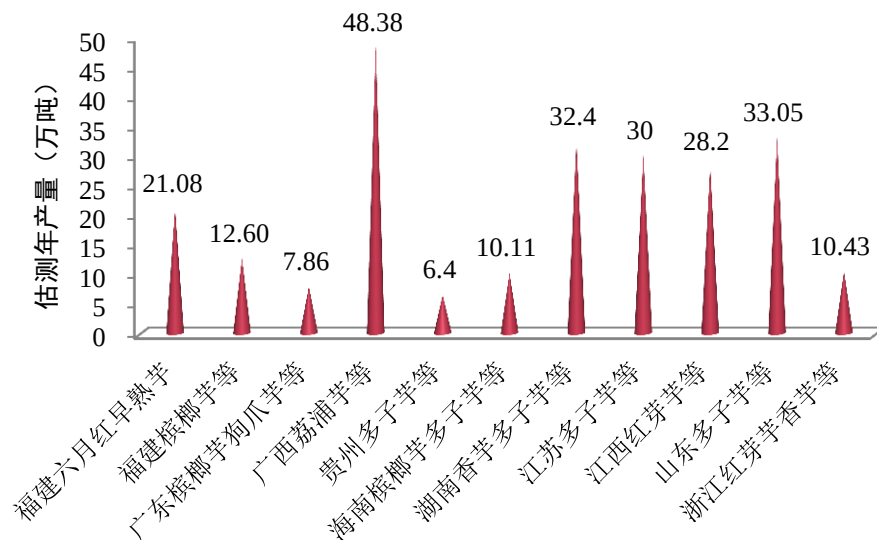


图2 我国芋头主产地估测年产量（数据来源，根据表3标注参考文献整理）

表3 我国一些芋头主产地种植面积和年产量

产地	主要品种	面积(hm ² /年)	单产(t/hm ²)	产量(万 t/年)
重庆酉阳土家族苗族自治县龙潭镇 ^[13]	水芋	333.3	22.5	0.75
重庆市 ^[14]	多子芋	133.33	24.75	0.33
福州闽清塔庄镇 ^[15]	铅山红芽芋	333	56	1.87
福州市永泰县 ^[16]	槟榔芋	450	22.5	1.01
宁德福鼎市 ^[17]	槟榔芋	2000	15	3
三明市建宁县 ^[18]	槟榔芋	40	27	0.11
三明市宁化安远镇 ^[19]	槟榔芋	433.3	22.5	0.97
三明市沙县夏茂镇 ^[20]	白芋	266.7	22.5	0.60
三明市长汀 ^[21]	槟榔芋	700	27	1.89
南平市延平区 ^[22]	红芽芋	720	27	1.94
龙岩市永定仙师镇 ^[23]	六月红早熟芋	467	20.4	9.53
龙岩市永定区 ^[24]	六月红早熟芋	2333	20.4	4.76
龙岩市新罗区 ^[25]	龙岩红芽芋	1800	27	4.86
江门市台山东冠村 ^[26]	鸡爪芋	20	33.75	0.07
韶关市乐昌张溪镇 ^[27]	张溪香芋	485	20.2	0.98
湛江市雷州市 ^[28]	槟榔芋	1333.3	18.75	2.50
花都区炭步 ^[29]	香芋	1000	30	3.00
广西钟山县 ^[30]	荔浦芋	266.7	30	0.80
贺州 ^[31]	香芋	1000	42	4.2
南宁市刘圩 ^[31]	香芋	533.3	22.5	1.2

藤县 ^[31]	和平香芋	2000	25	5
天等县把荷乡 ^[31]	红芽芋	400	15	0.6
桂林荔蒲县 ^[32]		1334-3335	37.5	5.00
崇左市天等县 ^[33]		670	9.7	0.65
道真自治县 ^[34]	香芋	1000	38	3.8
镇宁自治县 ^[35]	香芋	200	22.5	0.45
海南 ^[36]	香芋/红芽芋	3370	22.5	7.58
湖北黄冈蕲春县青石镇周畈村 ^[37]	香芋	200	22.5	0.45
荆州市沙市区岑河镇 ^[38]	白芋	278.5	29.44	0.82
湖北黄冈市蕲春县 ^[39]	槟榔芋	1330	30	4
永州市东安县 ^[40]	红(白)芽芋	266.7	18.75	0.5
永州市江永县 ^[40]	香芋	4000	30	12.00
永州市蓝山县 ^[40]	香芋	1333.3	37.5	5
永州市双牌县 ^[41]	红星芋/魁芋	600	30	1.8
常德市安乡县 ^[42]	香芋	300	20	0.6
郴州市临武县 ^[43]	香芋	6700	18.65	12.5
江苏靖江 ^[44]	香沙芋	2000	17.5	3.5
金坛建昌 ^[44]	红香芋	480	21.87	1.05
兴化 ^[44]	龙香芋	666.7	21.9	1.46
海门 ^[44]	香芋	367	12	0.44
泰州市 ^[44]	多子芋	6670	24.75	16.5
南通市 ^[44]	多子芋	3335	24.75	8.25
常州市 ^[44]	多子芋	1334	24.75	3.3
上饶市玉山县 ^[45]	红芽芋	3066.7	30	9.20
上饶市横峰县 ^[46]	红芽芋	300	30	0.90
上饶市弋阳县 ^[47]	红芽芋	53.3	30	0.16
上饶市广丰嵩峰乡 ^[48]	红芽芋	200	22.5	0.45
上饶市铅山县 ^[49]	红芽芋	6666.7		15
吉安市安福县 ^[50]	荔浦芋	133.3	22.5	0.30
宜春市奉新县 ^[51]	槟榔芋	666.7	22.5	1.5
九江市德安县 ^[52]	红芽芋	66.7	22.5	0.15
赣州市上犹县 ^[53]	红芽芋	66.7	22.5	0.15
赣州市兴国樟木乡 ^[54]	红芽芋	103.3	37.5	0.39
莱阳市 ^[55]	莱阳 8520	3300-4000	22.5	8.21

海阳市 ^[55]	莱阳孤芋	3300	22.5	0.00
莱西市 ^[55]	多子芋	1300-2000	22.5	3.71
平度市 ^[55]	多子芋	1300-2000	22.5	3.71
胶南市 ^[55]	多子芋	1300-2000	22.5	3.71
胶州市 ^[55]	多子芋	800	22.5	1.8
即墨市 ^[55]	多子芋	370-530	22.5	1
滕州市 ^[56]	莱阳 8520	1200	22.5	2.7
嘉兴市 ^[57]	紫/白梗芋	619	22.5	1.39
杭州市萧山区 ^[58]	红梗芋艿	266.7	27	0.7
金华市 ^[59]	金华红芋	440	18.5	0.81
金华市永康 ^[60]	舜芋	1600	31.25	5.00
台州黄岩区 ^[61]	红芽芋	200	20.4	0.41
台州临海白水洋镇 ^[62]	红芽芋	200	30	0.60
台州温岭市大溪镇 ^[63]	红芽芋	66.7	22.5	0.15
宁波市奉化 ^[64、65]	奉化芋艿	350	25.62	0.90
湖州市 ^[66]	香芋	200-300	18.75	0.47
台湾 ^[67]	香芋	5000	22	11.00
合计		70871.93	19.55	138.6

1.3 我国芋头价格波动

我国红芽芋单均产约30t/hm²，白芋约12t/hm²，狗爪芋约37.5t/hm²，槟榔芋约45t/hm²。2015年，我国芋头种植面积达5.33万hm²^[4]，单产按30t/hm²计，年产量约160万吨。目前年产量约稳定在180万吨。然而，芋头依据产地、上市时间和品种不同，价格差异较大（表3）。芋头价格的周年变动，影响来年种植面积，种植面积大幅度增减。

表3 主产地芋头报价（元/kg）^[68]

产地	品种	20171230	20180507
安徽阜阳市颍州区/颍东区/临泉县/阜南县	毛头芋/红芽芋/莱阳 8520	1.66	N
安徽六安市金寨县	香芋	4.4	N
福建宁德市古田县/霞浦县	槟榔芋/红芽芋	4.7	6
河北保定市顺平县	毛芋头	3	N
河北邯郸市大名县	毛芋头	2.2	N
河南南阳市新野县	荔浦芋	2.42	2.56
湖北黄冈市黄梅县	毛芋头	3.6	N
湖北宜昌市秭归县	荔浦芋	8	N
湖南郴州市临武县	槟榔芋/红芽芋	2.5	3.3

湖南永州市江永县	江永香芋/槟榔芋	6.48	4.8
广东广州市花都区	槟榔芋	5.2	N
广东江门市台山县	芋子	4	3.6
广东韶关市乐昌市/仁化市	槟榔芋/香芋	5.98	N
广东肇庆市德庆县	香芋	10	N
广西桂林荔浦/七星/临桂/平乐县/灌阳县	荔浦芋/槟榔芋/香芋	6.54	10
广西贺州市八步区	槟榔芋	3.8	6
广西来宾市兴宾区	荔浦芋	3	N
广西柳州市柳南区	槟榔芋	2.6	N
贵州黔西南州兴义市	芭蕉芋	1	N
贵州安顺市关岭县	香芋	4	N
江苏泰州市兴化市	荔浦芋	3.2	N
江苏宿迁市宿城区	8520 芋头	2	N
江西赣州市寻乌县/于都县	香芋	3.9	4.4
江西景德镇市浮梁县	红芽芋	2.6	N
江西上饶市玉山县	红芽芋	2.7	2.7
山东菏泽市单县	香芋	9.8	N
山东济宁市邹城市	白芋/毛芋头	2.4	N
山东临沂市河东区/沂南县/沂水县	毛芋头/8520/香芋	1.86	N
山东青岛市平度市	毛芋头	2	N
山东日照市莒县/五莲县	毛芋头/8520	1.54	N
山东潍坊市安丘市/坊子区/昌乐县	8520 芋头	2.32	3.3
山东枣庄市滕州市	8520 芋头/毛芋头	1.9	N
上海市崇明区	香沙芋	12	N
四川绵阳市涪城区/安阳区	毛芋头	2.2	N
四川眉山市仁寿县	毛芋头	2.6	3.2
四川攀枝花市米易县	红芽芋	2.4	N
云南红河州弥勒市/建水县	香芋/白芋	2.6	N
云南临沧市双江县	荔浦芋	3.8	N
浙江金华市永康市	红芽芋/8520	2.6	3.2
浙江台州市黄岩区	红芽芋	2.6	N
浙江温州市苍南县	红芽芋	4	N

注：N，未查到数据。

2 我国芋头产业发展中的主要问题

我国大部分地区，芋头以鲜销为主，加工和饲用为辅，因不同省市种植品种和产业化程度有别，三者占比也不同。江西、浙江和四川等地以红芽芋为代表的多子芋主产区，芋头多鲜销到其他省市，少部分在产地加工。山东多种植莱阳8520白芋，芋头主要加工出口，少部分鲜销。在广西主种荔浦芋，产品加工和鲜销比例均较高。浙江奉化、江西铅山、福建福鼎、广西荔浦和山东莱阳等地是我国芋头种植和加工主产地的代表，加工损失率高达20%-40%。

多子芋不易加工，多应季鲜售。但芋头商品率低，易发芽，贮存期短，清洗后保存期缩短。芋头对贮藏条件要求比较苛刻，最佳贮藏温度为 10-15 °C，高于或低于此温度芋头容易发生伤害。虽然开放通风情况下，可贮存6周，而120天后重量损失50%以上。加上存储过程中由于收获时的机械损伤和受损球茎的微生物污染，产地芋头采后损失大。随着气温升高，芋头逐渐出现发芽、烂尾或干瘪等现象，失去食用价值。此外，多子芋的母芋食用性不如子芋，大多数的母芋同叶片和叶柄一道多用于腌制咸菜或作为饲料。

速冻芋仔是山东省胶东半岛地区的重要出口创汇蔬菜加工产品，主要出口日本、韩国及东南亚，高峰期年出口量曾高达20万t^[69]，2000-2010年出口量在3万 t/年以上^[55]。1994年莱阳芋头种植8520白芋和科王1号等约2万hm²，加工速冻芋仔年出口约15万吨，但芋仔成品率只有40%，每年有15万吨以上的芋碎，加上母芋，废料可达20万吨，这些副产物富含粘多糖、蛋白质，且包裹水分，不易晒干^[70]，亟需产业化处理。

槟榔芋母芋个头大，口感好，既是主食，也易于加工。加工可减轻鲜销压力和防止产量过剩。广西荔浦县芋头加工企业数量多，但大型龙头企业数量较少，芋头块、芋泥、芋干等加工技术含量低，微波真空干燥、挤压膨化技术、芋头醋等精深加工少，产品附加值低^[71]。

海南柄用芋种植较多，其加工品主要在本省销售，部分销售到港澳地区或东南亚。茎用芋的种植和加工极易产生产品积压、过剩、贱市现象^[36]。

此外，芋头采收后余留的废茎叶数量巨大。芋头茎叶的粗蛋白和粗纤维含量高，但适口性差，一般不宜直接用作动物饲料。生产主体普遍缺乏废茎叶处理利用的积极性和主动性，大部分废茎叶资源化利用率不高，较多堆弃于田间，对农业生态环境造成不利影响。

3 芋头的食用特点

3.1 芋头的营养物质含量和特点

芋头富含淀粉、可溶性糖和维生素等（表4）。芋头淀粉支链较多、颗粒较小，淀粉消化率高于马铃薯、甘薯和木薯^[72]。芋头淀粉直:支比14:86，低于玉米的27:83和土豆的23:77。玉米、土豆、红薯、大米淀粉颗粒分别约为15、57、17和5.5 μm，芋头淀粉颗粒约为1.5μm，小而均匀且由粘滑的粘多糖和蛋白质包围，不易提取。芋头蛋白质主要以胶质黏液的形态呈现，被人体吸收后能产生免疫球蛋白，可提高机体的抵抗力。芋头球茎中约含4.9%的多聚糖，具有增强机体的免疫机能，增进人体对疾病的抵抗力的功能^[1]。此外，芋头中氟、胡萝卜素、维生素VD₂和花青素含量较高，具有洁齿防龋、抗氧化和抗发炎的特性^[73]。

表4 芋头及其茎叶的营养含量

营养成分	块茎 ^[64]	鲜茎叶 ^[9]	芋叶干基 ^[74]	芋柄干基 ^[75]	荔浦芋 ^[76]	红芽芋 ^[49]
水分,%	63-85	8.3	-	-	66.64	5-15
淀粉,%	13-29	-	-	-	6.46	-
粗蛋白,%	1.4-3.0	1.8	26.2	8.2	2.2	4-8
粗脂肪,%	0.16-0.36	0.4	-	-	-	0.4-1
粗纤维,%	0.6-1.18	1.8	17.3	22.9	-	-
NDF	-	-	64.8	45.1	2.2	10-25
ADF	-	-	19.1	25.4	0.9	-
粗灰分,%	0.6-1.3	1.4	14.5	17.1	0.5	1-5
钙,%	-	0.14	-	-	0.17	-
磷,%	-	0.03	-	-	0.08	-

注：-资料中未报道。

3.2 芋头抗营养物质和毒性成分

芋头中的抗营养因子主要包括单宁、葡萄糖苷、生物碱、胰蛋白酶抑制剂以及草酸钙针晶。而草酸钙特殊的针形晶型及针晶上所附的蛋白酶类物质和黏液细胞具有刺激性毒性^[77]。芋头中的半胱氨酸蛋白酶与草酸钙结晶形成的混合物，主要分布在芋头块茎的上层表皮之中，可与皮肤和粘膜上的部分特异性蛋白相结合，从而引起组织的发炎和瘙痒，引起部分易感人群的过敏反应。因此，芋头忌生食。而芋头黏液皂甙烹调后即可破坏，经过酸处理效果更好^[78]，芋头宜酸化、熟制后食用、饲用。

芋头为碱性食品，可防治胃酸过多症。芋头生物碱提取物具有独特的药理作用。从槟榔芋芋梗中提取的生物碱对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、沙门氏菌有明显的抑制作用。槟榔芋梗的生物碱提取率为11.02%^[79]。槟榔芋皮渣生物碱提取率为0.49-0.66%^[80]。芋芋皮渣生物碱提取率为0.21%^[81]。芋头虽可防治胃酸过多症，但母畜怀孕后期不宜多喂。

表5 芋头及其茎叶的特殊物质的提取率

营养成分	鲜块茎 ^[74]	鲜叶 ^[74]	鲜柄梗 ^[74]	干芋芋 ^[49]	干柄 ^[74]	干叶 ^[5]
水分,%	63-85	8.3	-	-	7-13	5-15
葡萄糖苷,%	13-29	-	-	-	-	-
粗蛋白,%	1.4-3.0	1.8	26.2	8.2	-	4-8
草酸钙针晶,%	0.16-0.36	0.4	-	-	-	0.4-1
生物碱	0.6-1.18	1.8	17.3	22.9	-	-
皂甙	-	-	64.8	45.1	2.2	10-25
三萜类	-	-	19.1	25.4	0.9	-
氟	14.1-22.7	-	-	-	4.9	-

注：-资料中未报道。

表 5 芋头中抗营养物质含量

营养成分	mg/100g 鲜块茎 ^[74]	mg/100g 煮熟芋头 ^[74]	%晒制野芋头 ^[75]	%浸制野芋头泡 9 天 ^[75]	%煮制野芋头 30min ^[75]	叶柄 ^[9]
水分,%			89.44	88.51	90.94	
植酸	1.75	0.62	1.25	0.25	0.4	
草酸	45.3	24.45	0.75	0.41	0.35	4-8
单宁	1.78	0.28	0.35	0.3	0.18	10-25
皂苷	7.9	5.73				
氰化物	2.1	0.92	4.18	3.24	3.28	

注：-资料中未报道。

4 芋头废弃资源利用研究进展

4.1 芋头资源饲用量估测

芋头叶柄是优良的膳食纤维资源，约占芋头质量 30%，可制成腌菜^[82]。但因具有强烈的麻口、刺舌、刺喉感，大部分叶柄被废弃。芋叶粗蛋白含量较高，是一个潜在的蛋白质饲料资源^[5]。以芋头年产 180 万吨，田间废弃和贮存损失以 30%计，芋头可饲用量约 54 万吨；机械化收集茎叶产量以 30%计，茎叶可饲用量约 16.2 万吨；芋头加工率约 20%，加工损失率以 30%计，产生的皮和芋碎量 10.8 万吨，粗略估测，芋头种植和加工产业中伴生的饲用资源量约 81 万吨。

4.2 芋头饲用研究进展

芋头可广泛饲用于猪、禽、水产等，且用量及效果与处理方式密切相关。用 5%或 10%芋头等量替代日粮中玉米饲喂断奶仔猪，仔猪生产性能有一定影响，仔猪内脏的重量有所增加^[83]。肉鸡饲料中替代玉米^[84]。晒制野芋头可能因为抗营养因子含量而影响肉鸡的生产性能，但经切碎、晒干、浸泡、沸煮、冷却、排水、脱水后，等量替代肉鸡日粮中的 10%和 20%玉米，日采食量和料肉比未受影响，日增重增加^[75]。生长期肉鸡日粮中，随着芋头粉替代玉米比例的增加，料肉比线性提高，体增重线性降低，肉鸡水便发生率提高，腺胃重量增加，其他内脏重量降低^[1]。煮熟后晒干的芋头粉在育成期蛋鹌鹑日粮中玉米的替代 25%、50%，对生长性能无不良影响^[85]。未去皮芋头切碎后水中厌氧发酵 48h，不同比例替代蛋鹌鹑日粮中的玉米，对采食量、蛋黄重、蛋白重、蛋黄指数、蛋壳强度和周平均蛋重未有不良影响，但从蛋白质量看，不宜超过 25%^[85、86]。海波尔肉鸡后期日粮中，厌氧发酵的野芋头粉 30%替代玉米，安全且有经济效益^[87]。

4.3 芋头茎叶饲用效果

机械化作业背景为芋头饲用资源的收集和饲用提供了帮助^[88]，但需要客观兼顾其安全性和营养性。芋头茎叶煮熟或青贮后体外消化率提高^[89]。分别加酸奶、乳清、糖蜜进行青贮，乳清组效果最好，青贮180天后质量趋于稳定^[90]。芋头叶柄发酵蔬菜宜热烫、低盐发酵

处理40d后食用^[9]。芋头茎叶加乳清和糖蜜青贮8天后开始饲喂，部分或全部替代日粮中的玉米，胃肠道、大肠、胰腺重量减轻，胃重量增加^[91]。加糖蜜青贮产品替代20%的日粮喂猪，日粮干物质、NDF和粗蛋白消化率提高^[92]。芋头叶茎青贮饲料替代米糠和浮萍混合物饲喂生长鸭，采食量未受影响，增重和干物质转化率提高^[93]。

综上，发酵或熟制芋头粉在日粮中的用量可达20%而不影响动物生产性能。

4.4 其他

芋头秸秆可用于高温堆肥。在山东省昌乐市白塔镇芋头主产区，牛粪:芋头秸秆2:1混合堆肥，调整C / N 25:1左右，含水率60%，芋头秸秆堆肥比其它秸秆稍差，但比牛粪单独堆肥的效果要好得多^[94]。

芋头种植对土壤养分需求高，对养殖场沼液具有一定的消纳力。采用猪—沼—芋头种植的种养循环模式，沼肥施用，沼液喷施，降低生产成本，芋头增收，增加收入^[95]。

5 结语

芋头是食物、蔬菜和饲料兼用型作物。我国目前年产鲜芋头约180万吨。贮存和加工损失及田间茎叶等可饲用资源估测约有81万吨鲜基。芋头和茎叶中含有的草酸钙针晶体和单宁具有刺激性，宜青贮、发酵或熟制后饲用。芋头对沼液消纳能力较高，可用于生态循环养猪的配套种植选择品种。

参考文献

- [1]王博,翟光辉,姜林,邵永春.特色出口蔬菜——芋头优质高产栽培技术[J].长江蔬菜, 2012 (10):51-52
- [2]TE Omeje., KI Ugwuoke., SC Aba., SC Eze., SI Ogwulumba. Field management of Phytophthora blight disease of cocoyam *Colocasia esculenta* L.) With spray regimes of selected fungicides in Nsukka, south eastern Nigeria[J]. Journal of Tropical Agriculture, Food, Environment and Extension, 2015,14(2): 36-45.
- [3]PG Owusudarko., A Paterson., EL Omenyo. Cocoyam (corms and cormels)—An underexploited food and feed resource[J].Journal of Agricultural Chemistry & Environment, 2014 , 03 (1) :22-29.
- [4]廖剑,王锐,李旭,杜铮,卢泽民,芋头收获机的设计与试验研究[J].湖北农机化, 2017 (1) :63-64.
- [5]L Kaensombath, BE Frankow Lindberg. Effect of harvesting interval on biomass yield and chemical composition of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) for feeding pigs in Laos[J]. Field Crops Research, 2012 , 128 (128)
- [6]Andrew McGregor. Pacific Island Taro Market Access Scoping Study: The EU-Funded Facilitating Agricultural Commodity Trade Project. 2011

- [7]FAO Database, www.fao.org/statistics/databases
- [8]J Quero-Garcia., A Ivancic., V Lebot. Taro and Cocoyam[J]. Root & Tuber Crops, 2010, 7:149-172.
- [9]胡望资,谭兴和,王锋,杨胖清.芋头叶柄泡菜泡制过程中主要成分的变化[J].食品与机械, 2012, 28 (6) :50-54
- [10]Mario, P., Walter, L R., 李峰,等.巴西芋头概况[J].长江蔬菜, 2010 (14) :6-10
- [11]<https://en.wikipedia.org/wiki/Taro>
- [12]李青畴,黄欢明.狗爪芋的栽培技术[J].福建农业, 2001 (4) :15-15
- [13]<https://baijiahao.baidu.com/s?id=1567646039737180&wfr=spider&for=pc>
- [14]陈磊,郭军,罗云米,刘玉英,何叶. 重庆地区水生蔬菜生产现状调研分析[J].南方农业, 2014 (11) :40-42
- [15]黄冰煌. 江西铅山红芽芋产量及其主要性状初探[J].中国园艺文摘, 2016, 32 (7) :9-12
- [16]林先友.永泰县白云槟榔芋高产栽培技术[J].现代农村科技, 2013 (2) :19-20
- [17]缪进金.福鼎槟榔芋提纯复壮与高优栽培[J].福建农业, 2013 (4) :20-21
- [18]余道君.闽西北中高海拔山区槟榔芋高产栽培技术[J].农业开发与装备, 2014 (5) :112-112
- [19]http://www.fjagri.gov.cn/xxgk/gzdt/qsnyxxlb/sm_787/201711/t20171115_984217.htm
- [20]张明生,饶鸣钿. 红芽芋高产栽培技术[J].中国农学通报, 1995 (2) :44-44
- [21]林致钎,姜桂梅.长汀槟榔芋种植表现及高产高效栽培技术[J].福建农业科技, 2014, 1 (1) :60-61
- [22]王桂华.芋瘟的发生与综合防治[J].福建农业, 2013 (1) :24-25.
- [23]<http://www.taihainet.com/news/fujian/cbhx/2017-05-04/2005283.html>
- [24]徐月华.六月红芋疫病发生情况及防治措施[J].农技服务, 2015 (12) :127-127
- [25]赖永红,黄一赐,林警周. 龙岩红芽芋特征特性及高产栽培技术[J].福建稻麦科技, 2008, 26 (4) :36-38
- [26]http://www.gdagri.gov.cn/zxpt/snnnyxxlb/jm/201712/t20171228_611656.html
- [27]<http://shop.bytravel.cn/produce/5F206EAA9999828B/>
- [28]http://news.gdzjdaily.com.cn/zjxw/content/2016-06/08/content_2123619.shtml
- [29]<http://shop.bytravel.cn/produce3/70AD6B6569DF69949999828B.html>
- [30]潘小珍. 广西钟山县芋头无公害栽培技术[J].中国园艺文摘, 2015 (12) :188-189
- [31]胡冰洋,段振华. 香芋的加工利用研究进展[J].中国食物与营养, 2016, 22 (8) :31-34
- [32]覃自由,叶国春,江发茂. 荔浦芋生产现状、问题及发展对策[J].长江蔬菜, 2017 (16) :23-25
- [33]黄玉俏,梁海孙.山区红芽芋高产栽培技术[J].广西农学报, 2013, 28 (2) :65-66
- [34]孙勇.不同密度及施肥量对芋头产量的影响[J].农技服务, 2016, 33 (7) :55-55.
- [35]席明.芋头无公害化高产栽培管理技术[J].植物医生, 2008, 21 (5) :52-53

- [36]李德明,庞强强,蔡兴来,周曼.海南芋资源及产业特点[J].长江蔬菜, 2017 (4) :30-33
- [37]http://rb.hgdaily.com.cn/html/2016-04/28/content_226489.htm?div=-1
- [38]<http://www.vegnet.com.cn/Tech/1025015.html>
- [39]<http://shop.bytravel.cn/produce/7EA282BD828B/>
- [40]http://agri.hunan.gov.cn/xxgk/gzdt/sxdt/201711/t20171117_4697737.html
- [41]唐明荣,周孝吉,严兴康,唐少东.双牌县红星芋特征特性及主要栽培技术[J]. 中国农技推广, 2017 , 33 (1)
- [42]<http://shop.bytravel.cn/produce/5B894E619999828B/>
- [43]李亚娟,刘素萍.临武县香芋栽培的气象条件分析及其灾害防御[J].安徽农学通报 , 2010 , 16 (10) :167-167
- [44] 张培通,焦庆清,殷剑美,等.江苏省优质芋头产业发展策略之管见[J].长江蔬菜, 2017 (2) :30-32
- [45]<http://www.jxagri.gov.cn/News.shtml?p5=264644-2015年>
- [46]<http://www.jxagri.gov.cn/News.shtml?p5=58418>
- [47]<http://www.jxagri.gov.cn/Ascending.shtml?p5=0&keyword=%E8%8A%8B&column=&author=&source=&p7=2>
- [48]<http://www.jxagri.gov.cn/News.shtml?p5=320977-2017年>
- [49]余志平,林海红,余俊红,曾广恒,洪岳善.铅山红芽芋产业发展概况[J].长江蔬菜, 2016 (20).
- [50]<http://www.jxagri.gov.cn/News.shtml?p5=265876-2015年>
- [51]阴小刚.槟榔芋高产栽培技术要点[J].城乡致富, 2001 (2) :31-32
- [52]<http://www.jxagri.gov.cn/News.shtml?p5=287283>
- [53]<http://www.jxagri.gov.cn/News.shtml?p5=148810>
- [54]吕正佩,陈文清.红芽芋高产栽培技术[J].安徽农学通报, 2012 , 18 (14) :213-214
- [55]沈镒,李颖,蒋小满,邹日.山东芋头生产和加工现状与存在的主要问题[J]. 长江蔬菜, 2011 (16) :11-13.
- [56]韩文贺.滕州不同技术措施对芋头地下害虫的防治效果[J].中国农技推广, 2017, 33 (4)
- [57]张敏,姚祥坦,沈亚强.嘉兴市水生蔬菜生产现状调查[J].浙江农业科学, 2014 , 1 (11) :1712-1715.
- [58]王其创,陈水校.芋艿营养价值及高产高效栽培技术[J].现代农村科技, 2012 (6) :26-26.
- [59]陈淑玲,王凌云,郑寨生,张尚法,张雷.芋新品种金华红芽芋的选育及其栽培技术探讨[J].园艺与种苗 , 2013 (4) :12-14
- [60]<http://www.jhnews.com.cn/2017/1222/794053.shtml>
- [61]<http://www.tzag.gov.cn/html/main/nyjsView/47588.html>
- [62]http://paper.taizhou.com.cn/tzrb/html/2017-11/03/content_854779.htm

- [63]<http://www.tzag.gov.cn/html/main/zhxxView/2195.html>
- [64]宋承申,马建芳,毛跃进.奉化芋艿头特征特性及优质高产栽培技术[J].上海农业科技, 2007
- [65]马建芳,毛颖盈,江伟.魁芋类芋艿综合性状比较试验[J].浙江农业科学, 2016, 57 (2):181-182
- [66]黄丙荣,金永祥,叶飞华.湖州香芋优质高效栽培及种芋安全贮藏技术[J].上海蔬菜, 2014 (1):37-39
- [67]王秀.台湾推广水生蔬菜栽培[J].台湾农业探索, 1998, 54 (3):30-32
- [68]一亩田/http://hangqing.ymt.com/chandi_8544_0_30
- [69]刘少军,陈巍,单立芳.利用母芋作种芋的栽培技术[J].蔬菜, 2003 (1)
- [70]姜瑞敏,史美丽,陈玉珍,袁月莲,栾明川.芋头淀粉性能及化学组成的研究[J].青岛农业大学学报(自然科学版), 1998 (2):128-131
- [71]江发茂,欧利.荔浦县荔浦芋产业发展现状及栽培技术[J].长江蔬菜, 2016 (8):27-28
- [72]姜虹.瘤胃尼龙袋法测定5种块根类饲料淀粉降解率[J].饲料研究, 2012 (9):40-42.
- [73]郑艺欣,林埔,孔祥佳,谢勇.芋头深加工技术的研究与开发[J].中国食品工业, 2016(10):60-65
- [74]M Abdulrashid, LN Agwunobi. Taro cocoyam (*Colocasia esculenta*) meal as feed ingredient in poultry[J].Pakistan Journal of Nutrition, 2009,8(5):668-673.
- [75]FA Adejoro, TI Ijadunola, OM Odetola, B.A. Omoniyi. Effect of sun dried, soaked and cooked wild cocoyam (*Colocasia esculenta*) meal on the growth performance and carcass characteristic of broilers[J].Livestock Research for Rural Development, 2013, 25 (6)
- [76]魏秋羽,张钟元,李大婧,等.不同芋头品种真空微波干燥品质变化的比较[J].现代食品科技, 2016 (1):235-241
- [77]钟凌云,吴皓.天南星科植物中黏膜刺激性成分的研究现状与分析[J].中国中药杂志, 2006, 31 (18):1561-1563
- [78]林蒲田.芋头叶柄也作蔬[J].湖南农业, 2011 (3):18-18
- [79]吴小卿.福鼎槟榔芋芋梗生物碱提取及功能特性的研究[D].福建农林大学, 2011
- [80]朱宪龙.槟榔芋皮渣生物碱的响应面优化提取工艺及抑菌性研究[J].食品工业, 2014 (12):59-62
- [81]程红娜.芋艿皮渣生物碱提取工艺研究[J].中国食品添加剂, 2012 (2):113-116
- [82]何金兰.芋头茎秆的加工利用[J].热带农业工程, 2002 (3):22-23
- [83]Akinmutimi H A., Ihekoronye., CC Ewa., U E. Evaluation of nutritive value of taro (*Colocasia esculenta* Linn) As A substitute for maize in Weaner Pig Diet[J]. International Journal of Current Research, 2011, 33(3), 84-90.

- [84]MA Isika., UE Umoren., BI Okon., LN Agwunobi. Evaluation of boiled-sun-dried taro cocoyam (*Colocasia esculentum* L. Scholte) meal as a substitute for maize in broiler diets[J].Journal of Agriculture Biotechnology & Ecology, 2009 :34-44.
- [85]BI Okon, MB Obi, AA Ayuk. Performance of Quails (*Coturnix coturnix Japonica*) Fed Graded Levels of Boiled Sun-Dried Taro Cocoyam (*Colocasia esculenta*) as a Replacement for Maize[J].Agricultural Journal, 2007 (6),654-657.
- [86]F. B. P. Abang, A. A. Ayuk and B. I. Okon. Egg Quality Characteristics of Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*) Fed Varying Levels of Fermented Taro Cocoyam (*Colocasia esculenta* var *esculenta*) Meal[J]. Journal of Experimental Agriculture International 15(6): 1-6, 2017
- [87] R Olajide. Replacement Value of Fermented Wild Cocoyam [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] Corm Meal for Maize in Broiler Finisher Diets[J]. Journal of Animal Production Research, (2017) 29(2):63-73
- [88]赵长英,彭巧慧,林英杰.日本芋头生产的全程机械化体系[J].河北农机, 2014 (12) :63-64
- [89]W Caicedo., BR Rodr íguez., RS Valle. A review on use tubers chinese potato *Colocasia esculenta* conserved in silage form feed pigs[J]. Revista Electronica De Veterinaria, 2014,15 (1).
- [90]W Caicedo., R Rodr íguez., P Lezcano., J Ly., S Valle. Physicochemical and biological indicators in silages of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) tubers for animal feeding[J]. Cuban Journal of Agricultural Science, 2016, 50 (1) :121-129.
- [91]W Caicedo., R Rodr íguez., P Lezcano.,et al. Effect of taro tubers silage (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) on the morphometry of the gastrointestinal tract of growing pigs[J]. Cuban Journal of Agricultural Science, 2017,51(2).
- [92]NTH Nhan., NV Hon., TR Preston. Studies on ensiling of *Tithonia diversifolia* and Taro (*Colocasia esculenta*) and feeding the silage to fattening pigs as partial replacement of a basal diet of rice bran, broken rice, soybean meal and fish meal[J]. Livestock Research for Rural Development, 2011 , 23 (5).
- [93]C Ty, K Borin, S Chanpheakdey, et al. Replacing rice bran and duckweed with ensiled Taro leaf-stem foliage (*Colocasia esculenta*) in diets of growing ducks[J].Livestock Research for Rural Development 23 (4) 2011.
- [94]王晓凤,成杰民,王倩.芋头秸秆与牛粪高温堆肥的试验研究[J].湖北农业科学, 2011 , 50 (4) :691-694
- [95]张国斌,程芳,刘红玖.沼液、沼渣在莲藕和芋头种植上的综合利用[J].长江蔬菜, 2013 (1) :40-41

The plant distribution and feeding situation of taro corm in China

Yu Jiyong^{1,2} Tian Zigang^{2,3} Xu Meijuan⁴ Zhang Jihua⁵ Cai Huiyi^{1,6}

(1 National Engineering Research Center of Biological Feed, 100081, Beijing, China; 2 Bofeide Biotechnology Co. Ltd., Tianjin, 301906; 3 Boyide (Beijing) Biotechnology Co. Ltd., Beijing, 100081; 4 Fuzhou Linchuan Wenquan-Libao Native Chicken Ecological Culture Cooperatives, Linchuan, 344100; 5 Yantai Jinfuji Biotechnology Co. Ltd., Laiyang, 265216; 6 Institute of feed science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 100081, Beijing, China);

* Corresponding author: E-mail: CAI Hui-yi, E-mail: caihuiyi@caas.cn

Abstract: Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) both are grain and vegetable. The annual output of fresh taro in China is about 1.8 million tons, and feed resources in cultivation and processing is about 810 thousand tons. The calcium oxalate crystal and tannin contained are irritant in taro and stem and leaf. After silaged, fermented or cooked, the taro feed dosage in the diet can reach 20% without affecting the animal production performance. Taro cultivation needs large amount of fertilizer and can be used to remove biogas slurry from pig farms. This paper summarizes the distribution of main taro producing areas and the reserves of forage resources in China, which can be used for reference in the industrialization of taro feed resources.

Key words: Taro(*Colocasia esculenta* (L.) Schott); Main producing area; Yield; Anti nutritional substance; Feeding value

饲料加工中微生物交叉污染与防控技术研究进展

王卫国 谢石力 刘小芳

(河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001)

摘要: 饲料安全是食品安全的基础。饲料的有害微生物交叉污染会引起饲料生物危害, 而控制这一生物危害需要采取综合技术措施。本文综述了饲料原料、饲料产品中有害微生物的污染研究进展, 饲料厂易发生有害微生物残留污染的主要场所和物料的研究进展, 饲料中有害微生物的杀菌技术研究进展以及防控饲料中有害微生物交叉污染的综合措施。

关键词: 饲料; 有害微生物; 交叉污染; 防控技术

饲料安全是食品安全的基础。饲料工业的终极目标是为动物饲养业提供安全优质的饲料产品, 保证动物性食品的安全和消费者的健康。

饲料加工过程中药物、有害微生物在不同批次产品间的交叉污染问题是造成饲料安全隐患的主要因素之一。因许多饲料生产企业采用同一条生产线生产多种畜禽、水产饲料产品, 由生产设备内的残留造成有害微生物在不同品种、批次产品之间的交叉污染普遍存在, 这已被欧美以及本课题组的许多研究证明。在实际生产中, 大多数饲料企业并未对设备或产品中有害微生物含量进行检测, 不清楚所用生产线上发生交叉污染的真实情况, 也就不会采取相应的控制措施。

饲料中的有害微生物由原料带入, 并在后续加工、储藏过程中残留、污染、生长、繁殖, 因而其交叉污染会发生在整个生产系统中。为确保饲料的安全卫生质量, 需要系统研究饲料厂饲料原料、饲料加工过程以及饲料产品到畜禽养殖场的流通过程有害微生物的变化情况, 并采取有效的杀灭和预防措施对有害微生物的交叉污染进行防控。本文就国内外饲料加工中微生物交叉污染与防控技术研究进展进行综述。

1 饲料厂常用饲料原料中有害微生物的研究进展

饲料原料中的有害微生物污染途径有四条: 一是通过对生长过程的植物施肥感染植物原料; 二是土壤本身带有有害微生物; 三是加工动物性饲料原料的动物体自身受有害微生物侵染; 四是饲料原料在加工、储藏、运输中受污染并生长繁殖。国内有关饲料原料中有害微生物的研究报告较少。Gregorio J. Torres^[1]等对西班牙肠沙门氏菌的污染流行情况进行了全国范围内的调查, 对来自 523 个不同的饲料厂的 3844 个样本的分析中, 在 144 个工厂 (占饲料厂总数 28%) 发现了沙门氏菌。其中, 3.5% 的原料样品检出了沙门氏菌。其中棉籽粕最易感染沙门氏菌。

高延玲等^[2](2012)检测了部分饲料原料和添加剂的霉菌、沙门氏菌, 致泻性大肠杆菌、单核细胞增生李斯特菌、志贺氏菌的数量。结果表明: 霉菌检出率为: 动物性原料 77.6%, 植物性原料 67.9%, 微生态制剂原料 55.6%。微生态制剂 80%, 酶制剂 91.7%。霉菌总数的超标样品数为 0, 达到限量标准的样品数的 18.9%。其中酶制剂、微生态制剂达到限量标准

的样品数较多，分别为 6 和 9 个；大肠杆菌的检出率为：动物性、植物性原料 14.3%，微生态制剂 40%，酶制剂 66.7%。其中致泄性大肠杆菌的检出率为：动物性原料 8.6%，酶制剂 25%，微生态制剂原料 22.2%。沙门氏菌的阳性检出率为：动物性原料 14.4%，微生态制剂 10%，酶制剂 8.3%，微生态制剂原料 11.1%。

谢石力等^[3]（2012）测定了畜禽饲料厂的常用饲料原料的细菌总数、霉菌总数和大肠杆菌情况，结果表明，所有检测的原料均符合 GB13078-2001《饲料卫生标准》中对霉菌、细菌的允许量。原料中细菌污染最严重的是麸皮，含量达到了 1.35×10^6 g/cfu。霉菌污染最严重的是米糠粕，含量为 5.05×10^4 g/cfu。在粒料原料中米糠粕的微生物污染水平要显著高于小麦、玉米、豆粕等粒料原料。植物性加工副产物米糠粕和花生粕的细菌含量和霉菌含量要显著高于未加工的植物性原料。而在粉料原料中，血粉的霉菌，细菌含量也要高于其他粉料。此外，在所有检测原料中，在米糠粕、血粉、麸皮中检出了大肠菌群。动物源性饲料原料的细菌含量也要明显高于未加工的植物性原料。粒料原料的整体污染程度要高于粉料原料。

刘小芳等^[4]（2015）调查测定了水产饲料厂主要饲料原料的有害微生物数量，结果显示，所检测原料均符合 GB13078-2001《饲料卫生标准》，说明该饲料企业对所购的饲料原料质量是严格控制的。在所取的饲料原料中，国产鱼粉受到细菌的污染最严重，数量为 1.5×10^6 cfu/g，细麸皮受霉菌污染最严重，数量是 4.0×10^4 cfu/g。麸皮中霉菌数量高与其在面粉加工中一直保持较高的水分含量有关。粒状原料中发酵豆粕的微生物污染水平要显著高于粗麸皮，细麸皮，棉粕等粒料原料。在啤酒糟，发酵豆粕，粗麸皮，细麸皮，菜粕，棉粕中均检测出了大肠菌群，发酵豆粕中的大肠菌群数量达到 6.0×10^5 cfu/g，啤酒糟中还检测出金黄色葡萄球菌，数量达到 5.455×10^3 cfu/g。如果未经有效的热处理杀菌，使用这样的原料对饲养动物可能造成安全隐患。因此，啤酒糟应作为重点监控的原料之一。黄色镰刀霉、黄曲霉菌、赭曲霉菌，沙门氏菌在所有原料中均没有检测出。粒度小的饲料原料整体污染较严重，应该加强对该类原料的关注。饲料原料中植物性原料啤酒糟、粗、细麸皮、发酵饼粕以及动物性原料中的鱼粉、血粉、鱼溶浆粉等应是有害微生物数量监控的重点。

Ji Hyung Kim^[5]等调查发现，杂鱼饲料是致病菌载体和污染来源。

2 饲料产品中有害微生物污染的研究进展

Gregorio J. Torres^[1]等人，在调查的 523 个饲料厂 3844 个样本中，3.2%的饲料产品样本中检测出沙门氏菌。Nesse LL^[6]等 2000 年至 2004 年调查发现，挪威鱼饲料沙门氏菌检出率为 0.14%~ 0.33%。沙门氏菌等致病菌如果进入饲料相关产业，就会以“家菌株”在饲料企业存在很长时间。Maung S. Myint^[7]等通过对美国弗尼吉亚等 8 个饲料厂季节性调查，发现饲料被致病菌污染是有季节规律可循的，夏季感染肠球菌的风险是冬季感染的 38 倍，且极大的增加了大肠菌群和沙门氏菌的染菌概率。Denise S. Krytenburg^[8]等通过对美国西太平洋十二个畜牧牛农场仓库中的 295 份饲料产品抽样调查，沙门氏菌检出率达到 9.8%，说明美国饲料产品中存在相当严重的沙门氏菌污染。

高延玲等^[2](2012)检测了 30 批的浓缩饲料样品和 50 批的配合饲料样品的霉菌、沙门氏菌、致泻性大肠杆菌、单核细胞增生李斯特菌、志贺氏菌的数量。结果表明：霉菌检出率为：73.8%，超标准限值样品 7 个，达标准限值 17 个；大肠杆菌检出率为 17.5%，检出致病性大肠杆菌样品 2 个，检出肠侵袭性大肠杆菌样品和肠出血性大肠杆菌各一个；沙门氏菌阳性检出率 1 个，占 1.25%。

刘小芳等^[4](2015)测定了某饲料厂的 12 个饲料产品的霉菌总数、细菌、大肠菌群和黄色镰刀菌数。结果表明：细菌总数检出率为 100%，其中两个产品细菌总数达 1×10^7 级别。显然超出安全水平；霉菌检出率 50%，其中 3 个样品达到 1×10^5 水平；大肠杆菌检出率 25%，1 个样品达到 1×10^5 水平；黄色镰刀菌检测率 50%，其中一个样品达到 1×10^5 水平。

刘小芳等^[4](2015)测定了四个大型猪场和两个鸡场的饲料库房中的 48 个饲料产品的霉菌总数、细菌总数、大肠杆菌、黄色镰刀菌、黄曲霉菌、赭曲霉菌以及沙门氏菌的带菌水平。结果表明，黄曲霉菌、赭曲霉菌以及沙门氏菌的检出率为 0；细菌总数检出率为 100%，其中 30 个样品的细菌总数达到 1×10^5 水平，19 个样品的细菌总数达到 1×10^6 水平，处于不安全水平；霉菌总数检出率 39.5，其中 13 个样品的霉菌总数达到 1×10^5 水平，两个样品的霉菌总数达到 1×10^6 水平，存在安全风险；大肠杆菌检出样品 18 个，检出率 37.5%，其中 6 个达到 1×10^4 水平；黄色镰刀菌检出率也是 37.4%，其中 5 个样品的黄色镰刀菌数达到 1×10^5 水平。该研究还发现，饲养场饲料样品中的有害微生物数量与饲养场的饲料存放卫生环境和管理水平密切相关。卫生环境好，管理水平高的饲养场饲料中的有害微生物数量就低。

3 饲料厂易发生有害微生物残留污染的主要场所和物料的研究进展

刘小芳等^[4](2015)、谢石力等^[3](2012)对畜禽、水产饲料厂生产线上微生物交叉污染的研究结果表明，饲料厂原料投料输送段（刮板输送机壁面）、斗式提升机底部、提升机后的流管特别是粉碎、混合后提升机后流管、脉冲除尘器底部等是最易发生物料残留、微生物污染、生长繁殖的场所。其中在某个筒仓的进料斗提机底部的残留物料样品中的细菌总数达到 7.28×10^5 cfu/g，霉菌总数 3.64×10^4 cfu/g，大肠菌群总数 5.45×10^5 cfu/g，其中霉菌与大肠菌群均超出安全水平，会对所输送的饲料原料造成污染。

刘小芳等^[4](2015)、谢石力等^[3](2012)的研究结果还表明，饲料加工生产线中收集的粉尘，包括离心集尘器和脉冲除尘器收集的粉尘中通常有较高的有害微生物含量，细菌总数、霉菌总数和大肠杆菌数往往都较高，存在安全风险。当这些粉尘回用到饲料中之前，应先进行加热杀菌处理。另外，各种回机料、特别是制粒、挤压膨化机等的回机料往往含有较高的有害微生物数量，因为这些回机料水分含量高，常扫入了地面的粉尘、尘土等，存放时间长，处理不及时，造成微生物的进一步生长繁殖和污染。因此在回用这些物料时，因进行适当的杀菌处理，以确保饲料安全。

Gregorio J. Torres^[1] 在饲料粉碎设备的粉尘样品中分离出了沙门氏菌。同时认为饲料厂投料坑有较大的风险滋生沙门氏菌阳性样本。

4 饲料中有害微生物的杀菌技术研究进展

对于生产颗粒饲料产品而言,由于会采用加蒸汽调质、挤压制粒或挤压膨化、干燥等高温(75℃~130℃)处理,可以有效杀死大部分有害微生物。Timothy R. Kelley^[9]等采用单螺杆膨化工艺降低原料由食品废物制成的饲料中的致病菌,结果表明该工艺只能显著降低饲料中病原菌浓度,但膨化后饲料中仍会残留致病菌;I. Sauli^[10]等研究了不同生产工艺对瑞士育肥猪饲料沙门氏菌的影响,结果表明,在混合后进行热处理,混合后添加有机酸以及混合后加有机酸和热处理同时进行这三种方式均可降低沙门氏菌污染水平。P.O. Okelo^[11]等优化了 Sabetha 公司 E325 的单轴膨化器对于嗜热脂肪芽孢杆菌和鼠伤寒沙门氏菌的杀灭条件。他们将两种病菌分别接种到实验饲料(600g 玉米粉/kg, 300g 豆粕/kg, 100g 动物蛋白/kg 组成)中,然后以膨化机出口温度(T),饲料水分含量(Mc),膨化时间(Rt)为三个影响因素,以病菌杀灭数为因变量进行旋转响应面设计,以获得对两种病菌杀灭的最优膨化条件。结果显示,对沙门氏菌的最优杀灭条件为 T = 83 ℃, Mc = 285 g/kg, Rt = 7 s, 而对嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢的最优杀灭条件为 T = 110 ℃, Mc = 245 g/kg, Rt = 11 s。

刘小芳等^[4](2015)系统研究了畜禽、水产代表性饲料厂的热加工过程对饲料中有害微生物数量的影响,结果表明:猪、鸡、鸭配合饲料经过 70~95℃调质 20~60 s 后,饲料中霉菌、细菌总数会下降到 0~50%。调质温度越高,调质时间越长,水分含量较高(16.5%~17%),杀菌效果越好。通常在制粒机出口的饲料中的霉菌、细菌总数、大肠杆菌可降至 0~ 3×10^3 cfu/g。但在颗粒冷却器之后,这些微生物指标会有小幅增加;鱼、对虾饲料加工过程中,经高温、较长时间调质(40~90s)后霉菌、细菌总数、大肠杆菌可降至 3~ 5×10^3 cfu/g。经鱼饲料挤压膨化、干燥后有害微生物数量将降至 0~ 3×10^3 cfu/g。虾饲料经制粒、稳定化处理有害微生物数量可降至 0~ 3×10^3 cfu/g。

对于粉状饲料而言,要将其有害微生物含量降低至 0~ 3×10^3 cfu/g,则需要单独热处理,可用混合加热杀菌或使用类似熟化调质器的熟化杀菌器,在 90~95℃的温度下处理 60~90s 可达到效果。

辐照杀菌技术在食品和宠物饲料的加工中的应用技术已经有许多研究,并已作为食品和实验动物饲料以及宠物饲料加工中允许使用的技术。刘春泉,哈益明等^[12]研究了饲料辐照杀菌技术,确定了各项技术指标与辐照工艺剂量,制定了技术规范^[13]。结果表明,无菌动物饲料和水生动物饲料辐照杀菌的最低有效剂量为25.0 kGy,最高耐受剂量为50.0 kGy; SPF 清洁动物饲料辐照杀菌的最低有效剂量为10.0 kGy, SPF 动物饲料辐照杀菌的最低有效剂量可达10.0 kGy,最高耐受剂量为25.0 kGy;普通实验动物饲料和宠物饲料辐照杀菌的最低有效剂量为4.0 kGy,最高耐受剂量为10.0 kGy;猪禽水产饲料辐照杀菌的最低有效剂量3.0 kGy,最高耐受剂量为6.0 kGy;辐照对饲料中水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、总磷、总能量无显著影响;常温下贮存,普通实验动物、宠物饲料及猪禽水产饲料的保质期为9个月,无菌动物饲料、悉生动物饲料、SPF 动物饲料、清洁动物饲料的保质期为12个月以上。低

于10kGy辐照剂量的食品不需做毒性毒理实验。

刘小芳等^[4]（2015）对带菌饲料样品进行了不同剂量的辐照杀菌试验，结果表明：经5.0 kGy辐照后三个样品的细菌数量分别降至 1.7×10^4 cfu/g、 5×10^3 cfu/g、0 cfu/g，灭菌效率分别达到了99.6%、96.45%、100%；霉菌和大肠菌群的灭菌效果均达到100%；当辐照剂量为10.0 kGy时，细菌灭菌效果均达到100%。辐照灭菌是降低饲料最终产品的中有害微生物污染的一种有效方法。

5 防控饲料中有害微生物交叉污染的综合措施

由于许多饲料原料和生物饲料添加剂都带有有害微生物，这些原料和添加剂在进入饲料厂后会污染饲料厂的立筒仓、原料库、各种输送设备、料仓、加工设备等。因为每一条接收、输送线和设备会处理不同的原料和不同批次的产品，交叉污染在所难免。但问题的关键是如何将有害微生物的交叉污染降低到可接受水平。仅依靠单一的措施很难达到这一要求，必须采取综合措施^[14]：

首先应改进饲料原料、生物饲料添加剂类接收卫生标准，增加对有害微生物的限量要求。这方面，我国新版饲料卫生标准GB 13078-2017难以满足要求。饲料企业应根据最新国内外研究成果和法规、标准确立新的有害微生物特别是致病微生物的限量指标，并实施检验，不合格的原料不准接收入厂；第二，加强对原料储藏期间的管理，科学进行库位规划，合理堆放，一垛一卡，一料一码，及时清扫，防止发生交叉污染和进一步的有害微生物生长、繁殖；第三，采用的设备应符合GB/T 34636-2017 饲料加工设备交叉污染防控技术规范的第5章的要求^[15]；第四，制定并遵守防止微生物交叉污染的工艺设备、生产操作规程。GB/T 34636-2017在第6章详细规定了相关内容。特别是每班都应清扫设备、料仓的残留死角，清扫脉冲除尘器内的粉尘。这些清扫出来的物料应单独标识存放，回用时最好经杀菌处理；对于制粒、挤压膨化等的回机料也应单独标识存放，回用前最好进行灭菌处理。第五，正确设定调质温度、水分、时间和挤压膨化、干燥操作参数，确保将颗粒饲料中的有害微生物进行有效杀灭；第六，对经制粒、挤压膨化的颗粒饲料，从冷却器至成品包装整个生产环节应注意采取有效措施，防止饲料产品的有害微生物二次污染。第七，正确储存饲料成品，缩短储存时间，减少微生物生长污染。第八，帮助饲养场建立清洁的饲料产品存放室和料仓，防止饲料在饲用前发生有害微生物污染或霉变，保证饲料产品发挥应有的效果和效益。

饲料生产企业应按农业部《饲料质量安全规范》要求，建立健全饲料质量安全各项规章制度，制定与质量安全要求相适应的各种操作规程并认真执行这些规程。应建立以HACCP原理为核心的质量管理体系^[16-17]，明确界定质量安全关键控制点，并实施有效控制，使饲料厂的微生物交叉污染控制在安全的、可接受水平，为动物食品安全和人类健康做出自己的贡献。

参考文献

- [1] Gregorio J. Torres, F. Javier Piquer, Leonor Algarra, Cristina de Frutos, Odón J. Sobrinoa. The prevalence of *Salmonella enterica* in Spanish feed mills and potential feed-related risk factors for contamination[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2011, 98: 81-87.
- [2] 高延玲, 张发旺, 班付国, 刘宏伟, 周洪霞等. 饲料中致病微生物检测结果分析[J]. 饲料广角, 2012(18):33-25.
- [3] 谢石力. 饲料生产中有害微生物交叉污染与防控技术研究[D].河南工业大学, 2012.
- [4] 刘小芳. 典型水产畜禽饲料加工中有害微生物的污染与变化规律研究[D].河南工业大学, 2015.
- [5] Ji Hyung Kim, Dennis K. Gomez. Detection of major bacterial and viral pathogens in trash fish used to feed cultured flounder in Korea[J]. Aquaculture 2007, 272: 105–110.
- [6] Nesse LL, Nordby K, Heir E, et al. Molecular analysis of *Salmonella enterica* isolates from fish feed factories and fish feed ingredients[J]. Appl Environ Microbiol, 2003,69: 1075-1081.
- [7] Maung S. Myint, Yvette J. Johnson, et al. A cross-sectional study of bacterial contamination in plant-protein feed from feed stores in Northern Virginia and Maryland[J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 133: 137-148.
- [8] Denise S. Krytenburga, Dale D. Hancock, et al. A pilot survey of *Salmonella enterica* contamination of cattle feeds in the Pacific northwestern USA[J]. Animal Feed Science and Technology. 1998, 75: 75-79.
- [9] Timothy R Kelley, Paul M Walker. Bacterial concentration reduction of food waste amended animal feed using a single-screw dry-extrusion process[J]. Bioresource Technology 1999, 67: 247-253.
- [10] I. Sauli, J. Danuser, et al. Estimating the probability and level of contamination with *Salmonella* of feed for finishing pigs produced in Switzerland—the impact of the production pathway[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005,100: 289– 310.
- [11] P.O. Okelo, D.D. Wagner, et al. Optimization of extrusion conditions for elimination of mesophilic bacteria during thermal processing of animal feed mash[J]. Animal Feed Science and Technology, 2006, 129: 116-137.
- [12] 刘春泉, 哈益明, 朱佳廷. 饲料辐照杀菌技术规范的研究[J]. 江苏农业科学, 2006(4):97-100.
- [13] NY/T 1448—2007 饲料辐照杀菌技术规范[S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2007.
- [14] 王卫国. 清洁饲料加工工艺研究[J]. 粮食与饲料工业, 2005(8):24~27.
- [15] GB/T 34636-2017 饲料加工设备交叉污染防控技术规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [16] 王卫国. HACCP在饲料厂的应用研究(一) [J]. 粮食与饲料工业, 2004(1): 27~29.
- [17] 王卫国. HACCP在饲料厂的应用研究(二) [J]. 粮食与饲料工业, 2004(2): 25~28.

作者简介：王卫国（1956-），男，山西长治人，教授，研究方向为饲料加工新技术与饲料安全。

基金项目：国家科技部“十二五”科技支撑计划子项目“2011BAD 26B040103；公益性行业（农业）科技计划
专项：201203015。

Progress on Microbe Cross Contamination and Control Technologies in feed processing

WANG Weiguo, XIE Shili, LIU Xiaofang

(Bio-Engineering College, Henan University of Technology Zhengzhou, 450001)

Abstract: Feed safety is the base of food safety. The cross contamination of harmful microbe in feeds may cause the biological hazard of feeds. The comprehensive technical measures must be taken for control the hazard. This paper summarizes technology progresses on harmful microbe contamination research in feed ingredients and feed products, the primary sites where the cross contamination may take place, and the main materials which apt to be contaminated by microbe, the sterilization technology used in feed processing and the comprehensive prevention and control measures for harmful microbe in feeds.

Key words: feed; harmful microbe; cross contamination; control measure

日粮纤维调节猪肠道微生物组和肠黏膜屏障功能的研究进展

吴维达 张 莉 解竞静 陈 亮 张宏福

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 仔猪腹泻难题制约生猪养殖水平的提高。随着高铜高锌、抗生素的限用禁用, 仔猪腹泻亟需“绿色”替代方案。日粮纤维作为第六大营养素, 具有维持肠道健康的生理功能。日粮纤维可以通过优化肠道菌群结构, 调节黏膜屏障等作用促进猪肠道的健康发育与完整功能实现。本文就日粮纤维对猪肠道微生物组以及黏膜屏障功能的可能作用途径以及相关作用机制进行综述, 以促进日粮纤维在猪日粮生产, 尤其是仔猪日粮生产上的合理广泛利用。

关键词: 日粮纤维、肠道菌群、黏膜屏障、短链脂肪酸

我国是养猪大国, 生猪饲养量占世界总量 50%以上; 也是猪肉消费大国, 猪肉占国内肉食类消费量的 60%以上。但我国并不是养猪强国, 每头母猪每年所能提供的断奶仔猪头数平均仅为 17-18 头, 远低于发达国家 23-24 头的平均水平。断奶仔猪死亡是制约我国生猪养殖水平的最重要原因之一, 每年约有 1.6 亿头仔猪由于腹泻而死亡。生产上通常使用抗生素及高铜高锌来控制仔猪腹泻, 但养殖粪污排放造成的抗生素及重金属污染带来的一系列环境问题已经危及人类健康安全^{1, 2}, 禁抗、限制使用高铜高锌已经形成了普遍共识。十三五, 习近平总书记提出了“绿色”发展理念, 调整畜牧业结构、降低养殖污染、发展绿色畜牧业是时代的要求和大趋势³。2017 年, 农业部已经禁止高铜、高锌在生猪上的使用并且我国养殖促生长抗生素禁止使用的脚步越来越近。因此迫切需要新型饲料添加剂替代抗生素或高铜、高锌, 改善仔猪肠道健康, 实现生猪养殖绿色发展的产业技术升级。

断奶仔猪腹泻的成因较为复杂, 国际上普遍公认的是“过敏理论”, 其原理为: 过敏-肠道屏障受损-病原菌侵入-腹泻。肠道屏障功能是建立在日粮、肠道微生物、黏膜层三者之间动态平衡的基础上, 但该平衡十分脆弱^{4, 5}。因此, 提高肠道屏障功能是有效控制仔猪腹泻的关键。日粮纤维 (Dietary fiber, DF) 是不能被人和动物分泌的消化酶所消化的碳水化合物总称, 包含菊粉、果胶、微晶纤维素、抗性淀粉、 β -葡聚糖等⁶。大量研究表明, DF 可以被肠道微生物利用生成短链脂肪酸、维生素等营养物质, 具备刺激肠道发育, 优化肠道微生物区系、改善肠道屏障功能, 影响机体代谢、动物行为甚至认知水平等功能^{7, 8}。近年研究还发现某些 DF (如菊粉) 还具有免疫调节功能⁹⁻¹²。因此, 日粮添加 DF 可能是控制仔猪腹泻的绿色途径。

1、DF 的含义及理化性质

³ 基金项目: 动物营养学国家重点实验室自主研究课题 (2004DA125184G1604); 中国农业科学院创新工程 (ASTIP-IAS07); 国家自然科学基金 (31802072)

*通讯作者: 张宏福, 研究员, 博士生导师, E-mail: zhanghongfu@caas.cn

传统观点认为，动物饲料中的粗纤维会“降低消化率，稀释日粮养分并且降低动物的生产性能”。但是粗纤维组成分析基本上是测定酸和碱水解后的残留量¹³。此种方法测定的纤维素占 50-80%，木质素占 10%-50%，半纤维素占 20%左右。由于植物细胞壁基础组分差异较大，所以粗纤维与 DF 之间并无固定的比例关联关系。由于结构上以及生理上的多样性，至今未有 DF 准确的定义。CODEX(Codex Alimentarius Commision, 2009)、国际的权威机构 EU(2008)、IOM(2001)以及 AACCC(2000)均对 DF 进行了定义，这些定义区别主要在于对碳水化合物中单体的聚合度，以及人工合成类似物上的涵盖存在一定的差异，但是共同点在于都将 DF 归纳为不可被动物/人内源消化酶消化的一类碳水化合物聚合物¹⁴。

植物源性饲料原料的细胞壁含有丰富的 DF。超过 90%的植物细胞壁都是由非淀粉多糖组成，其中又以纤维素、半纤维素以及果胶最为丰富。其他少量的非淀粉多糖主要包括果聚糖，葡甘露聚糖，半乳甘露聚糖，植物黏液、 β -葡聚糖以及树胶。DF 的分析方法主要有两类：一类是酶化学法(Englyst 法)、另一类是酶或非酶重量分析法 AOAC (美国分析化学协会)法包括酶-重量法、酶-分光光度法、酶-HPLC、酶-GC 等方法。从涵盖的 DF 组分上讲，Englyst 法只包含非淀粉多糖(NSP)，而 AOAC 法不仅包括 NSP 还包括抗性淀粉及木质素，更具代表性 (图 1-6)¹⁵。

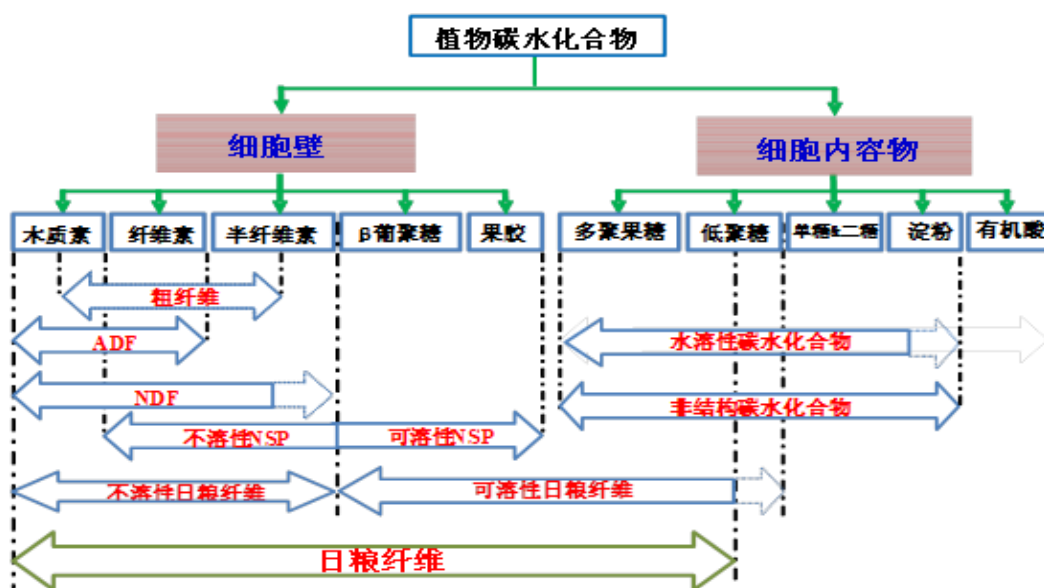


图 1 DF 的分析分类

Fig 1 Analytical classifications of dietary fibers

DF 的主要理化性质包括水合作用、发酵性能及黏性等。根据这三种性质又可将其划分为不同纤维类型¹⁶。DF 的理化性质对肠道的生理功能发挥着重要作用¹⁷。

1.1 水合作用

水合作用主要包括水溶性、吸水力以及持水力三方面，反映的不是纤维溶于水的能力而是纤维将水整合进入其基质形成胶状悬浮体的能力¹⁸。其中水溶性主要取决于纤维形成的多

聚糖种类以及之间的化学键。例如纤维素， β -葡聚糖分别由 β -1, 4-糖苷键、 β -1, 6-糖苷键连接形成不可溶性、可溶性纤维。其中不溶性纤维包括纤维素、木质素及部分半纤维素等，而可溶性纤维包括果胶、菊粉、葡聚糖以及阿拉伯木聚糖等。

1.2 发酵性能

因发酵产物短链脂肪酸（Short-chain fatty acids, SCFAs）的生成，纤维发酵一般促进肠道健康。不同类型 DF 发酵程度变异很大，从基本不发酵的木质素至发酵完全的果胶。纤维的发酵部位主要是后肠，快速发酵的纤维（可溶性）可被大肠菌群迅速发酵生成 SCFAs，而慢速或者不完全发酵的纤维（不可溶性）可通过促进排便，缩短食糜在肠道的转运时间并增加粪便重量改善肠道健康；不同来源的纤维发酵生成的 SCFAs 种类和浓度完全不同^{6, 19, 20}。

1.3 黏性

黏性是影响纤维生理功能的另一重要的理化性质，传统的动物营养学观念认为高黏性 DF 会影响营养物质的消化吸收，增加能量消耗、降低饲料的营养价值。一般可溶性纤维较不可溶纤维的黏性更强，长链纤维比短链更易形成网状结构，因而一般长链纤维较短链纤维黏性更强²¹。黏性纤维包括可溶性多糖，例如果胶、瓜尔豆胶以及 β -葡聚糖等。黏性纤维可调控血液中葡萄糖、胆固醇浓度，延长胃排空时间，减慢食糜在小肠的通过速度。

2 DF 对肠道微生物的影响

2.1 DF 的益生元作用

DF 是寄居在宿主后肠中的密集厌氧微生物的主要能量来源，微生物发酵生成的短链脂肪酸可为宿主提供能量和营养物质，否则这些将不能被宿主利用。肠道基因组学²²研究表明肠道微生物可编码成千上万的碳水化合物酶类（Carbohydrate- Active Enzymes, CAZymes）降解糖复合物、多糖以及寡糖生成可发酵的单糖：其中微生物的纤维素酶、 β 甘露聚糖酶、木葡聚糖酶主要分布于 GH5, GH6, GH9, GH12, GH44, GH45, GH48 和 GH74 基因（糖苷键水解酶, Glycoside Hydrolase, GH）家族；木聚糖酶主要分布于 GH10 和 GH11 基因家族；果胶酶则主要分布于 GH28、GH88、GH105、PL1、PL2、PL3、PL4、PL9、PL10、PL11 和 PL15 家族（Polysaccharide Lyase, PL，多糖裂解酶家族）。虽然 DF 不能被宿主内源消化酶降解，但肠道中寄居的不同微生物可编码不同的 CAZ 酶从而分解利用不同的碳水化合物（分解不同的糖苷键）²³。例如，纤维素是葡萄糖以 β -1,4-糖苷键连接形成的，而拥有 GH1, GH3, GH5, GH7, GH8, GH9, GH44, GH48, GH51 这些 CAZy 酶的微生物就可以将纤维素分解利用。DF 的添加可以促使富含分解该类 DF 的 CAZy 酶的微生物增殖，进而成为微生物群落中的优势菌群，而那些缺乏 CAZy 酶的微生物则很有可能会淘汰消失。日粮中 DF 的添加不仅可促进含有该纤维的糖苷键水解酶的主要降解微生物的生长，还可以通过“互养模式”促进其他可利用纤维主要降解微生物分解的二级产物的微生物增殖，从而达到调控肠道菌群的作用²⁴。

猪日粮中添加 DF 可优化肠道菌群，已得到研究证实。日粮中添加 34% 的抗性淀粉增加

了公猪结肠前端产丁酸菌,如普拉梭菌和埃氏巨型球菌的丰度,降低潜在致病微生物如钩端螺旋体属微生物的丰度($P<0.05$)²⁵。促进结肠上皮细胞三羧酸循环及脂肪酸 β -氧化的进程。母猪饲料中添加 34%的抗性淀粉能增加结肠产丁酸菌柔嫩梭菌、布氏瘤胃球菌丰度,降低可能致病菌大肠杆菌和假单胞菌属丰度,增加结肠短链脂肪酸乙酸、丙酸、丁酸浓度²⁶。仔猪日粮中添加 3.0 g/kg 纤维寡糖可提高肠道紧密连接蛋白 Claudin-1 和 Zonula Occludens-1 (ZO-1)的表达、调高双歧杆菌 *Bifidobacterium*、乳酸菌 *Lactobacilli* 的丰度;降低致病菌如猪链球菌 *Streptococcus suis*、大肠杆菌 *Escherichia coli* 的丰度,促进仔猪肠道健康发育²⁷。抗性淀粉显著提高了猪肠道中有益菌:粪肠球菌 *Coprococcus*, 瘤胃球菌 *Ruminococcus*, 和 *Turicibacter* 丰度,且粪肠球菌属与瘤胃球菌属与食糜中 6-磷酸葡萄糖、麦芽糖、花生四烯酸, 9, 12 十八碳二烯酸、油酸浓度存在正相关。说明抗性淀粉不但影响猪肠道菌群,也会影响菌群代谢及其终产物²⁸。而仔猪日粮中添加苜蓿可以提高屎肠球菌 *Coprococcus eutactus* 的丰度;降低致病菌如猪链球菌 *Streptococcus suis* 的丰度,优化仔猪肠道菌群结构²⁹。

过往的研究多集中于 DF 对肠腔内容物中微生物区系的影响,对肠黏膜微生物区系变化的关注很少。而由于黏膜微生物定植在黏膜层表面,更接近肠道上皮/免疫细胞,并且区系结构相对稳定,可以持续脱落入肠腔对肠腔微生物起到“接种作用”,其对宿主肠道免疫功能的调节作用可能更为直接、重要猪不同肠道部位菌群分布存在异质性,相应的功能也存在差异,了解不同位置菌群对营养干预的相应变化有利于制定适宜的策略调节肠道菌群,促进肠道健康³⁰。在此基础上,本课题组发现同一肠道部位中肠腔与肠黏膜上菌群分布与功能也存在差异, SparCC 共线性网络分析发现普雷沃氏菌科、毛螺菌科以及韦荣氏球菌科在肠腔和肠黏膜微生物上都形成共现性微生物菌群,而来自于 γ -变形菌门中机会性致病菌则仅在猪肠道黏膜上形成共现性微生物菌群,猪肠道菌群空间分布的异质性以及共生模式是与其所在“生态位”的微环境紧密相关³¹。添加果胶、菊粉和微晶纤维素三种 DF 对仔猪微生物区系组成及功能的影响存在肠段之间、肠腔与黏膜之间的差异。三种 DF 均显著降低了回肠黏膜菌群的定植(特别是一些病原菌的丰度),降低了回肠黏膜菌群群落的 α 多样性,保护了仔猪黏膜屏障。而 DF 对回肠肠腔微生物的改变有限。不同 DF 对后肠的核心菌群存在特异性优化作用,其中菊粉促进了猪后肠肠黏膜上双歧杆菌的增加而果胶则显著促进了后肠肠黏膜中普雷沃氏菌科的增加,具有优化肠道菌群的作用。(Unpublished data)

3 DF 对黏膜屏障的调节作用

3.1 黏膜屏障

肠道黏膜屏障是由微生物屏障、黏液层屏障、机械屏障、免疫屏障共同构成(表 1)。四者不是相互孤立,这些屏障相互作用和支持,共同维护着肠道的健康。肠道微生物是协调这四个屏障功能的重要载体。仔猪肠道发育不完全,微生物区系薄弱,断奶打破肠道内环境平衡,对肠道各个屏障均有显著地影响。因此,恢复仔猪肠道内环境平衡,加强肠道微生物区系缓冲、调节和保护功能,是解决仔猪腹泻的关键所在。

表 1 黏膜屏障的基本组成

Table1 The bc composition of mucosal barrier

类型	组成
机械屏障	上皮细胞本身，还包括细胞侧部的紧密连接（Tight junction）、粘合连接（Adherens junction）以及桥粒（Desmosome）；上下层固有膜
黏液屏障	各种消化酶、溶菌酶、黏多糖、糖蛋白和糖脂等化学物质组成。，内层粘液层紧密附着在肠上皮细胞的糖萼层 ³² ，一般没有病原菌分布 ³³ ；外层粘液层松散附着在消化道最外层
微生物屏障	由正常的肠道菌群构成，正常菌群各种菌种之间彼此互相依赖又相互制约。道共生菌通过与病原菌置换并竞争营养和黏附受体、产生抗菌肽、刺激 sIg A 的产生和免疫系统的发育，加强肠道屏障功能，为肠道提供保护作用 ³⁴ 。
免疫屏障	由分散在肠黏膜上皮和固有层中的免疫细胞（包括肠道上皮细胞、树突细胞以及巨噬细胞等）、免疫分子（如各类细胞因子和分泌型免疫球蛋白等）以及肠道相关淋巴组织（派氏结、M 细胞等）组成。

3.2 DF 对黏膜屏障的调节作用

肠道细菌拥有降解黏蛋白必须的唾液酸酶和糖硫酸酯酶，但糖硫酸酯酶的最佳 pH（pH 5.0）远低于唾液酸酶的最适 pH（pH 7.8）。因此，小肠液中性的 pH 将导致微生物对硫酸化黏蛋白的降解程度可能要远低于对唾液酸化黏蛋白的降解。黏性（膨胀）纤维的摄入主要增加大鼠小肠中唾液酸化黏蛋白（相比于硫酸化黏蛋白）的含量。肠道中硫酸化黏蛋白的降低可能会导致黏蛋白降解速度的提高，使得微生物更易通过黏液屏障与肠道上皮细胞直接接触。

小鼠研究发现，高黏度的可溶性纤维会增加肠道杯状细胞数量，低黏度纤维的作用不显著。可溶性纤维会增加黏液的基础性分泌，但果胶并不改变杯状细胞数量³⁵。无论是给大鼠饲喂可溶性 DF（魔芋、车前草或瓜尔豆胶，50g/kg）还是不可溶性纤维（聚苯乙烯，麸皮或者玉米皮，80g/kg）都能增加回肠杯状细胞数量³⁶。此外，临床研究表明，饮食缺乏纤维会导致结肠黏液层变薄³⁷，减弱黏液屏障。DF 对杯状细胞或者黏液层的作用可通过直接和间接的作用实现，直接的作用被报道与纤维的理化性质（黏性以及溶胀性）有关，而间接的作用则与肠道菌群的调控有关。

不同纤维源对仔猪肠道上皮细胞屏障影响并不一致³⁸。仔猪日粮中添加 10% 的小麦麸纤维可显著上调肠道黏膜的紧密连接蛋白（ZO1 和 OCLN）基因的表达（ $P < 0.05$ ），10% 的玉米纤维和大豆纤维却对紧密连接蛋白无显著影响³⁹。此外，体内、外的研究均表明 DF 的发酵产物短链脂肪酸可促使肠道上皮细胞增殖。丁酸可通过提高 PPAR γ 的活性上调肠道上皮紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达（Bordin 等，2004）；另一方面乳酸杆菌能显著上调 Caco-2 细胞的紧密连接蛋白 OCLN 和 Claudin 基因的表达，而大肠杆菌与肠道上皮细胞接触则导致紧密连接蛋白（ZO-1 和 Occludin）降解，肠道通透性增加进而引发肠道屏障功能紊乱。

高脂饮食喂养的小鼠,DF可重塑肠道菌群,并促进肠上皮细胞增殖及抗菌基因的表达,而菊粉的益生作用又依赖于肠道菌群;DF可以通过恢复受损的肠道黏液层,防治受到高糖脂低纤维的西方饮食影响的小鼠肠道;抗生素处理或无菌小鼠中菊粉的保护作用降低⁴⁰。长期或间接性DF不足的情况下,肠道菌群诉诸宿主分泌的黏膜糖蛋白作为营养源,导致黏膜屏障被侵蚀,更多致病菌侵入黏膜,机体炎症反应加重。即使后续日粮中添加包含14种多糖(菊粉、阿拉伯木聚糖、 β -葡聚糖等)的DF也并不能治愈或减轻这样的结肠炎症³⁷。

用菊粉预饲小鼠,可以降低*Citrobacter rodentium*感染后肠道的炎症反应以及Smad7的表达,可通过影响NF- κ B和Smad7信号转导通路促进宿主保护性免疫反应⁴¹。Kovacs-Nolan等发现 β -1,4-甘露二糖(MNB)可以通过TLR2/4信号通路激活巨噬细胞,诱导小鼠回肠Th1和Th2型细胞因子的表达、提高粪IgA和脾脏NK细胞活性。LPS刺激后,MNB降低了TNF- α 、IL-6、iNOS和IL-10的含量,增加NK细胞活性,提示MNB可以调控肠道和系统免疫反应,防止LPS诱导的免疫抑制⁴²。Badia等发现从Yacon根中分离的果寡糖可提高肠道先天性免疫功能,增加sIgA的分泌、提高IL-6、巨噬细胞炎症蛋白MIP1 α 以及TLR4受体的表达⁴³。Che等发现饲喂甜豆纤维影响了肠道屏障、免疫以及代谢相关的蛋白和基因表达,显著改善了仔猪大肠的免疫功能⁴⁴。给仔猪饲喂4%可发酵的糊精纤维可激活Th2相关的免疫通路,选择性下调促炎因子,减轻三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的结肠炎症状⁴⁵。

3.3 DF的直接调节作用

研究表明,肠道上皮细胞可以产生直接的、非益生的作用,但到目前为止仅有少量研究关注到这个问题⁴⁶⁻⁴⁹。目前已有若干实验室利用人属的多个不同肠道上皮细胞系证实了DF可直接调控肠道免疫反应。Ortega-Gonzalez等的研究结果证实,菊粉以及果寡糖、低聚半乳糖、羊奶寡糖可作为TLR4的配体直接作用于肠上皮细胞,诱导大鼠IEC18肠上皮细胞系的生长相关癌基因(GRO α)、单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)以及MIP2的表达,其诱导效率可达LPS的50-80%。这些DF的免疫调控作用依赖于I κ B- α 磷酸化,Myd88或TLR基因敲除显著地降低反应⁵⁰。Zenhom等用寡糖、 α 3-唾液乳糖、果聚糖直接处理Caco-2细胞时,激活了肽聚糖识别蛋白3(PGlyRP3)以及PPAR γ 信号转导通路,下调IL-12的分泌、TNF- α 、IL-8的基因表达,NF- κ B核转位减少⁵¹。以Caco-2细胞为模型,Bermudez-Brito等发现,菊粉、果胶、果寡糖、阿拉伯木聚糖直接激活树突状细胞的能力并不强,上皮细胞在介导DF的免疫调节有着十分重要的作用⁴⁷。Caco-2上皮细胞培养液可以直接刺激树突状细胞产生IL-6、IL-8、IL-12、TNF- α 、MCP-1和MIP-1 α ,DF可以通过TLR-Myd88信号通路引起Th1细胞因子的变化,从而显著抑制了上皮细胞的免疫刺激作用。DF可以直接作用于肠道,并不依赖于共生菌的增殖。这类碳水化合物能够与致病菌结合,阻止其与黏蛋白糖链的黏附;还可以直接上调IL-10和INF- γ 细胞因子,影响回肠和盲肠的IgA反应⁴³。

课题组利用猪空肠上皮细胞IPEC-J2作为试验对象,研究DF对肠道上皮细胞的直接免疫作用。采用Multiplex Map Kit与Luminex液相悬浮芯片测定IPEC-J2细胞上清液中13种

细胞因子的含量。结果发现,菊粉在 24h 时同时显著增加了 IPEC-J2 中促炎因子(IL18、IL6、IL2、GM-CSF)和抗炎因子 IL10 的分泌,果胶显著增加了(IL18、IL8)的分泌,其中菊粉孵育 24h 可显著上调 TLR4 的表达量,暗示菊粉可能通过激活 TLR4 模式识别受体调节肠道免疫因子的分泌。菊粉和果胶对肠道上皮细胞的免疫调节模式不同。而菊粉和果胶在体外实验和动物试验对肠道免疫因子的影响并不一致。菊粉对同时大幅提高 IPEC-J2 促炎以及抗炎因子的分泌但并未引起动物肠道炎症的过度炎症,暗示 DF 对肠道上皮细胞的影响时需要充分考虑黏液层、肠道上皮细胞、树突细胞以及 T 细胞等之间的互作(张莉,未发表数据)。

4、“DF-肠道菌群-黏膜屏障”生理轴

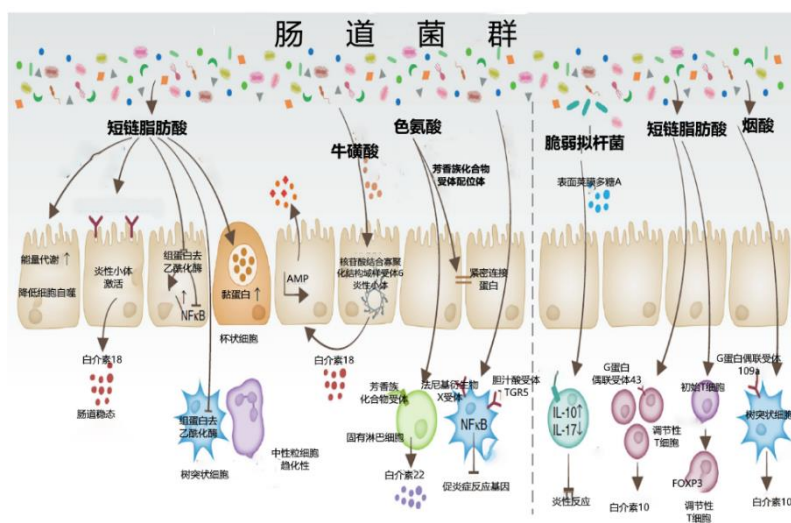


图 2 肠道菌群及其代谢产物影响宿主免疫的主要途径⁵²

Fig2 The main pathways of intestinal microbiota and its metabolites affecting host immunity

黏膜层作为分割肠淋巴层与肠道菌群的动态屏障,通过黏液层、上皮细胞与紧密连接蛋白的协同合作,共同抵御肠道有害菌对肠道的侵蚀⁵³。而黏膜免疫主要包括先天性免疫和获得性免疫两部分,其中先天性免疫由物理屏障、先天免疫细胞与分子构成,在肠内,这些细菌通过模式识别受体(Pattern Recognition Receptor, PRR)受嗜中性粒细胞和巨噬细胞的活性控制,以识别和响应微生物的异常变化⁷。PRR 识别微生物相关分子模式(MAMP),主要包括肽聚糖,鞭毛蛋白,脂多糖(LPS)和微生物的核酸结构。PRRs 由 Toll 样受体(Toll-Like receptors, TLRs),核苷酸结合寡聚化结构域(Nucleotide binding Oligomerization Domain, NOD)样受体(NLRs),视黄酸可诱导基因(Retinoic Acid-inducible Gene, RIG) 1(RIG-I)样受体(RLRs),C 型凝集素受体(C-type Lectins Receptor, CLR)等。而获得性免疫主要是由 T 细胞和 B 细胞构成,病原微生物侵入后一段时间, T 细胞和 B 细胞或者其他免疫细胞会分泌细胞因子、抗菌肽、SIgA 等物质与先天性免疫系统协同应对^{7, 54}。

先天性免疫是由微生物与不同模式识别受体结合,激活下游免疫反应实现的。Toll 样受体(TL2、TL4、TL5)与 NOD 受体(NOD1、NOD2、NLRC4、NLPR3)为微生物与黏膜屏障结合的主要受体⁵⁵。而 Th1, Th2, Th17, Treg 和细胞毒性淋巴细胞是获得性免疫中主

要的效应 T 细胞, Th17 细胞产生促炎细胞因子, 如 IL-17, IL-21, 以增强炎症。Treg 细胞分泌抗炎细胞因子 IL-10 以减轻炎症。Th17 和 Treg 细胞分化之间的动态平衡由细胞因子如 IL-6, IL-21 和 IL-2 所调节⁵⁵。巨噬细胞, 树突状细胞 (DC) 和先天淋巴细胞 (ILC) 可以感受抗原, 然后分泌细胞因子或趋化因子来调节炎症响应。ILC3 充当抗原呈递细胞 (APC) 能够以主要组织相容性复合体 (MHC) II 依赖性方式独特地抑制 CD4 + T 细胞应答, 并能够分泌 IL-22 参与修复受损的上皮细胞。ILC2 可以产生 IL-5 和 IL-13 以发挥上皮衍生的 IL-25 和 IL-33 的作用抗蠕虫。T 辅助 3 型 (Th3) 细胞, 调节性 B 细胞 (Breg) 和上皮内淋巴细胞 (IEL) 具有通过 IL-10 抑制过量的 Th1 和 Th17 应答的能力和 TGF- β 产生。这些免疫调节细胞通过相互作用共同维持肠内黏膜稳态⁵⁶。

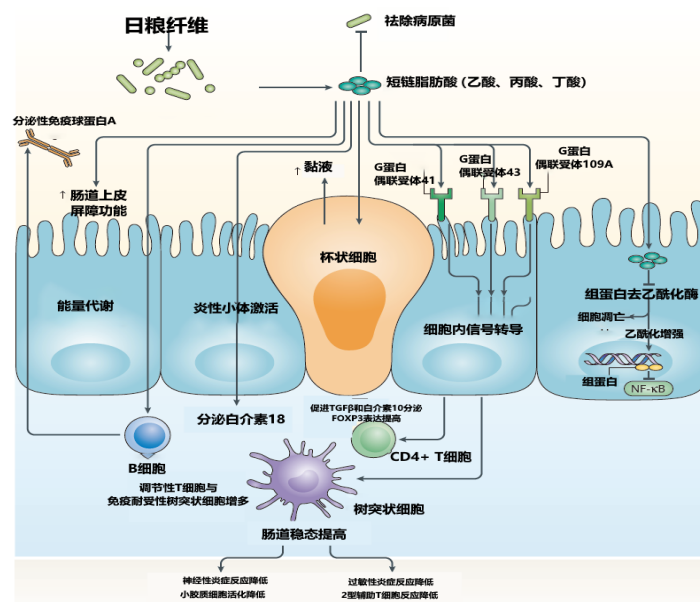
微生物影响黏膜屏障的作用机制有: 1、直接接触 (direct physical contact); 2、产生的代谢物 (短链脂肪酸、胆汁酸、TMA、吲哚类物质) (production of metabolites); 3、自身脱落的结构类物质, 如鞭毛 (shedding of structural components)⁵⁷。而营养物质通过肠道微生物生成代谢产物, 进而调节黏膜屏障上免疫信号。代谢产物的作用既可以直接作用于免疫细胞, 也可以作用于肠上皮细胞, 进而影响下游相关信号通路⁵²。而 DF 不仅能调节肠道菌群组成和功能, 还能调节微生物代谢产物短链脂肪酸 (SCFAs) 或者转化某些宿主代谢物质例如胆汁酸组成等⁵⁸, 不仅改善肠道健康, 还能影响机体代谢、动物行为⁵⁹。

DF 发酵的主要产物是短链脂肪酸 (Short Chain Fatty Acids, SCFAs), 包括乙酸、丙酸、丁酸以及琥珀酸盐等。SCFAs 的生成会导致肠腔中 pH 的降低, 既可以抑制病原微生物的生长也可以促进一些营养物质的吸收。乙酸还在双歧杆菌抑制病原菌过程中发挥重要作用⁶⁰。丁酸可为肠道上皮细胞供能; 增加肠道中黏蛋白的生成继而改变黏液层中黏附的微生物⁶¹; 还可改善紧密连接的完整⁶²。因而, SCFAs 的生成在维持肠道屏障功能方面发挥着重要作用。95%~99% 的 SCFAs 可被机体迅速吸收并通过不同的生物合成途径被宿主利用⁶³。通常, 乙酸会转运至肝脏并作为肌肉组织的能量底物; 丙酸则在肝脏转化为葡萄糖; 丁酸则主要被结肠上皮细胞利用作为其代谢活动的重要来源⁶⁴。Chen 等发现在 Caco-2 细胞培养体系中添加 SCFAs 可有效的促进上皮细胞的保护与修复功能⁶⁵。SCFAs 在大肠还可以刺激水和钠离子的重吸收从而限制腹泻的产生。SCFAs 主要通过以下途径参与肠道免疫调节: ①可抑制组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 的活性, 抑制核转录因子 NF- κ B 的基因表达, 下调促炎因子的产生从而抑制肠道炎症。②通过短链脂肪酸受体-G 蛋白耦联受体 GPR41、GPR43 以及 GPR109A 等发挥作用, 刺激细胞信号转导途径, 上调 Toll 样受体的表达⁶⁶。SCFAs 与其受体 GPR 和 HDAC 相结合, 并引起调节性 T 细胞与树突细胞增殖, 或分泌 IL-18 增强黏膜屏障对有害微生物的抵御性。宿主免疫系统识别并消除病原微生物通过激活效应 T 细胞功能, 这一过程也受 SCFA 介导的 HDAC 抑制和 mTORC1 活化调节。例如, 丁酸和丙酸可以诱导调节性 T 细胞 (Treg) 的分化, 帮助控制肠道炎症, 这些作用是通过抑制组蛋白的去乙酰化完成^{66, 67}。肠道炎症的控制可以帮助维持肠道屏障, 从而降低炎症性肠病 (IBD) 或者结直肠癌 (CRC)

发生的可能性。除了肠道中主要 SCFAs 的乙酸、丙酸以及丁酸以外，我们对其他的 SCFAs 的潜在益处尚不清楚。近来的研究表明，高纤维日粮可以增加 SCFAs 诱导激活 GPR43 以及 GPR109A，从而激活对于肠道稳态很关键的 NLRP3 炎症体。

图 3 日粮纤维通过 SCFA 影响宿主免疫反应⁷

Fig.3 Dietary fiber affects host immune response through SCFA



肠道微生物不仅可以代谢日粮成分 (DF)，而且能够转化宿主分泌代谢的胆汁酸调控肠道健康。胆汁酸一直被认为对细胞的先天性免疫可发挥直接的调控作用。胆汁酸可降低单核细胞、巨噬细胞、树突细胞以及肝脏巨噬细胞的促炎性因子^{68, 69}。这一作用主要是由两种不同的宿主受体介导的：胆汁酸受体 (Farnesoid X Receptors FXR) 和 G 蛋白耦联胆汁酸受体 1 (TGR5, 胆汁酸的膜型受体)。两种受体都可以类似的方式被初级胆汁酸和次级胆汁酸激活。FXR，是一种核配体激活的转录因子，可与视黄酸受体 RXR 形成异二聚体。合成的 FXR 激动剂对于小鼠模型的结肠炎具有保护作用，然而对 FXR 基因缺乏 (FXR^{-/-}) 的小鼠则呈现出更严重的病理。FXR^{-/-} 的小鼠也表现出持续性的肝炎以及肝脏肿瘤^{70, 71}。TGR5 (G 蛋白耦联的受体)，与胆汁酸结合会引发细胞内 cAMP 水平的提高以及 ERK 的激活⁷²。与 FXR 类似，采用合成的激动剂激活巨噬细胞以及 Kupffer 细胞的 TGR5 受体，可以通过干扰依赖 NF-κB 的转录来抑制 LPS 诱导的促炎性细胞因子的表达。这与直接抑制 NF-κB 的激活相关⁷³⁻⁷⁵。初级胆汁酸和次级胆汁酸都能够激活 FXR 以及 TGR，目前尚且不清数初级胆汁酸和次级胆汁酸之间平衡的偏移会有什么功能性的改变。初级胆汁酸 CDCA 是法尼基衍生物 X 受体 FXR 的配体可抑制 LPS 诱导的巨噬细胞的 IL-1β, IL-6 以及 TNF-α 的释放。胆汁酸的肠肝循环这一生理过程受到肝脏中复杂的膜转运系统以及肠道中核受体的调节，一方面有毒的胆汁酸会导致炎症、凋亡以及细胞死亡。另一方面，胆汁酸激活的核受体以及 GPCR 信号会保护肝脏、肠道以及巨噬细胞免受炎症。已有研究表明 DF 可以影响胆汁酸池的组成，一方面胆汁酸可以通过肠道受体直接调控肠道先天性免疫，另一方面胆汁酸组成的改变也会

对肠道微生物组成产生影响从而对肠道免疫起到调节作用。

5、小结及展望

DF 对黏膜免疫的直接影响时需要充分考虑黏液层、肠道上皮细胞与其它免疫细胞（例如树突细胞）之间的互作，以后的试验中可建立肠道上皮细胞与免疫相关细胞的共培养模型来探究 DF 的直接免疫作用会有更深入直观的理解。

肠道菌群的动态变化符合“安娜·卡列尼娜原则”，健康/平衡状态都很相似，而疾病/失衡各有各的不同⁷⁶。如何通过特定微生物或代谢产物判断猪肠道微生物群落的结构状态，并利用特定 DF 实现靶向性调控，需要前期大量的试验积累工作建立相应的数据库，才能将其更好的应用于实际生产。并且 DF 对猪肠道微生物的影响还主要集中在特定菌群丰度的改变，其与黏膜屏障功能变化之间的关系仍只停留在相关性的研究水平，缺乏具体机理与相关分子机制的研究。如何通过定向微生物培养技术、无菌动物等方法手段，实现从一个 C (Correlation) 到另一个 C (Causality) 的跨越，可能是下一步工作的重点。

参考文献

1. 刘文, 倪奕弘, 张凤鸣, 吴希阳, 高铜、高锌饲养对仔猪肠道菌重金属耐受性的研究, *畜牧业*, 2014, 32-35.
2. J. Zhang, C. Li, X. Tang, Q. Lu, R. Sa and H. Zhang, High Concentrations of Atmospheric Ammonia Induce Alterations in the Hepatic Proteome of Broilers (*Gallus gallus*): An iTRAQ-Based Quantitative Proteomic Analysis, *Plos One*, 2015, **10**, e0123596.
3. 张宏福, 加强环境生理研究应用, 推进畜禽健康养殖技术升级, *兽医导刊*, 2016.
4. Y. Belkaid and T. W. Hand, Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation, *Cell*, 2014, **157**, 121-141.
5. 杨利娜, 边高瑞, 朱伟云, 单胃动物肠道微生物菌群与肠道免疫功能的相互作用, *微生物学报*, 2014, **54**, 480-486.
6. R. Jha and J. Berrocoso, Review: Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine, *animal*, 2015, 1-12.
7. M. G. Rooks and W. S. Garrett, Gut microbiota, metabolites and host immunity, *Nature Reviews Immunology*, 2016, **16**, 341.
8. W. J. Lee and K. Hase, Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease, *Nature Chemical Biology*, 2014, **10**, 416-424.
9. L. Vogt, D. Meyer, G. Pullens, M. Faas, M. Smelt, K. Venema, U. Ramasamy, H. A. Schols and V. P. De, Immunological properties of inulin-type fructans, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2015, **55**, 414.
10. L. M. Vogt, M. E. Elderman, T. Borghuis, B. J. de Haan, M. M. Faas and V. P. De, Chain length-dependent effects of inulin-type fructan dietary fiber on human systemic immune responses against hepatitis-B, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2017.
11. Y. He, C. Wu, J. Li, H. Li, Z. Sun, H. Zhang, P. D. Vos, L. L. Pan and J. Sun, Inulin-Type

- Fructans Modulates Pancreatic–Gut Innate Immune Responses and Gut Barrier Integrity during Experimental Acute Pancreatitis in a Chain Length-Dependent Manner, *Frontiers in Immunology*, 2017, **8**, 1209.
12. A. Trompette, E. S. Gollwitzer, C. Pattaroni, I. C. Lopez-Mejia, E. Riva, J. Pernot, N. Ubags, L. Fajas, L. P. Nicod and B. J. Marsland, Dietary Fiber Confers Protection against Flu by Shaping Ly6c⁺ - Patrolling Monocyte Hematopoiesis and CD8⁺ T Cell Metabolism, *Immunity*, 2018, **48**, 992-1005.
 13. 张丽英, 饲料分析及饲料质量检测技术.第2版, 中国农业大学出版社, 2003.
 14. K. Raninen, J. Lappi, H. Mykkänen and K. Poutanen, Dietary fiber type reflects physiological functionality: comparison of grain fiber, inulin, and polydextrose, *Nutrition Reviews*, 2011, **69**, 9-21.
 15. B. J. Kerr and G. C. Shurson, Strategies to improve fiber utilization in swine, *Journal of Animal Science and Biotechnology*(畜牧与生物技术杂志(英文版)), 2013, **4**, 11-11.
 16. K. E. B. Knudsen, M. S. Hedemann and H. N. Lærke, The role of carbohydrates in intestinal health of pigs, *Animal feed science and technology*, 2012, **173**, 41-53.
 17. F. Molist, E. G. Manzanilla, J. F. Pérez and C. M. Nyachoti, Coarse, but not finely ground, dietary fibre increases intestinal Firmicutes:Bacteroidetes ratio and reduces diarrhoea induced by experimental infection in piglets, *British Journal of Nutrition*, 2012, **108**, 9-15.
 18. S. Kelkar, M. Siddiq, J. Harte, K. Dolan, G. Nyombaire and H. Suniaga, Use of low-temperature extrusion for reducing phytohemagglutinin activity (PHA) and oligosaccharides in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Navy and Pinto, *Food Chemistry*, 2012, **133**, 1636-1639.
 19. R. Jha, J. Bindelle, B. Rossnagel, A. Van Kessel and P. Leterme, In vitro evaluation of the fermentation characteristics of the carbohydrate fractions of hulless barley and other cereals in the gastrointestinal tract of pigs, *Animal Feed Science and Technology*, 2011, **163**, 185-193.
 20. R. Jha and P. Leterme, Feed ingredients differing in fermentable fibre and indigestible protein content affect fermentation metabolites and faecal nitrogen excretion in growing pigs, *animal*, 2012, **6**, 603-611.
 21. C. L. Dikeman and G. C. Fahey Jr, Viscosity as related to dietary fiber: a review, *Critical reviews in food science and nutrition*, 2006, **46**, 649-663.
 22. K. A. El, F. Armougom, J. I. Gordon, D. Raoult and B. Henrissat, The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota, *Nature Reviews Microbiology*, 2013, **11**, 497.
 23. B. L. Cantarel, P. M. Coutinho, C. Rancurel, T. Bernard, V. Lombard and B. Henrissat, The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for glycogenomics, *Nucleic acids research*, 2009, **37**, D233-D238.
 24. F. C. Pereira and D. Berry, Microbial nutrient niches in the gut, *Environmental Microbiology*, 2017, **19**, 1366-1378.

25. D. Haenen, C. S. da Silva, J. Zhang, S. J. Koopmans, G. Bosch, J. Vervoort, W. J. Gerrits, B. Kemp, H. Smidt and M. Müller, Resistant starch induces catabolic but suppresses immune and cell division pathways and changes the microbiome in the proximal colon of male pigs, *The Journal of nutrition*, 2013, **143**, 1889-1898.
26. D. Haenen, J. Zhang, C. S. da Silva, G. Bosch, I. M. van der Meer, J. van Arkel, J. J. van den Borne, O. P. Gutiérrez, H. Smidt and B. Kemp, A diet high in resistant starch modulates microbiota composition, SCFA concentrations, and gene expression in pig intestine, *The Journal of nutrition*, 2013, **143**, 274-283.
27. L. F. Jiao, Y. L. Ke, K. Xiao, Z. H. Song, C. H. Hu and B. Shi, Effects of cello-oligosaccharide on intestinal microbiota and epithelial barrier function of weanling pigs, *Journal of Animal Science*, 2015, **93**, 1157-1164.
28. Y. Sun, Y. Su and W. Zhu, Microbiome-Metabolome Responses in the Cecum and Colon of Pig to a High Resistant Starch Diet, *Frontiers in Microbiology*, 2016, **7**.
29. L. Zhang, C. Mu, X. He, Y. Su, S. Mao, J. Zhang, H. Smidt and W. Zhu, Effects of dietary fibre source on microbiota composition in the large intestine of suckling piglets, *Fems Microbiology Letters*, 2016, **363**, fnw138.
30. T. Looft, H. K. Allen, B. L. Cantarel, U. Y. Levine, D. O. Bayles, D. P. Alt, B. Henrissat and T. B. Stanton, Bacteria, phages and pigs: the effects of in-feed antibiotics on the microbiome at different gut locations, *Isme Journal*, 2014, **8**, 1566-1576.
31. L. Zhang, W. Wu, Y. K. Lee, J. Xie and H. Zhang, Spatial Heterogeneity and Co-occurrence of Mucosal and Luminal Microbiome across Swine Intestinal Tract, *Frontiers in Microbiology*, 2018, **9**, 48.
32. M. E. V. Johansson, J. M. H. Larsson and G. C. Hansson, The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108**, 4659-4665.
33. M. E. V. Johansson, M. Phillipson, J. Petersson, A. Velcich, L. Holm and G. C. Hansson, The Inner of the Two Muc2 Mucin-Dependent Mucus Layers in Colon Is Devoid of Bacteria, *Gut Microbes*, 2010, **105**, 51-54.
34. A. M. O'Hara and F. Shanahan, The gut flora as a forgotten organ, *Embo Reports*, 2006, **7**, 688-693.
35. H. Ito, M. Satsukawa, E. Arai, K. Sugiyama, K. Sonoyama, S. Kiriya and T. Morita, Soluble fiber viscosity affects both goblet cell number and small intestine mucin secretion in rats, *Journal of Nutrition*, 2009, **139**, 1640-1647.
36. S. Hino, N. Takemura, K. Sonoyama, A. Morita, H. Kawagishi, S. Aoe and T. Morita, Small intestinal goblet cell proliferation induced by ingestion of soluble and insoluble dietary fiber is characterized by an increase in sialylated mucins in rats, *Journal of Nutrition*, 2012, **142**, 1429.
37. M. S. Desai, A. M. Seekatz, N. M. Koropatkin, N. Kamada, C. A. Hickey, M. Wolter, N. A.

- Pudlo, S. Kitamoto, N. Terrapon and A. Muller, A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility, *Cell*, 2016, **167**, 1339-1353.e1321.
38. H. Chen, W. Wang, J. Degroote, S. Possemiers, D. Chen, S. De Smet and J. Michiels, Arabinoxylan in Wheat Is More Responsible Than Cellulose for Promoting Intestinal Barrier Function in Weaned Male Piglets, *The Journal of nutrition*, 2015, **145**, 51-58.
39. L. Chen, H. Zhang, L. Gao, F. Zhao, Q. Lu and R. Sa, Effect of graded levels of fiber from alfalfa meal on intestinal nutrient and energy flow, and hindgut fermentation in growing pigs, *Journal of animal science*, 2013, **91**, 4757-4764.
40. J. Zou, B. Chassaing, V. Singh, M. Pellizzon, M. Ricci, M. D. Fythe, M. V. Kumar and A. T. Gewirtz, Fiber-Mediated Nourishment of Gut Microbiota Protects against Diet-Induced Obesity by Restoring IL-22-Mediated Colonic Health, *Cell Host & Microbe*, 2017, **23**, 41.
41. O. T. Foye, I-FeiHuang, C. C. Chiou, W. Allanwalker and N. S. Hai, Early administration of probiotic *Lactobacillus acidophilus* and/or prebiotic inulin attenuates pathogen-mediated intestinal inflammation and Smad 7 cell signaling, *Fems Immunology & Medical Microbiology*, 2012, **65**, 467-480.
42. J. Kovacsolan, H. Kanatani, A. Nakamura, M. Ibuki and Y. Mine, β -1,4-mannobiose stimulates innate immune responses and induces TLR4-dependent activation of mouse macrophages but reduces severity of inflammation during endotoxemia in mice, *Journal of Nutrition*, 2013, **143**, 384.
43. R. Badia, G. Zanello, C. Chevaleyre, R. Lizardo, F. Meurens, P. Mart íez, J. Brufau and H. Salmon, Effect of *Saccharomyces cerevisiae* var. Boulardii and β -galactomannan oligosaccharide on porcine intestinal epithelial and dendritic cells challenged in vitro with *Escherichia coli* F4 (K88), *Veterinary Research*, 2012, **43**, 4.
44. L. Che, H. Chen, B. Yu, J. He, P. Zheng, X. Mao, J. Yu, Z. Huang and D. Chen, Long-term intake of pea fiber affects colonic barrier function, bacterial and transcriptional profile in pig model, *Nutrition & Cancer*, 2014, **66**, 388-399.
45. P. R. Pouillart, F. D épeint, A. Abdelnour, L. Deremaux, O. Vincent, J. C. Mazi ère, J. Y. Madec, D. Chatelain, H. Younes and D. Wils, Nutriose, a prebiotic low-digestible carbohydrate, stimulates gut mucosal immunity and prevents TNBS-induced colitis in piglets, *Inflammatory Bowel Diseases*, 2010, **16**, 783-794.
46. P. Akbari, J. Fink-Gremmels, R. H. Willems, E. Difilippo, H. A. Schols, M. H. Schoterman, J. Garssen and S. Braber, Characterizing microbiota-independent effects of oligosaccharides on intestinal epithelial cells: insight into the role of structure and size : Structure-activity relationships of non-digestible oligosaccharides, *European Journal of Nutrition*, 2016, **56**, 1919-1930.
47. M. Bermudez-Brito, N. M. Sahasrabudhe, C. Rösch, H. A. Schols, M. M. Faas and P. Vos, The impact of dietary fibers on dendritic cell responses in vitro is dependent on the differential

- effects of the fibers on intestinal epithelial cells, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, **59**, 698-710.
48. n.-C. a. F. Capit ã I. M. Ortega-Gonz ã E. Guadix, A. Zarzuelo, M. D. SuÃ rez, F. S. de Medina and O. Mart ãÑez-Augustin, Prebiotic oligosaccharides directly modulate proinflammatory cytokine production in monocytes via activation of TLR4, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2014, **58**, 1098-1110.
 49. S. Varasteh, S. Braber, J. Garssen and J. Fink-Gremmels, Galacto-oligosaccharides exert a protective effect against heat stress in a Caco-2 cell model, *Journal of Functional Foods*, 2015, **16**, 265-277.
 50. M. Ortega-Gonz áez, B. Oc án, I. Romero-Calvo, A. Anzola, E. Guadix, A. Zarzuelo, M. D. Su árez, F. S. D. Medina and O. Mart ínez-Augustin, Nondigestible oligosaccharides exert nonprebiotic effects on intestinal epithelial cells enhancing the immune response via activation of TLR4-NFκB, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2014, **58**, 384-393.
 51. M. Zenhom, A. Hyder, M. V. De, K. J. Heller, T. Roeder and J. Schrezenmeir, Prebiotic oligosaccharides reduce proinflammatory cytokines in intestinal Caco-2 cells via activation of PPARγ and peptidoglycan recognition protein 3, *Journal of Nutrition*, 2011, **141**, 971-977.
 52. M. Levy, E. Blacher and E. Elinav, Microbiome, metabolites and host immunity, *Current Opinion in Microbiology*, 2017, **35**, 8-15.
 53. C. Gutzeit, G. Magri and A. Cerutti, Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction, *Immunological Reviews*, 2014, **260**, 76-85.
 54. Q. Wang, J. Westra, V. D. G. Ks, J. Moser, J. Bijzet, T. Kuiper, P. G. Lorencetti, L. A. Joosten, M. G. Netea and P. Heeringa, Reduced levels of cytosolic DNA sensor AIM2 are associated with impaired cytokine responses in healthy elderly, *Experimental Gerontology*, 2016, **78**, 39-46.
 55. N. Ma, P. Guo, J. Zhang, T. He, S. W. Kim, G. Zhang and X. Ma, Nutrients Mediate Intestinal Bacteria–Mucosal Immune Crosstalk, *Frontiers in Immunology*, 2018, **9**, 5.
 56. M. Sun, C. He, Y. Cong and Z. Liu, Regulatory immune cells in regulation of intestinal inflammatory response to microbiota, *Mucosal Immunology*, 2015, **8**, 969-978.
 57. N. Zmora, S. Bashirdes, M. Levy and E. Elinav, The Role of the Immune System in Metabolic Health and Disease, *Cell metabolism*, 2017, **25**, 506.
 58. T. S. Postler and S. Ghosh, Understanding the Holobiont: How Microbial Metabolites Affect Human Health and Shape the Immune System, *Cell metabolism*, 2017, **26**, 110.
 59. J. K. Nicholson, E. Holmes, J. Kinross, R. Burcelin, G. Gibson, W. Jia and S. Pettersson, Host-gut microbiota metabolic interactions, *Science*, 2012, **336**, 1262-1267.
 60. S. Fukuda, H. Toh, K. Hase, K. Oshima, Y. Nakanishi, K. Yoshimura, T. Tobe, J. M. Clarke, D. L. Topping and T. Suzuki, Fukuda, S. et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* 469, 543, *Gut Microbes*, 2012, **469**, 543-547.
 61. J. Taehwan, P. Jeonghyeon, J. Woomin and K. S. Han, Butyrate modulates bacterial adherence

- on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway, *Nutrition Research & Practice*, 2015, **9**, 343-349.
62. H. Yan and K. M. Ajuwon, Butyrate modifies intestinal barrier function in IPEC-J2 cells through a selective upregulation of tight junction proteins and activation of the Akt signaling pathway, *Plos One*, 2017, **12**, e0179586.
 63. G. D. Besten, K. V. Eunen, A. K. Groen, K. Venema, D. J. Reijngoud and B. M. Bakker, The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism, *Journal of Lipid Research*, 2013, **54**, 2325-2340.
 64. J. Slavin, Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits, *Nutrients*, 2013, **5**, 1417-1435.
 65. T. Chen, C. Y. Kim, A. Kaur, L. Lamothe, M. Shaikh, A. Keshavarzian and B. R. Hamaker, Dietary fibre-based SCFA mixtures promote both protection and repair of intestinal epithelial barrier function in a Caco-2 cell model, *Food & Function*, 2017, **8**.
 66. R. Corrêa-Oliveira, J. L. Fachi, A. Vieira, F. T. Sato and M. A. R. Vinolo, Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids, *Clinical & Translational Immunology*, 2016, **5**, e73.
 67. P. Louis, G. L. Hold and H. J. Flint, The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer, *Nature Reviews Microbiology*, 2014, **12**, 661-672.
 68. A. Wahlström, S. I. Sayin, H. U. Marschall and F. Bäckhed, Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism, *Cell metabolism*, 2016, **24**, 41-50.
 69. P. Pathak, X. Cen, R. G. Nichols, J. M. Ferrell, S. Boehme, K. W. Krausz, A. D. Patterson, F. J. Gonzalez and J. Y. L. Chiang, Intestine farnesoid X receptor agonist and the gut microbiota activate G-protein bile acid receptor-1 signaling to improve metabolism, *Hepatology*, 2018.
 70. I. Kim, K. Morimura, Y. Shah, Q. Yang, J. M. Ward and F. J. Gonzalez, Spontaneous hepatocarcinogenesis in farnesoid X receptor-null mice, *Carcinogenesis*, 2007, **28**, 940.
 71. F. Yang, X. Huang, T. Yi, Y. Yen, D. D. Moore and W. Huang, Spontaneous development of liver tumors in the absence of the bile acid receptor farnesoid X receptor, *Cancer Research*, 2007, **67**, 863.
 72. K. Mobraten, T. Haugbro, E. Karlstrom, C. R. Kleiveland and T. Lea, Activation of the bile acid receptor TGR5 enhances LPS-induced inflammatory responses in a human monocytic cell line, *Journal of Receptors & Signal Transduction*, 2015, **35**, 1-8.
 73. C. Guo, H. Qi, Y. Yu, Q. Zhang, J. Su, D. Yu, W. Huang, W. D. Chen and Y. D. Wang, The G-Protein-Coupled Bile Acid Receptor Gpbar1 (TGR5) Inhibits Gastric Inflammation Through Antagonizing NF- κ B Signaling Pathway, *Frontiers in Pharmacology*, 2015, **6**.
 74. T. Harach, TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading, *Cell metabolism*, 2011, **14**, 747-757.
 75. Perino, Alessia, Schoonjans and Kristina, TGR5 and Immunometabolism: Insights from Physiology and Pharmacology, *Trends in Pharmacological Sciences*, 2015, **36**, 847-857.

76. J. R. Zaneveld, R. McMinds and R. Vega Thurber, Stress and stability: applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes, *Nature Microbiology*, 2017, **2**, 17121.

Dietary fiber regulates intestinal microbiota and intestinal barrier function in pigs: a review

WU Weida, ZHANG Li, XIE Jingjing, CHEN Liang, ZHANG Hongfu

(State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of
Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: The diarrhea restricts the raising of pig industry level. With the prohibition of high copper, high zinc and antibiotic, piglet diarrhea needs “green” alternative to be solved. As the sixth major nutrients, dietary fiber has the physiological function of maintaining intestinal health. Dietary fiber can promote the function of pig’s intestine by optimizing the structure of intestinal microbiota and regulating the mucosal barrier. In this review, we summarized the possible regulation mechanisms of dietary fiber on intestinal microbiota and mucosal barrier function in pigs, the aim to promote rational and extensive use of dietary fiber in pig diets, especially in piglets.

抗菌肽的结构，功能与应用

单安山⁴ 王家俊 窦秀静 朱 鑫 徐 林 李伟忠

(东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘 要: 抗菌肽 (AMPs) 是动物先天免疫系统的重要组成部分, 可帮助机体抵御各种外界入侵物, 如细菌, 真菌, 寄生虫, 病毒和肿瘤细胞等, 同时具有免疫调节功能。AMP 主要通过机械性破膜发挥抗菌活性, 因此细菌很难对其产生耐药性。本文总结了 AMP 在结构, 功能方面的研究进展及其在食品, 医药和动物等领域中应用情况。

关键词: 抗菌肽; 结构; 功能; 应用

抗生素作为饲料添加剂的使用至今已有近 70 年历史, 其在促进动物生长, 防止畜禽疾病发生, 提高养殖业经济效益方面发挥着重要的作用^[1]。但抗生素的滥用促使耐药性菌株爆炸性增长, 药物残留也时刻威胁人类的健康, 对环境安全造成了极大的危害, 许多国家对抗生素的使用作出了严格控制。1986 年瑞典全面禁止饲料中添加抗生素, 2006 年欧盟全面实施“饲料禁抗”, 2010 年南亚发生“超级细菌”事件使得“饲料禁抗”更是迫在眉睫。2014 年 2 月, 美国食品药品监督管理局公布行业指导性文件, 计划 3 年内禁止在牲畜饲料中添加预防性抗生素, 2017 年 1 月该文件生效。近年来, 中国也加快了饲料限抗与禁抗的步伐。因此开发新型、绿色的抗生素替代技术, 具有重大的现实意义。

抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 也称为宿主防御肽 (Host defense peptide, HDPs), 是先天免疫系统的重要组成部分, 其通过 Toll 样受体 (TLRs) 通路在许多组织和细胞中均有表达^[2]。除了对革兰氏阴阳性菌, 真菌, 寄生虫, 病毒和肿瘤细胞具有快速和广谱活性外, AMPs 还可介导免疫细胞趋化性, 调节细胞凋亡, 促进免疫调节和伤口愈合^[3]。与抗生素作用于单一特定的分子受体不同, 抗菌肽不仅作用于细胞膜, 还可作用于细胞内分子, 因此很难产生耐药性。这些原因使 AMP 成为饲用抗生素有力的替代者。

1 AMP 的结构

1.1 一级结构

1.1.1 序列长度

AMP 的序列长度从 10~60 个氨基酸残基不等。在规模生产中, 其最显著的缺点之一就是制造成本高^[4], 因此, 从降低生产成本角度考虑, 短序列肽是最优选择。而且, 长链线性肽通常表现出较高的溶血性和细胞毒性。许多研究表明, 从天然 AMP 的 N 端或者 C 端截取的序列依旧保持良好的活性, 且降低了细胞毒性^[5]。但与此同时, 序列长度过短会使抗菌肽在膜环境中很难形成两亲性结构, 导致破膜能力下降, 从而降低抗菌活性。因此, AMP 的长度应在一定的阈值范围内, 以达到最优的膜结合作用和二级结构倾向性^[6]。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31472104, 31672434, 31272453)

作者简介: 单安山 (1958—), 男, 辽宁东港人, 教授, 博士, 主要从事饲料资源开发与利用研究。E-mail: asshan@neau.edu.cn

* 通信作者: 单安山, 教授, 博士生导师, E-mail: asshan@neau.edu.cn

1.1.2 氨基酸组成

AMP 的氨基酸残基主要包括两种类型：阳离子残基和疏水残基^[7]。在天然 AMP 中，阳离子残基主要是 Arg, Lys 和 His^[8]，疏水残基主要是脂肪族和芳香族氨基酸。另外，Cys 和 Pro 在天然 AMP 中也大量存在。大量研究认为 AMP 的正电荷的残基直接与细菌细胞膜的带负电荷的组分相互作用，随后疏水性残基插入磷脂双分子层中介导菌膜透化和破坏，导致细菌快速死亡。

一些富含特定氨基酸的 AMP 常拥有特殊功能。如富含脯氨酸的肽通过外膜蛋白通道渗透到细菌胞质溶胶中，并且可以通过细胞因子调节机体免疫系统或促进血管生成^[9]。富含半胱氨酸的肽主要靠 Cys 残基形成二硫键以稳定 β -发夹或片层结构^[10]。有研究表明 AMP 活性与 β -发夹构象的稳定性高度相关，去除二硫键的可明显降低抗菌肽的活性^[11]。富含甘氨酸的肽在增加选择性的同时高度保留了抗菌活性^[12]，且通常会对真菌、革兰氏阴性菌和癌细胞具有显著的杀灭效果^[13]。富含色氨酸的肽的疏水面可以较深的插入并破坏微生物细胞膜^[14]。在 β -发卡结构中，成对的 Trp-Trp 相互作用可以形成独特有效的色氨酸拉链结构^[15]。富含苯丙氨酸的肽对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌以及酵母具有有效的杀灭效果，且没有任何溶血活性^[16]。

1.2 二级结构

1.2.1 α 螺旋

根据最新的数据库 (APD: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>)，天然 α -螺旋肽在所有已确认结构的肽中占有最高比例^[7]，它们主要来源于昆虫，鱼类，两栖动物，哺乳动物和植物等不同物种。此外，许多研究表明，只有在膜环境或与膜作用时， α 螺旋肽才会转化为螺旋结构。这种转化促使亲水性氨基酸/正电荷氨基酸与疏水性氨基酸空间分离，分别分布于螺旋轴两侧，从而形成两亲性结构，这种结构是 AMP 发挥破膜作用的前提条件^[7, 17]。正电荷与细菌膜中带负电成分之间的静电作用被认为是多数 AMP 的主要抗菌机制，包括 Melittin, Magainin 和 Cathelicidins，接着其非极性面可以进一步插入细菌膜，形成孔洞，导致细胞内容物外泄，促使细菌死亡^[18]。

在猪 Cathelicidins 家族中，PMAP-36 受到广泛关注。序列分析显示阳离子氨基酸在 PMAP-36 的 N 端占比高达 36%，而且这种高度阳离子序列呈现典型的两亲性 α 螺旋结构并带有一个疏水性尾端。近期研究表明 PMAP-36 的 N 端 (α -螺旋结构域) 是其主要的活性中心^[19]。然而，完美的两亲性通常会导致细胞毒性增加，因此 Zhu 等^[20]在 PMAP-36 的 N 端序列结构基础上利用 Trp 成对替换极性面上的 Lys，设计得到一系列非完美两亲性的 α 螺旋短肽，结果显示破坏完美两亲性可以显著提高抗菌活性并降低肽对血细胞的破坏作用。

1.2.2 β -折叠

除了 α -螺旋外， β -折叠是 AMP 的另一个主要二级结构。 β 折叠肽在机体免疫系统中扮演重要的角色，不仅可以抵御外界病原体入侵还可以调节机体免疫系统，所以他们被称为防御

素。防御素大多含有 6~8 个半胱氨酸残基，尽管这些共价键不直接参与抗菌活性的调节，但半胱氨酸残基之间形成的二硫键是防御素结构稳定的关键因素。大多数 β -折叠肽在水溶液中呈现非结构化，而在膜模拟环境中转变为 β -折叠结构。许多具有强效抗菌活性的天然肽如马蹄蟹 polyphemusin-1 和猪 Protegrin-1 通过两个二硫键连接，呈现反向平行的 β -折叠结构和稳健的 β -发夹构象^[21]。

α -螺旋和 β -折叠结构肽的结构功能关系被广泛研究。与具有相同疏水性和电荷的 α -螺旋肽相比， β -折叠结构肽具有类似的抗菌活性和更高的细胞选择性^[22]。然而，短肽难以形成稳定的 β -结构，因此对 β -折叠肽的系统性研究有些不足。最近，简化法和单元重复法被证明是设计或优化抗菌肽的有效策略，并由此设计了一系列具有广谱抗菌活性和高度选择性的 β -折叠肽^[23, 24]。

1.2.3 线性结构

大多数线性结构的肽都富含脯氨酸和甘氨酸。因此线性结构肽一般分为 Pro 富集肽和 Gly 富集肽。Pro 富集线性肽通常从哺乳动物体中分离出来，如 Indolicidin, Tiritpticin 和昆虫如 Apidaecins 12，通常含有 15-39 个氨基酸残基，且其周围通常分布两个或三个正电荷氨基酸残基（Arg 和 Lys）。富甘氨酸的肽的序列长度范围一般从 8kDa（Holotricin）至 30kDa（Sarcotoxin II）。此部分在抗菌肽的一级结构中已经提及，这里就不在赘述。

2 抗菌肽的功能

2.1 抗细菌

AMP 抗细菌能力是其最重要的一项基本功能。尽管细菌膜成分存在差异，但革兰氏阴性菌外膜所含的 LPS 和革兰氏阳性菌质膜所含的磷壁酸都是阴离子的。这有利于阳离子抗菌肽与菌膜的静电相互作用。净正电荷、疏水性、链长度和结构柔韧性都是影响肽功能的关键因素。净正电荷增强了肽与细菌细胞膜中的阴离子脂质的相互作用。例如，带正电荷的精氨酸残基可以穿透脂质磷酸酯基团，在阴离子膜上形成曲面环形孔洞^[25]。一般情况下，较高的疏水性会增强肽对膜的扰乱作用，但同时也会降低肽对膜的选择性^[26]。结构柔韧性则赋予了肽在不同溶液中构象变化的能力，而这种变化特性对肽的破膜能力具有显著影响^[27]。

2.2 抗真菌

部分 AMP 展现出强力的抗真菌能力。如 Astacidin 1 是从淡水小龙虾 *Pacifastacus leniusculus* 的血蓝蛋白中分离出来的一种新型 AMP，对白色念珠菌，白色丝毛霉，糠马拉色菌和红色毛癣菌均具有杀灭活性^[28]。抗真菌肽一般分为以下几种作用机制：1）大多数抗真菌肽与膜表面结合并触发膜透化。2）一些抗真菌肽干扰细胞壁合成或基本细胞组分如葡聚糖或几丁质的生物合成。3）来自人类和一些其他较高级灵长类唾液的富含组氨酸抗菌肽一般与真菌细胞膜上的受体结合，进入细胞质并引起线粒体耗竭。

2.3 抗病毒

许多 AMP 可以明显抑制由广谱病毒引起的感染，包括有包膜的 RNA 和 DNA 病毒，猫

杯状病毒和埃可病毒。例如 α -螺旋肽马盖宁, Dermaseptin 和蜂毒肽就对 HSV 病毒具有抵抗效果^[29]。同样的 β -折叠肽例如 Tachyplesin 和 Protegrin 以及乳铁蛋白也对 HSV^[30]显示较高的杀灭活性。

2.4 抗肿瘤细胞

由于各种阴离子分子(如磷脂酰丝氨酸)的过表达,大多数肿瘤细胞在膜上都带有净负电荷^[31],这为阳离子 AMP 结合肿瘤细胞膜表面提供了可能,由于 AMP 主要通过非受体介导的途径作用于肿瘤细胞,与传统的化疗药物相比,肿瘤细胞更难对其产生耐药性^[32]。例如,AMP 序列 G(IKK)3I-NH₂ 优先与外部细胞膜结合,并通过线粒体膜受体通路和死亡受体通路诱导肿瘤细胞程序性死亡,不会引起机体的非特异性免疫^[33]。AMP 具有抗肿瘤活性一般需要拥有以下条件:1)大量的净正电荷数,这是肽与肿瘤细胞膜表明结合的基础^[34];2)高度结构柔韧性,使其可以轻松穿透肿瘤细胞膜;3)高度低聚化,使其可以快速在肿瘤细胞膜表面聚集^[35]。

2.5 抗寄生虫

AMP 如 Melittin, Cecropin, Magainin, BMAP-18, BMAP-27 和 Protegrin-1 都具有良好的抗寄生虫能力,且这一能力并不受寄生虫生长阶段影响^[36]。此外,ParaPep 收录了很多抗寄生虫肽,大多数 ParaPep 肽都对各种疟原虫,利什曼原虫和锥虫的生长具有抑制作用^[37]。

2.6 免疫调节

在体内的复杂的内环境下,如盐离子,血清和阴性大分子(如糖胺聚糖)都对肽的活性具有抑制作用。在这种情况下,AMP 可以通过选择性地增加或调节宿主免疫系统去抵抗外界病原体感染,而不是直接杀死细菌^[38]。AMP 调节机体免疫系统的方式包括^[39]:减少因微生物信号分子诱导产生的促炎因子的水平;调节趋化因子的表达;刺激血管生成;增强伤口愈合;促进巨噬细胞和白细胞分化等。

3 AMP 的应用

3.1 在食品中的应用

近年来,为了满足消费者对健康食品日益增长的需求,AMP 作为一种天然的食品防腐剂受到了极大关注,其在控制食品中的病原微生物的同时可以保持食品的感官特性和营养品质。目前,许多研究已经证实了 AMP 作为食品防腐剂的潜力。例如,乳酸链球菌素(Nisin)是一种来自乳酸链球菌,含有 34 个氨基酸残基的环形肽,其通常应用于奶酪,肉类和饮料等^[40]。而且,许多新技术也被研究,用以保护 AMP 在食品中的生物活性。例如, Ple/PVA 纤维,通过静电纺丝技术,将 Ple (Pleurocidin,一种具有 25 种氨基酸的新型抗菌肽,源自冬季比目鱼的皮肤分泌粘液)结合到超细 PVA 纤维中,该技术已成功应用于苹果酒保鲜中,对大肠杆菌具有明显的抑制效果^[41]。

3.2 在医学上的应用

在医学上关于 AMP 作为辅助治疗和/或药物治疗已经进行了大量研究,并已取得一定进

展。例如, Lucifensin 和 Lucifensin II, 两种由铜绿蝇或丝光绿蝇幼虫分泌和排泄的昆虫防御素, 因其促进伤口愈合的功能被用来治疗因糖尿病或心血管疾病而导致愈合功能受损的患者^[42]。对于轻度感染的溃疡, Pexiganan (Magainin II 的 22-氨基酸合成类似物) 完全可以替代广谱口服抗生素 (如氧氟沙星), 并且可以避免产生耐药菌^[43]。

3.3 在动物生产中的应用

AMP 的抗菌活性被认为是抗菌肽提高动物生产性能, 改善营养物质消化率和有效维持正常肠道形态和功能的基础^[44]。对仔猪的研究表明, 饲料中添加的 AMP 对仔猪出栏重, 平均日增重 (ADG), 营养物质消化率, 肠道形态以及肠道和粪便微生物区系都具有有益作用^[45], 作为免疫系统的重要组成, AMP 可以增强仔猪肠粘膜免疫屏障功能, 提高断奶仔猪肠道益生菌含量^[46], 降低断奶仔猪腹泻率, 而且 AMP 还可以修复由霉菌毒素引起的肠粘膜损伤^[47]。AMP 在母猪生产中的研究表明, 其对母猪的繁殖性能、免疫机能以及疾病预防等方面都具有良好效果, 且间接对初生仔猪也产生益处^[48]。

4 小结

在这篇综述中, 我们总结了近几年 AMP 在结构, 功能和应用方面最新的研究成果, 为推动 AMP 的进一步研发和应用提供借鉴。

参考文献:

- [1] Van Boeckel T P, Brower C, Gilbert M, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(18): 5649-5654.
- [2] Dou X, Han J, Song W, et al. Sodium butyrate improves porcine host defense peptide expression and relieves the inflammatory response upon Toll-like receptor 2 activation and histone deacetylase inhibition in porcine kidney cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(16): 26532-26551.
- [3] Zhong G, Cheng J, Liang Z C, et al. Short Synthetic beta-Sheet Antimicrobial Peptides for the Treatment of Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa Burn Wound Infections[J]. Advanced Healthcare Materials, 2017, 6(7).
- [4] Chou S, Shao C, Wang J, et al. Short, multiple-stranded beta-hairpin peptides have antimicrobial potency with high selectivity and salt resistance[J]. Acta Biomaterialia, 2016, 30: 78-93.
- [5] Luo Y, Mclean D, Linden G J, et al. The Naturally Occurring Host Defense Peptide, LL-37, and Its Truncated Mimetics KE-18 and KR-12 Have Selected Biocidal and Antibiofilm Activities Against Candida albicans, Staphylococcus aureus, and Escherichia coli In vitro[J]. Frontiers In Microbiology, 2017, 8: 544.
- [6] Phambu N, Almarwani B, Garcia A M, et al. Chain length effect on the structure and stability of

- antimicrobial peptides of the (RW)_n series[J]. *Biophysical Chemistry*, 2017, 227: 8-13.
- [7] Takahashi D, Shukla S K, Prakash O, et al. Structural determinants of host defense peptides for antimicrobial activity and target cell selectivity[J]. *Biochimie*, 2010, 92(9): 1236-1241.
- [8] Mi G, Shi D, Herchek W, et al. Self-assembled arginine-rich peptides as effective antimicrobial agents[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2017, 105(4): 1046-1054.
- [9] Khara J S, Wang Y, Ke X Y, et al. Anti-mycobacterial activities of synthetic cationic alpha-helical peptides and their synergism with rifampicin[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(6): 2032-2038.
- [10] Sonderegger C, Fizil A, Burtscher L, et al. D19S Mutation of the Cationic, Cysteine-Rich Protein PAF: Novel Insights into Its Structural Dynamics, Thermal Unfolding and Antifungal Function[J]. *Plos One*, 2017, 12(1): e0169920.
- [11] Mohanram H, Bhattacharjya S. Cysteine deleted protegrin-1 (CDP-1): Anti-bacterial activity, outer-membrane disruption and selectivity[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 2014, 1840(10): 3006-3016.
- [12] Wang J, Chou S, Xu L, et al. High specific selectivity and Membrane-Active Mechanism of the synthetic centrosymmetric alpha-helical peptides with Gly-Gly pairs[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 15963.
- [13] Ilić N, Novković M, Guida F, et al. Selective antimicrobial activity and mode of action of adepantins, glycine-rich peptide antibiotics based on anuran antimicrobial peptide sequences[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2013, 1828(3): 1004-1012.
- [14] Zhu X, Ma Z, Wang J J, et al. Importance of Tryptophan in Transforming an Amphipathic Peptide into a *Pseudomonas aeruginosa*-Targeted Antimicrobial Peptide[J]. *Plos One*, 2014, 9(12): 19.
- [15] Xu L, Chou S, Wang J, et al. Antimicrobial activity and membrane-active mechanism of tryptophan zipper-like beta-hairpin antimicrobial peptides[J]. *Amino Acids*, 2015, 47(11): 2385-2397.
- [16] Tripathi A K, Kumari T, Tandon A, et al. Selective phenylalanine to proline substitution for improved antimicrobial and anticancer activities of peptides designed on phenylalanine heptad repeat[J]. *Acta Biomaterialia*, 2017, 57: 170-186.
- [17] Uggerhøj L E, Poulsen T J, Munk J K, et al. Rational Design of Alpha-Helical Antimicrobial Peptides: Do's and Don'ts[J]. *Chembiochem*, 2015, 16(2): 242-253.
- [18] Sychev S V, Balandin S V, Panteleev P V, et al. Lipid-dependent pore formation by antimicrobial peptides arenicin-2 and melittin demonstrated by their proton transfer activity[J]. *Journal of Peptide Science*, 2015, 21(2): 71-76.
- [19] Lv Y F, Wang J J, Gao H, et al. Antimicrobial Properties and Membrane-Active Mechanism of a

- Potential alpha-Helical Antimicrobial Derived from Cathelicidin PMAP-36[J]. *Plos One*,2014,9(1):12.
- [20] Zhu X,Dong N,Wang Z Y,et al.Design of imperfectly amphipathic alpha-helical antimicrobial peptides with enhanced cell selectivity[J].*Acta Biomaterialia*,2014,10(1):244-257.
- [21] Fjell C D,Hiss J A,Hancock R E W,et al.Designing antimicrobial peptides: form follows function[J].*Nature Reviews Drug Discovery*,2012,11(1):37-51.
- [22] Yi J,Janet H,Michelle P,et al.Antimicrobial activities and structures of two linear cationic peptide families with various amphipathic beta-sheet and alpha-helical potentials[J].*Antimicrobial Agents & Chemotherapy*,2005,49(12):4957-4964.
- [23] Dong N,Ma Q,Shan A,et al.Strand length-dependent antimicrobial activity and membrane-active mechanism of arginine- and valine-rich beta-hairpin-like antimicrobial peptides[J]. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*,2012,56(6):2994-3003.
- [24] Dong N,Zhu X,Chou S L,et al.Antimicrobial potency and selectivity of simplified symmetric-end peptides[J].*Biomaterials*,2014,35(27):8028-8039.
- [25] Tang M,Hong M.Structure and mechanism of beta-hairpin antimicrobial peptides in lipid bilayers from solid-state NMR spectroscopy[J]. *Molecular Omics*,2009,5(4):317-322.
- [26] Nordahl E A,Rydengard V,Nyberg P,et al.Activation of the complement system generates antibacterial peptides[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2004,101(48):16879-16884.
- [27] Shao C,Tian H,Wang T,et al.Central beta-turn increases the cell selectivity of imperfectly amphipathic alpha-helical peptides[J]. *Acta Biomaterialia*,2018,69:243-255.
- [28] Choi H,Lee D G.Antifungal activity and pore-forming mechanism of astacidin 1 against *Candida albicans*[J].*Biochimie*,2014,105:58-63.
- [29] Matanic V C A,Castilla V.Antiviral activity of antimicrobial cationic peptides against Junin virus and herpes simplex virus[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*,2004,23(4):382-389.
- [30] Jenssen H,Andersen J H,Uhlin-Hansen L,et al.Anti-HSV activity of lactoferricin analogues is only partly related to their affinity for heparan sulfate[J].*Antiviral Research*,2004,61(2):101-109.
- [31] Dobrzynska I,Szachowicz-Petelska B,Sulkowski S,et al.Changes in electric charge and phospholipids composition in human colorectal cancer cells[J].*Mol Cell Biochem*,2005,276(1-2):113-119.
- [32] Chen C,Zhang Y,Hou Z,et al.Rational Design of Short Peptide-Based Hydrogels with MMP-2 Responsiveness for Controlled Anticancer Peptide Delivery[J].*Biomacromolecules*,2017,18(11):3563-3571.

- [33] Chen C X, Hu J, Zeng P, et al. Molecular mechanisms of anticancer action and cell selectivity of short alpha-helical peptides[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(5):1552-1561.
- [34] Harris F, Dennison S R, Singh J, et al. On the selectivity and efficacy of defense peptides with respect to cancer cells[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2013, 33(1):190-234.
- [35] Kao F-S, Pan Y-R, Hsu R-Q, et al. Efficacy verification and microscopic observations of an anticancer peptide, CB1a, on single lung cancer cell[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2012, 1818(12):2927-2935.
- [36] Mor A. Multifunctional host defense peptides: antiparasitic activities[J]. *Febs Journal*, 2009, 276(22):6474-6482.
- [37] Mehta D, Anand P, Kumar V, et al. ParaPep: a web resource for experimentally validated antiparasitic peptide sequences and their structures[J]. *Database (Oxford)*, 2014, 2014.
- [38] Yeung A T Y, Gellatly S L, Hancock R E W. Multifunctional cationic host defence peptides and their clinical applications[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2011, 68(13):2161-2176.
- [39] Hancock R E, Haney E F, Gill E E. The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2016, 16(5):321-334.
- [40] Delves-Broughton J, Blackburn P, Evans R J, et al. Applications of the bacteriocin, nisin[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 1996, 69(2):193-202.
- [41] Wang X Y, Yue T L, Lee T C. Development of Pleurocidin-poly(vinyl alcohol) electrospun antimicrobial nanofibers to retain antimicrobial activity in food system application[J]. *Food Control*, 2015, 54:150-157.
- [42] Cerovsky V, Bem R. Lucifensins, the Insect Defensins of Biomedical Importance: The Story behind Maggot Therapy[J]. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 2014, 7(3):251-264.
- [43] Lipsky B A, Holroyd K J, Zasloff M. Topical versus systemic antimicrobial therapy for treating mildly infected diabetic foot ulcers: a randomized, controlled, double-blinded, multicenter trial of pexiganan cream[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2008, 47(12):1537-1545.
- [44] Yoon J H, Ingale S L, Kim J S, et al. Effects of dietary supplementation of synthetic antimicrobial peptide-A3 and P5 on growth performance, apparent total tract digestibility of nutrients, fecal and intestinal microflora and intestinal morphology in weanling pigs[J]. *Livestock Science*, 2014, 159(53-60).
- [45] Xiao H, Shao F Y, Wu M M, et al. The application of antimicrobial peptides as growth and health promoters for swine[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2015, 6(1):19.
- [46] Yi H, Zhang L, Gan Z, et al. High therapeutic efficacy of Cathelicidin-WA against postweaning diarrhea via inhibiting inflammation and enhancing epithelial barrier in the intestine[J]. *Scientific*

Reports,2016,6:25679.

[47] Xiao H,Tan B E,Wu M M,et al.Effects of composite antimicrobial peptides in weanling piglets challenged with deoxynivalenol: II. Intestinal morphology and function[J].Journal of Animal Science,2013,91(10):4750-4756.

[48] Yoon J H,Ingale S L,Kim J S,et al.Effects of dietary supplementation of antimicrobial peptide-A3 on growth performance, nutrient digestibility, intestinal and fecal microflora and intestinal morphology in weanling pigs[J].Animal Feed Science and Technology,2012,177(1-2):98-107.

Structure, Function and Application of Antimicrobial Peptides

SHAN Anshan* WANG Jiajun DOU Xiuqing ZHU Xin XU Lin LI Weizhong

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Antimicrobial peptides (AMPs), critical components in the innate immunity system, are widely distributed throughout the animal and plant kingdoms. They can protect against a broad array of infectious agents, such as bacteria, fungi, parasites, viruses and tumour cells, also demonstrate immunomodulatory activity. AMPs exert antimicrobial mechanism primarily through mechanistic membrane disruption, and thus they have a less likelihood to induce drug resistance. This review summarizes recent advances of AMPs in structure, function and application in food, medicine and animal.

Key words: antimicrobial peptides; structure; function; application

* Corresponding author, professor, E-mail: asshan@neau.edu.cn

沙葱提取物在舍饲肉羊养殖中的应用研究进展

敖长金* 刘旺景 哈斯额尔敦 萨茹丽 木其尔 王翠芳

(内蒙古农业大学动物科学学院, 呼和浩特 010018)

摘要: 本文主要综述了沙葱及其提取物的主要生物活性成分, 活性成分的生物学作用以及在舍饲肉羊生产中的实际应用效果。一方面, 揭示了沙葱天然提取物诸多生物学活性功能, 挖掘其代替抗生素的潜质, 为植物源多功能饲料添加剂的开发与应用提供参考依据; 另一方面, 有利于沙葱原材料的进一步深加工, 提高沙葱种植户的收入, 促进地区经济发展, 对沙葱及其提取物的进一步研究具有重要意义。

关键词: 肉羊; 沙葱提取物; 活性成分; 舍饲; 应用

基于目前我国的国情, 肉羊的放牧模式被逐步限制^[1], 而舍饲或半舍饲快速育肥已经成为当今养羊业的主流模式。这种饲养模式下虽然效益较以往有所提高, 但是在肉羊生产和畜产品品质上出现诸多问题。抗生素的过度使用, 加之随着人们生活水平的不断提高, 其在追求营养的前提下, 更加注重绿色、无污染的畜产品来源。因此, 天然、新型、绿色的饲料添加剂产品的研究和开发利用成了各国学者研究的热门领域之一^[2]。

沙葱 (*Allium Mongolicum* Regel) 又名蒙古韭, 为百合科 (*Liliaceae*), 葱属 (*Allium*), 鳞茎丛生草本植物, 它是生长在沙漠、荒地等干旱地区的天然优质牧草, 广泛分布在内蒙古、新疆、青海等地^[3]。沙葱提取物是一类来源于天然沙葱具有一种或多种活性成分的物质, 这些活性成分主要是沙葱在生长过程中产生的一些次级代谢产物, 当其进入动物机体后有效成分的官能团与靶器官相关因子结合位点结合, 进而发挥其调节功能。课题组研究发现沙葱及其提取物对肉羊机体具有良好的抗氧化活性, 同时对于提升其生产性能、免疫机能和羊肉品质和风味等方面也有积极的作用。

1 沙葱及其提取物的主要生物学活性成分

沙葱及其提取物作为饲料添加剂发挥其生物学功能的物质基础在于其含有多种活性成分。卢媛 (2002)^[5]研究发现沙葱冻干粉中初步检出 26 种活性成分, 这些活性成分主要为烷烃、非杂环含硫化合物和一些带芳香气味的酚类以及醛类化合物。张巧娥 (2007)^[6]发现沙葱在三个不同生长时期 (生长前期、开花期、生长后期) 的脂溶性提取物中的化合物类型基本相同, 主要活性成分为烷烃、氮类化合物、醇类、酸类和酚类。

1.2 沙葱黄酮类化合物的主要活性成分

黄酮类化合物广泛存在于蔬菜、牧草和药用植物中, 是植物在长期自然选择过程中产生的次级代谢产物。赵春艳 (2008)^[7]采用液相色谱-电喷雾离子化-质谱串联技术鉴定不同浓度乙醇溶液洗脱液中沙葱黄酮的结构, 鉴定得出 30% 的乙醇含有 8 种黄酮类化合物, 50% 的乙醇含有 7 种黄酮类化合物, 95% 的乙醇含有 2 种黄酮类化合物。萨茹丽 (2014)^[8]将沙葱

基金项目: 国家自然科学基金, 地区科学基金项目(31260558, 31160474)。

作者: 敖长金, 教授, 博士生导师, E-mail: changjinao@aliyun.com

黄酮用聚酰胺柱层析进行梯度洗脱,测得 35%乙醇洗脱组组分除了含有单糖还含有 3', 4'-环氧基-7-O-5-甲氧基黄酮醇和 7-O-5,4'-二氧甲基-3'-羟基黄酮;55%乙醇洗脱组组分含有糖类、芦丁、木犀草素-5'-O-葡萄糖-4-羟基苯丙酸和异槲皮苷,故用不同浓度的乙醇洗脱时沙葱黄酮的组分存在一定的差异。

1.3 沙葱多糖类化合物的主要活性成分

多糖类化合物是自然界中含量最丰富的生物聚合物,它是由 10 个以上的单糖通过糖苷键连接形成线型或支链的高聚物。扈瑞平(2010)^[9]对活性炭脱色后的沙葱多糖进行 SephadexG-100 凝胶柱层析纯化,收集单一峰溶液冷冻干燥后经紫外光谱、纸层析、比旋光度法和凝胶柱层析法联合检验为均一多糖。经检测沙葱多糖的纯度为 87.32%,得率为 1.97%,其余非糖成分包括游离氨基酸、灰分、粗脂肪以及微量元素。

1.4 沙葱挥发油的主要活性成分

挥发油又称精油,是广泛存在于天然植物中,可通过水蒸气蒸馏的方法得到的易挥发的油状液体,具有芳香气味,不溶于水,易溶于乙醇等有机溶剂。植物精油成分复杂,按照化学结构分为芳香族、脂肪族和萜类。乌仁张嘎(2011)^[10]采用水蒸气蒸馏法提取沙葱挥发油。用气相色谱-质谱联用仪对沙葱挥发油的化学组成进行了分析鉴定,结果共检出 37 种化合物,绝大多数为含硫化合物。

2 沙葱及其提取物对舍饲肉羊抗氧化和免疫机能的影响

2.1 沙葱及其提取物对舍饲肉羊抗氧化机能的影响及其作用机理

舍饲肉羊因受饲养模式、环境和采食种类的影响,使机体抗氧化应激机能与生长速度严重脱节,活性氧以及自由基导致的氧化损伤被认为是导致肉羊抗氧化机能下降的主要原因^[11-13]。通常在肉羊饲粮中添加抗氧化剂来提升舍饲肉羊机体抗氧化应激的能力。木其尔(2016)^[14]研究发现小尾寒羊饲粮中添加不同浓度(11、22、33 mg/Kg)的沙葱总黄酮,对血清、肝脏以及脾脏 T-SOD 的活力,血清 CAT 的活力,血清、脾脏 GSH-PX 的活力有一定的提高作用,并降低血清、肝脏 MDA 的含量,其中 33 mg/Kg 沙葱总黄酮的作用最强。得出结论,小尾寒羊饲粮中添加 11-33 mg/Kg 的沙葱总黄酮可显著提高肉羊体内抗氧化指标,并其效果具有时间以及剂量依赖性,饲喂 30 d 后沙葱黄酮开始发挥其体内抗氧化能力。

天然植物沙葱中含有黄酮、多糖以及萜烯类化合物等生物学活性成分^[15]。多糖抗氧化活性源于其自由基清除能力、还原能力以及对抗氧化酶基因表达的诱导能力^[16]。目前对于沙葱及其提取物提高舍饲肉羊抗氧化能力的机理尚不清楚,有待进行进一步的研究。

2.2 沙葱及其提取物对舍饲肉羊免疫机能的影响及其作用机理

课题组对沙葱及其提取物作用于舍饲肉羊机体免疫已有诸多研究报道。萨茹丽(2015)^[17]体外培养试验研究发现,随着沙葱黄酮浓度的增加与共同培养时间的延长,绵羊外周血淋巴细胞增殖率呈逐渐上升后趋于平稳的趋势并且沙葱黄酮添加量为 100 $\mu\text{g/mL}$,培养时间为 12 h 时对淋巴细胞增殖效果最好;沙葱黄酮能够上调绵羊外周血淋巴细胞中免疫应答因

子 *IFN-γ* mRNA 的表达, 下调 *IL-4* mRNA 的表达, 从而促进绵羊外周淋巴血细胞免疫调节活性。木其尔 (2017) [18] 研究报道小尾寒羊饲料中添加 11-33 mg/Kg 的沙葱黄酮, 可促进其外周血淋巴细胞的转化, 使细胞向 DNA 合成期转化, 促进细胞分裂, 对细胞凋亡有显著促进作用, 并且以添加 33 mg/Kg 的沙葱黄酮效果最佳。陈圣阳 (2018) [19] 研究表明在肉羊饲料中添加 22-33 mg/Kg 的沙葱黄酮能够显著增加肠道组织免疫因子 β -防御素-1 (*sBD-1*) 和 β -防御素-2 (*sBD-2*) 基因的表达, 从而改善肉羊肠道的免疫机能。

沙葱及其提取物提高舍饲肉羊免疫机能的机理研究主要集中在沙葱多糖及黄酮提取物。赵飞艳 (2013) [20] 在上述研究的基础上更深一步的探讨沙葱多糖提高肉羊免疫的机制, 前人研究表明, 环核苷酸 (cAMP, cGMP) 与 Ca^{2+} 可协同促进淋巴细胞活化 [21-23], 而 cAMP 能够通过促进诱导性一氧化氮合酶 (iNOS) 基因的表达, 从而促进 NO 的合成 [24], NO 能够通过激活溶性鸟苷酸环化酶 (sGC), 从而提高细胞内 cGMP 水平 [25]。沙葱多糖可提高绵羊外周血淋巴细胞 Ca^{2+} 的浓度, 同时可提高外周血淋巴细胞中 cAMP 和 cGMP 的浓度, 并促进外周血淋巴细胞合成 NO, 推测沙葱多糖发挥免疫调节作用的部分机制是: 通过改变 Ca^{2+} 、cAMP、cGMP 和 NO 等信号分子的浓度, 影响免疫系统的信号传导, 进而实现其免疫调节作用。

3 沙葱及其提取物对舍饲肉羊生产性能的影响

饲料成本约占肉羊饲养成本的 70%, 因此对饲料成本的控制直接决定着养殖户的经济效应。如何提高肉羊的采食量、日增重, 降低料肉比是肉羊养殖领域亟待解决的问题。卢媛 (2002) [5] 研究发现饲料中添加不同水平的沙葱冻干粉饲喂杂种育成羊, 可显著提高试验羊的日增重和屠宰率。陈仁伟 (2016) [26] 在舍饲肉羊饲料中添加不同浓度梯度的沙葱黄酮, 显著提高肉羊平均日采食量、平均日增重, 显著降低料肉比, 且确定沙葱黄酮的最佳添加量范围为 22-33 mg/kg。

因此, 肉羊饲料中添加适宜剂量的沙葱及其提取物 (沙葱多糖、沙葱黄酮) 能够提高肉羊的生产性能, 推测可能的原因: 一方面, 饲料中添加沙葱及其提取物后, 提高饲料的适口性, 肉羊更喜采食, 促进唾液和消化液的分泌, 进而提高饲料的利用率; 另一方面, 沙葱及其提取物中的生物学活性成分能够增加纤维素、半纤维素分解菌等优势菌群在瘤胃和肠道的定植, 与其拮抗、竞争的菌群在活性成分的作用下, 数量减少、活性降低, 最终抑制了该类菌群相对丰度的增加, 改善肉羊瘤胃微生物区系, 提高饲料转化率。

4 沙葱及其提取物对舍饲肉羊肉品质和风味的影响

4.1 沙葱及其提取物对舍饲肉羊肉品质的影响

羊肉品质受环境因素、饲料因素、机体健康状况、屠宰方式等诸多因素的影响, 其中营养因素对肉品的影响最为直接。羊肉品质主要从肉羊屠宰性能 (屠宰率、胴体重、GR 值等)、理化指标 (水分、蛋白质、脂肪酸、氨基酸等) 和食用品质 (肉色、嫩度、熟肉率、滴水损失、多汁性等) 这几个方面进行评定。赵国芬 (2007) [27] 在蒙古羯羊饲料中添加 4% 沙葱,

与对照组相比背最长肌黄色程度显著下降,肉品中蛋白含量、屠宰率以及熟肉率显著升高,而剪切力显著下降;显著提高其肾脂中有益脂肪酸 CLA 的含量^[28],而 CLA 在降低动物脂肪沉积、提高瘦肉率进而改善肉品质等方面效果显著^[29]。陈仁伟(2016)^[26]在肉羊饲料中添加不同浓度的沙葱黄酮,显著提高了羊肉熟肉率,降低其剪切力和滴水损失;背最长肌中多不饱和脂肪酸和必需氨基酸的含量显著提高,羊肉品质得以提高。近年来新型绿色饲料添加剂作为有效营养调控手段进而改善羊肉品质方面的研究较多,但是营养调控机理尚不明确。

4.2 沙葱及其提取物对舍饲肉羊风味的影响

集约化养殖已经成为当今肉羊养殖业的趋势,养殖者过于强调其生产性能,而忽略了羊肉品质,特别是风味下降的问题。本课题组多年研究发现,沙葱及其提取物对舍饲肉羊其羊肉风味有显著的提升作用。赵国芬(2007)^[30]研究表明沙葱能提高羊肉中肌苷酸(IMP)的含量,具有改善羊肉鲜味的作用。张巧娥(2008)^[31]选取 60 只 10 月龄的蒙古羯羊,随机分成 5 组,对照组饲喂基础饲料,试验组分别在基础饲料中添加 4%的鲜沙葱、335 mg/kg 沙葱乙醇提取物、30 mg/Kg 沙葱乙醚提取物以及 365 mg/Kg 沙葱乙醇提取物和乙醚提取物的混合物;研究结果表明混合组显著提高背最长肌和半膜肌中风味前体物 IMP 和总还原糖的含量,降低羊肉膻味,改善肉的品质。4-甲基辛酸被认为是造成羊肉膻味的直接原因^[32]。刘旺景^[33]研究报道肉羊饲料中添加 11-22 mg/Kg 的沙葱黄酮可显著降低肉羊肌内脂肪中 4-甲基辛酸的含量,从而改善羊肉风味。

5 小结

沙葱及其提取物在舍饲肉羊生产性能、机体抗氧化和免疫机能、肉品质和风味等方面有显著的提升以及改善作用,推测可能是沙葱及其提取物中的活性成分在肉羊机体中发挥了相应的生物学活性作用。但目前对于沙葱及其提取物研究与开发存在诸多限制性因素,首先是生产成本的问题,沙葱提取物其原料成本相对较高,提取过程相对繁琐,得率较低,后期可以通过天然有效成分的人工合成,优化提取工艺,进而降低生产成本;其次是沙葱及其提取物的安全用量问题,通过体内和体外共同试验相结合,对不同品种和不同生长阶段肉羊的有效剂量需要量进行试验确定,来提高其应用价值;最后对于沙葱及其提取物生物学活性作用的机理研究,目前沙葱及其提取物在肉羊机体中的消化、转运和代谢过程研究的尚不透彻,下一步需要从深层次阐明沙葱及其提取物在肉羊体内的作用机制、毒理效应和代谢通路,为天然植物源饲料添加剂的开发和应用打下坚实基础。

参考文献

- [1]. Wishart H, Morgan-Davies C, Stott A, et al. Liveweight loss associated with handling and weighing of grazing sheep[J]. Small Ruminant Research, 2017, 153:163-170.
- [2]. 李秉龙,李金亚.我国肉羊产业的区域化布局、规模化经营与标准化生产[J].中国畜牧杂志,2012, 48(2):56-58.
- [3]. Rollin B E. Antibiotic Use and the Demise of Husbandry [J]. Journal of Ethics, 2018,

22(1):45-57.

- [4]. 刘旺景, 敖长金, 萨茹丽,等. 植物提取物抑菌活性及作用机理[J]. 动物营养学报, 2016, 28(8):2344-2352.
- [5]. 卢媛. 沙葱、地椒风味活性成分及其对绵羊瘤胃发酵和羊肉风味的影响[D]. 硕士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2002: 32-35.
- [6]. 张巧娥. 沙葱提取物的分离鉴定及其对绵羊消化道共轭亚油酸含量和胴体脂肪沉积影响的研究[D]. 博士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2007: 30-35.
- [7]. 赵春艳. 沙葱中黄酮类化合物的分离纯化、结构鉴定及其对小鼠免疫抗氧化机能影响的研究[D]. 博士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008: 38-45.
- [8]. 萨茹丽. 沙葱黄酮提取工艺优化、结构鉴定及其相关生物活性研究[D]. 博士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014: 4-5.
- [9]. 扈瑞平. 沙葱多糖的分离、纯化和结构鉴定及其生物学活性的研究[D]. 博士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010: 35-38.
- [10]. 乌仁张嘎. 沙葱挥发油的提取、成分鉴定及其体外抑菌效果的研究[D]. 硕士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011: 20-23.
- [11]. Booyens K E, Einkamerer O B, Hugo A, et al. Fatty acid composition and oxidative stability of lambs' meat as affected by a bioflavonoid antioxidant and fat sources [J]. South African Journal of Animal Science, 2012, 42(42):483-487.
- [12]. Oroian M, Escriche I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis [J]. Food Research International, 2015, 74:10-13.
- [13]. Shahidi F, Zhong Y. Measurement of antioxidant activity [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18(12):757-781.
- [14]. 木其尔, 敖长金, 萨茹丽,等. 沙葱总黄酮对肉羊抗氧化能力的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(6):1823-1831.
- [15]. 敖长金. 沙葱化学成分及其生物学功能研究进展[J]. 饲料工业, 2010, 31(18):1-5.
- [16]. Al-Rasheed N M, Fadda L M, Ali H M, et al. New mechanism in the modulation of carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats using different natural antioxidants [J]. ToxicolMech Methods, 2016, 26(4):1-8.
- [17]. 萨茹丽, 木其尔, 王翠芳,等. 沙葱黄酮对绵羊外周血淋巴细胞增殖及 IL-2、IL-4、IFN- γ mRNA 表达的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(6):1063-1070.
- [18]. 木其尔, 王贵, 敖长金,等. 沙葱黄酮对肉羊外周血淋巴细胞转化率和凋亡率的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(3):866-873.
- [19]. 陈圣阳,敖长金,郑彦楷,陈仁伟,刘旺景,木其尔,白晨. 沙葱黄酮对肉羊生产性能和肠道组织 β -防御素基因表达的影响[J].动物营养学报, 2018, 30(03):1095-1102.

- [20].赵飞艳. 沙葱多糖对绵羊外周血淋巴细胞免疫功能的影响及其相关机制[D]. 博士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2013:62-67.
- [21].Komissarenko S V. Cyclic nucleotide levels in activated human T lymphocytes [J]. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal*, 1988, 60(3):30-30.
- [22].Freedman M H, Raff M C, Gomperts B. Induction of increased calcium uptake in mouse T lymphocytes by concanavalin A and its modulation by cyclic nucleotides[J]. *Nature*, 1975, 255 (5507): 378-82.
- [23].Bredt D S, Ferris C D, Snyder S H. Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase C, and calcium/calmodulin protein kinase; identification of flavin and calmodulin binding sites[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267(16):10976-10981.
- [24].Galea E, Feinstein D L. Regulation of the expression of the inflammatory nitric oxide synthase (NOS2) by cyclic AMP [J]. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1999, 13(15):2125-2125.
- [25].Nelson M T, Patlak J B, Worley J F, et al. Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone [J]. *American Journal of Physiology*, 1990, 259(1):3-18.
- [26].陈仁伟. 沙葱黄酮对肉羊生产性能及其肉品质的影响[D]. 硕士学位论文.呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016:24-29.
- [27].赵国芬, 赵志恭, 敖长金,等. 沙葱和油料籽实对羊肉品质常规指标的影响[J]. *饲料工业*, 2007, 28(15):39-42.
- [28].赵国芬, 敖长金, 赵志恭,等. 沙葱和油籽对羊肉中 CLA 和 PUFA 含量的影响[J]. *饲料工业*, 2008, 29(17):35-37.
- [29].慕向东. 共轭亚油酸对羔羊免疫反应和肉品质的影响[D]. 博士学位论文.北京: 中国农业大学, 2007:23-34.
- [30].赵国芬, 敖长金, 赵志恭,等. 沙葱和油籽对羊肉中肌苷酸和腺苷酸含量的影响[J]. *华北农学报*, 2007, 22(1):164-166.
- [31].张巧娥, 敖长金, 哈斯. 沙葱提取物对舍饲肉羊羊肉风味前体物含量的影响[C]// 中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十次学术研讨会论文集. 2008.
- [32].Wong, E., Nixon, L. N., & Johnson, C. B.. Volatile medium chain fatty acids and mutton flavor[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1975, 23, 495-498.
- [33].刘旺景, 陈仁伟, 敖长金, 等. 沙葱黄酮对肉羊肌肉脂肪致臃物质含量的影响[C]// 中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十二次学术研讨会论文集. 2016.

壳聚糖的生物学活性及其在奶牛生产中的应用研究进展

童津津¹ 蒋林树^{5*}

(1.奶牛营养学北京市重点实验室, 北京农学院动物科学技术学院, 北京 1022062)

摘 要: 壳聚糖作为一种天然活性产物, 因其具有较强的免疫活性和抗菌功能, 应用极其广泛。在奶牛生产中, 壳聚糖及其衍生物作为饲料添加剂, 不仅可提高奶牛产奶量, 改善牛奶品质, 更有研究证实壳聚糖可在不影响奶牛产奶性能及身体健康的情况下, 减少反刍动物瘤胃甲烷排放, 为缓解全球的温室效应提供新思路。壳聚糖又因其具有无耐药性、安全、无残留等优点, 因而, 在奶牛中能有效地治疗奶牛乳房炎, 调节机体免疫力, 提高乳房炎奶牛的抗氧化能力和促进炎症康复等作用。本文对壳聚糖在奶牛生产中的应用进展进行综述。

关键词: 壳聚糖; 抗菌; 奶牛乳腺上皮细胞; 乳腺炎; 奶牛

1 壳聚糖的分子结构及生物学特性

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基得到的产物, 化学名称是 β -(1,4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖。而甲壳素是节肢动物和霉菌外骨骼中的主要成分, 由 N-乙酰-D-氨基葡萄糖单体单元与 β -1,4-糖苷键连接而成, 又称壳聚糖是甲壳素的脱乙酰化形式^[1]。在常温下, 壳聚糖为白色半透明、略带有珍珠光泽的固体, 不溶于碱液以及强酸, 但可溶于稀盐酸和多数有机酸^[4]。壳聚糖具有良好的吸附性、吸湿性、成膜性、通透性以及较好的生物相容、生物降解等特性^[2], 是一种无毒无害、无二次污染的环保材料, 广泛应用于纺织、医学、食品、化妆品等领域^[3]。甲壳素分子基本单位为乙酰基葡萄糖, 溶解度极小, 而壳聚糖分子基本单位为氨基葡萄糖, 分子中含有羟基和氨基, 化学活性和溶解度均远大于甲壳素^[4], 因此壳聚糖在实际应用方面具有更加广泛的前景。

壳聚糖的脱乙酰度与物理化学性质有很大关系, 可调节机体内不同的信号和因子。如壳聚糖的溶解度、富集离子的能力、絮凝力和 N-选择性酰化能力等性质^[5]。据报道, 壳聚糖的分子量越小, 其对大肠杆菌的抗菌作用越明显。质子化壳聚糖在体内和体外与生长因子, 核酸和细胞因子等负电荷分子结合, 并与各种生物活性因子共同作用, 增强特定的细胞增殖或诱导干细胞分化为功能分化的细胞^[6]。Arkoun 等^[12]研究发现, 壳聚糖使带负电荷的细菌细胞壁造成膜破裂, 使其胞内的蛋白质和 DNA 释放, 证明壳聚糖可作为一种细菌膜干扰物和射孔器。

2 壳聚糖与上皮细胞的相互作用

壳聚糖对上皮细胞的调控作用已得到广泛研究。据报道, 因壳聚糖具有黏膜粘附力及带

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31772629); “十三五”国家重大科技专项 (2016YFDO700201); 北京市农业局北京市现代农业产业技术体系奶牛创新团队。

第一作者简介: 童津津 (1985-), 女, 哈尔滨, 博士后; 主要研究方向: 奶牛营养与免疫。手机: 13613613901; E-mail: tongjinjin0451@163.com; 孙铭维 (1994-), 男, 河北定州人, 硕士研究生; 主要研究方向: 奶牛营养与免疫。手机: 18633274899; E-mail: 809398284@qq.com。

*通讯作者: 蒋林树, 教授, 博士, E-mail: kjxnb@vip.sina.com。

有正电荷等特性，可有效促进肠道吸收^[7]，并通过激活肠上皮细胞的 AMPK 信号通路来改善肠道健康^[8]。壳聚糖还可促进各种胚胎和成人乳腺上皮细胞的增殖^[9]。壳聚糖制剂可修饰细胞粘附肽和其他缀合物，并显著提高了其支持细胞生长和维持动态平衡的能力^[10]。研究发现，壳聚糖刺激细胞表面的受体，充当配体并结合整联蛋白复合物，从而启动下游信号级联，对乳腺上皮细胞产生形态发生作用，并调节其生长、极性、形态和分化^[11]。在成体乳腺中，干细胞通过标志物表达（CD44，p63，CK8 / 18，CK5 / 14，ER 等）得到了很好的表征^[12]。然而，干细胞移植研究常常面临受损微环境的干扰，最终导致排斥或诱导免疫原性应答。研究发现，为了使微环境更适合移植细胞，壳聚糖可与乳腺的 ECM 组分如胶原蛋白 IV，层粘连蛋白，触角蛋白，纤维蛋白和蛋白多糖^[13]相互作用，进而起到保护作用。Nelson 等^[14]研究表明，乳腺上皮细胞悬浮在微胶原腔内，24 小时内在体外可组装成基底膜并极化成上皮细胞。Nowak 等^[15]研究发现，在含有壳聚糖成分的基质中，培养乳腺上皮细胞（MECs）可活化 $\alpha 6 \beta 1$ ，从而影响乳腺上皮细胞的存活和分化。Yang 等^[16]研究发现，在无血清条件下，外植体培养的壳聚糖生物材料在乳腺组织工程中具有广泛的应用潜力。壳聚糖和其他生长因子之间的这种相互作用，已经被解释为是由壳聚糖的阳离子性质所导致的，允许其与各种其他阴离子分子和生长因子相互作用。然而，壳聚糖及其衍生物在奶牛乳腺上皮细胞的影响及作用机制还有待进一步的研究。

3 壳聚糖在奶牛生产中的应用

3.1 对瘤胃发酵的影响

研究发现，壳聚糖可通过转移挥发性脂肪酸（VFA）和提高丙酸盐浓度，改变瘤胃发酵模式，影响乙酸和丁酸的产生，使瘤胃的甲烷产量下降，进而减少奶牛在采食过程中的能量损失^[17]。据报道，壳聚糖作用于产生 H^+ 的革兰氏阳性细菌的细胞壁^[18]，并干扰离子通量，导致瘤胃中乙酸与丙酸的比例降低，从而降低肠道 CH_4 排放^[19]。已有的研究表明，壳聚糖可促进奶牛瘤胃发酵类型的转变，使丙酸浓度增加，乙酸浓度减少，甲烷产量减少^[19]，微生物蛋白质的合成和纤维的分解增加^[20]，改变瘤胃内菌群结构^[21]，提高奶牛生产性能、免疫功能、抗氧化能力，以及改善后肠道菌群结构等^[22]。Goiri 等^[23]报道，当壳聚糖用于淀粉基质而不用于纤维素基质中时，体外试验中丙酸酯的含量增加，乙酸盐的浓度降低。Mingoti 等^[24]也观察到，当喂食给奶牛不同浓度的壳聚糖时，丙酸盐浓度随饲喂壳聚糖的浓度呈线性增加。据报道，壳聚糖减少了瘤胃中氨基酸脱氨，这是因为瘤胃中异亮氨酸和缬氨酸脱氨过程中，产生的异丁酸和异戊酸的支链脂肪酸使瘤胃浓度降低。瘤胃中氨基酸脱氨减少，则可以使氨基酸进一步到达十二指肠，从而提高氨基酸的利用率^[22]。壳聚糖还可增加牛奶中排泄的 N，而不改变 N 摄入量并提高利用率^[20]。

3.2 对免疫调节的影响

壳聚糖作为一种安全、无毒的饲料添加剂，在单胃动物上的研究和应用较多，且被证实可改善猪的生长性能和免疫力^[25]，提高鸡的生长性能、养分代谢、影响胃肠道环境、抗氧

化能力^[26]等。相对而言,有关壳聚糖对反刍动物作用的研究较少。已有研究表明,壳聚糖对奶牛乳房炎具有免疫调节作用。据报道,日粮中添加 0.1% 的壳聚糖,可提高奶牛血清中免疫球蛋白 IgG 和 IgM 的含量、血液中淋巴细胞总数、淋巴细胞百分含量及淋巴细胞的转化率,能够增强奶牛机体的体液免疫功能^[27]。而用壳聚糖饲喂患有乳房炎的奶牛,结果表明,血液中活性 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞数显著升高,中性粒细胞吞噬率和吞噬指数下降,说明壳聚糖能够抵抗炎症、清除血清循环免疫复合物、调节中性粒细胞的吞噬活性、增强机体的体液免疫和细胞免疫的功能^[28]。其机制为壳聚糖的分子结构中的氨基也可能接受体内的质子,使体液的 pH 值升高,创造一个激活淋巴细胞的环境,从而提高细胞免疫、体液免疫及 NK 细胞的功能,强化免疫监视作用^[29]。另外,壳聚糖也可以通过促进双歧杆菌的生长、繁殖,间接调节免疫系统,因为它是一类双歧杆菌的促生长因子。双歧杆菌能够通过刺激肠黏膜潘氏细胞,激活肠黏膜免疫系统,促进免疫球蛋白(IgA)的分泌。同时,双歧杆菌还能增强小肠上皮内淋巴细胞的杀伤活性,加强其在肠道内的免疫监视作用,由此提高机体的免疫功能^[30]。

3.3 对乳房炎的影响

壳聚糖具有抑制多种细菌生长与活性、增强机体免疫力、抗病毒及降脂等多种生物学活性^[31],表现出类抗生素的特征^[32],并以安全、无残留且不易产生耐药性等特点成为奶牛乳房炎防治研究的热点。目前,在奶牛乳房炎预防与治疗期间,仍以抗生素为主。而抗生素在临床上长期,大剂量使用,导致病原微生物耐药性增强,抗生素疗效降低,且存在奶制品中抗生素残留严重超标等问题。因此有效控制奶牛乳房炎对当前奶业健康快速发展具有重要的现实意义。

3.3.1 抗菌作用

壳聚糖抗微生物特性尤其突出,具有很强的抗菌活性^[33]。主要是由于壳聚糖结构带有质子化铵,可在微酸性溶液中电离,使得壳聚糖带有正电荷,与细菌细胞膜带负电荷的物质相互作用,破坏细胞膜的稳定性,从而抑制微生物的正常代谢。据报道,壳聚糖主要有以下三个层次的相互作用方式:与外层细胞成分的相互作用;与细胞膜的相互作用;与胞质成分的相互作用^[34]。研究发现,通过电子显微镜检查各种壳聚糖处理的微生物表明,其作用的部位是在微生物细胞表面^[35]。而细菌细胞膜的性能和结构起着重要的作用,革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌对壳聚糖更敏感^[36],这种差异主要由于不同的细胞膜体系结构,革兰氏阳性菌的细胞壁,是由一层厚而致密的肽聚糖和磷壁酸组成,肽聚糖的肽链之间通过 75 个甘氨酸交联着;革兰氏阴性菌的细胞壁则是多层结构,细菌细胞膜由细胞壁和细胞质膜组成,革兰氏阴性细菌还包括半透性双层脂膜(外膜)。因此,细胞壁聚集负电荷的差异,决定了微生物对壳聚糖的敏感性。

通常认为,壳聚糖的聚阳离子性质,由带正电的 NH_2 基葡萄糖胺输送,引起细胞表面多方面的改变,胞内物质溢出,并最终导致细菌活性致命的损伤^[37]。聚阳离子大分子壳聚

糖和细菌细胞之间的初始接触,最有可能是与带负电荷的革兰氏阳性菌磷壁酸的介导发生静电反应。这与 Senel 等^[38]和 Iancu 等^[39]的研究结果结论一致,即壳聚糖对革兰氏阳性细菌具有很强的抗菌作用。此外,有研究指出,当环境 pH 值高于 6.3-6.5 时,壳聚糖的疏水和螯合作用对抗菌活性有影响;然而,在 Paiva 等^[40]的研究中,则显示了壳聚糖不受瘤胃 pH 值的影响。两处试验结果略有不同。带正电荷的壳聚糖可能被细胞吸收,它们与真菌和细菌的细胞 DNA 相互作用,从而抑制 DNA 以及 RNA 的转录和蛋白质的合成^[41]。曾有报道壳聚糖能穿透植物细胞,依据是壳聚糖应用到植物组织的表面 15 min 后,明显地检测到植物的细胞质和细胞核^[42]。因此,其作用机制一是壳聚糖和带负电荷的细胞膜成分(即磷脂和蛋白质)之间发生静电反应,二是与革兰氏阳性细菌细胞壁的氨基酸反应,三是与革兰氏阴性细菌外膜的脂多糖反应,从而影响细胞膜的完整性和渗透性。总之,细胞膜的电荷有助于壳聚糖抗菌活性。

另外,据报道,关鸣等^[43]研制一种含有水溶性壳聚糖成分的奶牛护蹄液,能有效杀灭和抑制奶牛蹄病感染性病原菌,并且促进蹄部伤口愈合,有效防止和治疗多种蹄病、提高奶牛自身免疫力和抗病力。尽管壳聚糖具有很强的抗菌活性^[41],但饲喂壳聚糖并没有引起微生物蛋白质合成的改变,并且在 Valle 等^[44]的研究中其对于奶牛的牛奶品质和产量并没有损害。根据任海军等研究发现,在添加 15 g/d 的壳聚糖时,与对照组相比,在饲料中添加壳聚糖的奶牛产奶量呈不同程度的增加。饲料中添加壳聚糖的组别平均每头牛每天多产奶 1.8 kg,整个 60 d 的试验期内,壳聚糖组平均每头牛每天多产 1.29 kg 牛奶^[27]。

3.3.2 对奶牛乳房炎的治疗

研究发现,壳聚糖在治疗奶牛临床型乳房炎时,对奶牛无任何副作用。且通过体外抑菌试验表明,水溶性壳聚糖对奶牛无乳链球菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、链球菌均有不同程度的抑制作用^[45]。Sudarshan 等^[46]证实,低浓度的壳聚糖抑菌能力最强,因为低浓度的壳聚糖可以中和细菌细胞表面所带的负电荷,使细菌细胞胶合在一起,而高浓度的壳聚糖可能使细菌细胞表面带上一定数量的正电荷,从而使细菌细胞处于悬浮状态,而不是胶合在一起,结果降低了壳聚糖的抑菌效果。据报道,对患有隐性乳房炎的奶牛,在日粮中添加不同浓度的低聚壳聚糖,结果表明,5 g/d 的壳聚糖可显著降低乳汁中体细胞的数量。Asli 等^[47]研究发现,应用 2.6 kDa 分子量的壳聚糖注射奶牛乳腺组织内,以剂量依赖的形式,对金黄色葡萄球菌的活性具有抑制作用。

奶牛乳房炎发生时,抗氧化能力起到重要作用。在正常情况下,机体内自由基的产生、利用、清除三者处于动态平衡,当乳房炎发生时,特定的免疫细胞就会引入相当数量的自由基来援助这些细胞杀死病原菌。而机体内的自由基产生过多,清除自由基的能力减弱,引起机体的脂质过氧化发生,破坏生物膜的结构,使乳腺感染的严重程度增加。研究发现,对患有乳房炎的奶牛饲喂壳聚糖时,结果表明,壳聚糖具有抗氧化功能,可调节奶牛机体自由基水平,并促进奶牛乳腺炎症的康复^[48]。任海军^[49]和郭晓萍等^[50]试验结果表明,在奶牛日粮

中添加壳聚糖可刺激奶牛的抗氧化功能,改善健康状况,降低乳汁中体细胞数,减少了乳腺组织感染乳腺炎的可能。

4 结 语

综上所述,壳聚糖在奶牛生产实践中具有广阔的应用前景,不仅可以改变瘤胃发酵模式,降低甲烷的产生,还能减少采食过程中的能量损失,提高饲料转化率。因其具有安全、无毒,抗菌等特性,在治疗奶牛乳房炎方面成为热点。然而壳聚糖对奶牛乳腺上皮细胞的作用机制以及如何调控机体的免疫反应,怎样通过信号通路的调控来发挥作用,还有待进一步的研究。此外,壳聚糖应用于奶牛生产实践过程中的安全性研究还有待进一步的深化。

Effect of Chitosan and its application in dairy production

Abstract:

Chitosan, as one of the most abundant natural polymers, has important industrial applications and is widely used. In dairy production, chitosan and its derivatives are used as feed additive, which can improve the milk production and milk quality and reduce methane emissions in the rumen of ruminant animals, without negative effect on the performance of dairy cows and health conditions, thus for providing a novel way to alleviate global greenhouse effect. In addition to its lack of toxicity and allergenicity, its biocompatibility, biodegradability, and bioactivity make chitosan very attractive for a wide range of biomaterial, pharmaceutical, and medical applications. Recently, increasing attention has been paid to the potential use of chitosan in a number of veterinary applications, such as mastitis treatment, regulate immunity, improvement of the antioxidant capacity of dairy cows. Overall, the effect of Chitosan on mammary epithelial cells of dairy cows and its application in dairy production were reviewed in this paper.

Key words: chitosan; antibacterial activity ; mammary epithelial cells; mastitis; dairy cows

参考文献

- [1] DEEPTHI S, VENKATESAN J, KIM S K, et al. An overview of chitin or chitosan/nano ceramic composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES, 2016, 93: 1338-1353.
- [2] ANITHA A, SOWMYA S, KUMAR P T S, et al. Chitin and chitosan in selected biomedical applications[J]. PROGRESS IN POLYMER SCIENCE, 2014, 39(9): 1644-1667.
- [3] 孙晓婷, 郭亚. 壳聚糖的应用及发展[J]. 成都纺织高等专科学校学报, 2016, 33(2): 165-169.
- [4] LI X, MIN M, DU N, et al. Chitin, Chitosan, and Glycated Chitosan Regulate Immune

*Corresponding authors: JIANG Linshu, professor, E-mail: kjsxnb@vip.sina.com

- Responses: The Novel Adjuvants for Cancer Vaccine[J].Clinical & Developmental Immunology,2013,2013(7378):387023.
- [5] BALÁZS N,SIPOS P.Limitations of pH-potentiometric titration for the determination of the degree of deacetylation of chitosan[J].CARBOHYDRATE RESEARCH,2007,342(1):124.
- [6] RODRÍGUEZVÁZQUEZ M,VEGARUIZ B,RAMOSZÚÑIGA R,et al.Chitosan and Its Potential Use as a Scaffold for Tissue Engineering in Regenerative Medicine[J].Biomed Research International,2015,2015(2).
- [7] 孙露银,闫彩凤.壳聚糖促进肠道上皮细胞吸收的机制[J].医学综述,2015(20):3686-3688.
- [8] MUANPRASAT C,WONGKRASANT P,SATITSRI S,et al.Activation of AMPK by chitosan oligosaccharide in intestinal epithelial cells: mechanism of action and potential applications in intestinal disorders[J].BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY,2015,96(3):225-236.
- [9] GANDRA J R,OLIVEIRA E R D,TAKYA C,et al.Chitosan improves the chemical composition, microbiological quality, and aerobic stability of sugarcane silage[J].Animal Feed Science & Technology,2016,214:44-52.
- [10] LAUTO A,MAWAD D.Chitosan-ECM Bandages for Photochemical Tissue Repair: Quantum Electronics Conference & Lasers and Electro-Optics, 2014.
- [11] TADDEI I,FARALDO M M,TEULIÈRE J,et al.Integrins in mammary gland development and differentiation of mammary epithelium[J].Journal of Mammary Gland Biology & Neoplasia,2003,8(4):383-394.
- [12] SHARMA N,JEONG D K.Stem Cell Research: A Novel Boulevard towards Improved Bovine Mastitis Management[J].International Journal of Biological Sciences,2013,9(8):818.
- [13] PATIL S V,NANDURI L S Y.Interaction of Chitin/Chitosan with Salivary and other epithelial cells – An Overview[J].INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES,2017.
- [14] NELSON C M,KHAUV D,BISSELL M J,et al.Change in Cell Shape Is Required for Matrix Metalloproteinase-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition of Mammary Epithelial Cells[J].JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY,2008,105(1):25-33.
- [15] NOWAK M,FREUDENBERG U,TSURKAN M V,et al.Modular GAG-matrices to promote mammary epithelial morphogenesis in vitro[J].BIOMATERIALS,2016,112:20.
- [16] YANG T L,LIN L,HSIAO Y C,et al.Chitosan biomaterials induce branching morphogenesis in a model of tissue-engineered glandular organs in serum-free conditions[J].TISSUE ENGINEERING PART A,2012,18(21-22):2220.
- [17] BELANCHE A,PINLOCHE E,PRESKETT D,et al.Effects and mode of action of chitosan and ivy fruit saponins on the microbiome, fermentation and methanogenesis in the rumen

- simulation technique[J].FEMS MICROBIOLOGY ECOLOGY,2016(1).
- [18] POULSEN M,SCHWAB C,BORG J B,et al.Methylophilic methanogenic Thermoplasmata implicated in reduced methane emissions from bovine rumen[J].Nature Communications,2013,4(2):66-78.
- [19] DANIELSSON R,DICKSVED J,SUN L,et al.Methane Production in Dairy Cows Correlates with Rumen Methanogenic and Bacterial Community Structure[J].Frontiers in Microbiology,2017,8:226.
- [20] 张静.壳聚糖对奶牛产奶性能、营养物质消化及相关血清生化指标的影响[D].内蒙古农业大学,2015.
- [21] KITTELMANN S,PINARESPATIÑO C S,SEEDORF H,et al.Two Different Bacterial Community Types Are Linked with the Low-Methane Emission Trait in Sheep[J].PLOS ONE,9,7(2014-7-31),2014,9(7):e103171.
- [22] 田雨佳,闫素梅,任海军,等.壳聚糖在奶牛瘤胃中的降解率及其对瘤胃发酵的影响[J].中国畜牧杂志,2011,47(19):53-56.
- [23] GOIRI I,GARCIARODRIGUEZ A,OREGUI L M.Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage[J].Animal Feed Science & Technology,2009,148(2):276-287.
- [24] MINGOTI R D,FREITAS J E,GANDRA J R,et al.Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in holstein dairy cows[J].Livestock Science,2016,187:35-39.
- [25] OKAMOTO Y,WATANABE M,MIYATAKE K,et al.Effects of chitin/chitosan and their oligomers/monomers on migrations of fibroblasts and vascular endothelium[J].BIOMATERIALS,2002,23(9):1975-1979.
- [26] LIU P,PIAO X S,KIM S W,et al.Effects of chito-oligosaccharide supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and fecal shedding of Escherichia coli and Lactobacillus in weaning pigs[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,2008,86(10):2609-2618.
- [27] 田丰,任海军,史彬林,等.壳聚糖对奶牛产奶性能、乳体细胞数及血清免疫球蛋白的影响[J].饲料工业,2009,30(5):31-33.
- [28] 商常发,陈会良,顾有方,等.壳聚糖对乳房炎奶牛免疫功能的影响[J].中国牛业科学,2006,32(6):45-49.
- [29] TOKURA S,TAMURA H,AZUMA I.Immunological aspects of chitin and chitin derivatives administered to animals[J].Exs,1999,87(87):279-292.
- [30] 陈文学,史俊华.双歧杆菌的研究进展[J].中国微生态学杂志,2000,12(5):298-300.

- [31] 周小洁,车向荣,于霏.壳聚糖的生物学功能及其在家禽生产中的应用[J]. 畜禽业,2005(1):16-19.
- [32] 章廊,胡正华,徐强,等.壳聚糖对奶牛乳腺炎的疗效及血清铜镁的影响[J].上海畜牧兽医通讯,2012(6):18-19.
- [33] KONG M, CHEN X G, XING K, et al. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review[J]. INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY, 2010, 144(1):51.
- [34] PRODHAN M Y, ISSAK M, NAKAMURA T, et al. Chitosan signaling in guard cells requires endogenous salicylic acid[J]. Bioscience Biotechnology & Biochemistry, 2017:1.
- [35] SAVARD T, BEAULIEU C, BOUCHER I, et al. Antimicrobial action of hydrolyzed chitosan against spoilage yeasts and lactic acid bacteria of fermented vegetables[J]. JOURNAL OF FOOD PROTECTION, 2002, 65(5):828.
- [36] DINA R, HANS GEORG S. Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey[J]. Microbial Biotechnology, 2009, 2(2):186-201.
- [37] ZAKRZEWSKA A, BOORSMA A, BRUL S, et al. Transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to the plasma membrane-perturbing compound chitosan[J]. EUKARYOTIC CELL, 2005, 4(4):703.
- [38] SENEL S, MCCLURE S J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine[J]. ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS, 2004, 56(10):1467-1480.
- [39] LANCTÔT S, FUSTIER P, TAHERIAN A R, et al. Effect of intramammary infusion of chitosan hydrogels at drying-off on bovine mammary gland involution[J]. JOURNAL OF DAIRY SCIENCE, 2017, 100(3):2269-2281.
- [40] PAIVA P G D, JESUS E F D, VALLE T A D, et al. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition of dairy cows[J]. Animal Production Science, 2016, 57(2).
- [41] RABEA E I, BADAWY E T, STEVENS C V, et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action[J]. BIOMACROMOLECULES, 2003, 4(6):1457.
- [42] HADWIGER L A, BECKMAN J M, ADAMS M J. Localization of Fungal Components in the Pea-Fusarium Interaction Detected Immunochemically with Anti-chitosan and Anti-fungal Cell Wall Antisera[J]. PLANT PHYSIOLOGY, 1981, 67(1):170-175.
- [43] 关鸣,叶锋,张一楠,等. 一种奶牛护蹄液及其制备方法[Z]. 2016.
- [44] VALLE T A D, PAIVA P G D, JESUS E F D, et al. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid-lactation dairy cows[J]. Livestock Science, 2017, 201:22-29.
- [45] 孙先明,刘思当,季云峰.壳聚糖对奶牛免疫功能及生产性能的影响[J].中国兽医杂

志,2008,44(1):40-41.

- [46] FRETER R,STAUFFER E,CLEVEN D,et al.Continuous-flow cultures as in vitro models of the ecology of large intestinal flora[J].Infection & Immunity,1983,39(2):666.
- [47] ASLI A,BROUILLETTE E,STER C,et al.Antibiofilm and antibacterial effects of specific chitosan molecules on *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis[J].PLoS One,2017,12(5):e176988.
- [48] 商常发,陈会良,金光明,等.壳聚糖对乳房炎奶牛血清自由基代谢的影响[J].中国草食动物科学,2006,26(3):44-46.
- [49] 任海军.壳聚糖对奶牛产奶性能和免疫功能影响的研究[D].内蒙古农业大学,2008.
- [50] 郭小萍,范守民,刘宜勇,等.低聚壳聚糖对隐性乳房炎奶牛产奶性能和体细胞数的影响[J].草食家畜,2016(4):32-35.

酶制剂功能从提高营养消化到降低营养代谢

——饲料酶制剂营养功能认识的跨越

冯定远

(华南农业大学动物科学学院, 广州, 510642)

摘要: 酶制剂在畜禽养殖中的作用得到广泛的认可, 而对其研究主要集中的营养利用方面。饲料原料中的抗原蛋白以及聚糖类免疫原性成分会对畜禽造成免疫应激, 破坏肠道屏障, 促进炎症的发生, 对畜禽健康造成负面影响。同时持续低烈度的免疫反应所造成的营养消耗, 能量代谢水平的增加, 也是影响动物生产性能的重要原因, 本文以蛋白酶和 β -甘露聚糖酶为例, 从免疫应激和能量利用角度, 综述酶制剂在饲料养殖中营养节流的作用。

关键词: 蛋白酶; β -甘露聚糖酶; 免疫应激; 能量代谢

酶制剂是一种特殊的饲料添加剂, 具有多方面的功能, 包括了具有营养性添加剂和非营养性添加剂两方面的作用。使用酶的基本出发点是为了提高饲料原料的营养价值。随着研究的开展, 发现酶制剂在动物饲料与养殖中应用的营养利用功能外, 还有促进肠道健康功能、调控动物生理功能、调节免疫功能、对饲料毒物进行脱毒解毒功能、对病原微生物的抑菌杀菌功能和抗氧化等七个方面, 其中最重要的是营养利用功能。酶制剂在动物日粮中的应用最直接的功能, 也是最早认识的功能是酶的提高营养消化利用的功能, 直接营养功能也是目前了解最多的酶制剂功能, 具有这种功能的酶制剂种类最多, 从第一代饲料酶制剂(蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶等)、第二代饲料酶制剂(木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶等)、到第三代饲料酶制剂(α -半乳糖苷酶、 β -甘露聚糖酶、果胶酶、甲壳素酶、壳聚糖酶等)都具有这种作用, 只是其改善营养消化利用的途径有所不同(冯定远和左建军, 2011)。

酶制剂一个新的应用领域已经显示其价值但还未被重视的是作为营养节流的技术手段, 就是酶制剂通过降低饲料源性免疫反应造成的影响, 饲料中的免疫源主要有抗原蛋白类(如大豆抗原蛋白、植物凝集素等)和聚糖类(如类同病原菌表面成分的半乳糖甘露聚糖等)。饲料免疫源(如抗原蛋白)的研究一般是重视免疫应激造成的肠道过敏性反应所产生的绒毛和粘膜完整性影响, 与肠道炎症等肠道健康相关。饲料免疫源的另一个影响是免疫反应(特别是长时间低烈度免疫反应)造成的营养消耗, 包括能量、氨基酸和维生素等营养的消耗增加。目前有研究表明, 某些 β -甘露聚糖酶具有降低营养特别是能量消耗的作用(Hsiao 等, 2006), 我们也用同来源的 β -甘露聚糖酶进行试验, 在我们的研究中, 特异性的 β -甘露聚糖酶可以改善肉鸡的生长性能、肠道形态和紧密连接蛋白的基因表达(闫晓阳 2013; 郭爱红, 2013; Zuo 等, 2014)。

1、蛋白类饲料免疫源成分

饲料有许多抗营养因子, 其中部分具有免疫源性, 了解最多的是“抗原性”蛋白和植物凝集素。李德发等系统研究了大豆的抗营养因子(Li 等 1991a、b)。大豆抗原蛋白(Soybean

antigen protein) 是大豆中大分子蛋白质或糖蛋白, 作为致敏因子, 通常能够引起幼龄畜禽发生过敏反应。目前确认的大豆抗原蛋白有 32 种, 包括大豆球蛋白(glycinin)、 β -伴大豆球蛋白(β -conglycinin)。大豆球蛋白与 β -伴大豆球蛋白是免疫原性最强的大豆抗原蛋白。 β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白是大豆抗原蛋白中的主要致敏原, 占大豆蛋白的 65%~80%。日粮中的大部分大豆蛋白在仔猪消化道中被机体所吸收, 并不具有抗原性。但有一部分分子量较大的物质可通过小肠上皮屏障完整地进入血液和淋巴, 这种异己大分子物质进入机体后成为具有抗原活性的过敏原, 刺激消化道黏膜免疫系统发生过敏反应, 引起肠道损伤, 肠道通透性改变, 消化吸收不良, 腹泻, 甚至死亡。

大豆抗原蛋白引起的仔猪过敏反应是一种复杂的免疫性疾病, 受多种因素影响, 其中 IgE 和 IgG 抗体在过敏反应中均发挥着重要的作用。穿过小肠上皮细胞间或上皮细胞内的空隙完整地进入血液和淋巴, 刺激肠道免疫组织, 产生包括特异性抗原抗体反应和 T 淋巴细胞介导的迟发性过敏反应, 前者刺激肥大细胞释放组胺, 引起上皮细胞通透性增加和黏膜水肿, 后者主要引起肠道形态变化。大豆抗原蛋白引起幼龄动物过敏反应的结果将使血清中大豆抗原特异性抗体滴度升高, 小肠绒毛萎缩, 隐窝细胞增生。

β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白是引起幼龄动物过敏反应的主要过敏原。早期断奶仔猪(3~5 周龄)消化系统发育尚不成熟, 分泌酸及消化酶的能力不足, 当未被消化的大豆抗原蛋白进入肠道, 与抗原呈递细胞结合, 刺激肠道免疫组织, 引起 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞活化, 活化的 B 细胞转化为浆细胞, 产生特异性抗体, 如 IgE、IgG 和 IgA 等。IgA 是机体黏膜免疫的主要抗体, 相关研究较多, 而 IgG 在黏膜免疫中同样发挥作用, 但具体的作用机制却不十分清楚。大豆抗原蛋白处理组仔猪血清中 IgE 与 IgG 的质量浓度显著升高, 证实 IgG 也参与了大豆抗原蛋白介导的仔猪过敏反应。

“抗原性”蛋白在大豆、菜豆广泛分布, 引起动物小肠的免疫反应(过敏性反应), 干扰肠壁的完整性(Huisman 和 Toloman, 1992)

2、多糖类饲料免疫源成分

β -甘露聚糖是一种水溶性 NSP, 含有重复的甘露糖单位并与半乳糖或葡萄糖连接, 以 β -1,4 糖苷键连接的甘露糖为主链(Ouhida 等 2002, Hsiao 等 2006)。 β -甘露聚糖有 4 种形式: 线性 β -甘露聚糖、 β -半乳甘露聚糖、 β -葡甘露聚糖和 β -半乳葡甘露聚糖, 是饲料成分的细胞壁结构组成。椰子粕和棕榈粕含有较高的 β -甘露聚糖, 一般是普通的纯 β -甘露聚糖为主。棕榈粕和椰子粕含有 β -甘露聚糖分别是 39% 和 35%, 但是水溶性的比例很低(7.7% 和 9.1%), 是普通的 β -甘露聚糖, 而不是 β -半乳甘露聚糖, 只是造成一般的消化问题。而瓜尔豆中的瓜尔胶主要是 β -半乳甘露聚糖, 瓜尔胶的半乳糖甘露聚糖浓度达 70% (占总 β -甘露聚糖)。 β -半乳甘露聚糖与一般的 β -甘露聚糖不同, 它是在 1,4- β -D 吡喃甘露糖为主链的基础上, 侧链上有一个半乳糖。 β -半乳甘露聚糖具有水溶性。

豆粕中也含有较高的 β -半乳甘露聚糖。豆粕中半乳糖: 甘露糖的比例与瓜尔胶半乳甘

露聚糖相似 (Hsiao 等 2006)。Daskiran 等发现玉米豆粕型日粮含有瓜尔胶 β -甘露聚糖含量高, 豆粕含有 3%水溶性非淀粉多糖和 16%不溶性非淀粉多糖, 其中主要是普通 β -甘露聚糖和 β -半乳甘露聚糖 (Slominski, 2011)。Hsiao 等 (2006) 分析得出不同国家 36 种豆粕的 β -甘露聚糖范围 1.33-1.86%, 去皮豆粕含有 1.02-1.51%的 β -半乳甘露聚糖。尽管豆粕的总 β -甘露聚糖并不特别高, 但主要是 β -半乳甘露聚糖。

Hsiao 等 (2006) 认为 β -半乳甘露聚糖会导致刺激特有的免疫系统, 导致无目的性的能量损耗的免疫反应。这是由于它组成多种病原体 (致病菌) 的表面成分 (surface components of multiple pathogens), 这种可以是特有的免疫系统所识别。肠道组织具有识别抗原的 PRR, PRR 的特异性广泛, 能识别多种病原相关分子模式 PAMP。水溶性 β -半乳甘露聚糖与 PAMP 相似, 肠道上的受体 (PRR) 和甘露聚糖的 PAMP 结合引起免疫应激 (Mazmanian 和 Kasper 2006)。

3、饲料免疫源成分对营养代谢的影响

免疫反应对生物是有利的, 免疫系统可以立即识别和消灭病原细菌、寄生虫甚至某些异物, 但也是一种营养消耗的过程, 过强的免疫反应将造成大量的消耗, 这种消耗有时需要动员体内的储备, 进而影响生长、组织修复或者繁殖 (Sheldon 和 Verhulst 1996)。大量的试验显示, 免疫动员和免疫反应活动都是伴随营养的耗用 (Lochmiller 和 Deerenberg 2000; Norris 和 Evans 2000)。免疫生理机制建立是动物对付病原体和寄生虫, 防止疫病产生的进化的结果 (Zuk 和 Stoehr 2002), 进而发展为对某些异物也出现免疫反应, 特别是大分子的异物。除了病原体, 饲料的组成和数量影响免疫反应 (Saino 等 1997; Klasing 1998), 以及免疫反应的消耗 (Moret 和 Schmid-Hempel 2000)。

有关饲料免疫源成分对营养代谢的影响很少见到家畜和家禽方面的报道, 只是见于其他动物。这种免疫反应增加基础代谢或者静止代谢的报道有 *Mus musculus* 鼠 (Demas 等. 1997), *Onchorhynchus mykiss* 虹鳟鱼 (Ackerman 等 2000) 和 *Passer domesticus* 家雀 (Martin 等 2002), 这些研究是细胞免疫。*Parus major* 大山雀在受到异常抗原攻击时, 基础代谢提高很明显 (Ots 等 2001), 但在相类似的攻击中, *Carduelis chloris* 金翅雀的 (Hřrak 等 2003) 和 *Parus caeruleus* 蓝冠山雀 (Svensson 等. 1998) 能量代谢反应并不明显。所以, 体液免疫反应的能量代谢。

为什么免疫能力不能完全对付所有的病原攻击的风险? 一种假设是免疫反应的营养消耗性的, 特别是能量的耗用 (Lochmiller 和 Deerenberg 2000; Schmid-Hempel 2003), 由于免疫识别和处理的能量动用, 而这种强烈、持续的反应不利于动物的生产性能如禽类性成熟 (Rigby 和 Jokela 2000; Bonneaud 等 2003)、产蛋开产日龄 (Andersson 2001)。免疫应激的能量消耗与动物的生产的能量消耗是有矛盾的, 如果有效能量供应不能增加, 要么牺牲动物的产蛋性能 (繁殖性能), 要么影响动物的免疫应答性能 (Wikelski 和 Ricklefs 2001; Ricklefs 和 Wikelski 2002), 这种能量利用分配上的竞争, 可以解释为什么禽类在寒冷条件下, 免疫功

能的下降(Svensson 等 1998)。

Martin 等(2002)研究了非病原性刺激对免疫系统的反应和能量代谢的影响,通过直接的呼吸测热装置,测定代谢产热的变化。对植物凝集素(PHA),一种常见的豆科抗营养因子,可以活化细胞免疫反应,导致免疫系统T细胞的分裂,对 *Passer domesticus* 家雀进行注射,测定能量的消耗。发现植物凝集素能显著提高能量代谢率,与生理盐水注射相比,提高呼吸代谢试验方法,测定能量消耗每天额外增加 4.20 kJ,基础代谢率提高 29%,能量消耗相当产半只雀蛋所需要的(*Passer domesticus* 品种的家雀每产一枚蛋需要 8.23 kJ),Martin 等(2002)认为,这种能量消耗的累积影响是非常重要的,直接需要影响的性成熟和换羽。

维持体温是常温动物最基本的能量消耗,由于免疫反应的能量消耗,即使增加是短时间的增加,也会影响动物的发育、生长和生产(Martin 等, 2002)。如果是长时间的免疫刺激而导致的过多营养,特别是能量的动用,这种影响则是显而易见的。Demas 等(1997)发现血蓝蛋白(KLH,一种存在于软体动物中的蓝色呼吸色素,具有很高的免疫原性)可以提高试验 *Mus musculus* 老鼠的基础代谢率 27%,同样, Ots 等(2001)试验表明,绵羊红细胞(SRBC)处理野山雀(*Parus major*)使其基础代谢率上升 9%。静止代谢率(RMR)或者基础代谢率(BMR)反映了最低生命的能量消耗。而 RMR 或 BMR 的提高,是由于体内生理条件变化的结果,过去使用这种技术测定换羽、器官生长和产蛋的能量消耗(Lindstrom 等 1993; Klaasen 1995; Svensson 等 1998)

Streptopelia decaocto 领鸽注入绵羊红细胞(SRBC),由于产生抗体,消耗能量,使基础代谢提高,处理的第七天达到高峰,比对照组提高 8.5%,即使是自由采食,免疫应激组的体重损失也更多(Eraud 等 2005)。这种能量消耗增加的体重损失是由于 SRBC 造成的体液免疫反应的结果。另一方面,在遭遇 SRBC 这种免疫原造成能量消耗增加的影响时,雀类可以增加采食量,但是这种增加并不能完全能够补偿其面临的挑战(Deerenberg 等 1997)。Eraud 等 2005 的试验显示,SRBC 挑战领鸽提升体液免疫,显著增加能量的消耗,基础代谢增加 8.5%,这一结果与 Ots 等(2001)的 8.6%一样,Svensson 等(1998)的 *Parus caeruleus* 蓝冠山雀是 8-13%。有关这种免疫与营养消耗,特别是能量动用的直接机制,Eraud 等 2005 研究了抗体滴度与能量消耗的关系,它们之间是呈正相关的。

4、降低免疫源性饲料成分的酶制剂应用

有关酶制剂通过分解抗原成分,减少抗原造成的免疫反应,进而降低营养动用,特别是能量消耗的研究还不多。既然抗原成分造成了免疫反应,能够催化抗原物质降解的酶制剂,可以间接通过降低营养代谢消耗而提高饲料营养的利用,就像非淀粉多糖酶(如木聚糖酶、 β -葡聚糖酶等)一样间接通过提高营养消化而提高饲料营养的利用。目前仔猪用途的大豆蛋白源处理,一般是膨化处理、酶解处理(主要是蛋白酶)和发酵处理(本质是酶处理),其目的是使大分子的抗原蛋白(β -伴大豆球蛋白等)裂解为中小分子的肽,减少其抗原性,减

轻其免疫反应（过敏性反应，对小肠绒毛产生变态反应），但一般的理解是蛋白酶的助消化作用，提高蛋白质的利用，这是蛋白酶处理大豆作用的一个方面，也许更重要的是其降低免疫反应的作用。有关大豆抗营养因子特别是抗原蛋白，李德发等有比较系统的研究。

Zhou 等（2017）在讨论水产动物的肠道微生态和免疫时，酶制剂处理大豆粕可以降低抗营养因子中的大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的水平。Lewis 等（1955），Baker 等（1956），测定了大豆日粮添加不同蛋白酶的效果，这些酶包括：胃蛋白酶、胰酶、真菌蛋白酶、糖基化蛋白酶和木瓜蛋白酶。试验表明日粮中添加胃蛋白酶和胰酶提高了平均日增重（ADG）和饲料转化率（FCR），这些酶对仔猪的效果更明显。木瓜蛋白酶和糖基化蛋白酶也有同样的效果，但真菌蛋白酶无有益作用。当时的研究是为了补充乳猪的蛋白水解酶不足，而现在的工作是针对蛋白饲料中的抗营养因子。Huo 等（1993）研究表明，一种真菌蛋白酶和四种细菌蛋白酶在体外能够使生大豆（RSB）和低温压榨大豆（LFES）中的胰蛋白酶抑制剂和凝集素不同程度地失活。以 1% 的水平添加这些复合酶，经 12 小时的孵化后，RSB 和 LFES 中的胰蛋白酶抑制剂最多降低了 96%。

Rooke 等（1996）在体外用蛋白酶预处理大豆粕（SBM），饲喂给新断奶的仔猪，以评定这种处理方法是否可降低其体外抗原性以及提高其营养价值。经蛋白酶处理的大豆粕含有的抗原蛋白比其他含有大豆的日粮少。Hessing 等（1996）测定了两种微生物蛋白酶（P1 和 P2）降解抗营养因子的能力，以确定经酶水解的大豆粕是否能够改善断奶仔猪或肉仔鸡的生产性能。可以显著水解存储性的大豆球蛋白以及 β -伴大豆球蛋白，在添加水平为 1000-10000 U/g 的情况下还能水解一定程度的 KSTI，但对大豆凝集素无效。可以得出这样的结论：蛋白水解酶对提高大豆粕的营养价值是有潜力的。

发酵处理的本质是微生物的酶处理，使用枯草芽孢杆菌和乳酸菌的单菌摇瓶发酵，试验表明：枯草芽孢杆菌对抗原蛋白的降解非常完全，可以将 7S 伴球蛋白 3 个亚基降解到 34.0 kDa 以下，将 11S 球蛋白的亚基降解到 20.0 kDa 以下；而乳酸菌对 7S 抗原蛋白有较强的降解作用，但不降解 11S 大豆球蛋白。为改善豆类的营养价值，采用发酵工艺产生的酶对大豆进行预处理的方法已经多年，虽然这种方法不引人注目（Campbell-Platt 和 Cook, 1991）。用外源酶对豆粕进行预处理，这对幼龄动物（特别是对早期断奶仔猪）似乎有重要意义（Hessing 等，1996；Rooke 等，1996、1998；Caine 等，1997），其效果在仔猪断奶后前 7 天表现最明显。Li 等（1991a、b）和 Drdau 等（1994）分别研究和证实了预处理大豆粕，可能帮助仔猪克服饲喂豆粕造成的短暂应激。

β -甘露聚糖酶可以将 1,4- β -D-甘露聚糖主链上的甘露糖苷键，分解为甘露寡糖和少量的甘露糖[38]。 β -甘露聚糖酶在动物中应用主要是集中在动物的生产性能、肠道健康和营养利用等方面。 β -甘露聚糖酶可以通过提高能量和营养利用而提高生产性能(Shastak,2015)。

β -甘露聚糖酶可以提高表观代谢能和表观氨基酸消化系数(Mussini,等, 2011)。 β -甘露聚糖酶可以提高营养消化和利用，从而降低可发酵营养到达盲肠(Kong 等, 2011; Kwon

和 Kim, 2015)。Kim 和 Kim (2017) 使用产蛋鸡日粮添加 β 甘露聚糖酶可以提高日粮的能量价值。添加 β 甘露聚糖酶可以改善畜禽的能量和营养利用(Kong 等, 2011, Kwon 和 Kim, 2015)。这与消除抗营养因子 β -甘露聚糖有关 (Zangiabadi 和 Torki, 2010)。对低能量日粮添加 β 甘露聚糖酶增加氮校正表观代谢能 (AMEn) 表明能增加能量利用, 进而起到能量节约的作用 (Kong 等, 2011; Kim 等, 2017)。 β -甘露聚糖酶通过降低粘性对肉鸡日粮有好处, Daskiran 等 (2004) 报道在肉鸡豆粕型日粮中添加 β -甘露聚糖酶有正面效果。

肉鸡日粮中加入 β -甘露聚糖酶可以增加 AMEn 和体增重及饲料转化 (Zangiabadi 和 Torki, 2010; Jackson 等, 2004)。肉鸡日粮添加 β 甘露聚糖酶已经在许多试验中得到证实 (Daskiran 等, 2004; Jackson 等, 2003; Lee 等, 2003; Jackson 等, 2004)。Kong 等 (2011) 在正常日粮和降低 100 Kcal 的日粮中添加 β -甘露聚糖酶也增加能量价值, AMEn 增加 4.96%, 这种增加可以解释为小麦可溶性非淀粉多糖的水解。Saki 等 (2005) 认为是水解产物甘露糖增加了能量的供应并作为一种能量的来源。

另一个假设认为: 在体外的研究中, 认为水解产物寡糖可以发酵在肉鸡小肠中的挥发性脂肪酸产生可以被肉鸡利用从而增加 AMEn (Meng 等, 2005)。因此, 胃肠道的大小与肉鸡的基础代谢有关。减少黏性可以减少肉鸡的胃肠道充满程度而减少肉鸡产热量, 有利于提高日粮的能量价值。在 Ferreira 等 (2002) 试验中观察到使用 β -甘露聚糖酶可以增加 48 Kcal AMEn。酶的添加可以使降低日粮营养水平而不影响生产性能。

添加 β -甘露聚糖酶可以提高饲喂含棕榈粕饲粮生长猪的干物质、有机物和能量消化能率 (Mok 等, 2013)。在含有椰子粉的肉鸡饲粮中添加 β 甘露聚糖酶可以提高营养消化率和 ME 含量 (Khanongnuch 等, 2006)。Kim 等 (2013) 报道 β -甘露聚糖酶提高猪对棕榈粕饲粮中干物质和能量的消化率, 其他有正面效果的还有玉米豆粕型饲粮 (Lv 等, 2013)。 β -甘露聚糖酶显著改善总必需氨基酸, 精氨酸, 组氨酸, 赖氨酸, 缬氨酸和甘氨酸的表观回肠消化率, 尤其是赖氨酸更明显, 而且低质量豆粕的效果更明显。Mok 等 (2013) β -甘露聚糖酶可提高亮氨酸和苯丙氨酸的表观回肠消化率, 在含有棕榈油粕的生长猪日粮中使用 β -甘露聚糖酶可以改善 DM、CP 和 GE 的表观回肠消化率。Cho 和 Kim (2013) 在低营养浓度的猪饲料中添加 β -甘露聚糖酶和木聚糖酶可以改善氮和能量消化率。含有 β -甘露聚糖酶的复合酶可以提高猪和肉鸡的表观 AA 消化系数。Mussini 等 (2011) 观察肉鸡日粮添加 β 甘露聚糖酶 0、0.025%、0.05%和 0.1%提高赖、蛋、苏、色、精、亮、异亮、胱和缬 AA 的表观消化系数, 而且呈线性的提高。一般的解释是内源 AA 分泌的增加, 由于粘性而导致在肠道停留时间更长。这可以刺激刷状缘细胞的内源 AA 分泌 (Selle 等, 2009)。

尽管已经有试验表明, β -甘露聚糖酶可以降低免疫反应和营养的动用(Jackson 等, 2004; Hsiao 等, 2006), 但有关免疫应激与营养消耗的试验更多是在鸟类和其他动物, 还需要进行家禽和家畜方面的研究和试验数据。

参考文献:

- 冯定远和左建军 2011 饲料酶制剂技术体系的研究与实践 北京: 中国农业大学出版社
- 闫晓阳.β-甘露聚糖酶对黄羽肉鸡生产性能及小肠形态的影响[D].硕士学位论文.广州:华南农业大学,2013:18-25.
- 郭爱红.低能日粮中添加 β-甘露聚糖酶对肉仔鸡生产性能和肠道形态结构的影响[D].硕士学位论文.广州:华南农业大学,2013:15-28
- Ackerman, P.A., Iwana, G.K. & Thorton, J.C. Physiological and immunological effects of adjuvanted *Aeromonas salmonicida* vaccines on juvenile rainbow trout. *Journal of Aquatic and Animal Health* 2000, 12, 157–154.
- Andersson, M.S. Physiological trade-offs in reproduction and condition dependence of a secondary sexual trait. *Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology*,2001, vol. 647. University Publications, Uppsala.
- Bonneaud, C., Mazuc, J., Gonzalez, G., Haussy, C., Chastel, O., Faivre, B. & Sorci, G. Assessing the cost of mounting an immune response. *American Naturalist* 2003, 161, 367–379.
- Caine, W.R., Sauer, W.C., Tamminga, S., Verstegen, M.W.A. and Schulze, H.,. Apparent ileal digestibility of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease-treated soybean meal. *Journal Animal Science*, 1997, 75: 2962~2969
- Cho J.H, Kim I.H.Effects of beta-mannanase supplementation in combination with low and high energy dense diets for growing and finishing broilers.*Livestock Science*,2013,154:137-143.
- Daskiran M, Teeter R.G, Fodge D.An evaluation of endo-β-D-mannanase (Hemicell) effects on broiler performance and energy use in diets varying in β-mannan content. *Cerebral Cortex*,2004,18: 968-977.
- Deerenberg, C., Apanius, V., Daan, S. & Bos, N. Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proc. R. Soc. Lond. B*.1997, 264, 1021–1029.(DOI10.1098/rspb.1997.0141.)
- Demas, G.E., Chefer, V., Talan, M.I. & Nelson, R. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. *American Journal of Physiology* 1997, 42, R1631–R1637.
- Eraud, C., Duriez, O., Chastel O. and Faivre. B.The energetic cost of humoral immunity in the Collared Dove, *Streptopelia decaocto* : is the magnitude sufficient to force energy-based trade-offs? 2005, 2, 31–37
- Ferreira H.C,Jr,Hannas M.I,et al.Effect of the addition of β-mannanase on the performance, metabolizable energy, amino acid digestibility coefficients, and immune functions of broilers fed different nutritional levels[J]. *Poultry Science*,2002,95: 1848-1857

- Hessing, M., van Laarhoven, H., Rooke, J.A. and Morgan, A.. Quality of soyabean meals (SBM) and effect of microbial enzymes in degrading soya antinutritional compounds (ANC). In: 2nd International Soyabean Processing and Utilization Conference. Bangkok, Thailand, 1996, pp. 8~13
- Hörak, P., Saks, L., Ots, I., Kullisaar, T., Kollist, N. & Zillmer, M. Physiological effects of immune challenge in captive greenfinches *Carduelis chloris*. Canadian Journal of Zoology 2003, 81, 371–379.
- Hsiao H.Y., Anderson D.M., Dale N.M. Levels of β -Mannan in Soybean Meal[J]. Poultry Science, 2006, 85: 1430-1432
- Jackson M.E., Geronian K., Knox A., et al. A dose-response study with the feed enzyme beta-mannanase in broilers provided with corn-soybean meal based diets in the absence of antibiotic growth promoters[J]. Poultry Science, 2004, 83: 1992-1996
- Khanongnuch C., Sanguansook C., Lumyong S. Nutritive Quality of β -Mannanase Treated Copra Meal in Broiler Diets and Effectiveness on Some Fecal Bacteria[J]. International Journal of Poultry Science, 2006, 5: 45-50
- Kim J.S., Ingale S.L., Lee S.H., et al. Effects of energy levels of diet and β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites in growing pigs[J]. Animal Feed Science & Technology, 2013, 186: 64-70.
- Kim M.C., Kim J.H., Pitargue F.M., et al. Effect of dietary β -mannanase on productive performance, egg quality, and utilization of dietary energy and nutrients in aged laying hens raised under hot climatic conditions[J]. Asian-Australas J Anim Sci, 2017, 30: 1450.
- Klaasen, M. Molt and basal metabolic costs in males of two subspecies of stonechats: the European *Saxicola torquata rubicula* and the East African *S. t. axillaris*. Oecologia 1995, 104, 424–432.
- Klasing, K.C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. Poultry Science 1998, 77, 1119–1125.
- Kwon W.B., Kim B.G. Effects of Supplemental Beta-mannanase on Digestible Energy and Metabolizable Energy Contents of Copra Expellers and Palm Kernel Expellers Fed to Pigs[J], 2015, 28: 1014-1019.
- Lindstrom, A., Visser, G. & Daan, S. The energetic cost of feather synthesis is proportional to basal metabolic rate. Physiol. Zool. 1993, 6, 490–510.
- Lochmiller, R.L. & Deerenberg, C. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? Oikos 2000, 88, 87–98.
- Lv J.N., Chen Y.Q., Guo X.J., et al. Effects of Supplementation of β -Mannanase in Corn-soybean Meal

- Diets on Performance and Nutrient Digestibility in Growing Pigs[J].Asian-Australasian journal of animal sciences,2013,26: 579-587.
- Martin, L.B., Scheuerlein, A. & Wikelski, M. Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? Proceedings of the Royal Society of London B 2002, 270, 153–158.
- Mazmanian S.K,Kasper D.L.The love-hate relationship between bacterial polysaccharides and the host immune system[J]. Nature Reviews Immunology,2006,6: 849-858.
- Meng X,Slominski B.A,Nyachoti C.M,et al.Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. Poult Sci,2005,84:37-47.
- Mok C.H, Lee J.H, Kim B.G.Effects of exogenous phytase and β -mannanase on ileal and total tract digestibility of energy and nutrient in palm kernel expeller-containing diets fed to growing pigs[J].Animal Feed Science & Technology,2013,186:209-213.
- Moret, Y. & Schmid-Hempel, P. Survival for immunity: the price of immune system activation for bumble-bee workers. Science 2000, 5494, 1166.
- Mussini F.J,Coto C.A,Goodgame S.D,et al.Effect of a -Mannanase on Nutrient Digestibility in Corn-Soybean Meal Diets for Broiler Chicks[J]. International Journal of Poultry Science.2011,10.
- Norris, K. & Evans, M. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. Behav. Ecol. 2000,11, 19–26.
- Ots, I., Kerimov, A. B., Ivankina, E. V., Ilyina, T. A. & Horak, P. Immune challenge affects basal metabolic activity in wintering great tits. Proc. R. Soc. Lond. B 2001,268,1175–1181. (DOI10.1098/rspb.2001.1636.)
- Ouhida I, And J.F.P, Gasa J.Soybean (Glycine max) Cell Wall Composition and Availability to Feed Enzymes. Journal of Agricultural & Food Chemistry,2002,50: 1933-1938.
- Ricklefs, R. & Wikelski, M. The physiology –life history nexus. Trends Ecol. Evol. 2002, 16, 479–481.
- Rigby, M.C. & Jokela, J. Predator avoidance and immune defence: costs and trade-offs in snails. Proceedings of the Royal Society of London. 2000, B 267, 171–176.
- Rooke, J.A., Fraser, H., Shanks, M. and Morgan, A.. The potential for improving soyabean meal in diets for weaned piglets by protease treatment: comparison with other protein sources. British Society of animal Science winter Meeting Scarborough, UK, 1996 Paper 136.
- Rooke, J.A., Slessor, M., Fraser, H. and Thomson, J.R.. Growth performance and gut function of piglets weaned at four weeks of age and fed protease-treated soyabean meal. Animal Feed

- Science and Technology, 1998,70:175~190.
- Saino, N., Calza, S. & Møller, A. Immunocompetence of nestling barn swallows in relation to brood size and parental effort. *J. Anim. Ecol.* 1997,66, 827–836.
- Saki AA,Mazugi M.T,Kamyab A.Effect of Mannanase on Broiler Performance, Ileal and In-vitro Protein Digestibility, Uric Acid and Litter Moisture in Broiler Feeding[J].International Journal of Poultry Science,2005,4:35-40
- Schmid-Hempel, P. Variation in immune defence as a question of evolutionary ecology. *Proceedings of the Royal Society of London* .2003, B 270, 357–366.
- Selle PH,Ravindran V,Partridge GG.Beneficial effects of xylanase and/or phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets[J].Animal Feed Science & Technology,2009,153:303-313.
- Shastak Y,Ader P,Feuerstein D,et al.β-Mannan and mannanase in poultry nutrition[J].Worlds Poultry Science Journal,2015,71: 161-174
- Sheldon, B.C. & Verhulst, S. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* .1996,11, 317–321.
- Slominski BA.Recent advances in research on enzymes for poultry diets[J]. Poultry Science,2011,90: 2013.
- Svensson, E., RaÊberg, L., Koch, C. & Hasselquist, D. Energetic stress, immunosuppression, and the cost of an antibody response. *Funct. Ecol.* 1998, 12, 912–919.
- Wikelski, M. & Ricklefs, R. The physiology of life histories. *Trends Ecol. Evol.* 2001,16, 479–481.
- Zangiabadi H,Torki M.The effect of a beta-mannanase-based enzyme on growth performance and humoral immune response of broiler chickens fed diets containing graded levels of whole dates[J].Tropical Animal Health & Production,2010,42:1209-1217.
- Zhou Z., E. Ringø, R.E. Olsen, S.K. Song, Dietary effects of soybean products on gut microbiota and immunity of aquatic animals: A review。 *Aquaculture Nutrition*; 2017,1–22
- Zuk, M. & Stoehr, A. Immune defense and host life history. *American Naturalist* 2002, 160, 9–22.
- Zuo J.J., A.H. Guo , X.Y. Yan, and D.Y. Feng. Supplementation of β-Mannanase in diet with energy adjustment affect performance, intestinal morphology and tight junction proteins mRNA expression in broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2014,13 (3): 144-151.

日粮中添加天然抗氧化剂对羊肉脂肪酸组成的影响研究进展

罗海玲

(中国农业大学动物科技学院, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 羊肉中的脂肪酸组成对人类健康至关重要, 但由于其易被氧化, 会导致羊肉品质和营养价值受到影响, 还会降低消费者的可接受性。而天然抗氧化剂是一种可改善羊肉脂肪酸组成的有效措施。本文主要综述了天然抗氧化剂如植物提取物和维生素 E 对脂肪酸组成的影响机制, 可为该领域的发展及开发新的羊肉产品提供参考。

关键词: 天然抗氧化剂, 羊肉, 脂肪酸, 抗氧化机制

Abstract: The fatty acid composition in lamb is vital to human health. However, it will affect the quality and nutritional value of the lamb meat, and will also reduce the acceptability of consumers, due to it is easily oxidized. Natural antioxidants are an effective measure to improve the fatty acid composition of lamb meat. Therefore, this paper mainly reviews the mechanism of the effects of plant extracts and vitamin E on fatty acid composition, which can provide reference for the development of this field and new lamb meat products.

Keywords: Natural antioxidants, lamb meat, fatty acid, antioxidant mechanism

近年来, 人们对肉中脂肪酸的组成越来越感兴趣, 因过量摄入饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)会增加疾病的发生率, 这在发达国家中表现更为突出, 因此, 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)与人类健康的关系成为新的研究方向。PUFA 主要由 α -亚麻酸(18:3)形成的 n-3 PUFA 和由亚油酸(18:2)形成的 n-6 PUFA 组成^[1]。在英国, 卫生署(1994)建议 PUFA 与 SFA 的推荐比例(P:S)应增加至 0.4 以上。由于一些肉类的 P:S 比率约为 0.1, 因此消费者通过肉类摄入的脂肪酸并不均衡。因此, 如何提高 P:S 比率, 重点是减少 SFA 的摄入量(被认为与胆固醇增加有关)和增加 n-3 多不饱和脂肪酸的摄入量是营养学家一直关注的热点和难点^[2]。反刍动物还产生共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA), 其对人类的健康大有裨益^[3]。然而, 在大多数情况下, 脂质可以通过酶促和非酶促反应进行氧化, 尤其是氧自由基与多不饱和脂肪酸反应, 在细胞膜中产生脂质过氧化物。脂质氧化的增加会导致肉的营养品质和食用品质降低, 最终影响消费者对羊肉的可接受度^[4]。因此, 在日粮中添加抗氧化剂成为保护羊肉中脂质氧化的一种有效途径。目前, 关于天然抗氧化剂的研究报道主要集中于肉品质质量的调控、动物机体的抗氧化途径以及机体免疫系统的调节方面, 有关其对羊肉脂肪酸组成影响机制的报道较少。因此, 本文通过综述国内外天然抗氧化剂与羊肉脂肪酸之间的相互关系, 旨在为相关行业优化羊肉中的脂肪酸组成提供参考依据。

1 脂质氧化

脂质氧化导致肉类变色、滴水损失增加、营养价值损失、保质期缩短、伴有异味、腐臭

味以及有毒化合物的形成,会对消费者的健康产生不利影响。由于细胞内自由基链的反应导致肉制品发生脂质过氧化^[5]。脂质对氧化的高度敏感性是由多种因素造成的:PUFA 作为膜磷脂成分的比例相对较高;内源性抗氧化剂(如生育酚)的缺乏;以及在肉制品加工过程中会存在大量的氧自由基等^[6]。脂质氧化的产物是氧化酸败的主要原因,在脂质过氧化过程中产生各种二级产物,特别是活性羰基物质,例如丙二醛(malonaldehyde, MDA)和 4-羟基壬烯酸(4-hydroxynonenal, 4-HNE)。另外,PUFA 的过氧化产物—氢过氧化物,经分解产生挥发性芳香化合物,使肉具有异味和腐臭味^[7]。烷基和过氧自由基的相互作用导致非自由基产物的形成,例如醛、烷烃和共轭二烯等^[8]。脂质氧化的速率和程度受多种因素的影响,包括铁离子含量、不饱和脂肪酸的含量和分布、pH 以及抗氧化剂的水平^[9]。

2 羊肉中脂肪酸成分

肉中脂质主要由甘油三酯和磷脂组成。甘油三酯是由 SFA、单不饱和脂肪酸(MUFA)和 PUFA 三种脂肪酸酯化的甘油及长链脂肪酸组成,而磷脂含有比甘油三酯更多的多不饱和脂肪酸^[10]。两种主要的 PUFA—C18:2n6(亚油酸)和 C18:3n3(亚麻酸)是构成膜脂质的主要部分,但不能在体内合成,因此属于必需脂肪酸^[11]。另一种重要的 PUFA 是花生四烯酸(C20:4n6),花生四烯酸在大脑、肌肉和肝脏中最丰富,MUFA-C18:1n9(油酸),也被认为是有益的,但两者均不属于必需脂肪酸。除 α -亚麻酸外,肉类可以提供高达 20%的长链 n-3 多不饱和脂肪酸^[12]。

共轭亚油酸(CLA)是含有共轭双键的亚油酸衍生物的统一体^[13]。反刍动物源的食物具有高浓度的 CLA(总脂肪酸的 0.5 至 1.5%),是 CLA 重要的膳食来源。一般而言,CLA 与降低某些类型癌症的风险有关。除此之外,CLA 可能具有抗动脉粥样硬化、抗氧化和免疫调节特性^[14]。CLA 也可以调控肥胖症状^[15],降低患糖尿病的风险^[16],调节机体的抗氧化系统^[17]和骨代谢^[18]。与异构体 c9t11 CLA 相反,由于动物组织中不含有能在 t10 C18:1 分子中插入 C12 双键的饱和酶,因而瘤胃中产生的 t10c12 异构体是其产品中 t10c12 CLA 的唯一来源^[19]。未来的研究可能会集中在提高瘤胃的 t11C18:1 合成水平,以增强羊肉中 c9t11 CLA 的形成。

3 抗氧化剂对羊肉中脂肪酸组成的作用

3.1 抗氧化剂的作用机理

通过中断自由基的传递或抑制自由基的形成是抗氧化剂发挥作用的原理,主要表现为:(1)清除引发过氧化作用的产物;(2)螯合金属离子,阻断活性物质产生或脂质过氧化物分解,(3)猝灭超氧阴离子阻止过氧化物的形成,(4)破坏自氧化链的反应,(5)降低局部氧含量^[20]。而在羊肉中含有大量的过渡金属离子,特别是 Fe^{2+} ,它可以催化氧化过程,导致羟基自由基的形成,并且可以通过芬顿反应分解氢过氧化物。天然抗氧化剂化合物主要包括类黄酮、酚类、类胡萝卜素和生育酚等,它们可以抑制金属离子诱导的氧化,清除自由基,并起到还原剂的作用^[21,22],从而降低或抑制氧化反应过程。

3.2 不同类型天然抗氧化剂的作用效果

植物是天然抗氧化剂最丰富的来源，包括树叶、香料（种子）、草药和用于感官品质的精油。某些水果和蔬菜也是抗氧化剂的良好来源。一些矿物质和维生素可作为抗氧化酶的辅助因子，因此也被认为是天然抗氧化剂，如维生素 E。

3.2.1 植物提取物

主要的抗氧化植物酚类可分为：酚类化合物和黄酮类化合物^[23]。酚类化合物的共同特性是通过提供氢和电子来破坏自由基链的反应，黄酮类化合物可以直接清除自由基或螯合金属^[24,25]。Qwele 等在山羊日粮中添加辣木叶黄酮粗提物，发现其对肌肉脂肪酸含量有较大影响，显著地改变了 SFA:UFA 和 n-6FA:n-3FA 的比例^[26]，本团队前期研究发现，通过在滩羊日粮中添加甘草提取物仅提高了羊肉中 C15:1、C18:1n9t、C21:0、C22:0 脂肪酸的含量，降低了 C20:3n6 的含量^[27]，说明辣木叶黄酮粗提物和甘草提取物中的黄酮类化合物可以改变羊肉中的脂肪酸成分，这可归因于黄酮类化合物在脂肪酸代谢或氧化过程中的抗氧化作用。

番茄红素抗氧化活性极强，被广泛作为畜产品生产和加工的添加剂，其独特的结构是其具有高抗氧化能力的直接原因。本团队研究发现，在巴美肉羊日粮中添加 0、50、100 和 200 mg/kg 的番茄红素，与比对照组相比，添加 100 和 200 mg/kg 的番茄红素羊肉中总饱和脂肪酸含量分别降低了 3.29%和 2.48%，n-6 PUFA 含量显著提高；总 PUFA 和 PUFA/SFA 随着番茄红素添加水平的提高呈现线性和二次增长的态势^[28]。这些结果可归因于番茄红素的分子结构（大量共轭双键）对肉羊瘤胃中 PUFA 的保护作用，降低瘤胃对不饱和脂肪酸的氢化作用，使 PUFA 在肌肉组织中的沉积增加。

苜蓿皂苷是从苜蓿中提取的次级代谢产物，皂苷由糖及非糖部分(糖苷配基)构成，其独特的结构使其具有双亲性（亲水性和亲油性），从而发挥其抗氧化活性。在苜蓿皂苷对羊肉品质的研究方面本团队已有大量的研究成果，其中对羊肉中脂肪酸而言，在湖羊日粮中添加 0、500、1000、2000 和 4000 mg/kg 苜蓿皂苷，发现日粮中添加 500~2000 mg/kg 苜蓿皂苷可以提高羊肉中的 n-3 不饱和脂肪酸的含量^[29]，表明羊肉中脂肪酸含量与苜蓿皂苷添加剂量有关。而在呼伦贝尔羔羊日粮中同时添加苜蓿皂苷和甘草提取物，发现苜蓿皂苷组肌肉脂肪酸中的 C18:3n-3 含量显著高于甘草提取物组^[30]。这说明苜蓿皂苷和甘草提取物对羊肉脂肪酸组成的差异与其各自的抗氧化能力相关，我们的研究认为：植物皂苷可能通过调控胆固醇的含量来对肌肉的脂肪酸进行调控^[29]，而甘草提取物可能与其防止脂肪氧化或调节脂肪代谢有关^[27]。

3.2.2 维生素 E（VE）

维生素广泛分布在植物中，并可以作为食品添加剂^[31]。 α -生育酚（维生素E）是一种脂溶性类胡萝卜素，是保护脂蛋白、多不饱和脂肪酸、细胞和细胞内膜免受损害的必需的亲脂性抗氧化剂^[32]，主要通过清除自由基维持细胞膜的完整性来发挥抗氧化效果^[33]。Kasapidou 等发现绵羊日粮中低浓度的VE与羊肉中较低的n-6和n-3 PUFA的含量呈正相关^[34]。本团队

前期研究发现,在日粮中添加VE适宜的维生素E,能够降低羔羊羊肉中饱和脂肪酸,C6:0、C8:0、C10:0等短链脂肪酸以及硬脂酸的含量,增加CLA、n-3和n-6PUFA及PUFA含量^[30,33],并且说明维生素E可以改善羊肉中脂肪酸的组成比例,与维生素E能够维持细胞膜的稳定性有关,而多不饱和脂肪酸(如DHA和CLA)则主要富集在细胞膜上。然而,维生素E的浓度与多不饱和脂肪酸含量之间还存在剂量的平衡关系^[33],因此,未来的研究应考虑膳食维生素E和多不饱和脂肪酸之间的相互作用以确保动物在健康的前提下,能够提供更多的多不饱和脂肪酸满足人类的需求。

4 小结

关于天然抗氧化剂对羊肉脂肪酸的研究较少,大多数研究集中在对动物健康、生产过程中抗氧化剂的需求量、生长与屠宰性能以及肉品质的氧化稳定性等方面,因此,本文着重从植物提取物和维生素E两者与脂肪酸组成的相关关系进行探讨。未来,从香料、草药、水果和其他天然来源的抗氧化剂中筛选出有效、健康的天然抗氧化剂,可能会成为改善脂肪酸组成提供新的策略。对羊肉脂肪酸组成的研究应通过PUFA与SFA以及n-6与n-3之间的平衡,找到生产更健康羊肉制品的方法,为生产更有益于健康的羊肉产品提供理论依据。

参考文献

- [1] Williams, C. M. Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootechnie*, 2000, 49,165-180.
- [2] Siri-Tarino P W, Sun Q, Hu F B, et al. Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 2010, 91(3): 502-509.
- [3] Enser, M., Richardson, R. I., Wood, J. D. et al. Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages. *Meat Science*, 2000, 55, 201-212.
- [4] 张建友, 赵瑜亮, 丁玉庭, 等. 脂质和蛋白质氧化与肉制品风味特征相关性研究进展[J]. *核农学报*, 2018, 32(7): 1417-1424.
- [5] Min, B., & Ahn, D. U. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products-A review. *Food Science and Biotechnology*, 2005, 14(1), 152-163.
- [6] Jiang, J., & Xiong, Y. L.. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. 2016, *Meat Science*, 120, 107-117.
- [7] M. Chaijan. Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30 (1) (2008), pp. 47-53.
- [8] E. Wsowicz, A. Gramza, M. H  e, H.H. et al. Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13/54 (1) (2004), pp. 87-100.
- [9] P. Gatellier, S. Gomez, V. Gignaud, V. et al. Use of a fluorescence front faces technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. *Meat Science*, 76

- (3) (2007), pp. 543-547.
- [10] Mapiye, C., Aldai, N., Turner, T. D., et al. The labile lipid fraction of meat: From perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat Science*, 2012, 92(3), 210-220.
- [11] Nakamura, M. T., & Nara, T. Y. Structure, function and dietary regulation of $\Delta 6$, $\Delta 5$, and $\Delta 9$ desaturases. *Annual Review of Nutrition*, 2004, 24, 345-376.
- [12] Russo, G. L. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology*, 2009, 77(6), 937-946.
- [13] 陈雪君, 刘建新, 马小梅. 湖羊肌肉和皮下脂肪组织的脂肪酸组成研究. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2008, 34(6), 641-648.
- [14] Azain, M. J.. Conjugated linoleic acid and its effects on animal products and health in single-stomached animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2003, 62(2), 319-328.
- [15] Park, Y., Albright, K. J., Storkson, J. M., et al. Conjugated linoleic acid (CLA) prevents body fat accumulation and weight gain in an animal model. *Journal of food science*, 2007, 72(8), S612-S617.
- [16] Hamura, M., Yamatoya, H., & Kudo, S. Glycerides rich in conjugated linoleic acid (CLA) improve blood glucose control in diabetic C57BLKS-Leprdb/leprdb mice. *Journal of Oleo Science*, 2001, 50(11), 889-894.
- [17] Kim, H. K., Kim, S. R., Ahn, J. Y., et al. Dietary conjugated linoleic acid reduces lipid peroxidation by increasing oxidative stability in rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 2005, 51(1), 8-15.
- [18] Watkins, B. A., & Seifert, M. F. Conjugated linoleic acid and bone biology. *Journal of the American College of Nutrition*, 2000, 19(4), 478S-486S.
- [19] Raes, K., De Smet, S., & Demeyer, D. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal feed science and technology*, 2004, 113(1-4), 199-221.
- [20] Brewer, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2011, 10(4), 221-247.
- [21] Khokhar S & Owusu-Apenten RK. Iron binding characteristics of phenolic compounds: some tentative structure-activity relations. *Food Chemistry*, 2003, 81(1):133-40.
- [22] Ozsoy N, Candoken E & Akev N. Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in Aloe vera. *Oxid Med Cell Long*, 2009, 2(2):99-106.
- [23] Shan B, Cai Y Z, Sun M, et al. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(20):

7749-7759.

- [24] Wright, J. S., Johnson, E. R., & DiLabio, G. A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 2001, 123(6), 1173-1183.
- [25] Geldof N, & Engeseth NJ. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50, 3050-5.
- [26] Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S. O., et al. Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Science*, 2013, 93(3), 455-462.
- [27] 张玉伟. 甘草提取物的抗氧化性能对绵羊肌肉滴水损失的影响机制:[博士学位论文] 北京: 中国农业大学, 2013.
- [28] 蒋红琴. 番茄红素对巴美肉羊肉品质的影响及其抗氧化机理研究:[博士学位论文] 北京: 中国农业大学, 2015.
- [29] 刘策. 苜蓿皂苷对绵羊肌肉色泽的影响及其机理:[博士学位论文] 北京: 中国农业大学, 2018.
- [30] 李玉霞. 不同育肥技术对呼伦贝尔羔羊屠宰性能及肉品质的影响:[硕士学位论文] 北京: 中国农业大学, 2018.
- [31] C. Wenk. Recent advances in animal feed additives such as metabolic modifiers, antimicrobial agents, probiotics, enzymes and highly available minerals *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2000, 13, 86-95.
- [32] Raederstorff D, Wyss A, Calder P C, et al. Vitamin E function and requirements in relation to PUFA. *British Journal of Nutrition*, 2015, 114, 1113-1122.
- [33] 葛素云. 维生素E对羊肉品质的改善及其对脂蛋白酯酶活性的影响.[硕士学位论文] 北京: 中国农业大学, 2011.
- [34] E Kasapidou, J.D Wood, L.D Sinclair, et al. Diet and vitamin E metabolism in lambs: effects of dietary supplementation on meat quality. *Proceedings of the 47th Congress of Meat Science and Technology*, 1, 2001, 42-43

短链脂肪酸调控断奶前犊牛胃肠道健康发育机制⁷

马 露¹ 卜登攀^{1,2,3**}

(1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193; 2.中国农业科学院与世界农林业中心, 农林业与可持续畜牧业联合实验室, 北京 100193; 3. 湖南畜产品质量安全协同创新中心, 长沙 410128)

摘 要: 胃肠道健康发育是影响犊牛生长及其潜在生产性能发挥的关键。研究报道, 短链脂肪酸 (short chain fatty acids, SCFA) 和胃肠道微生物可促进幼龄动物胃肠道健康发育, 但具体机制还不明确。鉴于新生犊牛胃肠道发育不健全, 胃肠道内微生物种类及丰度均较低, 内源性产生的代谢产物 SCFA 量较少。为此, 本项目提出外源添加 SCFA 通过影响断奶前犊牛胃肠道微生物的定植, 维持肠道黏膜屏障的完整性及提高肠道抗炎能力, 进而促进犊牛胃肠道健康发育这一科学假设。从胃肠道上皮和微生物两个层次, 拟采用组织形态学, 微生物基因组学、转录组学和蛋白质组学等多组学技术来探究 SCFA 促进断奶前犊牛胃肠道发育的分子机制, 解析 SCFA 对断奶前犊牛胃肠道微生物定植的影响及机理, 并验证 SCFA 对断奶前犊牛炎症状态下肠道发育的调节作用, 阐明 SCFA 调控断奶前犊牛胃肠道健康发育机制, 为犊牛健康培育与科学饲养提供理论和方法依据。

关键词: 定植; 瘤胃微生物菌群; 犊牛; 短链脂肪酸; 肠道炎症

幼龄阶段是反刍动物一个重要的生理时期, 这个阶段的生长发育与其潜在生产性能有着密切的关系。瘤胃发育是犊牛生长发育的重要指标, 新生犊牛具有未发育的前胃和食管沟的独特功能, 以及皱胃和肠道相似的消化酶活性, 使其成为与单胃动物更加相似的复胃动物^[1], 由于初生犊牛的瘤胃发育不健全, 瘤胃壁很薄, 瘤网胃的容积很小, 因此, 如何促进断奶前犊牛的瘤胃发育是确保其生产性能发挥的关键。此外, 由于刚出生的犊牛胃肠道微生物及免疫系统还不够健全, 肠道疾病易在新生犊牛中发生, 腹泻是犊牛中最常见的健康问题之一, 发病严重时甚至会造成死亡, 影响行业的经济效益。因此, 研究如何提高犊牛胃肠道健康发育的理论及方法, 是保证犊牛健康生长, 减少腹泻, 提高其潜在产奶量和利用胎次的关键。

1 SCFA 调控幼龄动物胃肠道健康发育

SCFA 大多数是由厌氧细菌发酵膳食中未消化吸收的碳水化合物和纤维多糖而产生, 以直链脂肪酸乙酸、丙酸和丁酸为主, 参与体内的生理调节反应。反刍动物瘤胃内 SCFA 的浓度约为 60-150 mM, 其中乙酸占 60%-70%, 丙酸占 15%-20%, 丁酸占 10%-15%^[2], 主要在瘤胃内消化吸收, 为宿主提供约占总代谢能的 75%的能量^[3]。进一步的研究表明, 瘤胃上皮

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(3180131337); 国家重点研发计划课题(2018YFD0501602); 中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS07); 奶牛产业科技北京市创新团队(BAIC06-2018)

作者简介: 马 露 (1984-), 内蒙古商都县人, 助理研究员, 研究方向为反刍动物营养与饲料科学。E-mail: malu.nmg@163.com

**通信作者: 卜登攀, 研究员, 博士生导师, E-mail:budengpan@126.com

细胞 HCO_3^- 分泌量与瘤胃内高浓度的 SCFA 密切相关, HCO_3^- 进入瘤胃后与 H^+ 发生中和反应, 可降低瘤胃 pH 值, 进而促进瘤胃上皮的生长^[4], 因此, 瘤胃内 SCFA 不仅是瘤胃发育的能量供给, 还是刺激瘤胃生长发育的关键^[5]。相对于肠道的生长发育, SCFA 不仅能为肠粘膜细胞提供能量, 还能促进细胞的代谢和生长^[6], 并能够抑制抗炎因子的生成, 对肠道炎症及病变反应, 尤其是腹泻起到抑制作用^[7, 8]。而肠道菌群在肠黏膜表面与宿主细胞的相互作用影响肠道微环境^[9], 细菌发酵产生的 SCFA 亦是肠道中主要的阴离子, 浓度达到 50-150 mmol/L, 可降低肠道 pH, 进而促进益生菌的生长增殖并抑制特定病原菌定植^[10, 11], 维持肠道稳态。

但由于新生犊牛胃肠道发育不完善, 微生物还没有完全定植, 且种类和丰度均很低, 可产生的内源性 SCFA 量很少, 外源性添加 SCFA 能否通过降低犊牛胃肠道 pH, 进而抑制胃肠道有害菌, 影响胃肠道的微生物定植, 促进肠道抗炎能力, 最终调控犊牛胃肠道健康发育仍不清楚。因此, 进一步系统的研究 SCFA 是如何影响犊牛胃肠道微生物定植以及胃肠道的健康发育机制, 将对减少犊牛腹泻率, 充分发挥犊牛潜在的泌乳潜力和进一步指导行业健康发展具有重要的研究意义。

1.1 SCFA 刺激犊牛瘤胃及肠道的生长发育

瘤胃成熟过程是能量吸收代谢、细胞基因分化表达的结果。经历许多代谢途径的变化, 在瘤胃发酵产物的刺激下, 瘤胃黏膜具有了生酮的作用, 由依赖于葡萄糖为主要能量来源转化为依赖于饲料中的 SCFA 为主^[12]。早期的研究表明, 淀粉经犊牛瘤胃微生物发酵产生的 SCFA 可直接刺激瘤胃上皮的生长和功能的发育^[13]。此外, 添加支链 SCFA 也可促进犊牛生长发育和瘤胃发酵^[14]。瘤胃乳头的形态变化与分支的出现, 主要是由于瘤胃内丁酸和丙酸对瘤胃上皮细胞的刺激作用, 促进了细胞的增殖^[15], 并影响参与瘤胃上皮发育相关基因的表达, 提高瘤胃乳头的长度和宽度, 从而扩大瘤胃上皮吸收面积^[5]。丁酸盐能够上调瘤胃上皮细胞正丁酸代谢物和 SCFA 跨膜转移相关蛋白 mRNA 表达^[16], 促进犊牛的瘤胃发育。异丁酸亦可促进犊牛瘤胃乳头的长度和宽度以及瘤胃上皮粘膜的 GHR、HMGCS 的 mRNA 相对表达量^[17]。经肠道细菌酵解后产生的 SCFA, 除少部分为机体提供能量外, 80%用于肠黏膜细胞的能量供给, 其中丁酸的代谢能力最强, 可以直接为肠上皮细胞提供能量^[18], 刺激肠上皮细胞的发育, 提高犊牛小肠的成熟速度和吸收能力^[19]。直接给犊牛添加丙酸钙可促进犊牛体重的增加和前肠的发育^[20], 提高小肠黏膜 GHR 和 INSR mRNA 及小肠 SGLT1 mRNA 表达量, 促进小肠黏膜的发育^[5]。

但由于犊牛瘤胃壁具有很高的代谢活性^[21], 大部分 SCFA 在瘤胃内经由瘤胃上皮吸收转运, 其转运途径有以非离子形式的简单扩散作用进行, 也有以离子形式在转运载体的帮助下通过 SCFA- HCO_3^- 离子交换以及电介导转运吸收, 但是相关转运蛋白以及具体转运机制目前还不太清楚。

1.2 胃肠道微生物可产生 SCFA, 而 SCFA 亦可降低胃肠道内 pH, 进而可达到抑制胃肠道有

害菌，改善胃肠道菌群结构

微生物定植是一个复杂的过程，受宿主和微生物之间的相互作用以及多种外界因素影响，在最初的定植之后，持续暴露于宿主特异性微生物不仅对于粘膜免疫系统的发育和成熟有调节作用，而且对动物的营养和健康都是非常重要的^[22]。SCFA 是肠道菌群之间用于信息交流的感应分子，对菌群内部结构的稳定起到决定作用^[23]。SCFA 与胃肠道微生物的关系具有双重性，即促进有益微生物的生长和抑制有害微生物（大肠杆菌和沙门菌等）的生长，并且有益微生物的增长也会反过来刺激增加 SCFA 的合成。SCFA 的产生使瘤胃维持一个较理想的酸性环境，适合微生物的繁殖和寄生，这些微生物又进一步发酵瘤胃饲料，使瘤胃处于一个良性循环^[24]。研究表明，在瘤胃内，瘤胃上皮细胞 HCO_3^- 分泌量与瘤胃内高浓度的 SCFA 密切相关， HCO_3^- 进入瘤胃后与 H^+ 发生中和反应，可降低瘤胃 pH 值^[4]，达到促进益生菌的生长增殖并抑制病原菌的定植^[10, 11]，进而维持瘤胃微生物区系的稳态。Wang 等^[17]的研究证实，断奶前后犊牛饲喂异丁酸可增加溶纤维丁酸弧菌和产琥珀酸丝状杆菌细菌总数，并提高断奶前犊牛的生黄瘤胃球菌的细菌总数。

乳酸杆菌与大肠杆菌数量的比值，代表动物对肠道紊乱疾病的抵抗能力，比值越高，抵抗力越强，日粮中添加丁酸可明显降低回肠大肠菌群的数量，同时提高乳酸杆菌的数量，提高乳酸杆菌与大肠杆菌数量的比值^[25]。当肠道中 SCFA 浓度升高时，不仅能够提供菌群自身生长所需的能量，还降低肠道内 pH 值，增加肠道内酸性环境，明显抑制大肠杆菌和沙门菌等有害菌的繁殖，使有益菌得到增殖，从而改善肠道菌群结构^[26, 27]。

此外，最新发表在 Science 上的研究表明，高膳食纤维可在人体肠道内富集 15 个 SCFA 产生菌，进而产生 SCFA，介导菌群对血糖稳态的影响，并通过重点分析产 SCFA 的菌的丰度和多样性与肠道炎症的关系，得出高膳食纤维在产生 SCFA 的过程中富集的 15 个菌株，改善了肠道环境，肠道 pH 值降低，丁酸盐水平增加，15 个菌株竞争性地抑制了其他“有害菌”，减少了有害代谢产物（例如吲哚、硫化氢）的产生，从而构建了更加健康的肠道^[28]。Zwittink 等^[29]通过宏蛋白质组学和 16S rRNA 技术关联分析揭示了早产儿肠道微生物演替过程中功能变化，阐明肠道微生物演替定植影响肠道相关生物学代谢过程。

但由于新生犊牛胃肠道发育不完善，微生物种类和丰度均很低，可产生的内源性 SCFA 量很少，外源性添加 SCFA 能否通过降低犊牛胃肠道 pH，抑制胃肠道有害菌，影响胃肠道的微生物演替定植，进一步影响肠道上皮相关生物学代谢途径，进而调控肠道健康发育的研究鲜有报道。

1.3 SCFA 缓解动物肠道炎症反应，维持肠粘膜屏障的完整性，而犊牛因肠道炎症引起的腹泻问题是否与犊牛胃肠道发育不健全，内源性 SCFA 含量少有关？

SCFA 对肠上皮细胞有营养和促进增殖、分化作用，对维持肠黏膜屏障完整性和稳定肠道微环境具有重要意义，并且可以改变对代谢疾病的易感性，作用于游离脂肪酸受体（free fatty acid receptor, FFAR），在调节代谢、免疫和疾病上扮演着重要的角色^[30]，能通过影响

某些炎性细胞释放细胞因子而起到抗炎作用, Tedelind 等^[31]通过对乙酸、丙酸、丁酸与抗炎因子释放的关系研究中发现, 30 mmol/L 的乙酸、丙酸和丁酸能降低肿瘤坏死因子(TNF- α)的释放, 而不影响 IL- κ 蛋白的释放, 表明 SCFA 对结肠炎症具有良好的治疗效果。SCFA 可通过激活肠上皮细胞短链脂肪酸受体 GPR41 和 GPR43 (G protein-coupled receptor, GPR), 活化 MAPK 信号通路, 产生各种趋化因子和细胞因子, 增强炎症应答^[32], 其中乙酸可通过 GPR43 诱导树突状细胞表达 Aldh1a2 (Aldehyde dehydrogenase 1 family, subfamily A2), 进而促进 B 细胞分泌 IgA^[33], 而高脂高糖饮食可使产 SCFA 的细菌减少, GPR43 表达降低从而导致肠道炎症加重^[34]。

肠黏膜屏障包括肠肌层和表面的肠上皮细胞层, 肠上皮细胞层与肠道菌群直接接触, 是菌群-宿主发生交互作用的重要场所。肠上皮细胞通过紧密联合相互连接, 构成肠上皮屏障, 在异常情况下, 紧密连接蛋白合成减少, 上皮细胞间间隙增加, 即所谓的“肠通透性增加”^[35]。肠道菌群对肠上皮屏障具有生长促进作用, 正常菌群释放 SCFA 抑制肠黏膜的通透性, 对维持肠黏膜屏障的完整性具有积极意义^[11]。但肠道菌群异常改变的肠易激综合症 (Irritable Bowel Syndrome, IBS) 患者由于肠上皮细胞对 SCFA 摄入不足, 直接影响紧密连接蛋白的分布, 导致其肠黏膜通透性增加^[36], 肠黏膜变薄, 保护作用下降, 细菌及抗原进入黏膜下层损伤肠细胞^[37]。适当浓度的 SCFA 中高比例的丁酸盐具有改善肠屏障功能并且保护单层细胞不被破坏^[16]。最新研究表明, SCFA 可诱导肠上皮细胞分泌 IL-18、抗菌肽和粘蛋白, 激活肠上皮细胞内低氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF), 诱导结肠中调节性 T 细胞 (Treg), 从而加强肠上皮紧密连接, 促进黏蛋白生成, 加速肠黏膜屏障修复, 维持肠道黏膜屏障的完整性, 增强肠道免疫及肠黏膜屏障的作用^[38-42], 还可增加肠上皮细胞中维持免疫耐受的关键信号分子维甲酸 (Retinoic acid, RA) 的含量来促进粘膜稳态^[43]。

然而, 由于新生犊牛胃肠道发育不完善, 内源性产生的 SCFA 量很少, 而关于外源性添加 SCFA 能否影响肠道紧密连接蛋白的分布, 进而缓解犊牛肠道炎症反应, 维持肠粘膜屏障的完整性仍不清楚。

2 小结

新生犊牛胃肠道发育不完善, 微生物种类和丰度均很低, 可产生的内源性 SCFA 量很少, 外源性添加 SCFA 能否通过降低犊牛胃肠道 pH, 进而抑制胃肠道有害菌, 影响胃肠道的微生物定植, 进而影响胃肠道上皮细胞的发育, 增强肠道抗炎能力, 最终促进犊牛胃肠道健康发育仍不清楚。因此, 进一步系统的研究 SCFA 是如何影响犊牛胃肠道微生物定植以及胃肠道的健康发育机制, 将对进一步指导行业健康发展, 减少犊牛腹泻率, 充分发挥犊牛潜在的泌乳潜力具有重要的科学意义。

参考文献:

- [1]. HEINRICHS A J, K E LESMEISTER, P C GARNSWORTHY Rumen development in the dairy calf[C].in Calf and heifer rearing: principles of rearing the modern dairy heifer from calf to

- calving. 60th University of Nottingham Easter School in Agricultural Science, Nottingham, UK. 23rd-24th March, 2004. 2005.
- [2]. PENNER G B, M TANIGUCHI, L L GUAN, et al. Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue[J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(6): p. 2767-2781.
 - [3]. BERGMAN E N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species[J]. *Physiological Reviews*, 1990, 70(2): p. 567-590.
 - [4]. BILK S, K HUHN, K U HONSCHA, et al. Bicarbonate exporting transporters in the ovine ruminal epithelium[J]. *Journal of Comparative Physiology B Biochemical Systemic & Environmental Physiology*, 2005, 175(5): p. 365.
 - [5]. ZHANG X, X WU, W CHEN, et al. Growth performance and development of internal organ, and gastrointestinal tract of calf supplementation with calcium propionate at various stages of growth period[J]. *Plos One*, 2017, 12(7): p. e0179940.
 - [6]. KOWALSKI Z M, P G ŃRKA, J FLAGA, et al. Effect of microencapsulated sodium butyrate in the close-up diet on performance of dairy cows in the early lactation period[J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(5): p. 3284-3291.
 - [7]. PIEKARSKA J, D MIŚTA, M HOUSZKA, et al. *Trichinella spiralis*: the influence of short chain fatty acids on the proliferation of lymphocytes, the goblet cell count and apoptosis in the mouse intestine[J]. *Experimental Parasitology*, 2011, 128(4): p. 419-426.
 - [8]. VINOLO M A, H G RODRIGUES, E HATANAKA, et al. Suppressive effect of short-chain fatty acids on production of proinflammatory mediators by neutrophils[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2011, 22(9): p. 849-855.
 - [9]. ÖHMAN L, H T ŃRNBLÖM, M SIMR ŃNC. Crosstalk at the mucosal border: importance of the gut microenvironment in IBS[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2015, 12(1): p. 36-49.
 - [10]. ESWARAN S, J MUIR, W D CHEY. Fiber and Functional Gastrointestinal Disorders[J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2013, 108(5): p. 718-727.
 - [11]. FUKUDA S, H TOH, K HASE, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate[J]. *Nature*, 2012, 469(5): p. 543-7.
 - [12]. LANE M A, B W JESSE. Effect of volatile fatty acid infusion on development of the rumen epithelium in neonatal sheep[J]. *Journal of Dairy Science*, 1997, 80(4): p. 740-6.
 - [13]. SUTTON J D, A D MCGILLIARD, M RICHARD, et al. Functional Development of Rumen Mucosa. II. Metabolic Activity 1[J]. *Journal of Dairy Science*, 1963, 46(6): p. 530-537.
 - [14]. LIU Q, C WANG, G GUO, et al. Effects of branched-chain volatile fatty acids

supplementation on growth performance, ruminal fermentation, nutrient digestibility, hepatic lipid content and gene expression of dairy calves[J].*Animal Feed Science & Technology*,2018,237:p.27-34.

[15].BEIRANVAND H, G R GHORBANI, M KHORVASH, et al.Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development[J].*Journal of Dairy Science*,2014,97(4):p.2270-2280.

[16].DENGLER F, R RACKWITZ, F BENESCH, et al.Both butyrate incubation and hypoxia upregulate genes involved in the ruminal transport of SCFA and their metabolites[J].*Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition*,2015,99(2):p.379-390.

[17].WANG C, Q LIU, Y L ZHANG, et al.Effects of isobutyrate supplementation in pre- and post-weaned dairy calves diet on growth performance, rumen development, blood metabolites and hormone secretion[J].*Animal An International Journal of Animal Bioscience*,2016,11(5):p.794-801.

[18].张军, 黄佳佳丁酸盐在动物营养中的应用[J].*饲料广角*,2006(21):p.45-46.

[19].GERBERT C, D FRIETEN, C KOCH, et al.Organ and epithelial growth in the gastrointestinal tract of Holstein calves fed milk replacer ad libitum and supplemented with butyrate[C].in *Prodceedings of the the Society of Nutrition Physiology*.2017.

[20].BUNTING L D, T A TARIFA, B T CROCHET, et al.Effects of Dietary Inclusion of Chromium Propionate and Calcium Propionate on Glucose Disposal and Gastrointestinal Development in Dairy Calves 1[J].*Journal of Dairy Science*,2000,83(11):p.2491-2498.

[21].BANNINK A, J FRANCE, S LOPEZ, et al.Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall ☆[J].*Animal Feed Science & Technology*,2008,143(1):p.3-26.

[22].MALMUTHUGE N, P J GRIEBEL, L L GUANThe Gut Microbiome and Its Potential Role in the Development and Function of Newborn Calf Gastrointestinal Tract[J].*Frontiers in Veterinary Science*,2015,2(4814):p.459-60.

[23].SANG H R, C POTHOUKAKIS, E A MAYERPrinciples and clinical implications of the brain–gut–enteric microbiota axis[J].*Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*,2009,6(5):p.306-314.

[24].BENSBADOUN A, O L PALADINES, J T REIDEffect of level of intake and physical form of the diet on plasma glucose concentration and volatile fatty acid absorption in ruminants[J].*Journal of Dairy Science*,1962,45(10):p.1203-1210.

[25].G ÁLFI P, J BOKORIFeeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate[J].*Acta Veterinaria Hungarica*,1990,38(1-2):p.3-17.

- [26]. PASTELL H, P WESTERMANN, A S MEYER, et al. In vitro fermentation of arabinoxylan-derived carbohydrates by bifidobacteria and mixed fecal microbiota[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(18): p. 8598.
- [27]. 刘松珍, 张雁, 张名位, et al. 肠道短链脂肪酸产生机制及生理功能的研究进展[J]. *广东农业科学*, 2013, 40(11): p. 99-103.
- [28]. ZHAO L, F ZHANG, X DING, et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes[J]. *Science*, 2018, 359(6380): p. 1151-1156.
- [29]. ZWITTINK R D, Z D VAN, R MARTIN, et al. Metaproteomics reveals functional differences in intestinal microbiota development of preterm infants[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2017, 16(9).
- [30]. SPILJAR M, D MERKLER, M TRAJKOVSKI The Immune System Bridges the Gut Microbiota with Systemic Energy Homeostasis: Focus on TLRs, Mucosal Barrier, and SCFAs[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: p. 1353.
- [31]. TEDELIND S, F WESTBERG, M KJERRULF, et al. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2007, 13(20): p. 2826-2832.
- [32]. KIM M H, S G KANG, J H PARK, et al. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(2): p. 396-406.e10.
- [33]. WU W, M SUN, F CHEN, et al. Microbiota metabolite short chain fatty acid acetate promotes intestinal IgA response to microbiota which is mediated by GPR43[J]. *Mucosal Immunology*, 2017, 10(4): p. 946-956.
- [34]. AGUS A, J DENIZOT, J TH ÉVENOT, et al. Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive E. coli infection and intestinal inflammation[J]. *Gastroenterology*, 2016, 6(4): p. S23-S23.
- [35]. 徐万里, 陆高, 梁世杰, et al. 短链脂肪酸介导的菌群-宿主互动与肠易激综合征的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2015(36): p. 5815-5822.
- [36]. HYLAND N P, E M QUIGLEY, E BRINT Microbiota-host interactions in irritable bowel syndrome: Epithelial barrier, immune regulation and brain-gut interactions[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(27): p. 8859-8866.
- [37]. VELASQUEZMANOFF M Gut Microbiome: The Peacekeepers[J]. *Nature*, 2015, 518(7540): p. S3.
- [38]. HAN X, H SONG, Y WANG, et al. Sodium butyrate protects the intestinal barrier function in peritonitic mice[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(3): p. 4000-4007.

- [39].KELLY C J, L ZHENG, E L CAMPBELL, et al.Crosstalk between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and Intestinal Epithelial HIF Augments Tissue Barrier Function[J].Cell Host & Microbe,2015,17(5):p.662-671.
- [40].MACIA L, J TAN, A T VIEIRA, et al.Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome[J].Nature Communications,2015,6:p.6734.
- [41].SUN M, W WU, Z LIU, et al.Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases[J].Journal of Gastroenterology,2016,52(1):p.1.
- [42].TAMBURINI S, N SHEN, H C WU, et al.The microbiome in early life: implications for health outcomes[J].Nature Medicine,2016,22(7):p.713-722.
- [43].SCHILDERINK R, C VERSEIJDEN, J SEPPEN, et al.The SCFA butyrate stimulates the epithelial production of retinoic acid via inhibition of epithelial HDAC[J].Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2016,310(11):p.G1138.

Mechanisms of the beneficial actions of short chain fatty acids on gastrointestinal tract development of calves before weaning

MA Lu¹ BU Dengpan^{1,2,3**}

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. CAAS-ICRAF Joint Lab on Agroforestry and Sustainable Animal Husbandry, Beijing 100193, China; 3. Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha 410128, China)

Well development of gastrointestinal tract is one most important key step to improve the potential performance in calves. Previous studies have shown that short chain fatty acids (SCFA) can improve the development of the gastrointestinal tract but without more mechanism details. Newborn calves only can produce very little SCFA as poor development of the gastrointestinal tract and gut microflora. This study will test the hypothesis that administering SCFA will enhance the development of the gastrointestinal tract through improving gut microorganism colonization and the improvement of anti-inflammatory actions in calves. This research will identify the mechanisms of SCFA action on gastrointestinal tract development of calves before weaning using histomorphology and ‘omics technologies to study aspects of the colonization of gastrointestinal microorganisms, intestinal inflammation, and the potential growth of the gastrointestinal tract in calves. Through the implementation of this project, theoretical basis will be provided for improving calf health and benefiting the dairy industry.

Key words: colonization; rumen microbial; calves; short chain fatty acids; intestinal inflammation

肠道栖居菌与宿主互作调控粘膜屏障功能的研究进展

汪海峰⁸ 邓墨曦 崔艳军 刘建新

(浙江大学动物科学学院, 动物分子营养学教育部重点实验室 杭州 310058)

摘 要: 动物肠道是一个具有生物多样性的微环境, 肠道微生物与宿主相互适应、共同进化形成精细的共生系统。肠道粘液层及其栖居菌对维持肠道屏障功能至关重要。本文主要综述动物肠道上皮和粘液及其栖居菌屏障构成, 阐述肠道共生菌与肠道上皮作用的受体、信号通路及免疫反应及产物; 分析了栖居菌与粘液层的互作关系, 包括肠道栖居菌对粘液素黏附和代谢利用、肠道菌群对粘液合成分泌的影响与调节、粘液素缺乏对肠道屏障功能的影响; 最后综述乳酸杆菌借助表面蛋白、磷壁酸和肽聚糖对肠道粘膜屏障功能的调节作用。

关键词: 动物; 肠道栖居菌; 乳酸杆菌; 粘液; 粘膜屏障

动物肠道是一个具有生物多样性的微环境, 其细菌数量为体细胞十倍。胃肠道粘膜上皮的巨大表面潜在暴露于肠道微生物。然而, 动物机体如何维持肠道庞大的菌群而不诱发过度的自然和适应性免疫反应? 宿主与细菌相互适应、共同进化形成精细的共生系统, 其中重要一点就是通过覆盖上皮细胞的粘液屏障将共生微生物以及致病菌与宿主上皮细胞和底层组织分开^[1-3], 粘液的存在使得上皮细胞接触的细菌数量有限^[4, 5]。基于宿主屏障功能和微生物的宿主适应性, 共生微生物与宿主之间维持微妙的互利关系^[2, 6]。微生物菌群通过与黏膜免疫系统交互作用, 调节肠道上皮与黏膜系统的生长、存活以及炎症控制。益生菌或者共生菌群能够竞争肠道上皮细胞受体位点抑制病原微生物黏附, 阻止病原微生物在肠道中形成规模。因此, 肠道微生物菌群在肠道新陈代谢、肠道上皮细胞功能、免疫系统以及炎症反应信号通路等方面发挥调控作用, 微生物与宿主在互作中维持肠道屏障功能。本文主要综述动物肠道上皮和粘液及其栖居菌屏障构成、肠道共生菌对肠道上皮组织的调节作用机制、栖居菌与粘液层的互作关系, 最后分析乳酸杆菌益生菌对肠道屏障功能的调节作用。

1 动物肠道屏障构成

1.1 肠道上皮细胞

肠道上皮细胞 (Intestinal Epithelial Cells, IECs) 被认为是胃肠道中的免疫“哨兵”, 在维持宿主先天和适应性肠道黏膜免疫系统中起着重要的作用。IEC 是宿主防御病原菌入侵或者致炎性物质刺激的第一道防线, 通过产生大量细胞因子和趋化因子使分散在其周围的免疫细胞发挥免疫作用。IEC 与肠道微生物菌群直接接触, 病原菌产生的炎症反应要比肠道中共生细菌产生的炎症反应剧烈的多^[7]。但是有报道称, IEC 对于一些不致病的共生细菌也会产生过度的炎症反应^[8], 对一些共生细菌如 *Lactobacillus rhamnosus*, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium lactis* 等会产生炎症细胞因子 (IL-1、IL-8、TNF- α 等) 或者趋化因子^[9]。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31672430)

作者简介: 汪海峰 (1977-), 男, 研究员, 博士, 主要从事动物营养代谢、消化道微生物与粘膜免疫研究。
E-mail: haifengwang@zju.edu.cn

肠道上皮细胞通过适应机制来限制细菌的生长,减少与细菌的直接接触以及防止细菌进入黏膜下层组织来防止自身产生过度的炎症反应。当破坏这层细胞屏障会导致机体对微生物菌群的免疫耐受能力下降,产生异常的免疫反应,甚至会引发 IBD、溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 等^[10]。单层上皮细胞将共生的微生物、病原菌和杯状细胞分泌的黏液与下层的免疫细胞分割构成肠道屏障 (图 1), 所以肠道上皮屏障是阻止感染和炎症的主要防御机制。

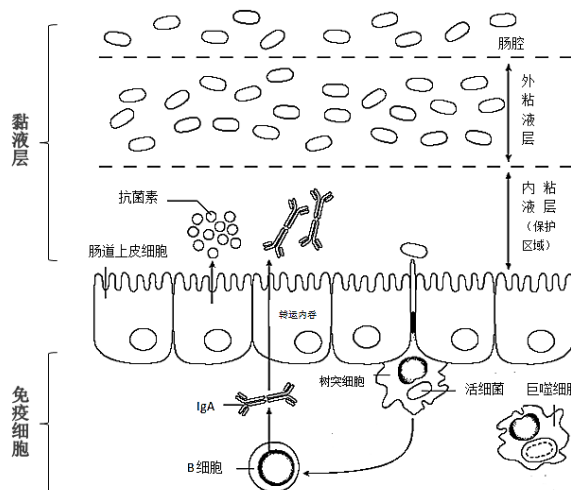


图 1 肠道屏障示意图

Fig.1 Schematic diagram of intestinal tract barrier^[11]

1.2 动物肠道粘液层及其栖居菌

动物胃肠道表面分布粘液的主要支撑结构为大分子糖蛋白,即粘液素^[12]。小肠和大肠的粘液结构不同^[13]。小肠粘液为非紧密结合的、可通透性的,利于营养物质更新吸收,也意味细菌的融入,但粘液脱离后包裹细菌并向前排泄,保持肠道上皮清洁^[14]。大肠中,粘液层明显分为两个部分,即松散粘液外层、紧密连接粘液内层^[13]。分泌型的凝胶形成粘液素 MUC2 为结肠粘液内层和外层的主要粘液素^[15, 16]。杯状细胞分泌粘液素 MUC2 以二硫键交叉连接成网络,扩展开来形成粘液内层^[17]。粘液内层在结肠段最为明显,具有粘液素多聚体形成的成层的平面结构、锚定于上皮细胞,细菌由于菌体体积原因而不能通过,因此,粘液内层形成几乎完全无菌的区域,在隔离细菌中发挥主要作用^[18]。粘液处于生成和脱离动态变化之中,由上皮杯状细胞分泌而不断更新。结合于结肠上皮的内层粘液由内源性蛋白酶转化为分离的、非致密的粘液外层^[18]。松散的外层粘液糖基为相关微生物形成定植位点和营养来源^[19],成为共生微生物天然的栖居地^[3, 19]。粘液携带栖居菌脱落进入肠腔^[20],利于宿主特定共生菌种繁殖与维持,避免从区系中覆灭。

2 微生物与肠道上皮相互作用及机制

2.1 微生物相关作用受体

肠道黏膜具有跨膜或者胞质内的受体,即模式识别受体 (Pattern Recognition Receptors, PRRs),它们通过特异性识别并结合特异性微生物大分子配体 (图 2)。这些配体即是微生物相关分子模式 (microbial-associated molecular patterns, MAMPs),包括脂多糖 (LPS)、鞭毛、

肽聚糖以及甲酰化多肽。跨膜 PRRs 包括外膜和内体浆质隔室的代表 Toll 样受体家族 (Toll-like Receptors, TLRs), 以及胞内受体的代表核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 NOD 样受体 (NOD-like Receptors, NLRs)。我们课题组曾对肠道上皮细胞免疫调节相关受体做了全面的综述^[21]。

(1) TLR受体

TLR受体是先天性免疫中主要的识别受体,能有效地区分自身与非自身抗原,并能有效协调下游信号产生的各种炎症因子之间的作用。已经发现的TLR受体家族有12种,均为跨膜蛋白,TLR受体具有一个富含亮氨酸重复序列的细胞外结构域和一个包含高度保守Toll/IL-1受体结构的细胞质结构域,两大结构域参与配体的识别,识别外来抗原,进而进行信号转导^[22, 23], 目前研究的主要为TLR2、TLR4、TLR5和TLR9。研究表明,不同的TLR受体识别不同的配体,TLR1与TLR2主要识别细菌脂蛋白、肽聚糖以及LPS, TLR4识别LPS等, TLR5识别鞭毛蛋白, TLR9识别CpG DNA等^[24] (图3)。有的受体与配体识别需要第三方物质(如蛋白)的参与,如TLR4受体与LPS配体识别时,需要LPS结合蛋白MD-2的参与,该蛋白首先与LPS结合,后将LPS转移到CD14细胞上与TLR4结合,完成抗原的识别,并激活下游信号^[25]。

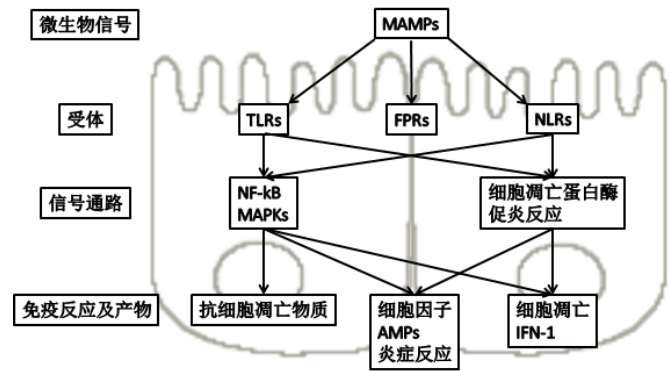


图 2 微生物-肠道上皮相互作用示意图

Fig.2 Schematic diagram of interaction between microbe and gut barrier^[26]

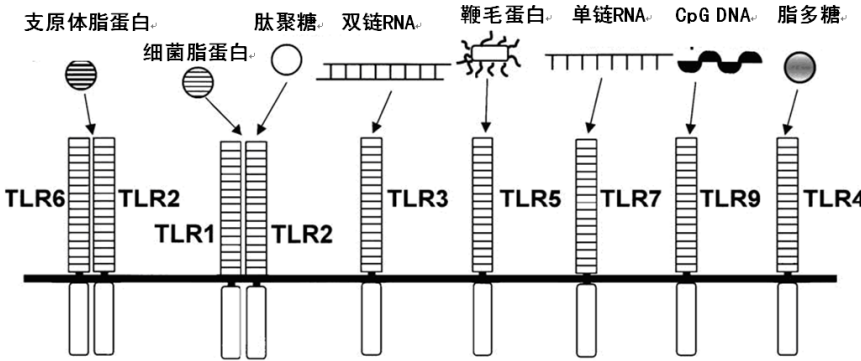


图3 外来抗原微生物的不同细胞表面配体与TLR家族的关系示意图^[24]

Fig.3 Pathogen-associated molecular patterns and TLRs

(2) NLR受体

NLR 受体是胞质受体,配体需进入细胞质才能与之相结合,激活下游信号通路,发挥免疫调节作用,NLR 受体中心区域有 NACHT 结构域、CIITA 结构域(MHC class II transcription activator)和一个蛋白与蛋白互作结构域,该结构域主要包括三个部分:一个是半胱氨酸天冬氨酸激酶募集结构域(CARD)或具有免疫作用的蛋白结构域(PYD),另两个为核酸结合寡聚化结构域(NOD)和富含亮氨酸的重复结构域^[27]。典型的 NLR 受体主要有 CIITA、NLRP12、NLRX1、NOD1、NOD2、NLRP1 和 NLRC4 等。研究最详细的是 NOD1 和 NOD2,主要识别细菌表面细胞壁肽聚糖(PG)成分,如胞壁酰二肽(MDP)和 N-乙酰胞壁酸脂(DAP)。NOD1 在肠道上皮表达,而 NOD2 只有单核细胞和巨噬细胞及肠道潘氏细胞能表达,受体与细胞表面配体结合后激活 NF- κ B 和 MAPK 通路^[28]。

2.2 信号通路

在肠道黏膜中,PRRs 的激活启动调节通路,如 NF- κ B 通路(NF- κ B signaling pathway)、丝裂原活化蛋白激酶通路(MAPK signaling pathway)以及细胞凋亡蛋白酶依赖的信号级联反应(caspase-dependent signaling cascades)来产生各类细胞因子和趋化因子或者引起细胞凋亡(图 2)。NF- κ B 被认为是在炎症反应中起重要作用的一类因子,能够调控一些细胞因子的表达,如 TNF- α 、IL-6、IFN- γ 等^[29],MAPK 在炎症反应中也发挥着非常重要的调节作用,不同配体与相应的 PRRs 结合后通过 p38、ERK、JNK 的磷酸化来激活 MAPK 级联反应产生免疫应答效应,激活的 MAPK 受各类与炎症反应相关的信号转导通路调节,比如细胞因子以及其基因,通过 NF- κ B 从胞质进入核内与 DNA 结合来调节 MAPK 级联反应,所以抑制 NF- κ B 通路和 MAPK 通路对于治疗炎症反应是一项有效的措施^[29]。

肠道黏膜对于微生物的转录应答是不同的,一些 PRR 配体为益生菌或者共生细菌受体,而肠道黏膜对于这些细菌的应答并不引起肠道黏膜的炎症反应,这些益生菌或者共生细菌通过减轻病原细菌诱导产生的致炎性免疫因子应答反应来发挥保护肠道上皮屏障的作用。由病原菌或者其他应激信号引起的炎症或者细胞凋亡,是由 NF- κ B 信号通路和细胞凋亡蛋白酶依赖的信号级联反应来控制,大部分益生菌通过阻止上皮细胞蛋白酶功能和阻止 I κ B(NF- κ B 的负调节因子)降解,或者通过过氧化物酶体增殖物激活受体 PPAR γ 依赖的信号通路将 NF- κ B 亚基 p65 从细胞核中输出从而限制 NF- κ B 通路^[29]。益生菌还能够诱导转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路和 MMP3K 信号通路,介导抗炎和抗细胞凋亡作用^[30]。细菌脂蛋白和肠道上皮细胞 TLR2 相互作用能够激活骨髓分化主要响应基因 88 (Myd88),随后集合快速集合死亡域(fast activated death domain,FADD)激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 8 信号通路(caspase-8 pathway)发生细胞凋亡^[31, 32]。鞭毛在细胞凋亡应答中起了重要作用,TLR5 和鞭毛相互作用启动促炎反应信号通路和促细胞凋亡信号通路,具有鞭毛结构的病原微生物与肠道上皮细胞接触,通过激活 TLR5 来启动促炎反应的产生,巨噬细胞利用胞内 IL-1 β 转换酶蛋白酶激活因子(IPAF)或者凋亡抑制蛋白-5 (NAIP-5)来识别胞质内鞭毛,应答 IL-1 或者引起细胞凋亡^[33]。

2.3 免疫反应及产物

当黏膜与微生物相互作用激活 PRR, PRR 通过转录或者转录后过程将信号传递进胞内通过信号转导级联反应产生相应的分子产物(如细胞因子、趋化因子)或者引导细胞凋亡反应等(图 2)。免疫过程中产生的细胞因子分为致炎性细胞因子(pro-inflammation)如 IL-6、IL-8、TNF- α 、IFN- γ 等和抗炎性细胞因子(anti-inflammation)如 IL-10、IL-15 等。致炎性细胞因子在肠道中的功能主要是引起肠道上皮细胞产生免疫反应,激活肠道屏障中的免疫屏障的各类免疫细胞如树突细胞、巨噬细胞等的免疫应答。抗炎性细胞因子在肠道中的功能主要是阻止致炎性细胞因子引起肠道屏障的破坏和炎症的发生。细胞能对细菌的刺激产生炎症反应,猪肠道上皮细胞在受到鼠伤寒细菌感染之后能产生 IL-8 和 TNF- α ^[34],用内毒素 LPS 刺激肠道上皮细胞能够使细胞产生 IL-1 β 、IL-6、IL-8 以及 CCL2、CCL20 等致炎性细胞因子和趋化因子^[29]。IL-10 的抗炎作用是通过抑制 NF- κ B 中的 I κ B 的降解来影响致炎性细胞因子的合成,如 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6^[35],PI3K 通路能够减少致炎因子如 TNF- α 、IL-6、IL-8 等的表达,增加抗炎因子 IL-10 的表达^[36]。

3 肠道栖居菌与粘液层互作

3.1 肠道栖居菌对粘液素黏附和代谢利用

肠道粘液素形成伸展、固定、宽松管状,末端糖基形成三维表面,其暴露的末端糖基作为潜在配体,细菌依靠黏附素与之结合^[12, 37]。由于物种间粘液素糖基化差异,宿主基于自身特异性的糖基选择性定植某些细菌而形成特定的肠道菌群^[38, 39],或只感染特定致病菌^[2],为宿主选择性定植相关微生物的重要机制^[19]。可采用表面等离子共振技术(SPR)实时分析细菌与肠道粘液素的粘附及其动力学^[40]。粘液层对于细菌主要的营养作用为富含多聚糖成分^[5]。细菌利用多糖酶分解粘液素多糖获得稳定的能量来源^[19, 41],但只有部分细菌具有完全的基因库编码代谢糖苷酶来分解粘液多聚糖,仅这类肠道微生物菌种进化形成利用粘液素作为营养源^[42]。研究发现能够降解粘液素多聚糖的细菌可更容易适应肠道环境变化,更有利于定植于粘膜表面,从而使其作为肠道的核心菌种^[43]。除了粘液分解菌,粘液层也存在其它菌种^[44],由粘液分解菌可分解粘液提供底物^[42]。稳定性同位素探针(SIP)结合细菌测序鉴定有效用于细菌代谢和代谢活性分析,以 ¹³C 标记底物,微生物代谢利用后 ¹³C 标记会嵌入细菌新合成 DNA 和 RNA,从而可分析不同细菌对底物的代谢特性^[45]。

3.2 肠道菌群对粘液合成、分泌的影响与调节作用

肠道细胞表面粘液素分泌、产生速率以及糖基化,依赖正常微生物调节。无菌动物小肠和大肠粘液不同于正常有菌动物,结肠粘液形成依赖细菌组成^[18, 46, 47]。在正常生理条件下,小肠粘液与上皮分离,而无菌小鼠的小肠粘液不能从上皮分离^[6]。结肠粘液内层通常对于细菌为不可通透的,相反,无菌动物的整个粘液层为可通透的,直至上皮细胞表面,显示菌群影响粘液层通透性^[6],也影响粘液素的糖基化^[48, 49]。研究显示粘液层屏障功能的特性与定植细菌组成密切相关,宿主与微生物形成互作调节肠道粘液层^[3]。作者曾利用无菌仔猪构建了

人源化肠道微生物的仔猪模型^[50]，并以此分析鼠李糖乳酸杆菌对仔猪攻毒轮状病毒的干预作用和免疫信号调节机制，缓解由于病毒感染而导致的肠道菌群变化^[51]。利用无菌动物定植菌群后，分析肠道粘液层物理特性、化学组成和相关细菌区系的动态、瞬时变化^[6]，可解析特定肠道微生物组成与粘液素理化特性的关系^[3]。通过免疫组化染色粘液素、16SrDNA 探针杂交标记细菌 DNA、DAPI 染色细胞核等处理，激光共聚焦显微镜分析可清晰显示小鼠肠道细胞、粘液素、细菌的空间分布与结构^[47]。

3.3 粘液素缺乏对肠道屏障功能的影响

结肠内层粘液为有效物理屏障，细胞表面粘液素为防止肠道致病菌突破粘液内层所必需^[52]。粘液素（MUC2）缺失小鼠的肠道细菌载量增加，细菌与上皮紧密接触，导致上皮细胞扩增、自发性结肠炎症^[18, 53]。*Muc2* 基因缺失导致杯状细胞和潘氏细胞应激，产生结肠炎^[54]。MUC2 缺失可引发 β 防御素下降和区系不平衡，导致那些受 β 防御素抑制微生物的生长^[55]，*Muc2* 缺失小鼠更容易发生肠道致病菌感染^[56]。在结肠炎或溃疡病人的小鼠模型研究中发现，粘液生成降低、产生不正常粘液与 O-糖基化、共生菌突破粘液内层而引发肠道炎症^[57]。粘液素缺失小鼠具有不全的糖基化粘液素 MUC2，易被细菌降解^[57]，推测认为结肠粘液内层厚度对于结肠屏障功能十分重要，粘液层变薄可能与炎症有关。但粘液层厚度不能作为粘液屏障功能的独立指标，缺失白介素 IL-10 小鼠，粘液层代偿性增厚来克服粘液屏障功能下降^[47]。粘液层的损伤会导致屏障功能下降，小鼠口服 DSS 后，粘液内层隔离细菌接触上皮的能力下降，进而激活上皮损伤前防御性 MUC2 分泌、启动炎症^[58]。

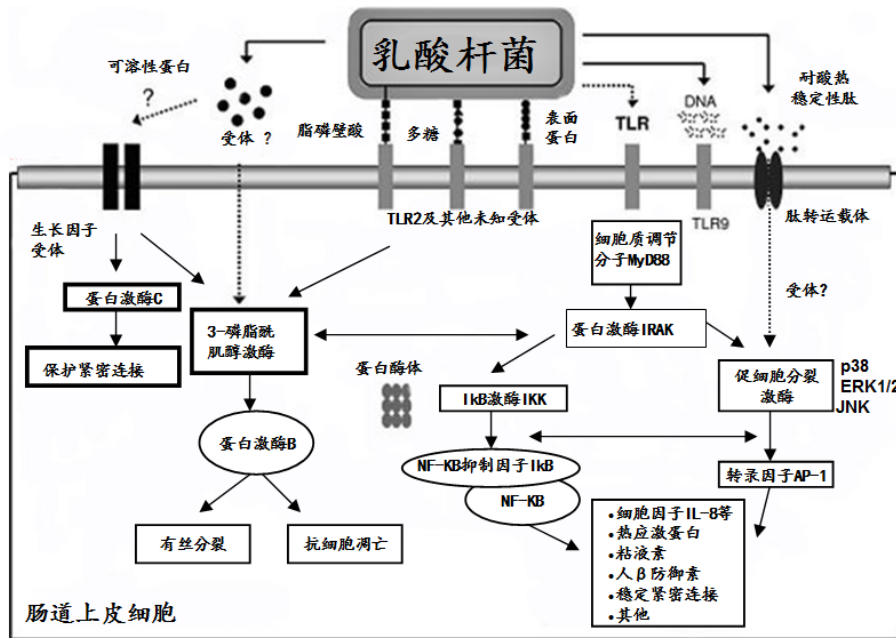


图4 乳酸杆菌在发挥肠道免疫调节过程的示意图^[62]

Fig.4 Modulation of epithelial barrier function by lactobacilli and signaling pathways involved

4 乳酸杆菌对肠道粘膜屏障的调节作用

益生菌发挥功能的机制包括对免疫功能进行调节、对共生细菌和病原菌发挥直接干预作

用而阻止机体感染，对肠道稳态的修复以及致病性毒素的降解^[59]。Schiffrin等^[60]发现，约氏乳酸杆菌和双歧乳酸杆菌在体外能增强吞噬细胞对大肠杆菌的吞噬作用。乳酸杆菌通过调节的猪肠道上皮细胞IL-6、IL-8表达而发挥免疫保护作用^[61]。乳酸杆菌的表面的配体与肠上皮细胞表面的特异受体相结合，并通过信息转导，调节机体的免疫应答。近年来研究证实，乳酸杆菌表面成分在增强宿主免疫中起着重要的作用，如脂磷壁酸(LTA)、细胞壁肽聚糖(PG)、细胞表面蛋白(S-protein)以及一些未知的细胞表面提取物。乳酸杆菌表面物质作为配体被TLR等受体识别后激活免疫信号通路(见图4)，产生细胞因子和趋化因子^[24]。

4.1 细胞表面蛋白

乳酸杆菌表面覆盖一层表面蛋白，分子量在25~71 kD之间，均为碱性蛋白，等电点在9.35~10.4之间。作者全面综述了S层蛋白、引物酶sortase依赖蛋白、黏膜结合蛋白和胞外间质黏附的调节性表面蛋白等乳酸杆菌表面蛋白结构特征及其在肠道粘附中的作用与机制^[63]。Bergonzelli等^[64]发现，约氏乳酸杆菌(*L.johnsonii* NCC533)细胞表面的热应激蛋白GroEL能够促进该菌对HT-29细胞和肠粘膜的粘附，并能促进肠道上皮和巨噬细胞产生细胞因子IL-8。Grannato等^[65]发现，*L.johnsonii* NCC533细胞表面EF-Tu蛋白在可溶性CD14的刺激下能够诱导促炎症因子IL-8的分泌。敲除*L. acidophilus* NCFM的slpA基因能有效抑制细菌与树状突细胞上受体DC-SIGN(DC上表达的CLR受体，属于II型跨膜蛋白)的粘附，显示slpA是CLR受体DC-SIGN的配体，研究同时发现，slpA能促进IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-12p70和TNF- α 的生成^[66]。

4.2 脂磷壁酸(LTA)

LTA普遍存在于革兰氏阳性细菌中，并大量存在于乳酸杆菌的细胞表面，不仅能够介导细菌的粘附，还作为CD细胞表面受体的配体，与受体结合后刺激机体产生免疫因子，如TNF- α 和白细胞介素(IL-1)。研究发现，LTA能够通过蛋白激酶C(PKC)、磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)、丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)家族JNK和p38通路来激活单核细胞和巨噬细胞产生炎症细胞因子，如TNF和IL-1^[67]。Matsuguchi等^[68]发现，*L. casei* YIT9029和发酵乳酸杆菌YIT0159的LTA分子主要与TLR2受体结合，并能激活NK- κ B的信号，诱导小鼠巨噬细胞分泌TNF- α 。

4.3 细胞壁肽聚糖(PG)

肽聚糖是乳酸杆菌细胞壁的主要成分，厚约20~80 nm，主要是通过TLR受体的介导来发挥其在先天性免疫中的作用。研究表明，在体外实验中乳酸杆菌细胞壁肽聚糖能刺激巨噬细胞的成熟，并能诱导细胞因子的产生，产生免疫学效应。研究发现，来自约氏乳酸杆菌、植物乳酸杆菌和金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖(PG)通过与TLR2受体结合，抑制了*L.casei* 乳酸杆菌诱导细胞因子IL-12生成作用^[69]，间接证明肽聚糖通过TLR2受体发挥免疫调节作用。目前研究最多的PG片段是胞壁酰二肽(MDP)和N-乙酰胞壁酸脂(DAP)，主要识别NLR受体中的NOD1和NOD2。

5 小结

肠道上皮屏障是阻止病原微生物入侵的第一道防线，肠道上皮表面粘液及其栖居菌对维持调节肠道屏障功能至关重要。研究肠道粘液素与栖居菌群互作调节粘液层组成、结构与通透性以及肠道粘液层屏障功能及机制，分析肠道粘液与栖居菌互作关系及其在维护肠道屏障功能上的机制，提出合理有效的营养调控措施，以促进肠道健康、减少肠道疾病，对仔猪等幼畜禽培育具有重要意义。益生菌以表面成分调节肠道黏膜来增强肠道上皮屏障功能，乳酸杆菌的免疫调节和竞争粘附作用效应，其作用的前提是乳酸杆菌表面成分与肠道上皮细胞的受体互作，但乳酸杆菌表面成分与受体之间具体识别方式仍然不十分明了，有关表面成分在肠道识别后的信号启动与传导机制仍有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] BIRCHENOUGH G, HANSSON G C. Bacteria tell us how to protect our intestine [J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 22(1): 3.
- [2] MCGUCKIN M A, LIND N S K, SUTTON P, et al. Mucin dynamics and enteric pathogens [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(4): 265-78.
- [3] VAISHNAVA S. The intestinal mucus layer comes of age [J]. *Trends in Immunology*, 2016, 37(1): 3-4.
- [4] B CKHED F, LEY R E, SONNENBURG J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine [J]. *Science*, 2005, 307(5717): 1915.
- [5] JOHANSSON M E V, SJ VALL H, HANSSON G C. The gastrointestinal mucus system in health and disease [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2013, 10(6): 352-61.
- [6] JOHANSSON, MALIN, NBSP, et al. Normalization of host intestinal mucus layers requires long-term microbial colonization [J]. *Cell Host & Microbe*, 2015, 18(5): 582-92.
- [7] VIZOSO PINTO M G, RODRIGUEZ GOMEZ M, SEIFERT S, et al. Lactobacilli stimulate the innate immune response and modulate the TLR expression of HT29 intestinal epithelial cells in vitro [J]. *International journal of food microbiology*, 2009, 133(1-2): 86-93.
- [8] LOTZ M, GUTLE D, WALTHER S, et al. Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells [J]. *The Journal of experimental medicine*, 2006, 203(4): 973-84.
- [9] ZEUTHEN L H, FINK L N, METZDORFF S B, et al. Lactobacillus acidophilus induces a slow but more sustained chemokine and cytokine response in naive foetal enterocytes compared to commensal Escherichia coli [J]. *BMC immunology*, 2010, 11(2).
- [10] CHICHLOWSKI M, HALE L P. Bacterial-mucosal interactions in inflammatory bowel disease: an alliance gone bad [J]. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*, 2008, 295(6): G1139-49.
- [11] GERSEMANN M, WEHKAMP J, STANGE E F. Innate immune dysfunction in

- inflammatory bowel disease [J]. *Journal of internal medicine*, 2012, 271(5): 421-8.
- [12] JOHANSSON M E V, HANSSON G C. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2016, 16(10): 639.
- [13] ATUMA C, STRUGALA V, ALLEN A, et al. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology*, 2001, 280(5): G922.
- [14] ERMUND A, SCH TTE A, JOHANSSON M E V, et al. Studies of mucus in mouse stomach, small intestine, and colon. I. Gastrointestinal mucus layers have different properties depending on location as well as over the Peyer's patches [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology*, 2013, 305(5): G341-G7.
- [15] GUM J R, HICKS J W, TORIBARA N W, et al. Molecular cloning of human intestinal mucin (MUC2) cDNA. Identification of the amino terminus and overall sequence similarity to prepro-von Willebrand factor [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(4): 2440-6.
- [16] JOHANSSON M E, LARSSON J M, HANSSON G C. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 Suppl 1(11): 4659-65.
- [17] DESAI M S, SEEKATZ A M, KOROPATKIN N M, et al. A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility [J]. *Cell*, 2016, 167(5): 1339-53.
- [18] JOHANSSON M E V, PHILLIPSON M, PETERSSON J, et al. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria [J]. *Gut Microbes*, 2008, 1(1): 51.
- [19] LI H, LIMENITAKIS J P, FUHRER T, et al. The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche [J]. *Nature Communications*, 2015, 6(8292): 8292.
- [20] JOHANSSON M E V, THOMSSON K A, HANSSON G C. Proteomic analyses of the two mucus layers of the colon barrier reveal that their main component, the Muc2 mucin, is strongly bound to the fcgbp protein [J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(7): 3549-57.
- [21] 章文明, 汪海峰, 刘建新. 乳酸杆菌益生作用机制的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2012, v.24(03): 389-96.
- [22] TAKEDA K, KAISHO T, AKIRA S. Toll-like receptors [J]. *Annual Review of Immunology*, 2003, 21(1): 335.
- [23] AKIRA S, TAKEDA K. Toll-like receptor signalling [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2004, 4(7): 499.

- [24] YAMAMOTO M, AKIRA S. Mechanisms of innate immune responses mediated by Toll-like receptors [J]. *Clinical & Applied Immunology Reviews*, 2005, 5(3): 167-83.
- [25] ADEREM A, ULEVITCH R J. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response [J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 782.
- [26] SHARMA R, YOUNG C, NEU J. Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota [J]. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2010, 2010(305879).
- [27] BOURHIS L L, BENKO S, GIRARDIN S E. Nod1 and Nod2 in innate immunity and human inflammatory disorders [J]. *Biochemical Society Transactions*, 2007, 35(6): 1479-84.
- [28] MALDONADOCONTRERAS A L, MCCORMICK B A. Intestinal epithelial cells and their role in innate mucosal immunity [J]. *Cell & Tissue Research*, 2011, 343(1): 5-12.
- [29] JIANG Y, LU X, MAN C, et al. *Lactobacillus acidophilus* induces cytokine and chemokine production via NF-kappaB and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways in intestinal epithelial cells [J]. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 2012, 19(4): 603-8.
- [30] AZEVEDO M S, ZHANG W, WEN K, et al. *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri* modulate cytokine responses in gnotobiotic pigs infected with human rotavirus [J]. *Beneficial microbes*, 2012, 3(1): 33-42.
- [31] HORMANNSPERGER G, HALLER D. Molecular crosstalk of probiotic bacteria with the intestinal immune system: clinical relevance in the context of inflammatory bowel disease [J]. *International journal of medical microbiology : IJMM*, 2010, 300(1): 63-73.
- [32] SHIN E M, ZHOU H Y, GUO L Y, et al. Anti-inflammatory effects of glycyrol isolated from *Glycyrrhiza uralensis* in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. *International immunopharmacology*, 2008, 8(11): 1524-32.
- [33] LI N, QUIDGLEY M C, KOBEISSY F H, et al. Microbial cell components induced tolerance to flagellin-stimulated inflammation through Toll-like receptor pathways in intestinal epithelial cells [J]. *Cytokine*, 2012, 60(3): 806-11.
- [34] COLLADO-ROMERO M, ARCE C, RAMIREZ-BOO M, et al. Quantitative analysis of the immune response upon *Salmonella typhimurium* infection along the porcine intestinal gut [J]. *Veterinary research*, 2010, 41(2): 23.
- [35] CHON H, CHOI B, LEE E, et al. Immunomodulatory effects of specific bacterial components of *Lactobacillus plantarum* KFCC11389P on the murine macrophage cell line RAW 264.7 [J]. *Journal of applied microbiology*, 2009, 107(5): 1588-97.
- [36] ANTONIV T T, IVASHKIV L B. Interleukin-10-induced gene expression and suppressive function are selectively modulated by the PI3K-Akt-GSK3 pathway [J]. *Immunology*, 2011, 132(4): 567-77.

- [37] JUGE N. Microbial adhesins to gastrointestinal mucus [J]. Trends in Microbiology, 2012, 20(1): 30-9.
- [38] LEY R E, HAMADY M, LOZUPONE C, et al. Evolution of mammals and their gut microbes [J]. Science, 2008, 320(5883): 1647-51.
- [39] RAWLS J F, MAHOWALD M A, LEY R E, et al. Reciprocal gut microbiota transplants from zebrafish and mice to germ-free recipients reveal host habitat selection [J]. Cell, 2006, 127(2): 423.
- [40] UCHIDA H, FUJITANI K, KAWAI Y, et al. A new assay using surface plasmon resonance (SPR) to determine binding of the Lactobacillus acidophilus group to human colonic mucin [J]. Bioscience Biotechnology & Biochemistry, 2004, 68(5): 1004-10.
- [41] PUDLO N A, URS K, KUMAR S S, et al. Symbiotic human gut bacteria with variable metabolic priorities for host mucosal glycans [J]. mBio, 2015, 6(6):
- [42] PNG C W, LIND N S K, GILSHENAN K S, et al. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria [J]. American Journal of Gastroenterology, 2010, 105(11): 2420.
- [43] TAILFORD L E, CROST E H, KAVANAUGH D, et al. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome [J]. Frontiers in Genetics, 2015, 6(6): 81.
- [44] LA V D W, HARMSSEN H J, MADJIPOUR M, et al. Bacterial population analysis of human colon and terminal ileum biopsies with 16S rRNA-based fluorescent probes: commensal bacteria live in suspension and have no direct contact with epithelial cells [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2005, 11(10): 865-71.
- [45] REICHARDT N, BARCLAY A R, WEAVER L T, et al. Use of stable isotopes to measure the metabolic activity of the human intestinal microbiota [J]. Computing & Visualization in Science, 2011, 77(22): 8009-14.
- [46] JAKOBSSON H E, RODRIGUEZ-PIÑERO A M, SCHMIDT A, et al. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier [J]. Embo Reports, 2015, 16(2): 164-77.
- [47] JOHANSSON M E V, GUSTAFSSON J K, HOLM LARSSON J, et al. Bacteria penetrate the normally impenetrable inner colon mucus layer in both murine colitis models and patients with ulcerative colitis [J]. Gut, 2014, 63(2): 281-91.
- [48] ENSS M L, SCHMIDTWITTIG U, MILLER H, et al. Response of germfree rat colonic mucous cells to peroral endotoxin application [J]. European Journal of Cell Biology, 1996, 71(1): 99.
- [49] FREITAS M, AXELSSON L G, CAYUELA C, et al. Microbial-host interactions specifically control the glycosylation pattern in intestinal mouse mucosa [J]. Histochemistry & Cell

Biology, 2002, 118(2): 149.

- [50] ZHANG H, WANG H F, SHEPHERD M, et al. Probiotics and virulent human rotavirus modulate the transplanted human gut microbiota in gnotobiotic pigs [J]. Gut Pathogens, 2014, 6(1): 39.
- [51] WANG H F, GAO K, WEN K, et al. Lactobacillus rhamnosusGG modulates innate signaling pathway and cytokine responses to rotavirus vaccine in intestinal mononuclear cells of gnotobiotic pigs transplanted with human gut microbiota [J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1): 1-14.
- [52] GUANG W, DING H, CZINN S J, et al. Muc1 cell surface mucin attenuates epithelial inflammation in response to a common mucosal pathogen [J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(27): 20547.
- [53] VAN D S M, DE KONING B A, DE BRUIJN A C, et al. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection [J]. Gastroenterology, 2006, 131(1): 117-29.
- [54] HEAZLEWOOD C K, COOK M C, ERI R, et al. Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis [J]. Plos Medicine, 2008, 5(3): e54.
- [55] COBO E R, KISSOON-SINGH V, MOREAU F, et al. Colonic MUC2 mucin regulates the expression and antimicrobial activity of β -defensin 2 [J]. Mucosal Immunology, 2015, 8(6): 1360-72.
- [56] KASER A, LEE A H, FRANKE A, et al. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease [J]. Cell, 2008, 134(5): 743.
- [57] FU J, WEI B, WEN T, et al. Loss of intestinal core 1-derived O-glycans causes spontaneous colitis in mice [J]. Journal of Clinical Investigation, 2011, 121(4): 1657.
- [58] BIRCHENOUGH G M, NYSTR M E E, JOHANSSON M E, et al. A sentinel goblet cell guards the colonic crypt by triggering Nlrp6-dependent Muc2 secretion [J]. Science, 2016, 352(6293): 1535.
- [59] OELSCHLAEGGER T A. Mechanisms of probiotic actions - A review [J]. International journal of medical microbiology : IJMM, 2010, 300(1): 57-62.
- [60] SCHIFFRIN E J, ROCHAT F, LINK-AMSTER H, et al. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria [J]. Journal of Dairy Science, 1995, 78(3): 491-7.
- [61] SHIMAZU T, VILLENA J, TOHNO M, et al. Immunobiotic Lactobacillus jensenii elicits anti-inflammatory activity in porcine intestinal epithelial cells by modulating negative

- regulators of the Toll-like receptor signaling pathway [J]. *Infection and immunity*, 2012, 80(1): 276-88.
- [62] LEBEER S, VANDERLEYDEN J, KEERSMAECKER S C J D. Genes and Molecules of Lactobacilli Supporting Probiotic Action [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2008, 72(4): 728-64.
- [63] 汪海峰, 章文明, 汪以真, 等. 乳酸杆菌与肠道黏附相关表面因子及其机制的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2011, 23(2): 179-86.
- [64] BERGONZELLI G E, GRANATO D, PRIDMORE R D, et al. GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori* [J]. *Infection & Immunity*, 2006, 74(1): 425.
- [65] GRANATO D, BERGONZELLI G E, PRIDMORE R D, et al. Cell Surface-Associated Elongation Factor Tu Mediates the Attachment of *Lactobacillus johnsonii* NCC533 (La1) to Human Intestinal Cells and Mucins [J]. *Infection & Immunity*, 2004, 72(4): 2160-9.
- [66] KONSTANTINOV S R, SMIDT H, VOS W M D, et al. S Layer Protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM Regulates Immature Dendritic Cell and T Cell Functions [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(49): 19474-9.
- [67] SU S C, HUA K F, LEE H, et al. LTA and LPS mediated activation of protein kinases in the regulation of inflammatory cytokines expression in macrophages [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2006, 374(1): 106-15.
- [68] MATSUGUCHI T, TAKAGI A, MATSUZAKI T, et al. Lipoteichoic Acids from *Lactobacillus* Strains Elicit Strong Tumor Necrosis Factor Alpha-Inducing Activities in Macrophages through Toll-Like Receptor 2 [J]. *Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology*, 2003, 10(2): 259.
- [69] SHIDA K, KIYOSHIMASHIBATA J, KAJI R, et al. Peptidoglycan from lactobacilli inhibits interleukin-12 production by macrophages induced by *Lactobacillus casei* through Toll-like receptor 2-dependent and independent mechanisms [J]. *Immunology*, 2010, 128(1pt2): e858-e69.

Recent advances on the role and mechanism of interplay between resident bacteria and host in modulation of intestinal mucosa barrier

WANG Haifeng⁹ DENG Zhaoxi CUI Yanjun LIU Jianxin

(College of Animal Science, National Engineering Laboratory of Biofeed Safety & Pollution Control, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Animal intestinal tract is a microenvironment with lot of microorganism, intestinal microbes interact with their hosts to form a fine symbiotic system. The defense line of mucus layer and its resident commensal bacteria plays an important role in maintaining the gut barrier. In this article, we reviewed the recent progress on animal intestinal barrier composition such as intestinal epithelial cell and mucus layer and its resident bacteria. We also reviewed intestinal epithelial cell receptor such as toll-like receptor (TLR) and nucleotide binding oligomerization domain-like receptors (NLRs). The combination of the resident bacteria and receptor could modulate immune signaling pathways and promote immune function in the gut, resulting in beneficial effects on host. We analyzed the relationship between the mucus layer and its resident commensal bacteria, which including metabolism of mucus layer by resident commensal bacteria, impact of bacteria on the mucin synthesis and secretion, and barrier function variation facing lack of mucin. Finally, we focused on *Lactobacillus* surface factors such as surface protein, teichoic acids and peptidoglycan to bind to their intestinal receptors to modulate and strengthen the intestinal barrier.

Key words: animal; intestine resident bacteria; *Lactobacillus*; mucus; mucosal barrier

*Corresponding Author: WANG Haifeng, Professor, E-mail: haifengwang@zju.edu.cn

猪肠道微生物及其营养调控

罗玉衡 余冰 何军 毛湘冰 车炼强 陈代文*

(四川农业大学动物营养研究所, 动物抗病营养教育部、农业部重点实验室, 成都 611130)

摘要: 传统动物营养学主要关注营养物质在肠道中被直接消化、吸收和利用的部分, 但忽视了肠道微生物的作用。近年来, 四川农业大学动物营养研究所猪营养团队在此领域做了系统研究, 本文将对此作一综述, 以期健康、高效、安全的动物生产提供新思路。

关键词: 猪; 肠道微生物; 营养调控

消化道微生物被看作动物体内的另一个“器官”, 在营养物质的消化和吸收过程中起着关键作用。本团队系统研究发现猪肠道微生物与宿主表型的关系密不可分。多种日粮组分(如纤维、淀粉、寡糖、蛋白质、脂肪等), 以及一些添加物(如抗生素、益生菌、有机酸和酚类等)都可能影响猪的肠道菌群组成, 改变其代谢产物浓度和组成, 从而通过不同途径影响猪的营养物质代谢和肠道健康。本文主要基于本团队现有研究结果, 系统综述日粮-肠道微生物-宿主的潜在互作关系。

1. 猪肠道微生物与宿主表型

1.1 不同品种猪肠道微生物组成有明显差异

大白猪、荣昌猪和藏猪具有不同的肠道微生物组成。三种猪粪便中可检测到的细菌共有15个门类。藏猪和荣昌猪比大白猪具有更高比例的 *Firmicutes* 和 *Spirochaetes* 及更低比例的 *Bacteroidetes*, 且藏猪 *Spirochaetes* 比例明显高于荣昌猪; 而大白猪和荣昌猪则比藏猪含有更高比例的 *Tenericutes* 及更低比例的 *Fibrobacteres* 和 *Elusimicrobia*; 藏猪粪便中 *Lactobacillus*、*Fibrobacter* 和 *Akkermansia* 属的比例明显高于其余两种猪^[1], 暗示猪肠道微生物的组成很可能与宿主代谢类型、采食特性、免疫功能等有关。

1.2 猪肠道微生物组成与宿主肠道发育、免疫特性、糖脂代谢和肉品质等的关系

无菌小鼠接种上述3个品种猪的粪便悬液后能复制供体猪的肠道菌群, 且微生物可携带宿主部分特征传递给无菌小鼠。哺乳仔猪早期移植大白猪和荣昌猪粪便打破肠道微生物平衡, 不利于肠道正常发育, 但移植藏猪粪便不损害哺乳仔猪肠道健康, 与其提高仔猪肠道丙酸和丁酸含量, 以及 IgA+ B 细胞、MAC387+巨噬细胞和 CD4+T/CD8+T 比值有关^[1-2]。荣昌猪的粪菌移植可增加无菌小鼠肌肉脂肪沉积, 改变肌纤维特性, 呈现与供体类似的代谢类型。猪的骨骼肌表型与优势菌门(如 *Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Spirochaetes* 等)和属(*Ruminococcus*、*Treponema*、*Prevotella* 等)的丰度有关^[3]。

1.3 猪肠道微生物型与宿主骨骼肌表型和代谢的关系

作者简介: 罗玉衡, 女, 四川乐山人, 副研究员, 博士, 硕士生导师, 主要从事猪的营养与肠道微生物研究。E-mail: luoluo212@126.com

*通讯作者: 陈代文, 教授, 博士生导师, E-mail: dwchen@sicau.edu.cn

猪肠道中的 *Prevotella/Bacteroides* (P/B) 与宿主的骨骼肌表型之间存在联系。高 P/B 猪骨骼肌肌内脂肪显著低于低 P/B 猪, 与脂肪酸从头合成和脂肪酸摄取相关基因表达下调有关。P/B 比和饲料淀粉类型互作改变骨骼肌表型及代谢, 高直链淀粉饲料能提高低 P/B 猪骨骼肌肌内脂肪含量, 改变肌纤维类型, 其机制与肠粘膜 PPARG-ANGPTL4 的表达调节和后肠乙酸的累积有关^[3]。

综上, 肠道微生物与宿主表型之间存在密切的互作。宿主摄入的营养物质也是肠道微生物赖以生存的底物, 因而在很大程度上调控微生物的组成及其代谢产物。

2. 营养对猪肠道微生物的调控

2.1 日粮碳水化合物与猪肠道微生物的关系

2.1 日粮纤维来源和类型对猪肠道微生物及其代谢产物的影响

仔猪饲料中短期 (30 d) 添加 10% 小麦麸和豌豆纤维在降低仔猪腹泻率的同时, 提高回肠中乳酸菌和结肠中 *Bifidobacterium* 数量^[4-6]。豌豆纤维的添加降低结肠^[7]和盲肠^[8]中 *Bacteroidetes* 相对丰度, 提高结肠乙酸和盲肠总 SCFAs 浓度。豌豆纤维的长期 (160 d) 添加提高猪结肠 *Bacteroidetes* 丰度和多糖利用相关菌群数量, 降低 *Firmicutes* 丰度和潜在致病菌群数量, 改变猪结肠甲烷菌多样性, 提高氢营养微生物活性^[9]。

饲料中添加 15% 的豌豆纤维、燕麦麸和混合纤维源 (豌豆纤维与燕麦麸各占 7.5%) 提高猪 CP 和 ADF 消化率^[10]。燕麦麸靶向促进猪肠道中 *Clostridiaceae* 生长, 豌豆纤维则促使猪回肠和结肠中 *Lactobacillus* 增殖, 同时降低回肠乙酸、丙酸及总 SCFAs 浓度, 增加丙酸比例。混合纤维源的添加靶向促进猪结肠中 *Anaerovibrio* 增殖, 降低回肠总 SCFAs 浓度, 提高乙酸比例, 说明菌群结构的变化可改变肠道发酵方式^[11]。

饲料纤维类型由 IDF (含 5% 微晶纤维素) 转换为 SDF (含 5% 燕麦 β -葡聚糖) 后, 猪 CP、EE 等消化率降低, ADF 消化率提高。饲料纤维类型由 IDF 转变为 SDF 引起 *Bacteroidetes* 丰度变化, 由 SDF 转变为 IDF 则主要引起 *Actinobacteria* 和 *Firmicutes* 丰度变化, 且使猪后肠 SCFAs 浓度升高, 与细菌多样性增加有关^[12]。

SDF (菊粉) 和 IDF (爱博素) 的混合添加对断奶仔猪生长、肠道发育及屏障功能的促进作用优于单一类型的纤维。短期 (28 d) 添加 IDF 或混合纤维 (各占 0.5%) 可提高仔猪结肠中 *Prevotella* (重要 SCFAs 产生菌) 丰度和乙酸、丙酸浓度。添加 1% SDF 可提高结肠内两种 *Proteobacteria* 和 *Actinobacteria* (产丁酸) 丰度和丁酸产量^[13]。

日粮添加 5% β -葡聚糖或纤维素对仔猪肠道屏障功能的促进作用优于木聚糖, 与改善仔猪肠道菌群结构, 促进 SCFAs 的产生有关。纤维素降低 *Firmicutes* 丰度, 增加 *Proteobacteria*、回肠 *Lactobacillus* 丰度和乙酸产量; β -葡聚糖提高产丁酸菌 *Roseburia faecis* 丰度及盲肠丙酸和丁酸含量; 木聚糖增加有害菌数量且降低盲肠丁酸浓度^[14]。

综上, 猪肠道中存在利用不同来源或类型纤维的特定菌群。微生物群落结构的变化引起肠道发酵方式改变, 可能是纤维发挥不同生理作用的重要介导因素。

2.2 直链淀粉与支链淀粉比例影响猪肠道微生物群落结构和代谢产物

传统营养学对淀粉的研究多集中于猪的前肠,忽略了在前肠无法完全降解而进入后肠的淀粉对机体的影响。我们发现,较高淀粉直支比(0.52)的饲料提高仔猪全肠段 *Bifidobacterium*^[15]和 *Bacillus*^[16]数量。与低淀粉直支比(0.14)饲料相比,高直支比(0.43)饲料可提高育肥猪回肠中 *Bacteroidetes* 丰度,降低 *Prevotella* 丰度。较低的淀粉直支比可提高猪回肠中 *Megasphaera elsdenii* 和 *Mitsuokella multacida* 丰度,及乙酸和丁酸浓度,但较高的淀粉直支比可降低 γ -变形菌纲条件致病菌丰度,提高类 *Lactobacillus acetotolerans* 丰度^[17]。说明肠道微生物与饲料淀粉的交互可能直接影响营养物质利用率。

2.3 寡糖对猪肠道特定菌群的影响

添加 100 mg/kg 褐藻酸寡糖可提高断奶仔猪回肠 *Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus* 数量,降低盲肠和结肠 *E. coli* 数量^[18]。苹果果胶寡糖(200 或 400 mg/kg)不同程度改善育肥猪胴体及肉质性状,在提高结肠总细菌量的同时,提高食糜 SCFAs 浓度^[19]。7-35 日龄仔猪饲料中添加甘露寡糖(800 mg/kg)可提高其生长性能和部分非特异性免疫应答能力,降低空肠和盲肠中 *E. coli* 数量,提高小肠中 *Lactobacillus* 数量^[20]。在母猪和断奶仔猪饲料中添加壳寡糖均可降低结肠食糜 pH 及盲肠和结肠总细菌和 *E. coli* 数量,增加回肠 *Bifidobacterium* 数量^[21]。

综上,寡糖对猪的益生作用与其种类、添加水平和动物的生理阶段密切相关。但寡糖如何影响猪肠道微生物组成,及是否通过微生物代谢产物调控猪肠道免疫屏障功能仍需研究。

2.4 日粮蛋白质来源和水平对猪肠道菌群组成及代谢产物的影响

日粮添加 12.04%固态发酵复合蛋白相比未发酵复合蛋白降低生长猪盲肠食糜 SCFAs、挥发性盐基氮和氨等微生物代谢产物的含量,改善猪肠道消化功能^[22]。平衡 Lys、Met、Thr、Trp、Val 和 Ile 或平衡 10 种 EAAs 均增加结肠 Firmicutes 丰度(与能量代谢有关),并降低 *Bacteroidetes* 丰度,此时蛋白水平降低 2%或 4%不影响猪的生长和胴体品质,但降低氮排放和粪尿氨气产量,其中前者可降低生长猪结肠 Firmicutes 丰度,增加 *Bacteroidetes* 丰度^[23]。

2.5 脂肪来源影响猪肠道特定菌群数量

对 *E. coli* 攻毒仔猪的研究发现,以椰子油为饲料油脂来源可降低仔猪盲肠 *E. coli* 数量,增加 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 数量,以及 *Lactobacillus/E. coli*、*Bifidobacterium/E. coli* 的比值,且效果优于鱼油和猪油^[24],说明无论在正常还是免疫应激状态下,脂肪均可通过调节肠道微生态环境来促进生长,或降低应激对仔猪的负面影响。

2.6 抗生素及其他添加剂对猪肠道菌群结构的影响

2.6.1 抗生素对猪肠道微生物区系的影响

饲料中添加恩拉霉素(5-80 mg/kg)虽对生产性能稍有提升,但明显影响仔猪肠道菌群结构。仔猪直肠 *E. coli* 数量与抗生素剂量呈明显正相关,*Lactobacillus* 和 *Lactobacillus/E. coli* 则随抗生素剂量增加而降低。停止添加抗生素后 1 周仔猪肠道菌群仍不能恢复正常。抗生

素的添加还导致在 LPS 应激后,仔猪回肠和盲肠中 *Lactobacillus*/*E. coli* 下降,及盲肠中 VBN、AN、乙酸和丁酸含量下降^[25]。可见饲料中添加抗生素对仔猪肠道微生物区系的影响很可能是不可逆的。过量添加抗生素极大危害仔猪肠道微生态平衡。

2.6.2 其他添加剂对猪肠道微生物区系的影响

1) 益生菌、有机酸和酚类、菌丝霉素

饲料中添加 0.1%~0.2% 植物源性益生菌对猪生产性能的改善作用与抗生素相当,这与其影响猪盲肠菌群多样性和相似性,增加 *Lactobacillus* 数量,减少 *E. coli* 数量,提高 SCFAs 含量,减弱蛋白质腐败作用有关^[26]。添加 400 g/t 凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 可降低仔猪盲肠 *E. coli* 数量;添加 5000 g/t 酵母水解物则提高盲肠和结肠中 *Lactobacillus* 和 *Bacillus* 数量。二者均可增强仔猪肠道屏障功能并防止腹泻发生^[27]。灌服屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*, 3×10^9 CFU) 可有效降低攻毒后仔猪结肠中 *Escherichia-Shigella* 丰度,增加 *Lactobacillus* 丰度,从而缓解由致病性大肠杆菌攻毒导致的新生仔猪腹泻和肠道免疫功能屏障功能受损^[28]。

断奶仔猪饲料中添加苯甲酸 (1000-5000 mg/kg) 和百里香酚 (100-200 mg/kg) 对仔猪肠道健康的改善作用与降低肠道食糜 pH、增加 *Bifidobacterium*、*Lactobacillus* 和 *Bacillus* 数量,抑制 *E. coli* 及 *Enterococcus* 增殖,以及提高盲肠 SCFAs 及丁酸浓度有关^[29],说明苯甲酸和百里香酚可作为仔猪抗生素的潜在替代品。

重组菌丝霉素 (本研究室前期构建, 60 mg/kg) 可降低仔猪料重比和腹泻率,改善肠道形态。与益生菌 (*Bacillus subtilis*, $\geq 10^9$ CFU/g) 和抗生素相比,菌丝霉素的添加可明显提高仔猪回肠 *Bifidobacterium* 数量,促进小肠粘膜紧密连接蛋白的表达及木糖的吸收,表现出较好的抗生素替代效果^[30]。

2) 木聚糖酶

在不同木聚糖水平 (< 7.54%) 的断奶仔猪饲料中添加木聚糖酶 (1000 U/kg) 可提高仔猪回肠 SCFAs 和乙酸含量,降低盲肠氨含量,增加 *Bifidobacterium* 数量,且作用效果与添加水平呈正相关^[31]。小麦-豆粕型饲料中添加不同水平重组木聚糖酶 (本实验室构建, 500-2000 U/kg) 可提高猪生长性能和养分消化率,且与木聚糖水平正相关。随木聚糖酶水平增加,猪粪便微生物 DGGE 条带组成与玉米-豆粕型饲料组的相似度逐渐增加^[32],说明重组木聚糖酶可维持猪肠道微生态平衡。但另一研究发现添加木聚糖酶 (30 和 60g/t) 对断奶仔猪盲肠中上述菌群数量和 SCFAs 浓度无影响^[33]。因此,木聚糖酶对猪肠道菌群结构的影响存在争议,其作用的靶菌群有待探明。

3. 猪肠道微生物与宿主对话的可能机制

3.1 SCFAs 与猪肠道发育和屏障功能的关系

通过回肠末端灌注 SCFAs (与两种含甜菜渣饲料在猪盲肠中产生的 SCFA 比例一致,两种饲料 CF 含量分别为 5.74% 和 1.50%) 发现,与抗生素相比,回肠末端灌注 SCFAs 可提

高猪回肠和盲肠各 SCFA 含量及其受体(GPR43 和 GPR41)基因的表达量,降低肠道 pH 值,增加回肠、盲肠和结肠中 *Lactobacillus*、*Bifidobacterium*、*Bacillus* 的数量,并降低 *E. coli* 数量,抑制肠道上皮细胞凋亡,改善肠道黏膜屏障功能^[34]。

3.2 SCFAs 对宿主免疫应答的调节机制

对野生型和 GPR43 基因敲除小鼠的比较研究表明,SCFAs 可明显提升野生型小鼠粪便和血清中抗原(卵清蛋白/霍乱毒素, OVA/CT)特异性 IgA 和 IgG (γ) 水平,在 OVA/CT 免疫条件下 SCFAs 可促进 CD4⁺ T 细胞的增殖,且该增殖速率在 *GPR43*^{-/-}小鼠中低于野生型小鼠。同时 SCFAs 在 T 细胞和非 T 细胞依赖条件下均能诱导 B 细胞产生 IgA,并可在非 T 细胞依赖条件下诱导 B 细胞产生 IgG。说明 SCFAs 具有诱导抗原特异性免疫球蛋白和非特异性免疫球蛋白合成、促进 T 细胞增殖的功效,其机制与 GPR43 的介导有关^[35]。

3.3 IL-33 可能是肠道微生物介导宿主肠道免疫功能的重要调节因子

野生型小鼠与 *IL-33*^{-/-}小鼠肠道微生物结构存在显著差异,主要体现在 *Lachnospiraceae* 和 *Desulfovibrio* 的丰度差异。*IL-33*^{-/-}小鼠具有更高的总菌丰度,对柠檬酸杆菌(*Citrobacter rodentium*)的清除能力降低。说明由肠上皮细胞分泌的 IL-33 可调节动物自身肠道菌群结构。进一步分析表明,IL-33 可通过“mTOR-STAT3”以及“MEK-ERK-STAT3”信号途径调控肠上皮细胞分泌 REG3 γ ,后者对部分革兰氏阳性和阴性病原菌具有抑制作用。由于 TGF- β 的存在,内源性 IL-33 在炎症和健康状态下均对肠道中 Treg 细胞具有抑制作用,*IL-33*^{-/-}小鼠呈现出更强抗炎特质的原因可能是由于 CD4⁺ Foxp3⁺ Treg 比例的增加^[36]。

4. 小结与展望

我们的研究结果强调了肠道微生物-宿主-营养代谢和健康的潜在联系。被传统营养学忽视的肠道微生物对营养物质的利用及其对宿主表型的影响应该被重视。微生物不仅影响饲料消化和营养物质吸收,还直接或间接调控宿主的多项生理功能,参与疾病的发生和发展。结合我们的研究结果,在营养水平一致的情况下,不同结构、来源和组成的营养物质对肠道微生物结构的影响可能存在极大的差异,而微生物水平的变化反映在动物机体上的生理效应被放大,最终影响动物的生长和健康。因此在优化不同阶段猪的饲料配方时,不应只考虑满足其营养需要,日粮的营养结构(如碳水化合物平衡模式)也应被重点考虑。

未来相关研究应集中于评估肠道微生物的代谢在动物整体代谢中所占的比重。鉴于微生物与宿主免疫功能的密切联系,寻找特定菌群作为营养调控和免疫调节的新靶标也是有潜力的研究方向。将传统动物营养学相关技术与较为先进的组学技术相结合,通过无菌动物模型、菌群移植、肠道瘘管等方法的联用可实现上述研究目标。在探明微生物作用于宿主的精确位点的基础上,未来将可能通过对肠道菌群的靶向调控实现对营养物质的高效利用,以达到不同的生产目的。

参考文献:

[1] Diao H, Yan H L, Xiao Y, et al. Intestinal microbiota could transfer host Gut characteristics

- from pigs to mice[J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1):238.
- [2] Diao H, Yan HL, Xiao Y, et al. Modulation of intestine development by fecal microbiota transplantation in suckling pigs[J]. Rsc Advances, 2018, 8(16):8709-8720.
- [3] Yan H, Diao H, Xiao Y, et al. Gut microbiota can transfer fiber characteristics and lipid metabolic profiles of skeletal muscle from pigs to germ-free mice [J]. Scientific Reports, 2016, 6:31786.
- [4] Chen H, Wang W, Degroote J, et al. Arabinoxylan in wheat is more responsible than cellulose for promoting intestinal barrier function in weaned male piglets[J]. Journal of Nutrition, 2015, 145(1):51.
- [5] Chen H, Mao X, He J, et al. Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets[J]. Communications in Agricultural & Applied Biological Sciences, 2013, 110(10):1837-1848.
- [6] Chen H, Mao X B, Che L Q, et al. Impact of fiber types on gut microbiota, gut environment and gut function in fattening pigs[J]. Animal Feed Science & Technology, 2014, 195(9):101-111.
- [7] Luo Y, Chen H, Yu B, et al. Dietary pea fibre alters the microbial community and fermentation with increase in fibre degradation-associated bacterial groups in the colon of pigs[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2017, 102.
- [8] 罗玉衡, 陈洪, 余冰, 等. 短期或长期饲喂高水平豌豆纤维对猪盲肠微生物群落结构和代谢产物的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(8):1459-1467.
- [9] Luo Y, Chen H, Yu B, et al. Dietary pea fiber increases diversity of colonic methanogens of pigs with a shift from Methanobrevibacter, to Methanomassiliicoccus-like genus and change in numbers of three hydrogenotrophs[J]. BMC Microbiology, 2017, 17(1):17.
- [10] 赵瑶, 张玲, 陈代文, 等. 短期摄入不同纤维源对猪生长性能、胴体性状、肉品质的影响[J]. 四川农业大学学报, 2018(2).
- [11] 赵瑶.日粮纤维源对生长猪生产性能和肠道健康的影响机制及肠道微生物的媒介作用[D].四川农业大学,2018.
- [12] 张玲.饲料中短期内单独及混合添加高水平燕麦 β -葡聚糖和微晶纤维素对小鼠生长性能、器官指数和粪便细菌群落结构的影响[D].四川农业大学,2017.
- [13] 陈婷婷.饲料添加可溶性和不溶性纤维对断奶仔猪生长性能及肠道健康的影响[D].四川农业大学,2018.
- [14] 吴希颖.不同非淀粉多糖组分对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响及机制[D].四川农业大学,2018.
- [15] Xiang Z, Qi H, Han G, et al. Real-time TaqMan polymerase chain reaction to quantify the effects of different sources of dietary starch on Bifidobacterium in the intestinal tract of piglets[J].

African Journal of Biotechnology, 2011, 10(25):5059-5067.

[16] Han GQ, Xiang ZT, Yu B, et al. Effects of different starch sources on *Bacillus* spp. in intestinal tract and expression of intestinal development related genes of weanling piglets[J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(2):1869-1876.

[17] Luo YH, Yang C, Wright ADG, et al. Responses in ileal and cecal bacteria to low and high amylose/amylopectin ratio diets in growing pigs[J]. Applied Microbiol Biotechnology, 2015, 99(24):10627-10638.

[18] Wan J, Jiang F, Xu Q, et al. Alginic acid oligosaccharide accelerates weaned pig growth through regulating antioxidant capacity, immunity and intestinal development[J]. Rsc Advances, 2016, 6(90).

[19] Mao X, Xiao X, Chen D, et al. Dietary apple pectic oligosaccharide improves gut barrier function of rotavirus-challenged weaned pigs by increasing antioxidant capacity of enterocytes[J]. Oncotarget, 2017, 8(54):92420-92430.

[20] 段旭东.饲粮添加甘露寡糖对母猪繁殖性能、免疫功能及后代生长、免疫和肠道微生物的影响[D].四川农业大学,2013.

[21] Wan J, Jiang F, Xu Q, et al. New insights into the role of chitosan oligosaccharide in enhancing growth performance, antioxidant capacity, immunity and intestinal development of weaned pigs[J]. Rsc Advances, 2017, 7(16):9669-9679.

[22] 司马博锋, 陈代文, 黄志清, 等. 固态发酵复合蛋白质对猪肠道消化生理及养分消化率的影响研究[J]. 动物营养学报, 2011, 23(1):86-93.

[23] 赵玉梅.低蛋白日粮不同必需氨基酸平衡模式对生长育肥猪的影响[D].四川农业大学,2018.

[24] 刘忠臣.不同来源脂肪对仔猪的营养效应及对 *E. coli* 攻毒的保护作用研究[D].四川农业大学,2011.

[25] 陈洪, 余冰, 陈代文, 等. 日粮中添加恩拉霉素对仔猪生产性能和肠道菌群的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(19):42-47.

[26] 毛倩, 陈代文, 余冰, 等. 复合益生菌对生长育肥猪生产性能、盲肠菌群及代谢产物的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(17):34-39.

[27] 伏润奇.饲粮添加凝结芽孢杆菌和酵母水解物对断奶仔猪生长性能及肠道健康的影响[D].四川农业大学,2018.

[28] 王茹.益生菌 *E. faecium* NCIMB 10415 对新生及断奶仔猪生长性能、肠道菌群及免疫功能的影[D].四川农业大学,2018.

[29] Diao H, Zheng P, Yu B, et al. Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets[J]. Livestock Science, 2014,

167(1):249-256.

[30] Wan J, Li Y, Chen D, et al. Recombinant plectasin elicits similar improvements in the performance and intestinal mucosa growth and activity in weaned pigs as an antibiotic[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 211:216-226.

[31] 叶楠, 陈代文, 毛湘冰, 等. 不同木聚糖水平饲料中添加木聚糖酶对断奶仔猪生长性能及肠道微生态环境的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(11):1961-1969.

[32] 王利, 何军, 余冰, 等. 小麦基础饲料中添加木聚糖酶对生长猪生长性能、血清生化指标及肠道微生物菌群的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(10):1920-1927.

[33] 何鑫.非淀粉多糖酶对饲料养分消化和仔猪肠道健康的影响研究[D].四川农业大学,2018.

[34] Diao H, Jiao AR, Yu B, et al. Stimulation of intestinal growth with distal ileal infusion of short-chain fatty acid: a reevaluation in a pig model[J]. *Rsc Advances*, 2017, 7(49):30792-30806.

[35] Xiao Y, Yan H, Diao H, et al. Early gut microbiota intervention suppresses DSS-induced inflammatory responses by deactivating TLR/NLR signalling in pigs[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1):3224.

[36] 肖熠.肠道微生物与宿主免疫应答及其互动机制[D].四川农业大学,2017.

黄曲霉毒素生物降解现状及未来发展趋势

计 成 赵丽红*

(中国农业大学动物科技学院, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193)

摘 要: 黄曲霉毒素毒性及致癌性极强, 严重威胁动物健康和食品安全, 给粮食工业、饲料工业和畜牧业带来巨大的经济损失。由于物理和化学除毒方法存在许多应用上的缺陷, 目前黄曲霉毒素生物降解法成为公认的高效、安全、环保的除毒方法而备受关注。本文主要综述黄曲霉毒素生物降解现状及未来发展趋势。

关键词: 黄曲霉毒素; 霉菌毒素; 生物降解; 微生物; 酶

黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AFT) 是一类主要由黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 和寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 等真菌产生的次级代谢产物, 具有极强的毒性。黄曲霉毒素已被世界卫生组织认定为IA 级危险物 (WHO, 1993)。黄曲霉毒素属于二呋喃氧杂萜邻酮的衍生物, 其分子结构中含有一个二呋喃环和一个氧杂萜邻酮 (香豆素) 环, 现已从自然界分离出黄曲霉毒素B1、B2、G1、G2、B2a、G2a、M1、M2、P1等18种之多, 其中以黄曲霉毒素B1 (AFB1) 的毒性和致癌性最强。黄曲霉毒素广泛存在于谷物、饲料和食品中。动物摄入黄曲霉毒素污染的饲料引起体重下降或者引发疾病, 各种动物对黄曲霉毒素均具有较高的敏感性, 低剂量会导致动物肝损伤, 高剂量引发动物癌变致死。间接通过食物链进入人体的黄曲霉毒素具有极强的致癌作用, 严重威胁人类健康。

目前去除饲料中AFT的方法主要包括物理法、化学法和生物降解法。传统的物理和化学方法虽然能部分地去除饲料和饲料原料中的黄曲霉毒素, 但这些方法都存在效果不稳定、营养成分损失大、影响饲料适口性和难以规模化生产等不可避免的缺点, 没有被广泛地应用到实际生产中。霉菌毒素生物降解方法具有解毒效率高、去毒彻底、不污染环境等优点越来越受到重视, 是近20年来饲料和畜产品安全研究最热的话题之一。霉菌毒素生物降解是指毒素分子的毒性基团被微生物产生的次级代谢产物或者所分泌的胞内或胞外酶分解、破坏、产生无毒的降解产物的过程。霉菌毒素生物降解是一种化学反应的过程, 不是对毒素的物理性吸附作用。

1 国内外黄曲霉毒素生物降解研究现状

1.1 集中在降解菌株的筛选上

国内外学者对黄曲霉毒素生物降解的研究比较早, 已发现许多霉菌、真菌和细菌的代谢产物能够降解黄曲霉毒素。

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0500600); 国家自然科学基金资助项目 (31772637)

作者简介: 计成(1956—), 男, 教授, 主要从事动物营养与饲料安全研究。E-mail: jicheng@cau.edu.cn 电话: 010-62731019

*通讯作者: 赵丽红, 副教授, 博士生导师, E-mail: zhaolihongcau@cau.edu.cn 电话: 010-62732774

1.1.1 降解黄曲霉毒素的真菌

早在 20 世纪 70 年代末, Doyle 和 Marth^[1]就发现寄生曲霉 NRRL 2999 的菌丝体可降解 AFB₁ 和 AFG₁, 并且随着反应体系中菌丝体接种量或/和毒素初始浓度的增加, AFB₁ 和 AFG₁ 的降解率也相应地升高。陈仪本等^[2]报道黑曲霉 F₂₅ 菌丝体提取物 BDA 能够高效降解花生油中的黄曲霉毒素, 通过研究温度、pH、水分、时间等对其解毒反应的效应表明降解实质上是酶促反应。Zhang 等^[3]从饲料样品中也筛选出一株黑曲霉 ND-1, 经过优化培养条件后, 该菌株对 AFB₁ 的降解率从原来的 26.3%提高到 58.2%。雷斯青霉 (*Penicillium raistrickii*) NRRL 2038 能将 AFB₁ 转化成类似 AFB₂ 的化合物, 使其毒性降低^[4]。树状指孢霉 (*Dactylium dendroides*) NRRL 2575 可生化降解 AFB₁ 环戊烯酮环上的酮基, 将 AFB₁ 转化成黄曲霉毒素醇 (AFR₀)^[5]。Cole 和 Kirksey^[6]利用 ¹⁴C 标记法和核磁共振法 (NMR) 测定葡枝根霉 (*Rhizopus stolonifer*)、少根根霉 (*R. arrhizus*) 和米根霉 (*R. oryzae*) 降解 AFG₁ 的降解产物, 发现培养一周后 AFG₁ 被降解为黄曲霉毒素 B₃ (寄生曲霉醇)。茎点菌 (*Phoma sp.*) 不仅抑制黄曲霉毒素的形成, 还有效降解黄曲霉毒素, 其细胞提取物中的一种热稳定酶可以降解溶液中 90%以上的 AFB₁^[7]。

利用真菌降解黄曲霉毒素由于存在作用时间长、解毒不彻底、提取细胞内活性成分程序繁琐等缺点, 从而限制了其在实际生产中的应用。近年来, 有越来越多关于细菌及细菌酶降解黄曲霉毒素的报道。

1.1.2 降解黄曲霉毒素的细菌

来源于土壤和水的橙色黄杆菌 (*Flavobacterium aurantiacum*) NRRL B-184 能够高效降解黄曲霉毒素^[8], 与黄曲霉毒素污染物在 28℃ 反应 12 h 后, 可降解全部的 AFG₁ 和 75%的 AFB₁^[9], 也能去除牛奶中的 AFM₁^[10]。橙色黄杆菌的粗蛋白提取物 (800 μg/mL) 可以降解 74.5%的 AFB₁, 经过加热和蛋白酶 K 处理后, 其解毒能力降低, 表明橙色黄杆菌对黄曲霉毒素的降解过程可能是酶促反应^[11]。从被多环芳烃 (Polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) 污染的土壤中分离到一株红串红球菌 (*Rhodococcus erythropolis*) DSM 14303, 其发酵液与 AFB₁ 混合 48 h 后, 只检测到 17%的毒素; 72 h 后仅可检测到 3%~6%的毒素, 用蛋白酶 K 和 SDS 处理后, 降解活性显著下降甚至消失, 从而推测是其胞外结构性酶对 AFB₁ 起降解作用, 用高效液相色谱和质谱未检测到降解产物, 认为 AFB₁ 被代谢成化学性质与其不同的物质^[12]。Hormisch 等^[13]以荧蒽为唯一碳源, 从 PAH 污染的土壤中分离出一株分支杆菌 (*Mycobacterium fluoranthenorans*) DSM 44556, 与 AFB₁ 培养 36 h 后, 可降解 70%~80%的 AFB₁, 72 h 后检测不到 AFB₁。

芽孢杆菌 (*Bacillus sp.*) 也可高效地降解黄曲霉毒素, 如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)^[14-16]、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)^[17]、巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)^[18] 和甲基营养性芽孢杆菌 (*Bacillus methylotrophilus*)^[19]等。Farzaneh 等^[20]从开心果中分离出枯草芽孢杆菌 UTBSP1, 其发酵上清液对 AFB₁ 的降解率达到 78.39%, 该菌与含有 AFB₁ 的

开心果一起培养 1、3 和 5 天后,可分别减少其中 4.1%、46.3%和 95%的 AFB₁。另外,有报道称绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)37°C 作用 72 h 后,可分别降解 82.8%的 AFB₁、46.8%的 AFB₂ 和 31.9%的 AFM₁,其降解活性物质主要存在于发酵上清液中^[21]。

Guan 等^[22]以香豆素为唯一碳源,从自然界样品中初步筛选出 199 株微生物,再用黄曲霉毒素进行复筛,得到 26 株能够降解黄曲霉毒素的菌株,对其中降解活性较高的 9 株菌进行形态学观察和 16SrDNA 鉴定。在筛选得到的 9 株菌中,嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)的降解毒素能力最强,37°C 与 AFB₁ 反应 72 h 后,可降解 85.7%的毒素^[23]。Guan 等^[24]和 Zhao 等^[25]对另一株高效降解黄曲霉毒素的菌株——橙红色粘球菌(*Myxococcus fulvus*) ANSM068 进行了研究,发现该菌的降解活性物质也是一种胞外酶。Gao 等^[26]从鱼肠道分离出一株枯草芽孢杆菌 ANSB060,其发酵液在 72 h 内对 AFB₁、AFG₁ 和 AFM₁ 的降解率分别达到 81.5%、80.7%和 60.0%。研究发现,该菌株降解黄曲霉毒素的活性物质是一种分泌于发酵上清液中的胞外酶,并且该菌株具有良好的抗菌性和抗逆性^[27]。通过蛋鸡饲养试验研究发现,ANSB060 的添加可显著改善摄入黄曲霉毒素蛋鸡的产蛋性能、蛋品质^[28]以及肝脏和血液生化指标,缓解毒素对组织器官的损伤^[29]。通过肉鸡饲养试验研究发现,ANSB060 的添加可显著改善摄入黄曲霉毒素肉鸡的生长性能、肉品质、血清生化指标和抗氧化能力,减少十二指肠食糜和肝脏中黄曲霉毒素的残留量,缓解毒素对肝脏的损伤^[30, 31]。

1.2 黄曲霉毒素降解酶研究匮乏

Motomura 等^[32]从食用菌糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*, 又称平菇)的发酵上清液中分离纯化出分子量为 90 kDa 的胞外酶,该酶在 pH 4~5、温度 25°C 时,降解 AFB₁ 的活性最高,荧光光谱和 TLC 检测结果表明此酶可以断裂 AFB₁ 的内酯环。白腐真菌(White rot fungi),如隔孢伏革菌(*Peniophora*)和糙皮侧耳,对 AFB₁ 也有较好的降解活性,可能与它们具有较高的漆酶活性有关^[33]。王会娟等^[34]筛选得到 2 株高产漆酶的平菇菌株 P1 和 P2,其中菌株 P1 不仅产漆酶能力最高,而且降解 AFB₁ 的能力也最好。一种来源于云芝(*Trametes versicolor*)的漆酶,其纯酶(1 U/mL)可使 AFB₁ 的生物降解率达到 87.34%^[33]。

白腐真菌污色原毛平革菌(*Phanerochaete sordida*)分泌的锰过氧化物酶(Manganese peroxidase, MnP)也能有效地降解 AFB₁,通过 ¹H-NMR 和 HR-ESI-MS 分析发现 MnP 首先将 AFB₁ 转化成 AFB₁-8,9-环氧化合物,然后再水解成 AFB₁-8,9-二氢二醇^[35]。另外, Yehia^[36]也从糙皮侧耳中分离纯化出分子量约为 42 kDa 的锰过氧化物酶,酶活为 81 U/mL,比活为 78 U/mg,该酶(1.5 U/mL)与 AFB₁ 反应 48 h 后,降解率达到 90%。

刘大岭实验组从假蜜环菌(*Armillariella tabescens*)菌丝球中分离纯化出一种黄曲霉毒素解毒酶(ADTZ),该酶分子质量约为 51.8 kDa,在 pH 6.8 和温度 35°C 时有最大酶活^[37],通过进一步研究证明 ADTZ 是一种黄曲霉毒素氧化酶(AFO)。高效薄层色谱检测表明,该酶可将 AFB₁ 分子结构中的双呋喃环断裂^[38],并且该降解过程为氧气依赖型,同时可产生过

氧化氢^[39]。

有研究报道耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*) 产生的脱氮黄素辅助因子 F₄₂₀H₂ 依赖的还原酶体系 (FDR-A 和 -B) 能够催化黄曲霉毒素分子中 α,β -不饱和酯的还原, 激活毒素自发水解生成一种新的降解产物^[40], 其中 FDR-A 酶系活性最强, 并且广泛存在于放线菌目微生物中。Zhao 等^[25]采用乙醇沉淀、离子交换层析和分子筛层析分离纯化出 AFB₁ 降解酶 (MADE) 纯酶, 分子量约为 32 kDa, 该酶可同时高效降解 AFB₁、G₁ 以及 M₁, 另外, 还获得了 MADE 酶特征肽段氨基酸序列。

关于重组酶生物降解黄曲霉毒素的研究非常少, 目前仅发现两个相关报道。来源于白腐真菌 (*T. versicolor*) 的漆酶基因在黑曲霉中重组表达, 表达的重组漆酶 (118 U/L) 对 AFB₁ 的降解率为 55%^[33]。根据毕赤酵母密码子的偏好性, 对来源于假蜜环菌的黄曲霉毒素解毒酶 (ADTZ) 基因进行优化, 构建重组质粒 pNOA, 转化至毕赤酵母 GS115 中, 实现了密码子优化的 rADTZ 组成型分泌表达。并应用原核表达系统对 ADTZ 进行了高效可溶表达和纯化, 首先构建与 pMAL-e2x 的重组质粒, 转化至大肠杆菌 Rosetta 中进行诱导表达, 表达的 rADTZ 蛋白可降解 AFB₁, 酶比活为 136 U/mg, 同时用圆二色光谱对酶蛋白的二级结构进行了分析^[41]。

2 黄曲霉毒素生物降解未来发展趋势

越来越多的报道证实, 饲料中的黄曲霉毒素是可以通过微生物代谢产生的酶降解去除的, 并且在适宜的条件下生物酶的解毒不会产生有毒的代谢产物, 也不会损失或极少地损失饲料中的营养物质, 对动物是安全的。目前关于黄曲霉毒素生物降解的研究还处在降解菌株的筛选和菌株的降解能力优化等方面, 关于降解机理、降解酶的开发和规模化生产缺乏研究匮乏, 未来我们需要在以下几方面进行深入研究和探讨。

2.1 益生菌菌株的筛选及生物降解剂研发

最初人们筛选到降解黄曲霉毒素的菌株大多为真菌, 后来又发现一些细菌也能够降解黄曲霉毒素。但是, 人们在越来越多的实践中认为, 只有降解黄曲霉毒素的益生菌才具有广泛的应用价值。因为, 多数益生菌还具有较强的益生性和抗逆性, 它所产生的一些蛋白酶耐热性和抗逆性很强, 酶学特性稳定。非常适合作为饲料添加剂应用到动物的实际生产中。因此, 以我们课题组为代表的一些研究团队, 正在开展降解霉菌毒素益生菌株的筛选工作, 同时将降解黄曲霉毒素的枯草芽孢杆菌开发成霉菌毒素生物降解饲料添加剂, 应用到动物的生产实践中。

2.2 黄曲霉毒素降解机理研究

目前, 人们已经发现了一些专用的酶可以破坏霉菌毒素分子的功能基团, 将霉菌毒素毒性降低或转化为无毒产物。例如: 黄曲霉毒素降解酶可以将毒素分子结构中氧杂萜邻酮环上的内酯键和甲氧基断裂; 酯酶可以破坏玉米赤霉烯酮的内酯环, 使玉米赤霉烯酮无法与雌激素受体竞争性结合, 而成为无害的代谢物排出体外; 环氧基酶可以切断所有镰孢菌属毒素如

T-2 毒素、呕吐毒素 (DON) 中 12、13 位碳原子上的环氧化物, 使其毒性消失。目前关于黄曲霉毒素生物降解机理研究主要用高效液相色谱-质谱联用技术 (Q-TOF)、红外光谱技术和核磁共振技术, 但是由于降解产物很难确定, 大部分结果都是推测的, 很少有明确的降解产物和降解机理的研究报道。因此, 有必要用现代高新技术和仪器设备, 寻找和确定降解产物的分子结构, 从理论上解释黄曲霉毒素生物降解机理。

2.3 黄曲霉毒素降解酶基因的挖掘

虽然黄曲霉毒素降解酶的开发已有研究报道, 但是由于微生物生物酶产量低、分离纯化过程复杂、酶性质的不稳定性和酶作用条件苛刻性等原因, 对黄曲霉毒素降解酶在实际生产应用的研究很少。目前虽然有几种降解黄曲霉毒素的酶的研究报道, 但是这些酶都没有得到很好的开发和推广应用。因此, 筛选出能够产高效降解黄曲霉毒素的酶的菌株以及通过酶工程、基因工程等手段挖掘新的、解毒作用条件更宽的降解酶基因, 是深入研究黄曲霉毒素生物解毒并推进其在饲料工业中广泛应用的一个研究思路。

2.4 利用基因工程技术推进降解酶的产业化应用

国内外关于基因工程技术在霉菌毒素降解中的运用报道不多, 很少有黄曲霉毒素降解酶的工业化生产的研究报道。因此, 需要用到生物化学、分子生物学及基因工程技术等, 对降解酶进行分离纯化获得活性蛋白单一组分, 同时对活性组分进行基因克隆及序列测定, 并转化到载体中进行高效表达以提高黄曲霉毒素降解酶产量, 开发出高纯度、高表达、高活性的新型黄曲霉毒素降解酶饲料添加剂, 推进降解酶的产业化应用, 这是饲料工业新的研究发展方向。

参考文献

- [1] Doyle M P, Marth E H. Aflatoxin is degraded by heated and unheated mycelia, filtrates of homogenized mycelia and filtrates of broth cultures of *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*, 1978, 64(1): 59-62
- [2] 陈仪本, 蔡斯赞, 黄伯爱, 等. 生物学法降解花生油中黄曲霉毒素的研究. *卫生研究*, 1998(S1): 81-85
- [3] Zhang W, Xue B, Li M, *et al.* Screening a strain of *Aspergillus niger* and optimization of fermentation conditions for degradation of aflatoxin B₁. *Toxins*, 2014, 6(11): 3157-3172
- [4] Ciegler A, Lillehoj E B, Peterson R E, *et al.* Microbial detoxification of aflatoxin. *Applied Microbiology*, 1966, 14(6): 934
- [5] Detroy R W, Hesselti. C W. Transformation of aflatoxin B₁ by steroid-hydroxylating fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 1969, 15(6): 495
- [6] Cole R J, Kirksey J W. Aflatoxin G₁ metabolism by *Rhizopus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1971, 19(2): 222

- [7] Shantha T. Fungal degradation of aflatoxin B₁. *Natural Toxins*, 1999, 7(5): 175-178
- [8] Ciegler A, Lillehoj E B, Peterson R E, *et al.* Microbial detoxification of aflatoxin. *Applied Microbiology*, 1966, 14(6): 934
- [9] Lillehoj E B, Ciegler A, Hall H H. Aflatoxin B₁ uptake by *Flavobacterium aurantiacum* and resulting toxic effects. *Journal of Bacteriology*, 1967, 93(1): 464
- [10] Lillehoj E B, Stubblef. R D, Shannon G M, *et al.* Aflatoxin M₁ removal from aqueous solutions by *Flavobacterium aurantiacum*. *Mycopathologia Et Mycologia Applicata*, 1971, 45(3-4): 259
- [11] Smiley R D, Draughon F A. Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B₁ by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *Journal of Food Protection*, 2000, 63(3): 415-418
- [12] Alberts J F, Engelbrecht Y, Steyn P S, *et al.* Biological degradation of aflatoxin B₁ by *Rhodococcus erythropolis* cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 109(1-2): 121-126
- [13] Hormisch D, Brost I, Kohring G W, *et al.* *Mycobacterium Fluoranthenivorans* sp nov., A fluoranthene and aflatoxin B₁ degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant. *Systematic and Applied Microbiology*, 2004, 27(6): 653-660
- [14] 左瑞雨. 黄曲霉毒素B₁的生物降解及其在肉鸡生产中的应用研究:[博士学位论文]. 郑州: 河南农业大学,2012
- [15] 张盼, 李培武, 万霞, 等. 枯草芽孢杆菌natto3的筛选及其降解黄曲霉毒素B₁的初步研究. *中国油料作物学报*,2015(02):234-239
- [16] 孙玲玉, 李超, 郝海玉, 等. 泰山枯草芽孢杆菌的分离鉴定及其对黄曲霉毒素B₁的降解研究. *中国畜牧兽医*,2014(08):246-250
- [17] Petchkongkaew A, Taillandier P, Gasaluck P, *et al.* Isolation of *Bacillus* spp. From Thai fermented soybean (Thua-nao): Screening for aflatoxin B₁ and ochratoxin A detoxification. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 104(5): 1495-1502
- [18] 孙丰芹, 金青哲, 王兴国, 等. 去除黄曲霉毒素B₁的菌株筛选. *食品与生物技术学报*,2011(02):273-277
- [19] 王燕, 张美丽, 毛勇, 等. 黄曲霉毒素B₁降解菌的分离鉴定及培养条件优化. *河南农业科学*,2015(04):139-143
- [20] Farzaneh M, Shi Z, Ghassempour A, *et al.* Aflatoxin B₁ degradation by *Bacillus subtilis* UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran. *Food Control*, 2012, 23(1): 100-106
- [21] Sangare L, Zhao Y, Folly Y M E, *et al.* Aflatoxin B₁ degradation by a *Pseudomonas* strain. *Toxins*, 2014, 6(10): 3028-3040

- [22] Guan S, Ji C, Zhou T, *et al.* Aflatoxin B₁ degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* and other microbes selected using coumarin medium. International Journal of Molecular Sciences, 2008, 9(8): 1489-1503
- [23] 李俊霞, 梁志宏, 关舒, 等. 黄曲霉毒素B₁降解菌株的筛选及鉴定. 中国农业科学, 2008(05):1459-1463
- [24] Guan S, Zhao L, Ma Q, *et al.* In vitro efficacy of *Myxococcus fulvus* ANSM068 to biotransform aflatoxin B₁. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(10): 4063-4079
- [25] Zhao L H, Guan S, Gao X, *et al.* Preparation, purification and characteristics of an aflatoxin degradation enzyme from *Myxococcus fulvus* ANSM068. Journal of Applied Microbiology, 2011, 110(1): 147-155
- [26] Gao X, Ma Q, Zhao L, *et al.* Isolation of *Bacillus subtilis*: Screening for aflatoxins B₁, M₁, and G₁ detoxification. European Food Research and Technology, 2011, 232(6): 957-962
- [27] 雷元培, 赵丽红, 马秋刚, 等. 降解黄曲霉毒素枯草芽孢杆菌的解毒性、抗菌性及抗逆性研究. 饲料工业, 2011(24):23-27
- [28] 赵丽红, 高欣, 马秋刚, 等. 黄曲霉毒素降解菌对饲喂含AFB₁霉变玉米日粮蛋鸡生产性能和蛋品质的影响. 中国畜牧杂志, 2012(11):31-35
- [29] Ma Q G, Gao X, Zhou T, *et al.* Protective effect of *Bacillus subtilis* ANSB060 on egg quality, biochemical and histopathological changes in layers exposed to aflatoxin B₁. Poultry Science, 2012, 91(11): 2852-2857
- [30] Fan Y, Zhao L, Ji C, *et al.* Protective effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on serum biochemistry, histopathological changes and antioxidant enzyme activities of broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. Toxins, 2015, 7(8): 3330-3343
- [31] Fan Y, Zhao L, Ma Q, *et al.* Effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth performance, meat quality and aflatoxin residues in broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. Food and Chemical Toxicology, 2013, 59: 748-753
- [32] Motomura M, Toyomasu T, Mizuno K, *et al.* Purification and characterization of an aflatoxin degradation enzyme from *Pleurotus ostreatus*. Microbiological Research, 2003, 158(3): 237-242
- [33] Alberts J F, Gelderblom W C A, Botha A, *et al.* Degradation of aflatoxin B₁ by fungal laccase enzymes. International Journal of Food Microbiology, 2009, 135(1): 47-52
- [34] 王会娟, 刘阳, 邢福国. 高产漆酶平菇的筛选及其在降解黄曲霉毒素B₁中的应用. 核农学报, 2012(07):1025-1030
- [35] Wang J, Ogata M, Hirai H, *et al.* Detoxification of aflatoxin B₁ by manganese peroxidase

- from the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. FEMS Microbiology Letters, 2011, 314(2): 164-169
- [36] Yehia R S. Aflatoxin detoxification by manganese peroxidase purified from *Pleurotus ostreatus*. Brazilian Journal of Microbiology, 2014, 45(1): 127-133
- [37] Liu D L, Yao D S, Liang Y Q, *et al.* Production, purification, and characterization of an intracellular aflatoxin-detoxifzyme from *Armillariella tabescens* (E-20). Food and Chemical Toxicology, 2001, 39(5): 461-466
- [38] Cao H, Liu D, Mo X, *et al.* A fungal enzyme with the ability of aflatoxin B₁ conversion: Purification and ESI-MS/MS identification. Microbiological Research, 2011, 166(6): 475-483
- [39] Wu Y, Lu F, Jiang H, *et al.* The furofuran-ring selectivity, hydrogen peroxide-production and low K-m value are the three elements for highly effective detoxification of aflatoxin oxidase. Food and Chemical Toxicology, 2015, 76: 125-131
- [40] Taylor M C, Jackson C J, Tattersall D B, *et al.* Identification and characterization of two families of F₄₂₀H₂-dependent reductases from Mycobacteria that catalyse aflatoxin degradation. Molecular Microbiology, 2010, 78(3): 561-575
- [41] 胡熔, 刘大岭, 谢春芳, 等. 黄曲霉毒素解毒酶在大肠杆菌中的可溶性表达、纯化及其圆二色谱分析. 中国生物工程杂志, 2011(04): 71-76

The Current Research and Development Prospects of Aflatoxin Biodetoxification

JI Cheng ZHAO Lihong

(National Key Laboratory of Animal Nutrition, College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Aflatoxin is extremely toxic, mutagenic and carcinogenic. It poses severe threat to both livestock productivity and human health and thus brings huge worldwide economic losses on grain industry, feed industry and animal husbandry each year. A safe, effective and environmentally sound detoxification method is urgently needed for controlling this toxin because of many application defects of aflatoxin physical and chemical detoxification. The current research and development prospects of biodetoxification are reviewed in this paper.

Key words: Aflatoxin; Mycotoxin; Biodetoxification; Microorganism; Enzyme

我国生物发酵饲料研究与应用进展

邓雪娟^{1,2} 于继英² 刘晶晶² 陈 达² 王卫卫² 蔡辉益^{11,2*}

(1.中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081; 2.生物饲料开发国家工程研究中心, 北京 10081)

摘 要: 本文明确了生物饲料的定义和分类, 对我国生物饲料的现状及应用中存在的问题以及不同种类生物饲料研究与应用进展进行了综述。并重点对生物发酵饲料菌种、发酵饲料原料与工艺、酶解饲料、菌酶协同发酵饲料、地源饲料发酵应用技术与模式研究进展以及其对畜禽生产性能的影响进行了总结。从特色功能菌株的筛选、菌株组合效果、生物饲料效价评价指标以及生物饲料质量安全预警监测等方面指出了生物饲料研究发展趋势, 为生物饲料产业的健康发展指明了方向。

关键词: 生物饲料; 发酵饲料; 研究进展; 发展趋势

生物饲料研究与应用近来成为我国畜牧饲料行业研究热点。《农业部“十三五”规划》也明确提出生物饲料产业发展是供给侧改革的重要突破口, 是解决畜牧业可持续发展的重要途径, 对于促进农副资源饲料化与高效利用、推动饲料配方体系的变革、改善动物生产性能、降低养殖成本、实现从减抗到无抗养殖、减排环保以及应对大豆供应危机等具有重要意义。

1 生物饲料的定义与分类

1.1 定义

2018年1月1日发布的团体标准 T/CSWSL 001-2018《生物饲料产品分类》将生物饲料定义为: 使用农业部饲料原料目录和饲料添加剂品种目录等国家相关法规允许使用的饲料原料和添加剂, 通过发酵工程、酶工程、蛋白质工程和基因工程等生物工程技术开发的饲料产品总称, 包括发酵饲料、酶解饲料、菌酶协同发酵饲料和生物饲料添加剂等^[1]。鉴于生物饲料添加剂种类繁多, 本文仅就发酵和酶解饲料进行总结。

1.2 分类

根据原料组成、菌种或酶制剂组成、原料干物质的主要营养特性, 生物饲料可分为发酵饲料、酶解饲料、菌酶协同发酵饲料和生物饲料添加剂等 4 个主类、10 个亚类、17 个次亚类、50 个小类和 112 个产品类别。

2 我国生物发酵饲料的现状

2.1 发酵饲料的现状

保持稳定发展势头: 目前我国从事生物饲料行业的企业数量达1000余家。虽然微生物制剂和酶制剂趋于饱和, 而发酵豆粕、酿酒酵母培养物、发酵糟渣和构树叶等发酵产品则稳定增长、逐渐成规模, 且在饲料企业和养殖场得到广泛应用。如果发酵饲料在猪料、肉禽料、

¹¹基金项目: 国家重点研发计划资助项目“畜禽肠道健康调控的生物饲料生产与饲喂技术研究”

(2018YFD0500603), 国家肉鸡产业技术体系(CARS-41)

作者简介: 邓雪娟(1979-), 女, 河南南阳人, 博士, 主要从事生物饲料资源开发利用研究。Email: xjdeng2004@126.com

*通讯作者: 蔡辉益, 研究员, 博士生导师, E-mail: caihuiyi@caas.cn

蛋禽料、水产料、反刍料和其它饲料中的用量分别以5%、2%、5%、5%、10%和5%估计，且按总量普及率20%推测，2018年发酵饲料总量约195万吨。

开始规范发展：生物饲料领域第一个团体标准 T/CSWSL 001-2018《生物饲料产品分类》发布，预计《发酵饲料技术通则》、《饲料添加剂 植物乳杆菌》和《饲料原料 酿酒酵母培养物》等团体标准今年底将发布，对规范我国生物饲料产业自律性和行业健康发展意义重大。以发酵饲料湿喂技术模式、糟渣液体饲喂模式和发酵饲料液体饲喂等地源饲料发酵应用新模式兴起，也推动了发酵饲料产业化进程。

2.2 发酵饲料应用存在的问题

我国生物发酵饲料整体研发和产业化水平不高，还存在一些亟待解决的问题。在产品研究方面：发酵过程中小分子营养物质流失，总酸下降，发酵菌种、菌剂的协同或拮抗还有待研究，产品质量标准存有争议；产品质量和应用效果受菌种、工艺、养殖品种和饲喂模式的影响较大；在生产制备方面：存在菌种、原料的安全性等问题；在应用技术方面：对动物营养和微生物营养的协同性和安全性认识需要提高，营养数据库和适宜添加量尚需完善；在发酵菌种生物安全方面：常见菌株来源不明、不纯和菌种退化现象。耐药基因转移、有害代谢产物、粘膜损伤、超敏反应等来自菌种的威胁也不断增加；在发酵饲料标准方面：除明确的营养常规指标外，酸溶蛋白、乳酸、益生菌活菌数等有益指标和挥发性盐基氮、霉菌和霉菌毒素等有害指标均应纳入产品标准。

3 生物发酵饲料不同领域研究进展

3.1 发酵菌种研究进展

我国饲料原料种类繁多，物理化学性质差异较大，而不同的菌种又具备不同的生理特性，在生产实践中应根据不同的饲料原料以及不同的生产目的选择适当的菌种组合以生产合格的生物发酵饲料。例如，新鲜马铃薯渣含水量高达90%以上，适合利用黑曲霉和啤酒酵母等微生物发酵生产蛋白饲料^[2]。

目前菌种筛选主要有三个方向：一是改变饲料原料的理化性质，包括提高消化吸收率、延长贮存时间和解毒脱毒等；二是获得微生物中间代谢产物，包括酶制剂、氨基酸和维生素等；三是培养繁殖饲用的微生物体，用于制备活菌制剂^[3]。李如珍等^[4]以中文专利数据库中检索结果为样本，对微生物发酵饲料领域进行了统计分析，发现在588件申请中，涉及菌种23种，使用较多的菌种有枯草芽孢杆菌、黑曲霉、酿酒酵母和地衣芽孢杆菌。JA Missotten等^[5]报道在欧洲发酵液体饲料中经常使用的菌种有乳酸菌和酵母菌。侍宝路等^[6]研究表明，以豆渣为原料，添加麸皮作为辅料，以植物乳杆菌与酿酒酵母菌混合接种发酵，发酵产物降低了中性洗涤纤维含量，并提高了总酸含量，产品耐贮存。解淀粉芽孢杆菌具有繁殖速度快，稳定性好，生命力强，富含多种酶的特点^[7-9]，在固态发酵饲料中取得了较好的效果^[10-12]。

3.2 生物发酵原料与工艺研究进展

3.2.1 发酵原料

发酵饲料原料的选择已从豆粕、棉粕、菜粕等的发酵以提供高品质蛋白饲料，发展到聚鲜糟渣、果渣和蔬菜尾菜等非常规饲料原料发酵以提供优质优价的发酵能量饲料和粗饲料等。

3.2.2 主要原料发酵工艺研究进展

在实际生产过程中，根据菌种特性主要分为耗氧、厌氧和兼性厌氧发酵。根据菌种数量选择，主要分为单一菌种、多菌种、菌酶协同发酵等种类。饲料酶制剂的生产以单一菌种液体深层发酵为主，发酵饲料原料和混合饲料的生产以复合菌种发酵为主。吝常华等^[13]研究提出，解淀粉芽孢杆菌单菌固态发酵豆粕的最佳工艺。发现豆粕经过微生物发酵后小肽含量得到显著提高，营养价值得到明显改善；蛋白分子质量显著下降；酸碱度也发生了明显变化，且单菌与混菌发酵效果存在显著差异。提出了枯草芽孢杆菌单菌固态发酵玉米的最佳工艺；玉米经过微生物发酵后，可溶性糖含量显著增加；淀粉总量和支链淀粉显著下降，直链淀粉含量明显升高；营养物质含量发生明显变化；总酸含量显著提高，pH 值发生明显变化，单菌发酵和混菌发酵效果具有差异性。提出了多粘类芽孢杆菌菌固态发酵小麦的最佳工艺；与未发酵相比，经单菌、混菌发酵后，小麦提取液黏度均显著降低，营养物质发生显著变化，粗蛋白质、粗纤维、粗灰分、粗脂肪有升高趋势，酸碱度发生明显变化，且单菌和混菌发酵效果差异显著。此外，豆粕、菜籽粕、玉米、小麦四种原料发酵后肉鸡表观代谢能较发酵前分别显著提高了 19.21%、19.13%，6.90%和 7.03%。

吴正可等^[14]以硫甙降解率、多肽增加率、总酸增加率为目标研究提出了菜籽粕最佳发酵工艺；结果表明，玉米-豆粕型日粮中添加 15%的发酵菜籽粕对肉鸡生产性能无显著影响，但 10%的发酵菜籽粕的生产性能、免疫指标、肠道发育状况要优于玉米-豆粕型日粮对照组，同时还提高肉鸡屠宰率、全净膛率、胸肌率、腿肌率，十二指肠和空肠的 V/C 值。

3.3 酶解饲料研究进展

酶解饲料已被广泛应用于畜禽养殖中，加酶饲料预消化的工艺参数及处理效果已被证实。无机磷、酸性洗涤纤维和还原糖含量是反映加酶饲料体外预消化效果的重要指标^[15]。在体外条件下，根据饲用酶制剂反应需要的条件，对饲料进行酶解预消化可以大幅提高饲料利用率，降低配方成本，提高动物的生产性能。

研究表明，加酶预消化饲料能显著改善饲料品质，提高断奶仔猪对饲料养分的消化率，进而促进其生长^[16]；提高蛋鸡的产蛋率，降低料蛋比，改善蛋品质，提高能量的表观代谢率^[17]；提高肉鸡日粮中养分的表观消化率，极显著改善肉鸡的采食量、增重和料重比^[18]；显著提高绵羊日粮中养分的表观消化率，显著减少羊粪中养分的排泄量，绵羊日增重提高，减少料重比，提高了经济效益；显著提高奶牛的标准乳量、平均乳脂率、NDF和ADF的排出量和表观消化率^[19]。

3.4 菌酶协同发酵饲料研究进展

近年来研究结果表明，酶菌协同处理的结果优于酶和菌单独作用的结果。在发酵过程中，

微生物与酶有很好的协同作用,能使大分子物质降解更加彻底,微生物的发酵效率更高。所以利用微生物和酶的协同作用制备发酵饲料的相关报道逐渐增多^[20-24]。利用菌酶协同作用,既能缩短发酵周期,又能利用芽孢杆菌或乳酸菌抵抗其他杂菌的影响,提高效率,降低生产成本,还能通过产品中含有的大量的芽孢杆菌、乳酸菌和酵母菌等活菌体改变动物肠道内的微生态环境,增强动物对疾病的抵抗能力,减少抗生素的使用。

3.5 地源饲料发酵应用技术研究进展

3.5.1 地源饲料兴起

地源饲料成为当前农副产物饲料资源利用化的热门概念,是指经过饲料化加工处理后可规模化饲用的地方性饲料资源的总称,具有特色的营养价值、不易加工处理、流通成本高、易变质、季节性强和有一定地理范围等特点。地源饲料发酵后采用湿喂或液体饲喂的代表性应用模式诞生,如山东繁育母猪发酵饲料湿喂技术模式^[25]、山东中裕酒糟液体饲喂模式^[26]和重庆荣昌生长肥育猪固体发酵地源饲料液体饲喂模式等,创新性地加强了饲料资源利用效率。在当今我国畜牧业转型升级过程中,地源性饲料资源研究与应用具有重大意义。

3.5.2 地源饲料应用关键技术进展

近年来生物饲料国家工程研究中心就地源饲料的有效应用提出了五个关键集成技术:包括针对不同地源饲料的菌+酶发酵菌剂集成技术;针对不同产地的发酵设备和工艺技术,地源饲料营养数据库技术和以某一地源饲料为核心的不同养殖品种的饲料配方技术;针对不同养殖规模的自动化液体及湿料饲喂设备和工艺技术;针对畜禽粪污氮磷减排生物处理技术。通过以上五大技术集成,降低了饲料成本,猪群整齐度好。但地源饲料存在质量不稳定,营养数据库不完善,液体饲喂料线设备成本高等不容忽视的问题,同时安全有效的应用研究和技术推广任重而道远。

3.6 发酵饲料对动物生产性能的影响

3.6.1 对畜禽生长性能的影响

近年来酒糟、尾菜、桑叶和棉菜粕等饲用资源发酵后饲用效果的研究报道不少,发酵饲料在配合饲料中添加量 2%-50%不等,也有全发酵日粮的应用,饲养动物涵盖了猪、禽、羊、牛。在生产性能方面,总体表现为日增重增加,料肉比降低,育肥动物每千克增重的饲料成本降低,养殖经济效应增加^[27-35]。多数研究证实,发酵豆粕均可提高断奶仔猪的生产性能,也有研究发现,饲喂 10%和 15%湿发酵豆粕仔猪平均日增重分别提高了 16.6%和 23%,料重比分别降低了 9.7%和 11.4%^[36-42];另有研究表明,发酵豆粕可替代鱼粉等动物性蛋白质饲料应用于保育猪的生长发育^[43-44],早在 1975 年就报道了米曲霉发酵豆粕可提高肉鸡生长性能和饲料转化效率^[45]。诸多研究结果表明^[46-51] 4.5%发酵豆粕显著提高肉鸡 21 日龄和 35 日龄体重,其效果优于鱼粉;在肉鸡前 7d 日粮中添加 3%乳酸菌或枯草芽孢杆菌发酵豆粕表明,前 7d 日粮中使用发酵豆粕可显著提高后期肉鸡的 ADG、FCR 和 35 日龄终末重,说明前期饲喂发酵饲料有后续效应且可促进后期生长。在畜产品品质方面,肌肉氨基酸和肌间

脂肪有所增加, 抗氧化水平提高^[52-55]; 蛋壳品质提高, 蛋白哈夫单位和蛋黄颜色增加, 蛋黄中胆固醇含量降低^[56]; 胸肌肌苷酸含量提高^[57]。

3.6.2 对动物肠道微生态与形态结构的影响

近年来, 发酵饲料的作用机理研究渐趋深入。诸多文献报道, 微生物活菌发酵饲料对猪^[58-66]、对鸡^[67-69]、对鸭^[70]、对奶牛^[71-72]、对鱼^[73-74]等养殖动物的肠道微生态和血清生化指标产生多种影响, 总体具有促进有益活性菌在宿主肠道的定殖, 改善肠道形态结构, 促进肠道发育, 促进生产性能的效果。

3.6.3 对动物免疫机能的影响及其机理

关于发酵饲料对动物免疫性能的影响研究报道较少, 大多数研究集中在血浆免疫球蛋白含量、肠道分泌型免疫球蛋白等表观指标测定。Gebbru 等^[75-77]在保持粗蛋白和代谢能一致的情况下采用 LPS 刺激攻毒试验, 结果表明 10% 的发酵豆粕可显著降低 LPS 刺激后血浆皮质酮的含量, DNA 芯片检测发现, 10% 的发酵豆粕通过降低白细胞热休克蛋白 (HSP70)、新生儿受体 (NFCR) 等基因的表达提高免疫性能。也有研究证明, 大豆发酵可提高脾脏自然杀伤细胞的活性, 上调 IFN- γ 、IgG2a、IL-4 和 IgG1 基因表达^[78]。Zhu 等^[79]添加 10% 和 15% 的发酵豆粕显著提高了仔猪血浆免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM 含量, 同时显著降低空肠和回肠自我吞噬因子 LC3B 的表达, LC3B 的表达是细胞损伤的标志。Roubos-van den Hil 等^[80-81]进一步研究了发酵豆粕提高免疫性能的机理: 霉菌和芽孢菌发酵豆科籽实可以产生一种可与大肠杆菌相结合的小分子活性物质, 从而降低大肠杆菌与肠道上皮细胞的粘附, 而这种小分子活性物质是被微生物分泌的酶从大豆细胞壁果胶多糖的阿拉伯糖或阿拉伯半乳糖侧链上分解下来的, 可以抵制病原菌的侵袭¹; 此外, 在 SCFAs 中如丁酸可诱导杯状细胞黏蛋白 (MUC2) 的分泌和 T 细胞的分化, 同时可抑制核因子- κ B (nuclear factor- κ B) 表达, 进而提高动物机体的免疫性能^[82]。饲喂发酵豆粕提高了动物对蛋白质的利用效率, 降低了回肠、盲肠、结肠中残留蛋白质的含量, 进而降低后肠道与蛋白质分解相关菌群丰度和蛋白质发酵的代谢产物, 后肠道微生物发酵肠道残余的蛋白质可产生吲哚、组胺、硫化氢、粪臭素等有害物质, 破坏肠道细胞结构, 引发机体免疫反应^[83]。发酵饲料的作用机理研究还表明, 动物肠道微生物菌群与宿主肠道代谢轴、肠道免疫功能存在相互作用并对机体健康产生影响^[84]。

3.6.4 发酵饲料对水产动物生产性能影响

近年来, 很多学者就发酵豆粕替代鱼粉对鱼虾类生长发育免疫等方面的影响做了诸多研究。Ding 等^[85]用 25%、50%、75% 和 100% 的混菌发酵豆粕替代日本沼虾中的鱼粉, 结果表明, 发酵豆粕替代鱼粉不会影响日本沼虾的生长性能, 随着发酵豆粕添加量的增加。Lee 等^[86]用发酵豆粕替代许氏平鲉日粮中 10%、20%、30% 和 40% 的鱼粉, 结果表明, 发酵豆粕替代 20% 的鱼粉对许氏平鲉的生长性能和体组成没有显著影响, 但会降低饲料转化效率。冯建等^[87-89]用发酵豆粕替代日粮中不同比例鱼粉在日本尖吻鲈、黑鲷、大西洋鲑、牙鲆、

虹鳟等均有报道，且不会影响鱼类的生产性能。Novriadi（2017）运用 Meta 分析方法深入分析了 14 篇发酵豆粕替代鱼粉对鱼生长性能和饲料转化效率的研究文章数据，分析结果表明，发酵豆粕替代 40%以上的鱼粉会显著降低鱼类生长性能，得出发酵豆粕中未消除的抗营养因子和不同种类的鱼类对抗营养因子的耐受性依然是影响发酵豆粕替代鱼粉比例的主要因素^[90]。

3.6.5 对生态环境保护的影响

由于发酵饲料的应用可提高饲料利用率^[91]，减少氨气排放^[92-93]，降低锌、铜等重金属的添加^[94]，因此缓解畜禽养殖对环境的污染。

4 生物发酵饲料发展趋势

4.1 特色功能菌株的筛选

未来功能菌株的筛选仍然是生物饲料研究的核心，即针对饼粕类原料中存在的抗营养因子、玉米深加工副产物中的霉菌毒素和含硫物质，筛选高效降解菌；针对不同畜种的肠道特点及同一畜种不同发育时期的肠道特点等，筛选适应性好、定植能力强的菌株；以及根据其特定功能性代谢产物，筛选高效表达菌株。随着科研工作者对发酵饲料技术的不断探索，发酵饲料菌株的筛选也日益多元化，筛选出来的功能菌株也越来越丰富，从高产蛋白酶、纤维素酶、脂肪酶、淀粉酶菌株进而到降解棉酚、硫苷等毒素菌株和抗菌抗病毒菌株的筛选，研究者们正致力于筛选高性能、高耐受性、高稳定性的菌株。

4.2 菌株的组合效果

目前很多生物饲料的菌种应用组合比较粗糙，多停留在种的层面，甚至是属的层面，随着菌株筛选及功能研究的不断深入，菌株的功能不断明确，菌株之间的组合研究将开启一个新的发展局面，并实现与肠道微生物组学、代谢组学等前沿研究的同步发展。

不同菌种按照不同的比例组合发酵出来的饲料质量也不相同^[95]，有的混合菌发酵效果表现优于单个菌株，有的却不如单个菌株。进行发酵前，要充分了解原料特点、菌种的生存条件、代谢途径、发酵产物和混合菌种之间可能存在的相互关系并根据发酵目的，结合菌种发酵效果，选用菌种的种类和添加比例。有科学家在酒糟发酵蛋白质饲料菌种的筛选研究中，以粗蛋白、真蛋白、粗纤维为指标，选用 8 种酵母菌和霉菌反复结合进行试验，最终确定出最佳发酵菌种组合^[96]。

4.3 发酵饲料业态变化带来的影响

发酵饲料的逐步发展，将引入大量非常规原料及地源饲料的使用，必将发展出新的饲料配方体系，饲料配方将更加多样化。也将推动上游原料供应商或食品加工企业，适当改善加工工艺流程，不断提高副产物的质量。

4.4 生物发酵饲料价值评价指标

未来生物饲料的功能将更进一步明确，其对原料的预消化程度、对饲料利用率的提高程度、对畜体肠道健康的改善程度、对畜产品品质的改善效果，甚至对畜禽粪污资源化利用中

限制因子的去除程度,及对畜禽舍内氨气的去除程度等都将进一步量化,评价方法将进一步标准化。

4.5 生物饲料质量安全实施动态预警监测

生物饲料的质量安全性,首先要依据饲料卫生标准;生物饲料因其微生物学属性,还应对其微生物安全性进行监测。包括所用菌种是否合法合规,遵循“法无许可即禁止”的原则,严格禁止《饲料添加剂品种目录(2013)》中规定以外的菌种的使用。还包括因发酵工艺等控制不严而导致的有害菌,甚至是致病菌的污染,也应对其进行监测。利用新一代测序技术,通过宏基因组测序等手段,对生物饲料的全部微生物组成进行监测。此外,生物饲料往往还具有动态变化的性质,所以生物饲料质量安全监测也应是一个动态监测的过程。2018年3月,农业农村部成立了生物饲料质量安全预警监测工作组,委托中国农业科学院饲料研究所和生物饲料开发国家工程研究中心牵头,联合国内顶级监测机构共同承担生物饲料质量安全预警监测项目,对全国范围内18个省、市生物饲料生产、经营、使用和养殖环节的生物饲料进行动态监测,对生物发酵饲料产业的健康发展提供了有力保障。

参考文献

- [1] 蔡辉益,张日俊,汪以真,等.《生物饲料产品分类》北京市生物饲料产业技术创新战略联盟团体标准(T/CSWSL 001-2018)[S].中国标准化出版社,2018年1月1日发布,北京.
- [2] 宋雅芸,罗仓学,邵明亮.马铃薯渣发酵生产活性蛋白饲料的研究[J].食品工业科技,2016,37(24):186-192.
- [3] 罗玲,韩奇鹏,曲湘勇.微生物发酵饲料在动物生产上的应用研究进展[J].饲料与畜牧,2016(2):45-50.
- [4] 李如珍,施啸奔,俞建良,等.微生物发酵饲料菌株专利分析[J].当代化工,2017,46(10):2101-2103.
- [5] Missotten J A, Michiels J, Degroote J, et al. Fermented liquid feed for pigs: an ancient technique for the future[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2016, 6(1):1-9.
- [6] 侍宝路,王计伟,刘春雪,等.混菌固态发酵豆渣生产酸化饲料工艺条件研究[J].饲料工业,2018(2):51-55.
- [7] George S, Raju V, Krishnan M R V, et al. Production of protease by *Bacillus amyloliquefaciens* in solid-state fermentation and its application in the unhairing of hides and skins[J]. Process Biochemistry, 1995, 30(5): 457-462.
- [8] Zambare V, Christopher L. Statistical analysis of cellulase production in *Bacillus amyloliquefaciens* UNPDV-22[J]. Extreme Life Biospeology & Astrobiology, 2011, 3(1):367-377.
- [9] 王卉,游成真,秦宇轩,等.解淀粉芽孢杆菌 L-S60 生物学特性及其固态发酵工艺研究[J].中国农业大学学报,2016, 21(9): 133-142.
- [10] Chi C H, Cho S J. Improvement of bioactivity of soybean meal by solid-state fermentation

with *Bacillus amyloliquefaciens* versus *Lactobacillus* spp. and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 68: 619-625.

[11] Hirabayashi M, Matsui T, Yano H, et al. Fermentation of soybean meal with *Aspergillus usamii* reduces phosphorus excretion in chicks[J]. *Poultry Science*, 1998, 77(4): 552-556.

[12] Lee N R P N. Characteristics of Chungkookjang Prepared by *Bacillus amyloliquefaciens* with Different Soybeans and Fermentation Temperatures[J]. *Korean Journal of Microbiology*, 2013, 49(1):71-77.

[13] 吝常华, 蔡辉益. 饲料原料发酵工艺优化及其营养价值评定[D]. 硕士学位论文, 北京: 中国农业科学院研究生院, 2018.

[14] 吴正可, 刘国华. 菌种固态发酵菜籽粕工艺优化研究及其对肉鸡生长发育的影响[D]. 硕士学位论文, 北京: 中国农业科学院研究生院, 2018.

[15] 陈远才, 王俊清, 冯定远, 等. 生物饲料在畜禽养殖中的应用[J]. *广东饲料*, 2017, 26(1): 36-39.

[16] 章世元, 俞路, 王雅倩, 等. 加酶预消化饲料对断奶仔猪生长和养分表观消化率的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(8): 1191-1195.

[17] 俞路, 王雅倩, 章世元, 等. 预消化对加酶饲料品质及饲用效果的影响[J]. *养禽与禽病防治*, 2008, (10): 6-10.

[18] 王柳杨. 非淀粉多糖酶预消化处理肉鸡日粮的应用研究[D]. 硕士学位论文. 南昌: 南昌大学, 2013: 44-47.

[19] 辛总秀. 纤维素复合酶处理粗饲料饲喂反刍动物的效果研究[D]. 硕士学位论文, 西宁: 青海大学, 2007: 52-54.

[20] 方乐, 葛向阳, 汤江武, 等. 菌酶协同处理豆粕制备饲用小肽的研究[J]. *中国饲料*, 2011, (5): 17-20.

[21] 杨洁芳, 刘会平, 张宇, 等. 菌酶协同制备大豆肽的工艺优化及其抗氧化特性的研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(13): 245-249.

[22] 孙宏. 菌酶协同处理棉籽粕的营养特性、棉籽肽的制备及其抗氧化活性研究[D]. 博士学位论文, 杭州: 浙江大学, 2013: 54-67.

[23] 张昆. 菌酶协同固态发酵杂粕生产蛋白饲料的研究[D]. 硕士学位论文. 武汉: 武汉工业学院, 2012: 39-42.

[24] 张倩茹, 安晓萍, 王园, 等. 菌酶协同发酵玉米芯制备木聚糖的研究[J]. *中国饲料*, 2017(22): 23-26.

[25] 李祥明, 李会荣. 猪饲料发酵湿喂技术推广措施及主要成效[J]. *山东畜牧兽医*, 2017(12): 81-82.

[26] 黄利军, 于洋, 王浚峰, 等. 猪场液态料智能饲喂设备与工艺的应用技术[J]. *今日养猪业*,

2017 (4) :44-48.

[27]王伦学,周明,张新,汪志国.白酒糟酵母培养物在畜禽和反刍动物生产上的应用[J].饲料工业, 2016,37(16):41-46.

[28]刘中华, 李强,冯志,等.发酵木薯酒精糟对生产猪生产性能及营养物质消化的影响[J].饲料工业, 2017, 38 (10) :26-30.

[29]王斌星,王蜀金,郭春华,等.酿酒酵母发酵液对断奶仔猪生长性能、小肠发育及小肠黏膜免疫功能的影响[J].动物营养学报, 2016 , 28 (12) :4014-4022

[30]钱仲仓,杨子峰,杨泉灿. 西兰花茎叶青贮料对土猪生产性能的影响[J].上海畜牧兽医通讯, 2016 (5) :26-27.

[31]乔艳明,杨茉莉,陈文强,等.多菌种复合发酵饲料对杜长大育肥猪生产性能的影响[J].家畜生态学报, 2016, 37 (1) :31-36.

[32]郭苏晓,王亚斌,黄春梅,等.啤酒糟发酵饲料对梅花猪的饲喂效果分析[J].饲料工业 , 2018 (2) :43-45.

[33]魏尊,张谦.棉粕源复合发酵饲料对产蛋鸡消化率和蛋品质的影响[J].饲料研究,2017 (9) :26-30.

[34]余斌.竹笋废弃物发酵料在肉羊饲喂中的应用[J].中国畜牧业, 2016 (5) :43-44.

[35]宋奉烈,玉荣,白秀珍,等.秸秆 DDGS 颗粒饲料对肉羊育肥效果的研究[J].畜牧与饲料科学, 2017, 38 (11) :41-42.

[36] Feng J, Liu X, Xu Z R, et al. The effect of *Aspergillus oryzae* fermented soybean meal on growth performance, digestibility of dietary components and activities of intestinal enzymes in weaned piglets[J]. *Animal Feed Science and Technology*. 2007, 134(3-4): 295-303.

[37] Yang Y X, Kim Y G, Lohakare J D. Comparative Efficacy of Different Soy Protein Sources on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Intestinal Morphology in Weaned Pigs[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2007, 20(5): 775-783.

[38] Feng J, Liu X, Xu Z R, et al. Effect of fermented soybean meal on intestinal morphology and digestive enzyme activities in weaned piglets[J]. *Digestive Diseases & Sciences*. 2007, 52(8): 1845.

[39] Wang Y, Lu W Q, Li D F, et al. Energy and Ileal Digestible Amino Acid Concentrations for Growing Pigs and Performance of Weanling Pigs Fed Fermented or Conventional Soybean Meal[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2014, 27(5): 706-716.

[40] Kiers J L, Meijer J C, Nout M J R, et al. Effect of fermented soya beans on diarrhoea and feed efficiency in weaned piglets[J]. *Journal of Applied Microbiology*. 2003, 95(3): 545-552.

[41] Zhang Y T, Lu D D, Chen J Y, et al. Effects of fermented soybean meal on carbon and nitrogen metabolisms in large intestine of piglets[J]. *animal*. 2018: 1-9.

- [42] Xie Z, Hu L, Li Y, et al. Changes of gut microbiota structure and morphology in weaned piglets treated with fresh fermented soybean meal[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2017, 33(12).
- [43] Min B J, Cho J H, Chen Y J. Effects of Replacing Soy Protein Concentrate with Fermented Soy Protein in Starter Diet on Growth Performance and Ileal Amino Acid Digestibility in Weaned Pigs[J]. 2009, 22(1): 99-106.
- [44] Jones C K, Derouchey J M, Nelssen J L. Effects of fermented soybean meal and specialty animal protein sources on nursery pig performance^{1,2}[J]. Journal of animal science. 2010.
- [45] Chah C C, Carlson C W, Semeniuk G, et al. Growth-Promoting Effects of Fermented Soybeans for Broilers[J]. Poultry Science. 1975, 54(2): 600-609.
- [46] Feng J, Liu X, Xu Z R, et al. Effects of *Aspergillus oryzae* 3.042 fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers [J]. Animal Feed Science & Technology. 2007, 134(3): 235-242.
- [47] Feng J, Liu X, Xu Z R, et al. Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers[J]. Poultry Science. 2007, 86(6): 1149.
- [48] Chiang Gary. 固态发酵豆粕对肉仔鸡生长性能、胴体品质、营养物质消化率、肠道菌群及形态的影响[D].硕士学位论文,北京: 中国农业大学, 2011.
- [49] 许丽惠, 祁瑞雪, 王长康. 发酵豆粕对黄羽肉鸡生长性能、血清生化指标、肠道黏膜免疫功能及微生物菌群的影响[J]. 动物营养学报. 2013, 25(4): 840-848.
- [50] Li C, Lu J, Wu C. The use of fermented soybean meals during early phase affects subsequent growth and physiological response in broiler chicks[J]. Livestock Science. 2014(163): 94-101.
- [51] Kim S K, Kim T H, Lee S K, et al. The Use of Fermented Soybean Meals during Early Phase Affects Subsequent Growth and Physiological Response in Broiler Chicks[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 2016, 29(9): 1287-1293.
- [52] 王伦学, 周明, 张新, 等. 白酒糟酵母培养物在畜禽和反刍动物生产上的应用[J]. 饲料工业, 2016, 37(16): 41-46.
- [53] 乔艳明, 杨茉莉, 陈文强, 等. 多菌种复合发酵饲料对杜长大育肥猪生产性能的影响[J]. 家畜生态学报, 2016, 37 (1) : 31-36
- [54] 张娜娜, 曹洪战, 李同洲, 等. 发酵饲料桑粉对育肥猪生长性能和猪肉品质的影响[J]. 中国兽医学报, 2016 , 36 (12) : 2166-2170.
- [55] 梁敏, 张文举, 张凡凡, 等. 发酵棉粕对安格斯肉牛生长性能和血清生化指标的影响[J]. 饲料工业 , 2017, 38 (21) : 45-48
- [56] 魏尊, 张谦. 棉粕源复合发酵饲料对产蛋鸡消化率和蛋品质的影响[J]. 饲料研究, 2017

(9):26-30.

[57]陈昭琪,丁之恩,蔡海莹,等.发酵菜籽粕对肉鸡生长性能、营养物质 消化吸收及肉品质的影响[J].动物营养学报, 2017, 29 (8):2969-2976.

[58]陈鲜鑫,王金全,刘震坤,等.玉米乳杆菌发酵液体饲料对断奶仔猪生产性能、养分消化率(全收粪法)和血清生化免疫指标的影响[J].饲料研究, 2017 (5):5-9.

[59]陈琰,乔艳明,陈文强,等.微生物活菌发酵饲料对育肥猪肠道相关菌群分布的影响[J].安徽农业大学学报, 2016, 43 (3):436-440.

[60]申斌,黄生强.湿发酵豆粕对育肥猪生长性能和肠道健康的影响[J].湖南饲料,2017 (5):27-30

[61]王伦学,周明,张新,等.白酒糟酵母培养物在畜禽和反刍动物生产上的应用[J].饲料工业, 2016,37(16):41-46.

[62]邓卉,屈东,邹成义,等.发酵菜籽粕对生长猪生长性能、机体抗氧化及免疫功能的影响[J].西南农业学报, 2017, 30 (7):1662-1666

[63]林靖,钟燕萍,许道光,等.发酵豆粕对生长猪生长性能、血液生化指标、抗氧化指标和粪便中养分排出量的影响[J].黑龙江畜牧兽医, 2016 (3):118-120

[64]张露露,王昕陟,刘旭龙,等.发酵豆粕中大分子蛋白质和肽含量对仔猪小肠绒毛结构的影响[J].动物营养学报, 2016, 28 (7):2213-2220

[65]崔艳红,韩庆功,崔艺佳,等.益生菌复合发酵料对断奶仔猪消化环境、血清生化指标和代谢激素水平的影响[J].西北农业学报, 2018,27(1):16-23.

[66]王玉田,郑瑞峰,李富伟,等.发酵饲料替代抗生素对断奶仔猪生产性能和血液指标的影响[J].当代畜禽养殖业, 2018 (1):3-5.

[67]胡文琴,陈影,陈轶群,等.酸益壮对肉鸡生长性能、免疫器官指数和血液指标的影响[J].粮食与饲料工业, 2016, 12 (12):52-55

[68]张晓羊,张文举,王永强,等.嗜酸乳杆菌发酵棉粕对黄羽肉鸡免疫功能和抗氧化性能的[J].中国畜牧兽医, 2017, 44 (8):2311-2318

[69]张金龙,张宁,杨雪,等.发酵桑叶粉对肉鸡生长性能、血清生化指标及肠道组织形态结构的影响[J].饲料工业, 2017, 38 (20):38-42.

[70]梁菲菲,李占一. 饲料中添加不同水平的发酵原料对樱桃谷肉鸭生产性能和免疫力的影响[J].黑龙江畜牧兽医, 2017 (10):169-171.

[71]古丽努尔 阿曼别克,玛里兰 毕克塔依尔,艾比布拉 伊马木.日粮中添加番茄渣对围产期奶牛抗氧化性能的影响[J].中国畜牧兽医, 2017, 44 (4):1016-1021.

[72]梁敏,张文举,张凡凡,等.发酵棉粕对安格斯肉牛生长性能和血清生化指标的影响[J].饲料工业, 2017, 38 (21):45-48.

[73]冯建,王萍,何娇娇,等.发酵豆粕替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长性能、体成分、血清生化指标

- 及肝脏组织形态的影响[J].动物营养学报, 2016, 28 (11) :3493-3502.
- [74]王立改,曾文繁,楼宝,等.发酵豆粕替代鱼粉对黄姑鱼幼鱼生长性能、血清生化指标及肝脏中类胰岛素生长因子-I基因表达的影响[J].动物营养学报, 2018 (3): 989-998.
- [75] Gebru E, Lee J S, Son J C, et al. Effect of probiotic-, bacteriophage-, or organic acid-supplemented feeds or fermented soybean meal on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigs challenged with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium.[J]. Journal of Animal Science. 2010, 88(12): 3880-3886.
- [76] Yin F, Farzan A, Wang Q C, et al. Reduction of *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104 infection in experimentally challenged weaned pigs fed a lactobacillus-fermented feed.[J]. Foodborne Pathogens & Disease. 2014, 11(8): 628-634.
- [77] 钊守梅. 菌肽蛋白对断奶仔猪生产性能、肠道粘膜免疫功能和肠道菌群的影响[D].博士学位论文,杭州:浙江大学, 2014.
- [78] Lee J H, Paek S H, Shin H W, et al. Effect of fermented soybean products intake on the overall immune safety and function in mice[J]. Journal of Veterinary Science. 2017, 18(1): 25.
- [79] Zhu J, Gao M, Zhang R, et al. Effects of soybean meal fermented by *L. plantarum*, *B. subtilis* and *S. cerevisiae* on growth, immune function and intestinal morphology in weaned piglets[J]. Microbial Cell Factories. 2017, 16(1).
- [80] Roubos-Van Den Hil P J, Nout M J R, van der Meulen J, et al. Bioactivity of tempe by inhibiting adhesion of ETEC to intestinal cells, as influenced by fermentation substrates and starter pure cultures[J]. Food Microbiology. 2010, 27(5): 638-644.
- [81] 朱丽慧, 廖荣荣, 杨长锁. 肠道微生物对家禽肠道免疫功能的调节作用及其机制[J]. 动物营养学报. 2018(03): 820-828.
- [82] Rooks M G, Garrett W S. Gut microbiota, metabolites and host immunity[J]. Nature Reviews Immunology. 2016, 16(6): 341-352.
- [83] Apajalahti J, Vienola K. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion[J]. Animal Feed Science and Technology. 2016, 221: 323-330.
- [84]崔艳红,韩庆功,崔艺佳,等.益生菌复合发酵料对断奶仔猪消化环境、血清生化指标和代谢激素水平的影响[J].西北农业学报, 2018,27(1):16-23.
- [85] Ding Z, Zhang Y, Ye J, et al. An Evaluation of Replacing Fish Meal with Fermented Soybean Meal in the Diet of *Macrobrachium nipponense*: Growth, Nonspecific Immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila*[J]. Fish & Shellfish Immunology. 2015, 44(1): 295-301.
- [86] Lee S, Mohammadi Azarm H, Chang K H. Effects of dietary inclusion of fermented soybean meal on growth, body composition, antioxidant enzyme activity and disease resistance of

- rockfish (*Sebastes schlegeli*)[J]. *Aquaculture*. 2016, 459: 110-116.
- [87] 冯建, 王萍, 何娇娇, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长性能、体成分、血清生化指标及肝脏组织形态的影响[J]. *动物营养学报*. 2016(11): 3493-3502.
- [88] Liang X F, Hu L, Dong Y C, et al. Substitution of fish meal by fermented soybean meal affects the growth performance and flesh quality of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Animal Feed Science and Technology*. 2017, 229: 1-12.
- [89] 陈京华. 微生物发酵、外源酶制剂和促摄食物物质对牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 利用豆粕蛋白的影响. 陈京华[D]. 博士学位论文, 青岛: 中国海洋大学, 2006.
- [90] Novriadi. A Meta-Analysis Approach toward Fish Meal Replacement with Fermented Soybean Meal: Effects on Fish Growth P[J]. *Asian Fisheries Science*. 2017, 30: 227-244.
- [91] 杨剑波, 李振, 刘兴友, 等. EM 菌发酵饲料对妊娠母猪粪便成分及菌液对猪舍卫生环境的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017 (19) :121-123.
- [92] 林靖, 钟燕萍, 许道光, 等. 发酵豆粕对生长猪生长性能、血液生化指标、抗氧化指标和粪便中养分排出量的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2016 (3) :118-120.
- [93] 张益焄, 陆东东, 陈靖源, 等. 日粮中添加发酵豆粕对仔猪粪便氨气排放量的影响[J]. *家畜生态学报*, 2017 , 38 (7) :71-75.
- [94] 盛清凯, 战余铭, 李会荣, 等. 饲料发酵对饲料、猪粪中微量元素形态及粪臭素的影响[J]. *Agricultural Science & Technology* , 2016, 48 (4) :916-919.
- [95] Cui Y, Han Q, Wang Y, et al. The effect of mixed strains fermentation on concentrated feed quality[J]. *Feed Industry*, 2016, 37(7)32-36.
- [96] 张建华. 酒糟发酵蛋白质饲料菌种筛选的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2010,(8): 46-48.

Research and Application Progress of Biological Fermented Feed in China

DENG Xuejuan^{1,2} YU Jiying² LIU Jingjing² CHEN Da² WANG Weiwei² CAI Huiyi^{1,12*}

(1. Feed science institute , Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. National Engineering Research Center of Biological Feed, Beijing 100081, China)

Abstract: This paper clarifies the definition and classification of biological feed, summarizes the current situation of biological feed and its problems in application, reviews the progress in research and application of different biological feed. The paper focuses on detailed summaries of research progress in biological feed strain, bio-fermentation raw material and technology, enzyme hydrolyzed feed, microbia coupling with enzyme fermented feed, ground feed fermentation technology and application model, as well as the effect of fermented feed on livestock and poultry

*Corresponding author, professor, E-mail: caihuiyi@caas.cn

production performance. The development trend of biological feed research is proposed from aspects including screening of characteristic functional strains, effect of strains combination, biological value evaluation of biological feed and early warning and monitoring of biological feed quality and safety, which points out the direction for the healthy development of biological feed industry.

Key words: biological feed; fermented feed; research progress; development trend

发酵饲料资源开发及应用技术研究进展

王永伟 宋 丹 李爱科* 王薇薇 周 航 王 丽 刘宽博

(国家粮食和物资储备局科学研究院 北京 100037)

摘 要: 当前, 影响我国饲料业健康发展的一个最重要因素是优质饲料原料严重不足, 如不采取有效措施, 依赖进口的局面将长期存在。我国各类杂粕, 糟渣、食品加工副产物等非常规饲料资源丰富, 但由于其饲用价值不高, 限制了其在饲料工业中的高效应用。因此, 采用微生物发酵技术对多种饲料资源进行优质化处理, 可以提高其饲用价值, 在一定程度上丰富能量蛋白饲料原料供给, 缓解我国优质饲料资源的供需矛盾。本文就近年发酵饲料资源的加工工艺以及在动物上的应用研究进行了综述。

关键词: 微生物发酵; 饲料资源; 生产工艺; 应用研究

当前, 为了保障我国饲料工业持续健康发展, 实现从饲料大国转变为饲料强国的目标, 发展微生物发酵饲料将是饲料行业发展的一个重要方向。其中在《生物产业发展“十二五”规划》《饲料工业“十二五”发展规划》中明确提出: 未来生物技术与生物饲料在保障饲料安全与食品安全、促进饲料产业健康可持续发展的方向及产业布局模式等方面具有重要意义; 是促进我国畜牧业健康可持续发展的必要条件和物质基础; 是我国今后饲料工业发展的长期战略^[1]。

我国生物饲料行业工业化起步较晚, 但是随着生物饲料生产和应用技术的不断发展, 生物饲料发展迅速, 其定义和内涵也在不断变化。2018 年 1 月北京生物饲料产业技术创新战略联盟发布了《生物饲料产品分类》的团体标准 (T/CSWSL 001-2018), 该标准对生物饲料做了明确的定义, 指出生物饲料是指: 使用《饲料原料目录 (2013)》和《饲料添加剂品种目录 (2013)》等国家相关法规允许使用的饲料原料和添加剂, 通过发酵工程、酶工程、蛋白质工程和基因工程等生物工程技术开发的饲料产品总称, 包括发酵饲料、酶解饲料、菌酶协同发酵饲料和生物饲料添加剂等。

生物饲料具有诸多优势^[2-3], 大力发展生物饲料产业可以扩大饲料范围和实现饲料定向转化, 提高饲料利用率, 减少饲用抗生素等添加剂的使用, 可以添加在畜禽日粮中发挥多种有益作用^[4-6]。目前, 欧美等国家和地区微生物发酵饲料的使用比例已经大于 50%; 荷兰、芬兰规模化猪场应用生物饲料饲喂达到 60%; 在丹麦生物饲料养猪的比例达到 80%^[7]。当前, 我国在生物饲料企业规模、种类、发酵技术和饲料中的应用上与国际领先水平仍有一定的差距。

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0501401); 国家重点研发计划 (2016YFD0501209-02)”; 北京市家禽产业创新团队 (BAIC04-2018); 国家重点研发计划 (2017YFD0500505)。

作者简介: 王永伟 (1983—), 男, 河南洛阳人, 副研究员, 博士, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: wyy@chinagrains.org

*通讯作者: 李爱科, 研究员, E-mail: lak@chinagrains.org

1 发酵饲料开发是我国饲料工业发展的必然趋势

1.1 优质饲料资源的短缺已成为我国饲料畜牧行业健康发展的制约因素

目前,我国饲料粮约占粮食总产量的 35%,预计到 2030 年,该比重将达到 50%,但粮食预期年平均增量约有 1%,饲料粮缺口在所难免,其中优质蛋白质饲料资源(豆粕、鱼粉等)将更加紧张^[8-9]。粮食深加工的副产物、农副产品的废弃物以及工业有机废水、废渣等资源丰富,并且富含膳食纤维和蛋白质等营养成分,但是我国对于这些资源的利用还不充分,被用于其他行业、如肥料等,甚至直接丢弃和焚烧,造成资源浪费和环境污染^[10]。荷兰、美国是两个饲料出口大国,其原因之一就是酿酒、淀粉等工程中副产物的利用率高,荷兰 1 年中就有 550 万吨副产物经过发酵处理后变为优质的饲料资源^[11]。因此,通过微生物发酵的方式对粮食深加工副产物(麸皮、玉米皮等)、农副产品废弃物(农作物秸秆、糟渣等)以及工业有机废浆进行生物饲料生产的研究,并加强各类替代资源生物学价值评定,完善饲料基础数据库,不仅可以实现资源的再利用,还能缓解我国优质饲料资源紧缺的问题^[12-14]。

1.2 发展发酵饲料产业是实现生态养殖的重要途径之一

动物将饲料蛋白质转化为动物蛋白质的利用效率只有 20%~35%,而 65%~80%的摄入蛋白质都随粪便排入了环境^[8]。畜禽粪便中的重金属、粪便分解产生的硫化氢、甲烷和氨气等空气污染物造成了土壤、水体和空气污染^[15]。饲用抗生素的不合理使用,也加重了环境污染和食品安全压力。近年来,随着我国一直倡导的无抗饲料及无抗养殖的发展,越来越多的科研工作者和企业投身于生物饲料的开发与应用研究^[16]。2017 年 6 月 22 日,农业部印发《全国遏制动物源细菌耐药行动计划(2017—2020 年)》,该行动计划的重点任务之一就是要参照国际组织有关标准,结合我国实际,2020 年前完成促生长用抗菌药物相关品种清理退出工作。因此,发展生物发酵饲料产业是构建资源节约、生态环保的养殖业的重要途径之一。随着人们对微生物发酵饲料、畜产品质量的认识和重视程度的加强以及生物技术的迅速发展,将会进一步促进微生物发酵饲料的快速健康发展^[17]。

1.3 生物技术的不断进步为发酵饲料的发展提供了技术支撑

生物技术的迅猛发展,将进一步促进微生物发酵饲料的发展。随着发酵工程、酶工程、蛋白质工程和基因工程等技术的发展,可以定向地对微生物菌株进行筛选和改造,从而促进微生物发酵饲料的质量改善、功能加强、酶活性提高。谢光蓉等^[18]将枯草芽孢杆菌 α -淀粉酶基因与穿梭表达载体 pP43C 相连并导入 8 种蛋白酶缺陷枯草芽孢杆菌 WB800,获得了高效分泌表达 α -淀粉酶的工程菌,酶活力高达 960 U,具有良好的应用潜力,可促进 α -淀粉酶的工业化生产。此外,研究建立饲用微生物的分子克隆体系也将会是未来微生物发酵饲料发展的一个方向。

2 发酵饲料生产工艺和生产设备研究

2.1 发酵饲料的生产工艺

按照微生物发酵采用的培养基状态,微生物发酵可以分为固体发酵和液体发酵方式。由

于微生物代谢类型的多样性,利用不同微生物对同一物质进行发酵,以及一种微生物在不同条件下培养所得产物均不相同。因此,发酵工艺的研究可以大大减少发酵成本,提高发酵产物的发酵率,增强发酵饲料的市场竞争力。固态发酵是指在没有或几乎没有自由水存在的条件下,在有一定湿度的水不溶性固态基质中,用一种或多种微生物发酵的一个生物反应过程。固态发酵过程中受物料碳氮比、营养成分、含水量、pH 和发酵温度等多种因素的影响,因此,发酵参数应根据菌种、工艺及发酵目标而确定^[19]。按照微生物对氧的需求固态发酵方式可以分为好氧发酵、厌氧发酵、两段式发酵三种。其中好氧发酵的发酵速度快、周期短、物料转化率高,但耗损高;厌氧发酵香味浓厚、呼吸耗损小,但发酵周期长。固态厌氧发酵有较好的仿生效果,可以利用呼吸膜发酵袋控制发酵气压,实现厌氧发酵和产品长期保存,适合在广大养殖场推广。此外,有些企业有效地结合了好氧和厌氧两种发酵工艺的优点,采用先好氧再厌氧的两段式发酵方式^[20]。杨文宇^[21]研究了混合菌种两步发酵法对豆粕肽转化及品质的影响。以枯草芽孢杆菌和黑曲霉好氧发酵作为前发酵,再以酿酒酵母及保加利亚乳酸杆菌厌氧发酵作为后发酵对豆粕进行两步发酵。结果表明,第一步发酵中肽的转化率为 52.01%,第二发酵中肽的转化率为 65.08%,且两步发酵优于一步发酵。张代等^[22]对 7 个不同厂家发酵豆粕产品的理化指标进行了对比分析,结果表明,7 个厂家发酵豆粕产品粗蛋白质含量为 49.05%~50.94%,小肽含量为 12.53%~17.18%,KOH 蛋白质溶解度含量为 66.02%~90.70%,总酸含量为 3.1%以上,L-乳酸含量为 2.5%~3.70%,抗原与寡糖去除情况和氨基酸组成差异较大。说明不同厂家所采用的生产工艺与发酵菌种不同,发酵豆粕产品理化指标差异较大。

2.2 发酵饲料的生产设备

固态发酵饲料是目前研究的热点,并且研究层次也在不断升高,由最初对发酵条件的优化,到现在对品质的追求,推动了发酵饲料向更高层次的发展。由于固态发酵不能像液态发酵一样实现对发酵过程的严格控制,因此发酵过程中产生的一些变化不能人为消除,只能通过发酵参数调节加以控制。比如豆粕在发酵过程中发黏问题。豆粕发黏是发酵过程中豆粕在水和微生物的共同作用下其理化性质发生变化后的必然表现,发酵豆粕的黏度超过临界值后,会使得颜色加深,结块,并且有氨臭味。然而品质优良的发酵豆粕在外观上要求颜色棕黄,松散不结块,气味酸香无氨臭,因此,发酵豆粕过黏也是对品质的一种损坏。李世豪^[23]通过质构仪研究了发酵过程中发黏的成因及对粉碎的影响。结果表明,发黏的主要原因是小分子蛋白质和小肽的增多,并且随着发酵时间的增长黏度在不断增大。黏度对豆粕的易粉程度不是线性的,在发酵 72 h 前有利于豆粕的粉碎加工,而 72 h 后的样品不利于粉碎加工。

要想实现发酵饲料的产业化发展,大型发酵饲料成套装备的开发显得尤为重要。现在固态发酵和干燥设备不同程度地存在自动化程度低、能耗高、产品变性的问题,尤其要解决粘性发酵饲料的自动转运、生产效率高且能保持发酵饲料的活性,仍存在较大困难。针对以上问题,国内如迈安德集团优化了发酵塔的通风系统,研制了粘性发酵饲料的粉碎干燥装备,

可以实现在线粉碎、分离与干燥，生产效率高且能保持发酵饲料的活性。目前，迈安德集团已经开发了单套年处理量 1 万到 12 万吨的发酵饲料装备生产线，真正实现了发酵饲料自动化、稳定化生产，实现了全球的推广应用。因此，现代发酵技术及成套发酵装备开发极大促进了生物饲料产业发展。

3 发酵饲料资源的开发与应用

3.1 发酵饼粕饲料资源

我国饼粕类资源十分丰富，主要有：大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、花生粕、芝麻饼粕、油茶饼粕、葵花籽饼粕、亚麻籽饼粕等。这些饼粕原料都富含植物蛋白，但是抗营养因子含量高，蛋白质和氨基酸消化利用率低，导致杂粕在饲料中的添加量很低（一般低于 8%）。采用微生物发酵技术能有效去除饼粕中的抗营养因子，产生丰富的功能活性物质，提高饼粕的饲用价值。

3.1.1 发酵豆粕

生产工艺研究：发酵豆粕是目前研究最多也最为深入的一种生物饲料。微生物发酵可以显著降低或者彻底消除豆粕中的抗营养因子，并且相对于豆粕其常规营养成分也发生了多种有益变化^[24]。袁正武等^[25]研究表明，枯草芽孢杆菌、酿酒酵母菌、乳酸菌的添加比例分别为 3‰、2‰、1‰，蛋白酶添加量为 2‰，菌种活化时间为 0.5 h，发酵的初始水分分为 38%，温度在 30-42℃时，发酵豆粕的理化指标最优，其中小肽含量可达 20%以上，乳酸含量可达 3.5%以上，并且质量稳定。张艳萍等^[26]选用粪肠球菌、产朊假丝酵母及枯草芽孢杆菌 3 种菌株对豆粕进行发酵，结果发现发酵饲料微生物活性越高，干物质回收率越低；粪肠球菌发酵活性最高，为 32.4 亿 CFU/g，产朊假丝酵母活性最低，仅为 5.8 亿 CFU/g；干物质回收率以产朊假丝酵母最高，为 94.50%，粪肠球菌最低，为 90.02%。酸度的上升幅度以粪肠球菌最大，上升了 1.28%；粗蛋白质提高幅度以产朊假丝酵母最高，为 3.95%；枯草芽孢杆菌则以小肽和总氨基酸含量变化最大，分别提高 4.35%和 12.57%。史玉宁等^[27]采用米曲霉、酿酒酵母混合发酵豆粕，分别研究在不同水分、不同菌种接种量的条件下对发酵豆粕营养指标的影响。结果表明，在水分 45%，米曲霉、酿酒酵母接种量分别为 0.5%、4%，同时添加 0.1% 酶制剂的条件下，发酵豆粕的粗蛋白质提高了 21.27%、酸溶蛋白提高了 695.97%。付亭亭等^[28-29]研究了不同菌种对豆粕中水苏糖、棉子糖的发酵降解效果。结果表明：豆粕:玉米粉:麸皮以 9:0.5:0.5 的比例进行混合，按 15%的接种量，30℃下发酵 48h，可部分或者完全降解豆粕中的水苏糖和棉子糖。近年来，利用发酵的微生物分泌 β -葡萄糖苷酶作用于大豆异黄酮糖苷，极大程度地提高了糖苷的转化效率，降低生产成本，实现了苷元异黄酮的直接生产^[30]。周玲玲和徐建雄^[31]研究了高活性大豆异黄酮发酵豆粕对断奶仔猪生长发育、抗氧化功能和肝功能的影响。结果表明，在断奶仔猪（尤其是断奶两周内）日粮中以高活性大豆异黄酮发酵豆粕替代普通豆粕有较好的饲喂效果，替代量为 8%最佳。

在猪上的应用：Wang 等^[32]采用嗜热链球菌、枯草芽孢杆菌和酿酒酵母对豆粕进行发酵

制备发酵豆粕，并替代豆粕用于断奶猪的喂养，发现饲料配方中含有 6% 发酵豆粕可促进断奶猪快速生长。Jin 等^[33]研究表明，在饲养断奶猪方面，与豆粕和鱼粉相比，发酵豆粕可以提高猪的氨基酸和其他营养物质表观消化率，有利于猪的生长和发育。熊莹等^[34]在仔猪基础饲料中分别添加 5%、10% 和 15% 的发酵豆粕及 10% 的风干发酵豆粕，结果显示，发酵豆粕能有效改善保育猪生长性能，提升仔猪免疫力，降低腹泻率，添加水平以 10% 为宜。陈玉龙等^[35]给对照组饲喂 18% 普通豆粕饲料，试验组以 5%、10%、15%、24% 的发酵豆粕替代饲料中普通豆粕，结果显示，与对照组相比，试验组对保育猪料重比、腹泻率影响显著 ($P<0.05$)，对保育猪血清中尿素氮和血糖含量有显著影响，对血清中谷丙转氨酶和天门冬氨酸转移酶有极显著影响 ($P<0.01$)。林靖等^[36]研究指出，5% 发酵豆粕能显著提高肥育猪生长性能，促进蛋白质的沉积和养分的吸收利用，减少氮的排出；但 10%、15% 发酵豆粕替代豆粕对提高肥育猪生长性能和降低粪便中养分排出无显著影响，发酵豆粕替代量以 5% 为宜。目前，国内外关于发酵豆粕在母猪饲料中的应用与报道较少。辛小召^[37]报道，添加 10%~15% 的发酵豆粕能显著提高断奶仔猪重和成活率，缩短母猪断奶至发情间隔，降低哺乳期间仔猪的腹泻率，提高母猪采食量，促进母猪机体对粗蛋白质、粗脂肪、钙、磷等营养物质的消化吸收；母猪饲料中添加发酵豆粕改善了母猪乳汁成分，增加乳蛋白、乳糖、乳脂肪的含量，母猪血清中总胆固醇、尿素氮和谷草转氨酶水平均显著降低。

在家禽和水产上的应用：阿布都如苏力·艾尔肯等^[38]研究了嗜酸乳杆菌发酵豆粕对肉仔鸡生长性能和屠宰性能的影响，结果表明，在肉鸡生长全期，抗生素组和发酵豆粕组较对照组料重比分别下降了 6.85% 和 4.44% ($P<0.01$)，发酵豆粕组较抗生素组显著提高了 2.60% ($P<0.05$)。与对照组和抗生素组相比，发酵豆粕组的胸肌率分别提高了 3.93% ($P>0.05$) 和 5.73% ($P<0.05$)；腿肌率分别提高了 8.76% 和 10.45% ($P<0.01$)；腹脂率分别下降了 16.54% 和 25.45% ($P<0.01$)，发酵豆粕组腹脂率较抗生素组下降了 10.67% ($P>0.05$)。说明发酵豆粕饲料要优于普通豆粕饲料，并可发挥代替饲用抗生素的作用。Ding 等^[24]研究了发酵豆粕替代鱼粉对喂养日本沼虾的影响，发现发酵豆粕替代量达到 75%~100% 时并不对日本沼虾的生长产生影响，而且发酵豆粕替代量在 25% 是效果最佳。

3.1.2 发酵菜粕

Hu 等^[39]利用枯草芽孢杆菌、产朊假丝酵母和粪肠球菌进行菜籽粕的固态发酵，有效降低了菜粕中粗纤维、硫甙、异硫氰酸酯和植酸水平，肉鸡试验结果表明，发酵菜粕可以显著增强肉鸡血清超氧化物歧化酶活性和总抗氧化能力，改善肉鸡肠道形态的完整性。邱良伟等^[40]研究了植物乳杆菌和黑曲霉复合微生物固态发酵对菜籽粕的脱毒效果及营养价值的影响。结果表明，复合微生物固态发酵可显著降低菜籽粕中的抗营养因子含量，混菌发酵效果优于单菌种发酵。发酵后菜籽粕中粗蛋白含量提高了 6.57%，小肽含量提高了 88.76%，粗纤维含量降低 11.31%；抗营养因子异硫氰酸酯降低了 64.00%，噻唑烷硫酮降低了 81.82%，硫苷降低了 75.16%，总氨基酸含量提高了 11.59%。蒋边等^[41]以两种细菌（枯草芽孢杆菌 W1-3、

枯草芽孢杆菌 10160)和三种真菌(毕赤酵母、酿酒酵母和黑曲霉)为出发菌种,进行单菌、混菌固态发酵研究。结果表明,由枯草芽孢杆菌 W1-3 发酵所得的菜籽粕中多肽、粗蛋白、氨基酸含量分别增加 453.47%、10.39%、17.76%,硫苷和植酸两种抗营养物质含量分别降低 62.14%和 31.58%。

3.1.3 发酵棉粕

棉粕中的抗营养因子限制了其在畜禽饲料中的大量使用,王薇薇等^[42]研究表明:选用 H_2O_2 、 $CuSO_4$ 配制成一种混合脱毒剂,能有效脱除棉籽粕中的游离棉酚,并且提高棉籽粕的粗蛋白质消化率和仿生消化能值。王晓玲等^[43]通过醋酸棉酚与菌株共培养的方法,筛选获得了一株在液体培养条件下棉酚脱除率达 90%以上的枯草芽孢杆菌(ST-141)。利用该菌株与酿酒酵母对棉粕进行混菌固态发酵,30℃发酵 48 h 后棉粕中游离棉酚脱除率达 48.5%,同时粗蛋白含量增加 19%,氨基酸总量上升 22.2%,必需氨基酸含量增加 28.4%。Wang 等^[44]开展了发酵棉粕在肉鸡上的应用效果研究,结果表明,0-21 日龄时,8%发酵棉粕组平均体重较 8%棉粕组提高 3.98%,平均体重较玉米-豆粕组提高 0.83%。日粮中添加 8%的发酵棉粕显著提高血清免疫水平和抗氧化水平,提高盲肠乳酸菌数量。聂存喜等^[45]研究了酵母菌发酵棉粕对黄羽肉鸡肌肉主要脂肪酸组成的影响,结果表明,日粮中添加发酵棉粕可显著增加 21~42 日龄黄羽肉鸡胸肌和 43~64 日龄腿肌中亚油酸含量,对 21~42 日龄腿肌脂肪酸组成无显著影响。魏尊^[46]研究不同的添加量的嗜酸乳杆菌发酵棉粕对蛋鸡生产性能、蛋品质及血液生化指标的影响。结果表明,蛋鸡日粮中用发酵棉粕代替豆粕,在不影响蛋品质的情况下,以添加 10%的效果最佳。刘长忠等^[47]研究表明,与豆粕组相比,发酵棉仁粕组显著降低了生长鹅腹泻率,显著提高了十二指肠内容物和胰脏组织的胰蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的活性,指出发酵棉仁粕替代玉米-豆粕型基础日粮 30%的豆粕能提高生长鹅生长性能和消化酶活性。

3.2 发酵玉米小麦加工副产物

据林谦等^[48]研究发现,我国每年有数千万吨玉米被用于制取淀粉和乙醇,在玉米深加工过程中会产生大量的玉米粉、玉米皮和玉米胚芽饼粕等副产品。如果仅对大量副产物进行简单的利用,不仅是对资源的浪费,而且还会对环境造成污染。利用微生物对玉米加工副产物进行生物发酵,不但能改善玉米加工副产物的适口性和营养价值^[49-52],而且可以使玉米加工副产物得到有效的利用^[53-54],并且解决霉菌毒素污染的问题。

李加友等^[55]利用单因素比较法确定产朊假丝酵母 JXU2066 在饲料发酵过程中的脱毒控制方法。结果表明,在被黄曲霉毒素污染的玉米中添加适量的麸皮和尿素,以固体基质含量 8%的比例接入菌龄为 72 h 的产朊假丝酵母 JXU2066,30 d 后的发酵饲料中黄曲霉毒素含量由 230 $\mu\text{g/kg}$ 降为 8.7 $\mu\text{g/kg}$,粗蛋白含量 15.6%,发酵饲料色泽金黄,气味芳香。王伟伟等^[56]对酵母菌 CGMCC2.119 发酵玉米加工副产物的发酵条件进行优化研究,研究得出最优发酵条件:发酵时间 60 h、接种量 7.93%和初始 pH 为 7.42,其发酵产物中酵母菌数达 1.90 亿

个/g。典姣姣等^[57]利用黑曲霉、枯草芽孢杆菌、酵母菌和乳酸菌混合发酵喷浆玉米皮生产蛋白饲料,通过响应面分析得到适宜发酵条件为初始水分含量 75% (质量/质量)、接种量 15% (体积/质量)、发酵温度 32 °C、pH 6.0 和发酵时间 72 h。在此条件下,产物中粗蛋白含量为 23.79% (干物质基础,质量/质量),提高了 8.29%。魏炳栋等^[58]研究了发酵玉米蛋白粉对肉仔鸡生长性能、肠道微生物数量和抗氧化能力的影响,结果表明,与对照组相比,饲料添加 5%和 10%的发酵玉米蛋白粉能够显著提高肉仔鸡的平均日采食量和平均日增重 ($P<0.05$),能够极显著增加 28 和 56 日龄盲肠乳酸杆菌的数量 ($P<0.05$),能够极显著提高血清抗超氧阴离子自由基和抑制羟自由基能力 ($P<0.01$),并极显著降低 28 日龄血清丙二醛含量 ($P<0.01$)。由此可见,饲料添加发酵玉米蛋白粉能够有效促进肉仔鸡生长,优化肠道菌群结构,提高抗氧化能力。李爱科等^[59]利用小麦淀粉加工副产物戊聚糖浆、麦麸等经黑曲霉发酵,开发了富含功能性低聚木糖的饲料和添加剂产品,能使液态戊聚糖浆中含量 1.6% 的难消化戊聚糖转化成含量 2.02 g/L 的功能性低聚木糖。

3.3 发酵非常规饲料资源

非常规饲料原料是指在配方中较少使用,或对其营养特性和饲用价值了解较少的饲料原料,是区别于常用的粮食、谷物等常规饲料的资源。根据饲料的营养特性,我国的非常规饲料可分为 7 大类:农作物秸秆和秕壳、糟渣和废液类饲料、林业副产物、非常规植物饼粕类、动物性下脚料、粪便再生饲料资源及矿物质饲料。但是,这些非常规饲料营养成分不平衡,适口性差,必需经过处理才能使用或限量使用。因此,从我国实际出发,加大对非常规饲料资源的开发、利用和研究将是畜牧业可持续发展的有效途径之一,对发挥地域优势降低养殖成本也具有积极的促进作用^[60]。

朱新强等^[61]开展了固态发酵豆渣、葡萄渣和苹果渣复合蛋白饲料的研究,发酵饲料 pH 为 6.2,粗蛋白质、酸性洗涤纤维素、中性洗涤纤维素含量分别为 11.25%、28.43%和 24.68%,饲用价值显著提升。罗文等^[62]开展了固态发酵豆渣和苹果渣复合蛋白饲料的研究,结果表明酿酒酵母、黑曲霉和里氏木霉的配比为 3:2:4,在接种量 1%、培养 48 h、基质含水量 70%、发酵温度 30°C时,发酵产物中粗蛋白质含量从 15.87%提高到 19.38%。许翔等^[63]以小麦制酒精废水生产沼气后的沼渣为原料,辅以麸皮,将水分含量调至 50%,酒曲接种量为 10%,链式多层好氧发酵,发酵 48 h,然后烘干并粉碎制备发酵小麦制酒精沼渣,并研究其对 40 kg 左右杜长大杂交猪生长肥育猪生长性能、血清生化指标和肉品质的影响。结果表明,饲料中添加 5%和 10%发酵小麦制酒精沼渣能提高生长肥育猪的平均日增重和平均日采食量,并可提高部分鲜味氨基酸的含量,进而改善肉的风味。程方等^[64]研究了 8 株菌种对发酵马铃薯渣饲料中粗蛋白、粗纤维含量及蛋白酶活、纤维素酶活的影响。结果表明,黑曲霉 Z9 和啤酒酵母 PJ 组合为最佳菌种配伍,且当菌种比例为 1:1 时,粗蛋白质含量为 41.72%,蛋白酶活性为 1344.93 U/g,纤维素酶活性为 120.87 U/g,分别比对照组含量提高了 78.69%、296.74%和 1473.77%;粗纤维含量为 8.47%,比对照组降低了 31.96%。魏立民等^[65]研究了

复合酪酸芽孢杆菌对新鲜木薯渣发酵品质的影响,发酵底物由 70%鲜湿木薯渣、10%米糠、18%麦麸、2%硫酸铵组成,分别接种 1、2、3 L/t 菌种,充分混合均匀,然后装入发酵罐密封,发酵 30 天。结果表明,复合酪酸芽孢杆菌可以提升木薯渣的发酵香味 ($P<0.05$),显著提高发酵木薯渣的粗蛋白质、粗脂肪和乳酸的含量 ($P<0.05$),显著降低发酵木薯渣的干物质、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维和钙含量和 pH ($P<0.05$)。综合认为,复合酪酸芽孢杆菌以添加量 3 L/t 时,发酵木薯渣的粗蛋白质和粗脂肪最高。

此外,结合地方特有的非常规饲料资源,许多研究人员利用生物发酵技术开展构树^[66]、桑粉^[67]、甜叶菊废渣^[68]、香菇菌糟^[69]、灵芝菌糠^[70]、药食同源中药渣^[71-72]等生物发酵饲料资源的营养价值评定以及在动物上的应用技术研究,可以变直接还田为过腹还田,真正做到变废为宝、物尽其用,极大减少了资源浪费和环境污染。

4 发酵饲料的发展方向

虽然近年来微生物发酵饲料得到了我国科学工作者的深入研究和企业界的大力推广。但我国发酵饲料研究和产业化开发利用技术方面仍存在多个制约因素,未来发酵饲料的主要研究方向有:

第一,建立完善的发酵饲料的综合评价体系,要针对不同需求目标(比如促生长、改善肠道健康、提高胴体品质、减少粪便臭味等),开发有功能性和针对性的高效安全的发酵饲料。

第二,要开展发酵饲料添加方式(干基和湿基)和储藏品质研究,开展发酵饲料水分活度研究。要开展发酵饲料在畜禽上多种应用效果的深入评价,实现发酵饲料资源的合理化应用。

第三,要深入开展发酵饲料生产工艺的基础数据研究,要对比研究不同发酵工艺(好氧、厌氧、组合发酵)条件下达到最佳发酵效果的稳定化产品的质量指标差异,实现大型成套智能化生产。

此外,我国必须完善发酵饲料相关法律法规,加快国标行标制订,培育出一大批发酵饲料龙头企业和技术人才,加大企业和科研院所在发酵饲料方面基础理论研究工作,这样才能使我国发酵饲料行业得到可持续发展,为真正无抗饲料时代来临奠定坚实的饲料原料基础。

参考文献:

- [1] 刘艳新,刘占英,倪慧娟,等.微生物发酵饲料的研究进展与前景展望[J].饲料博览,2017(2):15-22.
- [2] 王晓伟,高鹏飞,姚国强,等.乳酸菌发酵饲料的优势及其在畜禽养殖中的应用[J].粮食与饲料工业,2015,12(7):47-50.
- [3] 宋高杰,李瑞珍,潘耀谦,等.益生菌发酵饲料的优势及其在畜禽生产中的应用[J].中国家禽,2016,38(23):64-67.
- [4] 卫爱莲,李吕木,李珊,等.发酵饲料在养殖业中的研究进展[J].饲料博览,2017(5):8-12.

- [5] 吝常华,王冰,蔡辉益.肉鸡发酵饲料生产技术的进展[J].中国畜牧杂志,2017,53(5):4-10.
- [6] 张秀林,魏小兵,欧长波,等.益生菌发酵饲料对仔猪生长和免疫功能影响的研究进展[J].中国畜牧兽医文摘,2017,44(3):476-481.
- [7] 陈来华.中国生物饲料发展前景广阔[J].中国动物保健,2015,17(3):11-12.
- [8] 李爱科.中国蛋白质饲料资源[M].中国农业大学出版社,2013.
- [9] 罗晶,解玉红,李思蓓,等.秸秆资源的开发及利用研究[J].安徽农业科学,2011,39(11):6415-6418.
- [10] 梁榕旺,徐淑莉.我国秸秆资源现状及其利用[J].畜牧与饲料科学,2011,32(11):21-23.
- [11] 高俊岭.荷兰饲料工业现状[J].饲料广角,2007(21):38-39.
- [12] 崔耀明,董晓芳,佟建明.我国食品及制造业糟渣类饲料资源的应用[J].动物营养学报,2014,26(7):1728-1737.
- [13] 赵萍,王晓力,王春梅,等.苹果渣发酵生产蛋白饲料的研究进展[J].中国草食动物科学,2016,36(3):54-59.
- [14] 邓永平,辛嘉英,郑洛昀,等.微生物发酵醋糟的研究进展[J].中国酿造,2016,35(10):5-8.
- [15] 郑惠文.养殖场畜禽粪便对环境的影响及粪便处理与再利用技术[J].当代畜牧,2014(12):63-64.
- [16] 李爱科,王薇薇,韩飞,等.粮油资源高效饲料转化技术在饲用抗生素替代中的应用[J].动物营养学报,2014,26(10):2924-2933.
- [17] 张连慧,熊小辉,惠菊,等.发酵豆粕及其在动物养殖行业中的应用研究进展[J].中国油脂,2017,42(3):108-112.
- [18] 谢光蓉,乔代蓉,曹毅.重组枯草芽孢杆菌 α -淀粉酶基因工程菌构建与表达[J].食品与发酵科技,2012,48(3):13-17.
- [19] 祝玉洪,马立周.发酵技术在饲料行业中的应用[J].饲料工业,2013(18):49-54.
- [20] 熊锋,何荣海,张韦唯,等.饼粕生物发酵饲料产业发展现状与趋势[J].粮食与饲料工业,2016,12(5):39-43.
- [21] 杨文字,常慧,陈昭琪,等.混合菌种两步发酵法对豆粕肽转化及品质的影响[J].食品研究与开发,2017,38(22):187-193.
- [22] 张代,孙洪浩,张克顺.不同厂家发酵豆粕产品理化指标比较分析[J].中国饲料,2017(1):41-44.
- [23] 李世豪,管军军,程云龙.固态发酵豆粕发黏成因及对粉碎影响[J].饲料研究,2015(7):61-64.
- [24] DING Z, ZHANG Y, YE J, et al. An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of *Macrobrachium nipponense*: Growth, nonspecific immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 44(1):295-301.

- [25] 袁正武,陈凤鸣,陈清华.发酵工艺参数对发酵豆粕营养成分的影响[J].中国畜牧兽医,2015,42(8):2066-2073.
- [26] 张艳萍,李雪平,尹望.不同微生物发酵对豆粕营养品质影响的研究[J].饲料研究,2017(1):19-20.
- [27] 史玉宁,赵鹏娟,陈如水,等.米曲霉和酿酒酵母复合菌种发酵豆粕的研究[J].现代畜牧兽医,2017(6):8-11.
- [28] 付亭亭, 李爱科, 梁新晓,等. 豆粕中抗营养因子检测技术研究进展[J]. 粮油食品科技, 2014, 22(1):85-90.
- [29] 付亭亭,綦文涛,李爱科,刘建学,梁新晓,负婷婷,王永伟.不同菌种对豆粕中水苏糖、棉子糖的发酵降解与检测技术研究[J].中国粮油学报,2014,29(12):111-118.
- [30] 孙洁心,孙强,张永忠.发酵豆粕中大豆异黄酮提取条件的优化[J].食品研究与开发,2012,33(9):1-3.
- [31] 周玲玲,徐建雄.高活性大豆异黄酮发酵豆粕对断奶仔猪生长性能、抗氧化能力、肝功能指标的影响[J].饲料工业,2017,38(20):34-40.
- [32] WANG Y, LIU X T, WANG H L,et al.Optimization of processing conditions for solid -state fermented soybean meal and its effects on growth performance and nutrient digestibility of weanling pigs[J].Livestock Science,2014,170: 91-99.
- [33] JIN S J, PARK J W, SANG I L,et al.Apparent ileal digestibility of nutrients and amino acids in soybean meal, fish meal, spray-dried plasma protein and fermented soybean meal to weaned pigs[J].Animal Science Journal,2015,87(5):697-702.
- [34] 熊莹,吴先华,覃小荣,等.发酵豆粕对保育猪生长性能及免疫力的影响研究[J].饲料研究,2016(7):23-26.
- [35] 陈玉龙,周艺,曾丹,等.发酵豆粕对保育猪生长性能、血清生化指标及酶活性指标的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2016(3):136-138.
- [36] 林靖,钟燕萍,许道光,等.发酵豆粕对生长猪生长性能、血液生化指标、抗氧化指标和粪便中养分排出量的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2016(5):118-120.
- [37] 辛小召.湿态发酵豆粕及发酵浓缩料研制及对泌乳母猪生产性能、血液生化指标、粪便微生物菌群的影响[D].硕士学位论文.郑州:河南农业大学,2014.
- [38] 阿布都如苏力·艾尔肯,张文举,聂存喜.嗜酸乳杆菌发酵豆粕对黄羽肉鸡生长性能和屠宰性能的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2014(23):12-16.
- [39] HU Y N, WANG Y W, LI A K, et al. Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers[J]. Food and Agricultural Immunology, 2016,27(2):182-193.
- [40] 邱良伟,顾拥建,沙文锋,等.复合微生物固态发酵菜籽粕的研究[J].安徽农业科学,

2015,43(3):209-211.

- [41] 蒋边,潘进权,谢瑞敏等.固态发酵菜籽粕生产多肽及降解硫苷菌种的筛选[J].食品工业科技,2015(24):164-168.
- [42] 王薇薇,周天兵,李爱科,韩飞,宋代军.棉籽粕化学脱除棉酚的试验研究[J].动物营养学报,2016,28(02):564-571.
- [43] 王晓玲,刘倩,韩伟等.棉酚脱除菌株的筛选及棉粕混菌固态发酵研究[J].粮油食品科技,2016,24(1):81-85.
- [44] WANG Y W, DENG Q Q, SONG D,et al.Effects of fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters, immune functions, antioxidative abilities, and cecal microflora in broilers[J].Food and Agricultural Immunology,2017,28(4):725-738.
- [45] 聂存喜,张文举,刘艳丰等.酵母菌发酵棉粕对黄羽肉鸡肌肉主要脂肪酸组成的影响[J].中国家禽,2015,37(7):25-28.
- [46] 魏尊.棉粕源发酵饲料对产蛋鸡饲喂效果的研究[J].中国家禽,2017,39(7):53-57.
- [47] 刘长忠,刘兴友,胡建和,等.发酵棉仁粕对生长鹅生长性能和消化酶活性的影响[J].中国家禽,2015,37(11):27-31.
- [48] 林谦,王照群,戴求仲,等.非淀粉多糖酶对玉米加工副产品能量利用的影响[J].动物营养学报,2013,25(4):833-839.
- [49] 戚伟,赵树欣,李艳敏,等.混菌发酵生产富肽蛋白饲料工艺条件的研究[J].饲料工业,2007(17):6-9.
- [50] 何谦,吴同山,李岩,等.发酵饲料对规模化猪场断奶仔猪生产性能的影响[J].畜牧与兽医,2008(6):62 -64..
- [51] 陈洪伟,叶淑红,王际辉,等.混菌固态发酵麸皮制备蛋白饲料的研究[J].中国酿造,2011(6):74 -77.
- [52] 王伟伟,齐景伟,安晓萍,等.混菌固态发酵制备玉米皮菌体蛋白饲料的培养基优化 [J].中国饲料,2013(10):16-19.
- [53] 常磊,刘永萍,徐聪聪,等.饲用酶与芽孢杆菌协同作用发酵豆粕的相关研究[J].饲料工业,2011(22):21-26.
- [54] 陈洁梅,熊娟,常磊,等.芽孢杆菌在豆粕固态发酵中的应用研究[J].饲料工业,2011(9):15-19.
- [55] 李加友,褚云峰,陆筑凤,等.饲料发酵耦合黄曲霉毒素 B1 的生物脱除方法研究[J].中国畜牧杂志,2016,52(4):59-62.
- [56] 王伟伟,安晓萍,王哲奇,等.酵母菌发酵玉米加工副产物发酵条件的研究[J].饲料研究,2014(13):12-15.
- [57] 典姣姣,黄亮,董贞,等.喷浆玉米皮混菌固态发酵饲料的研究[J].饲料研究,2016(8):51-54.
- [58] 魏炳栋,苗国伟,邱玉朗,等.发酵玉米蛋白粉对肉仔鸡生长性能、肠道微生物数量和抗氧化

- 能力的影响[J].动物营养学报,2017,29(3):952-960.
- [59] 李爱科,尹文飞,王薇薇,王丽,王永伟,郭伟群.一种利用小麦淀粉加工副产物戊聚糖浆生产富含功能性低聚糖饲料的方法[P].2015,专利号:ZL2015 1 0141872.4.
- [60] 王伟伟,安晓萍,齐景伟.非常规生物饲料的研究进展[J].饲料研究,2012(11):72-74.
- [61] 朱新强,魏清伟,王永刚,等.固态发酵豆渣、葡萄渣和苹果渣复合蛋白饲料的研究[J].饲料研究,2016(4):54-59.
- [62] 罗文,王晓力,朱新强,等.固态发酵豆渣和苹果渣复合蛋白饲料的研究[J].粮食与饲料工业,2017,12(2):44-48.
- [63] 许翔,李吕木,李彬,等.发酵小麦制酒精沼渣对生长肥育猪生长性能、血清生化指标和肉品质的影响[J].动物营养学报,2017,29(3):1003-1011.
- [64] 程方,李巨秀,来航线,等.多菌种混合发酵马铃薯渣产蛋白饲料[J].食品与发酵工业,2015,41(2):95-101.
- [65] 魏立民,刘圈炜,刘海隆,等.复合酪酸芽孢杆菌对木薯渣发酵品质的影响[J].广东饲料,2016,25(11):22-24.
- [66] 苏应玉,陈国顺,武宏斌,等.构树发酵饲料对荷斯坦奶牛产奶性能的影响[J].中国草食动物科学,2018(1):71-73.
- [67] 张娜娜,曹洪战,李同洲,等.发酵饲料桑粉对育肥猪生长性能和猪肉品质的影响[J].中国兽医学报,2016,36(12):2166-2170.
- [68] 孔智伟,郭礼荣,郭添福,等.发酵甜叶菊废渣对土杂肉猪屠宰性能的影响[J].中国猪业,2016,11(8):72-74.
- [69] 刘斌,黄师荣,冯丹,等.香菇菌糟发酵饲料的研制[J].广东饲料,2016,25(4):43-46.
- [70] 刘月,李志涛,李杰峰,等.响应面分析灵芝菌糠发酵饲料加工调制与优化研究[J].中国饲料,2018(1):83-87.
- [71] 孙晓燕,任杰,葛亚中,等.中药渣制备发酵饲料生产工艺的研究[J].中国食物与营养,2017,23(11):41-44.
- [72] 陈功建,张远洲,胡久益,等.杜仲叶浸提副产物发酵饲料工艺、配方及营养成分[J].湖南饲料,2016(6):34-35.

Fermentative Feed Resources: Development and Application Research

WANG Yongwei SONG Dan LI Aike* WANG Weiwei ZHOU Hang WANG Li LIU
Kuanbo

(Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037, China)

Abstract: At present, the most important factor to affect the healthy development of feed industry is the serious shortage of high quality feed ingredients, so if we do not take effective measures, the

* Corresponding author, professor, E-mail: lak@chinagrains.org

situation will exist for a long time. In China, all kinds of unconventional feed resources, such as oilseed meals, food residues, by-products of food processing are very abundant, but its feeding value is lower, which limits the effective application in feed industry. Therefore, the optimization treatment to unconventional feed resources with microbial fermentation technology can effectively improve the feeding value and enrich the energy and protein feed resources, which can ease the contradiction between supply and demand of high quality feed resources in China. This paper mainly summarizes the research progress in recent years on the processing technology of fermented feed resources and its application studies in animals.

Key words: microbial fermentation; feed resource; productive technology; application research

益生元在动物营养中开发应用的研究进展

赵丽红¹ 汤伟¹ 马青山² 张军¹ 何增国^{1,2*}

(1.中国海洋大学医药学院, 青岛 266003; 2.青岛百奥安泰生物科技有限公司, 青岛 266100)

摘要: 历经数十年的集约化、规模化发展, 养殖业中饲用抗生素的添加已成为养殖实践一个常规环节。近年来随着业界及社会对食品安全的关注, 饲用抗生素替代的呼声越来越高。最近农业部在中国饲料发展论坛上更是提出要在 2020 年彻底取缔饲料中添加抗生素。益生元是一类不可被动物消化同时能够刺激益生菌群增殖的天然产物, 在饲料中添加益生元能促进养殖动物肠道内益生菌的繁殖并在原位合成短链脂肪酸等抑制病原菌生长的活性代谢产物, 并具有提高养殖动物免疫力的生理活性作用。本文综述了国内外学者对益生元作为饲料添加剂在动物养殖中的应用, 对益生元在肠道内的作用机制及其作为饲料添加剂在动物营养中的具体应用作了简要概述, 也对益生元的饲用抗生素部分替代的应用潜力及前景做了分析。

关键词: 益生元; 益生机制; 动物营养; 益生元

改革开放几十年来, 我国的养殖业取得长足进步及跨越式发展。时至今日, 我国已成为世界养殖业大国, 肉类、禽蛋和水产品总产量均居世界首位。作为养殖业大国, 我国生猪存栏量、出栏量位于世界第一, 猪肉产量居世界第一; 同时, 中国是世界上最大的蛋品生产与消费国, 我国一年消费鸡蛋总量为 4000 亿枚, 约为世界平均水平的 1.7 倍, 蛋鸡养殖量居全球第一, 商品蛋鸡的饲养量已达 15 亿只左右; 此外, 我国作为世界第一的水产养殖国家, 每年的养殖产量为世界养殖总产量的 70% 左右。不夸张地说, 养殖业的长足发展对国家的粮食安全(蛋白原安全)及人民温饱问题的解决, 起到了举足轻重的作用。

进入 21 世纪以来, 我国的经济水平得到迅速发展, 这直接带动了人民生活水平的提高, 使得人均肉、蛋、奶的消费量迅速增加。畜牧产品消费量的提升直接促进了我国养殖业的发展, 同时也促使我国畜牧业由传统的散养模式向集约化、规模化转变。但是, 随着集约化、规模化养殖成为养殖业的主导模式, 抗生素及化学药等超量应用于养殖业的防病治病时, 也带来严重的食品安全危机、生态危机甚至社会危机。

我国是当今世界上最大的抗生素生产国及消费国。所生产的抗生素总量中约 52% 用于饲料添加。化药及抗生素的长期、过量、滥用不仅造成养殖动物体内微生态环境失衡、免疫力严重削弱、超级细菌的蔓延与传播、有害化学物质残留等问题, 继而会引发食品安全危机及社会心理恐慌; 与此同时, 化药及抗生素大量应用还导致养殖环境的生态修复难、微生物及有益菌群严重失衡或缺失、化学残留严重超标、土壤及水体严重污染, 进而引发日益严重的生态危机。抗生素、化学合成药物及激素类药物作为饲料添加剂所带来的细菌耐药性和药

基金项目: 青岛市海洋生物医药科技创新中心建设专项(2017-CXZX01-5-3)

作者简介: 赵丽红(1990—), 女, 山东临沂人, 博士研究生, 从事动物营养与饲料科学专业。手机: 18866201670

E-mail: zhaolihong1990@163.com

*通信作者: 何增国, 博士生导师, 青岛海洋生物医药研究院 首席科学家 E-mail: bioantai8888@vip.163.com

物残留、三致（致畸、致残、致癌）作用及对生态环境的潜在危害等弊病日趋明显，已引起全社会的严重关注，同时“抗生素鱼”、“抗生素虾”、“抗生素鸡”等令消费者闻之色变，造成恐慌。在这种形势下，业界纷纷将注意力转向了天然、绿色的新型饲料添加剂。农业部先后颁发了一系列法规文件规范抗生素的使用（168 号、220 号、242 号等），2018 年 4 月，更是颁发了《兽用抗菌药使用减量化行动试点工作方案（2018—2021 年）》，确定了各地 2018 年兽用抗菌药使用减量化行动试点养殖场数量。因此，寻找非抗生素类、环境友好型的抗生素替代品，如植物提取物、酶制剂、微生态制剂及益生元等，已成为饲料及养殖行业正在探寻的重要课题，也是国家食品安全、生态文明、可持续发展大政之必然需求。

从食品安全的角度来看，新型饲料添加剂可大致归类为减少或消除已经定植的食源性病原体或防止入侵病原体定植的两种类型。益生元被认为是预防性添加剂，它不仅能促进有益菌群增殖、抑制致病群生长、促进肠道对营养物质的吸收，还作为病原微生物在肠道定植的屏障，在动物养殖过程中已得到业内的认可。本综述介绍了益生元的功能及其作用机制，并对其在动物养殖中的应用进行了简要概述。

1.益生元

1.1 益生元定义

早在 1921 年，Rettger 和 Cheplin 发现食用碳水化合物后，人体肠道中的乳酸菌丰度会提高^[1]。G.R.Gibson 于 1995 年首次提出益生元(Prebiotics)的概念，是指能选择性刺激一种或几种细菌在宿主肠道内生长或活化，增进宿主健康而又不被宿主胃肠道消化的物质^[2]。随着进一步的研究及实践应用，这一概念有了发展(表 1)，目前普遍使用 2016 年国际益生菌和益生元科学协会（ISAPP）专家组在最新科学和临床证据基础上给予的最新版定义：一种可以被微生物选择性利用，以赋予宿主健康益处的底物^[3]。

表 1 益生元定义的演变

年份	定义
1995	未消化的食物成分，通过刺激单一类型或限量微生物的生长和/或活性，改善宿主的健康状况 ^[2]
2004	一种选择性发酵成分，允许胃肠道中微生物的组成和/或活性发生特定变化，对宿主的健康和福祉有益 ^[4]
2007	一种不可食用的食物成分，对宿主的健康有益，与微生物群的调节有关 ^[5]
2010	一种选择性发酵的成分，导致胃肠道微生物群的组成和/或活性发生特定变化，从而给宿主健康带来益处 ^[6]
2015	一种不可消化的化合物，通过肠道中微生物的代谢，调节肠道微生物群的组成和/或活性，从而对宿主产生有益的生理作用 ^[7]
2016	一种被宿主微生物选择性利用的底物，对健康有益 ^[3]

1.2 益生元分类与标准

益生元是一类物质的总称，为了确定和证明一种物质是潜在的益生元，人们必须指出它的来源、纯度、化学成分和结构。益生元必须涵盖所有国家所要求的安全法规，如通常公认

的安全状态（GRAS）、适当剂量和副作用评价、无污染和杂质、不改变肠道微生物群从而对宿主产生负面影响，因此益生元要符合一定的选择标准(图 1)^[8]。需要强调的是，益生元这个术语仅在有益的健康效应与微生物在特定部位的调制有关时才使用^[5]。益生元主要包括一些非(或难)消化性低聚糖、多糖、植物及中草药提取物、多元醇、肽、蛋白质和脂质^[9]，豆类、水果和谷物也是益生元的天然来源。然而，现阶段益生元多是用工业化学和酶法合成的^[10]。一些常用的益生元是：低聚果糖（FOS）、反式低聚半乳糖(TOS)、低聚葡萄糖、低聚葡萄糖、乳果糖、乳糖醇、麦芽低聚糖、低聚木糖、水苏糖和棉子糖等^[11- 15]，当它们到达大肠时，可以成为肠道有益细菌的营养底物^[16]。对动物机体健康有利影响的特性而言，益生元可分为以下几类:未消化(或仅部分消化)、未被小肠吸收、极少被口腔细菌发酵利用、被类似肠道有益细菌发酵利用以及基本不能被肠道潜在病原菌发酵利用^[17]。家畜饲料中最常用的益生元是: FOS、GOS、菊粉、异麦芽低聚糖(IMO)、低聚木糖(XOS)、乳糖醇、乳果糖、谷物纤维。在设计益生元配方组成时，确定合适的剂量至关重要。一方面，过量的益生元可能会导致肠胃胀气和腹泻。另一方面，良好优异的配方可以长期使用，并且没有类似抗生素的副作用。

表 2 市场上可供牲畜食用的益生菌配方的实例

制剂的商品名(生产商)	益生元物质	目标动物
Bacto CS1000	多糖、低聚糖	家禽、鱼
BionatStart	β-葡聚糖、麦芽低聚糖	犊牛
DOLSORB DN (Dolfos)	β-葡聚糖、麦芽低聚糖	家禽
MetSac MOS (VITTRA)	β-葡聚糖、麦芽低聚糖	犊牛、猪、家禽
Mycocyd forte (Herbiline)	β-葡聚糖	家禽
Mycostop (Extra-vit)	β-葡聚糖、麦芽低聚糖	家禽、猪
PROFEED® (Beghin Meiji)	短链低聚果糖	马、猪、家禽、犊牛、鱼虾
Cosucra/Sensus/ORAFIT (2008,98.8%)	菊粉	仔猪、家禽、鱼
北京威德集团青海生物技术有限公司/甘肃定西市陇海乳品有限责任公司/内蒙古亿利集团鄂尔多斯公司/山东天绿原生物工程有限公司/广东新海信公司	菊粉	仔猪、家禽、鱼
山东巨荣生物工程有限公司/青岛弘海生物技术有限公司	甲壳低聚糖	仔猪

除上述常见的益生元外，随着海洋生物资源的深入开发，目前已开发出多种海洋益生元^[18]。与陆源相比，海洋源益生元来源广、产量大，并且由于海洋的特殊生长环境，使得海洋源益生元会具有一些特殊的生化性质与生理功能，并且还具有丰富的营养成分。目前甲壳低聚糖、琼胶寡糖、褐藻胶低聚糖、螺旋藻和小球藻等是研究较多的海洋源益生元，因此海洋源性益生元有可能成为未来益生元开发应用的重点。除此之外，随着管理方便和饲料使用

量的增加，纯度低、相对粗糙的非消化性低聚糖例如小麦麸皮、米糠也成为潜在谷物益生元的来源。

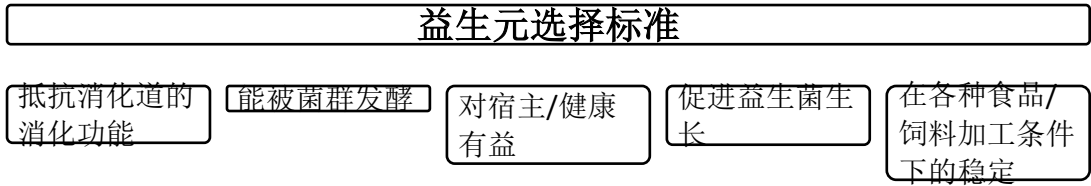


图 1 益生元选择标准

首先，假设益生元物质能抵抗消化道上部的消化（第一个标准）。然后，益生元到达大肠，在那里它们被潜在有益的肠道微生物选择性发酵(第二个标准)。发酵可能导致代谢过程发生变化，从而对免疫系统产生影响，有益于宿主的健康（第三个标准）。非常重要是益生元还会选择性刺激益生菌的生长(第四个标准)。益生元的生产技术要求，与它们作为添加剂成功的应用到食品和饲料中也很重要(最后一个标准)。

2. 益生元的益生机制

益生元主要通过促进肠道内有益菌的生长繁殖，同病原菌结合抑制其生长，削弱病原菌对肠壁的黏附力，从而抑制其在肠壁上的定植与生长，达到优化菌群平衡的目的。益生元还可以调节肠道菌群的代谢活动，影响肠道对于营养物质和微量元素的吸收。除此之外，益生元能够通过影响肠道菌群平衡、代谢活动间接的影响机体的生理健康和精神状态。

2.1 益生元对肠道微生物菌群结构的影响

肠道内微生物数量约是机体细胞数量的 10 倍之多，对机体的健康起着不可或缺的作用。正常情况下，动物肠道的微生物菌群构成具有高度稳定性，但可以被益生元调节。如水苏糖、低聚麦芽糖和低聚半乳糖均能显著的促进双歧杆菌和乳酸菌的生长，也可以竞争性地和外源性细菌病原菌细胞表面或绒毛上类丁质结构（外凝集素）结合，而减少病原菌与肠粘膜上皮细胞结合的机会，使其得不到所需的营养，抑制其生长繁殖。体外实验表明，添加 1 %水苏糖、1 %低聚果糖、1 %低聚异麦芽糖和 1 %低聚木糖与 1%葡萄糖相比，双歧杆菌、乳杆菌、肠杆菌、肠球菌均增多，但乳杆菌和双歧杆菌增加显著 ($P < 0.01$)^[19]。体内试验表明，在基础饲料中添加 0.05%、0.1%、0.2%、0.3% 和 0.4% 的甘露寡聚糖，饲喂鲤鱼 45 天，分析其肠道菌群时发现添加 0.3%甘露寡聚糖组饵料系数达到最小，肠道中的有害菌也显著减少，而有益菌有所上升^[20]。在鲑鱼中添加适量的甘露寡糖，饲喂 5 周后遭遇疾病袭击，发现幼鱼死亡率比对照组降低 28%。表明，在饲料中添加一定量的益生元，可以提高肠道有益菌群数量，从而抑制如大肠杆菌和梭菌等这些致病菌的生长，达到“以菌抑菌”的作用。

2.2 益生元对肠道菌群代谢活动的影响

益生元除了可以影响肠道微生物菌群的整体构成外，还会影响肠道菌群的代谢活动。低聚果糖、低聚木糖和低聚乳糖等各种不消化或难消化低聚糖，食后直达大肠，能在结肠中被大肠菌群发酵作为能源而利用，主要产物是乳酸和短链脂肪酸（乙酸、丙酸和丁酸）

(short-chain fatty acids, SCFA)^[21-22]。双歧杆菌, 乳酸菌等有益菌能发酵这类碳水化合物产生的有机酸, 其中 95%为醋酸、丙酸、丁酸和乳酸(有机酸浓度可达 100~200mmol/L)而被人体吸收利用, 人体总能量的 10%是由这类短链脂肪酸所提供的。以低聚果糖为例, 饲料添加低聚果糖后, 与对照组相比小鼠粪便中丁酸从无到有, 乳酸、乙酸、丙酸含量分别提高约 7.3 倍、2.8 倍、32 倍^[23]。

发酵产生的 SCFA 还可以影响肠道内致病菌与益生菌的竞争趋势。细菌发酵产生的 SCFA 能降低肠道内的 pH, 进而抑制致病菌生长, 减少毒性物质如铵、胺和酚类化合物的形成, 并能抑制某些腐败菌酶的活性^[24]。当然, 由于益生元发酵时也会产生 H₂ 和 CO₂, 动物也偶会出现轻微的胃肠胀气现象^[25]。另外, 有研究表明益生元可降低微生物中参与有毒物质生成相关酶的活性, 从而减少有毒代谢产物的产生^[26]。

2.3 益生元对肠道微量元素吸收的影响

肠道除了是吸收营养物质的主要场所外, 矿物质等微量元素也主要在此处被吸收, 益生元可有助于矿物质、维生素及抗氧化物的吸收和代谢, 并能起到维持肠道内部正常结构的作用^[27-28]。有人用同位素标记的钙和铁, 就低聚果糖、低聚半乳糖、棉子糖、异麦芽糖等对钙吸收的影响作了比较, 试验结果表明低聚果糖可显著促进钙、镁、磷的吸收和骨化作用, 低聚半乳糖次之, 而异麦芽糖则没有这种功效^[23]。而用含 10 %低聚果糖的饲料喂养小鼠, 试验表明低聚果糖可促进钙、铁、镁、锌的吸收, 并可阻止因缺乏雌性激素而引起的骨质丢失。

益生元促进微量元素吸收的原因主要有以下四点: ①通过产生大量短链有机酸, 从而增加矿物质的溶解度, 使其可以更好的被肠道上皮细胞吸收; ②产生的有机酸还可以与无机盐离子形成偶联物, 从而增加其在肠道中表面积, 与上皮细胞接触面积变大; ③促进肠黏膜细胞中钙离子结合蛋白的表达; ④有利于降解植酸盐的复杂结构, 从而释放相关微量元素, 使其被肠道吸收^[29-30]。

2.4 益生元对动物免疫系统的影响

肠道粘膜对机体免疫有重要作用, 人体肠道有着很大的表面面积, 约 400m²(相当于一个网球场), 肠道也是人体最大的免疫器官, 它拥有人体免疫细胞(淋巴细胞)的 60%~70%, 免疫球蛋白 IgA 总量占人体的 60 %。益生元可通过影响肠道微生态及调节多种免疫参数(NK 细胞、淋巴细胞、多种细胞因子等)间接激活免疫系统。研究发现, 寡糖可增强小鼠的细胞免疫功能及巨噬细胞的吞噬功能^[31], 肉鸡巨噬细胞产生的亚硝酸盐水平提高, 这表明寡糖和葡聚糖作为饲料添加剂可以提高动物抵抗病毒的能力^[32]。1 周龄家禽口服 0.4g/kg 和 0.8g/kg 益生元 15 天, 而后饲喂对照组日粮 20 天, 通过体外培养进行嗜中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的功能测定进而对非特异性免疫进行评估。中性粒细胞产生的超氧化物阴离子逐渐升高至处理后 10 天, 然后到处理后 20 天降低, 与对照组相比, 呈显著地增加 ($P < 0.5$)。处理组体外培养中由单核细胞产生的亚硝酸显著提高, 体外非特异性淋巴细胞的增殖

和 IL-2 的产生是先上升后减少^[33]。此外，作为益生元的寡糖类物质被动物摄食后，可刺激肝脏分泌一种特殊的蛋白质，这些蛋白质能与寡糖结合成寡糖蛋白，从而对动物的免疫系统起到正面作用。

2.5 益生元对动物健康的影响

益生元通过影响肠道的微生物菌群的比例和代谢活动，可以间接的对宿主健康起到一定的正面影响。患有肠炎的动物喂食一定剂量的菊粉和寡果糖的混合物，发现显著降低了盲肠和结肠的组织炎症水平、以及盲肠组织中白介素 IL-1 β 和转化生长因子- β (TGF- β)的含量^[34]。此外，服用一定剂量的寡果糖还可以减少肠道肿瘤数量，并且抑制肿瘤的生长和转移^[35]。益生元还对动物肥胖、高血糖、高血脂、肠道紊乱等疾病有一定的治疗和保健作用。虽然，现阶段实验数据还非常有限，但是科学家已经把焦虑、抑郁、自闭、精神分裂、神经退行性疾病等跟肠道微生物联系在一起了^[36]。所以，益生元不仅仅是影响动物的生理，还会间接的影响动物的精神状态，从而对整体身心健康状况产生影响。

3.益生元在动物养殖业中的应用

自上世纪 50 年代开始，抗生素被用作常规的畜禽类饲料添加剂来抑制动物肠道内微生物繁殖，从而达到促进生长的功效。上世纪 70 年代开始人们发现饲料中添加的抗生素会使微生物病原菌的耐药性增加，导致抗药性病原菌在人畜之间的传播。另外，在动物养殖中以添加剂的形式添加的抗生素还会导致动物产品中抗生素高度残留。自 2006 年起，抗生素生长促进剂 (Antimicrobial Growth Promoters, AMGP) 在欧洲已被禁止使用，为了在动物生产中尽量减少或尽量不用 AMGP，科学家在寻找抗生素的有效替代品方面进行了大量研究，益生元经研究应用发现为抗生素的良好替代品。

3.1 益生元在畜禽养殖中的应用

断奶仔猪腹泻是导致仔猪生产性能下降甚至死亡的主要原因，如何避免或减少断奶后仔猪腹泻是我国集约化规模化养猪中亟待解决的问题。在规模集成的养殖企业中，为了提高母猪平均年产仔数，减少母猪向仔猪垂直传染疾病的机率，通常在仔猪出生 21-28 天后，对仔猪进行断奶处理。此时仔猪的喂养从母乳变为固体饲料，生长环境由母猪喂养变为群体竞食，但该阶段仔猪的消化系统和免疫系统尚未发育成熟，肠道内微生态环境尚不稳定，经常导致仔猪难以适应，出现断奶后腹泻等疾病。因此，断奶时期是仔猪最容易发生应激的生长阶段，通常会造成氧化应激、屏障功能障碍和肠道微生物菌群紊乱等不良反应^[37]。现阶段作为于猪饲料添加剂的益生元主要是寡果糖、菊粉等，已被证实可以减少腹泻发病率，刺激免疫系统，减少致病菌数量，提高饲料效率，平均增加效益 6%^[38]。在 28 日龄断奶仔猪的日粮中添加 0.4%的果寡糖 (FOS)，喂养 28 天后，和对照组相比 FOS 组仔猪的平均日增重提高了 0.063kg ($P<0.05$)，饲料转化率显著提高 ($P<0.05$)，同时仔猪血清 IgG、IgA 以及猪瘟抗体水平显著提高 ($P<0.05$)^[39]。在产前 30 天给母猪饲喂 0.4%的 FOS 至仔猪 28 日龄断奶，发现母猪断奶到再次妊娠的时间缩短，并且断奶仔猪的日增重和饲料转化率得到了显著提高

($P<0.05$)^[40]。除此之外,在犊牛日粮中分别添加 2、4、6g/d FOS,饲喂 30 天后测定犊牛平均日增重,结果发现 FOS 组犊牛平均日增重分别提高了 35.4%、34.77%、40.7%($P<0.01$),表明 FOS 能够有效的提高早期断奶犊牛的生长性能,缓解早期断奶应激^[41]。

益生元除了作为哺乳动物饲料添加剂外,也是禽类养殖户经常使用的饲料添加剂。经研究发现,葡聚糖作为饲料添加剂可以提高肉鸡和蛋鸡抗感染能力,增强机体免疫力,从而促进消化道的发育和营养物质的吸收,提高生产性能。在 1 周龄肉鸡的日粮饲料中按 20mg/kg 添加葡聚糖 15 天,发现特异性免疫明显的高于未添加组^[42]。FOS 对家禽的生产性能也有很好的改善作用,在肉鸡日粮中添加 1.5g/kg 的 FOS 可以显著提高肉鸡的日增重($P<0.05$),并且降低了肉鸡肠道 pH 值、吲哚以及粪臭素水平^[43]。添加 0.11% 的甘露寡糖至 8 周龄家禽能获得最大体增重,1 周龄肉鸡日粮中添加低聚甘露糖 (MOS) 能显著提高小肠不同部位的绒毛高度^[44]。蛋鸡的饲料中添加 0.4% 麦麸或麦麸分离物,盲肠中的沙门氏菌的定植减少;肉鸡喂食磨碎的全麦谷物时,沙门氏菌和产气荚膜菌的数量也会降低^[45]。如果把麦麸改成米糠也会有相同的效果,而且宿主的促炎细胞因子降低,乳酸菌增加。但是不同品种水稻的米糠效果有很大差异,主要是米糠中化学成分不同,导致肠道微生物代谢物不同,从而对宿主产生不同影响^[46]。

3.2 益生元在水产养殖中的应用

随着水产养殖业规模不断扩大,高密度和单一养殖等现状导致养殖生态环境失调,各种病害频发,造成巨大的经济损失。人们对水产养殖可持续发展需求的不断提高,益生元作为饲料添加剂也在水产养殖中的广泛应用。研究表明,果寡糖在基础饲料中的添加浓度为 1 g/kg 时可以显著提高银鲫、草鱼的非特异性免疫能力,表现为溶菌酶活力、白细胞吞噬活性、SOD 酶活性和补体 C3 的含量显著高于对照组,但果寡糖只有在合适的用量范围内,才能产生正面效果^[47]。虹鳟饲料中添加壳寡糖后发现肠道内的优势菌群发生了明显的变化,可利用壳寡糖作为唯一碳源的菌群增加了,但多样性有所降低。壳寡糖还能提高虹鳟幼鱼抗嗜水气单胞菌感染的能力^[48-49],添加质量分数 0.50% 壳寡糖时,幼鱼的增重率比对照提高了近 30%^[50]。除此以外,甘露寡糖、木寡糖也可显著提高鱼虾生长性能,改善肠道功能,提高营养物质消化率和机体非特异性免疫功能^[51-52]。添加低聚木糖对对虾质量增长率和特定生长率均无显著影响,虽然能够一定程度地增加消化道中的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的活性,但效果不明显^[53-54]。益生元的种类、添加量及动物品种不同,在机体产生的效果都会有区别,菊粉以 150g/kg 添加在饲料中喂食北极红点鲑反而会使其肠道细胞受损^[55],以 75g/kg 添加量喂食大西洋鲑时,肠道细胞发育性增强,肠道相对质量增加^[56],而以 10g/kg 低聚果糖喂食大西洋鲑,对摄食量、体增重和消化率无显著影响^[57]。

4. 益生元与益生菌的联合应用

益生菌是活菌饲料添加剂,通过改善肠道微生物平衡对宿主动物产生有益的影响,主要在小肠中发挥作用。益生元是难消化的发酵日粮底物,可选择性刺激胃肠道微生物菌群的组

成、生长和活性，通常在大肠中有效。合生元（Synbiotic）是益生菌和益生元两者的组合式营养添加剂，可以产生协同效果。因此，当两种添加剂一起使用时，其机理通常遵循以下三种模式之一：增强作用、协同作用和累加作用。合生元通过刺激一种或几种有益菌的代谢和生长，改善宿主胃肠道中活菌的存活和定植，从而对宿主产生影响。此外，合生元还可改变耗料、营养成分吸收以及肠道结构，而在胃肠道中发挥有益作用。与单一使用益生菌和益生元相比，使用合生元可更好地改善动物的生长性能、饲料转化率、血液及生化参数^[58]。合生元也可提高维生素、矿物质和蛋白质等多种营养素的消化率和利用率。有研究发现，补充合生元可以通过改善早期断奶仔猪的摄食环境来提高养殖效率^[59]。合生元在鱼类和虾的养殖中可以显著改善生长参数（长度，比生长率，体重增加百分比和体重），但是一般不会影响鱼类的存活率^[60-61]。常用合生元包括乳酸菌+菊粉、双歧杆菌+低聚半乳糖、乳酸杆菌+低聚果糖等。

4.总结与展望

随着国家、社会对食品安全的关注，饲用抗生素的取缔已经成为养殖业亟待解决的重大课题。在众多抗生素替代方案中，益生元属于一类绿色、安全、环保型饲料添加剂，且来源广泛，在饲料中添加后可以取得促进肠道有益菌群生长、抑制有害菌群的繁殖、提升养殖动物抵御疾病的综合效果。

国内外已有的研究表明，益生元的确有促进益生菌生长、抑制病原菌繁殖及促进宿主免疫功能等益生功效。但行业内对益生元益生作用的普适性及针对性研究尚待深入探究。一些新的技术如微生物组测序技术、代谢组学和转录组学，将为深入了解益生元标准化应用、益生元对益生菌种类及数量的定量响应、肠道微生物特殊功效以及合生元影响肠道微生物群体的原理提供有力的支撑^[62]。

目前关于益生元的开发多数是基于功能食品及人用保健品而展开的，已经在市场上取得越来越多的认可，但由于使用成本高、产品质量及有效性的缺陷以及整体认知度低等原因，益生元在动物养殖产业上的应用还处于推广应用的初级阶段。相信随着新技术的应用，益生元生产的工艺会越来越成熟，成本会越来越低，质量及有效性会得到显著改善。随着益生元与益生菌联合使用（合生元）技术的推广以及养殖业技术体系的发展和成熟，益生元添加剂产业的发展前景一定会愈来愈光明。

参考文献

- [1] Rettger LF, Cheplin HAA. Treatise on the Transformation of the Intestinal Flora: with Special Reference to the Implantation of *Bacillus acidophilus*. New Haven: Yale University Press; 1921. p. 13.
- [2] Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics[J]. The Journal of nutrition, 1995, 125(6): 1401-1412.
- [3] Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document: The International Scientific

Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic[J]. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology, 2014, 11(8): 506.

[4] Gibson GR, Probert HM, Van Loo J, et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics[J]. Nutrition research reviews, 2004, 17(2): 259-275.

[5] FAO. Technical Meeting on Prebiotics: Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) .2007:15-16.

[6] Gibson GR, Scott KP, Rastall RA, et al. Dietary prebiotics: current status and new definition[J]. Food Sci Technol Bull Funct Foods, 2010, 7(1): 1-19.

[7] Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, et al. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12:303-310.

[8] Wang Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology[J]. Food Research International, 2009, 42(1): 8-12.

[9] 吴少辉, 魏远安, 吴嘉仪, 郑惠玲, 霍金洪.益生元精准化研究进展[J].食品科学, 2018,39(09):333-340.

[10] Śliżewska K, Nowak A, Barczyńska R, et al. Prebiotyki - definicja, właściwości i zastosowanie w przemyśle. ŻYWNOSĆ Nauka Technolog Jakość. 2013;1(86):5-20.

[11] Monsan PF, Paul F. 11 Oligosaccharide feed additives[J]. Biotechnology in animal feeds and animal feeding, 2008: 233.

[12] Orban JI, Patterson JA, Sutton AL, et al. Effect of sucrose thermal oligosaccharide caramel, dietary vitamin-mineral level, and brooding temperature on growth and intestinal bacterial populations of broiler chickens[J]. Poultry Science, 1997, 76(3): 482-490.

[13] Patterson JA, Orban JI, Sutton AL, et al. Selective enrichment of bifidobacteria in the intestinal tract of broilers by thermally produced kestoses and effect on broiler performance[J]. Poultry science, 1997, 76(3): 497-500.

[14] Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut[J]. The American journal of clinical nutrition, 1999, 69(5): 1052s-1057s.

[15] Patterson JA, Burkholder KM. Application of prebiotics and probiotics in poultry production[J]. Poultry science, 2003, 82(4): 627-631.

[16] Grajek W, Olejnik A, Sip A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods[J]. ACTA BIOCHIMICA POLONICA-ENGLISH EDITION-, 2005, 52(3): 665.

[17] Lee YK, Salminen S. Handbook of probiotics and prebiotics[M]. John Wiley & Sons, 2009.

[18] 林丽云, 孙恢礼, 翁世兵, 吴园涛.海洋生物新材料中益生元的开发与应用[J].现代食品

科技, 2005(04):115-117.

[19] 周景欣, 袁杰利, 李新仓.几种益生元制剂对肠道菌群作用效果的研究[J].中国微生态学杂志, 2008(02):145-146+153

[20] 张红梅, 甄二英, 姜会民.化学益生素甘露寡聚糖在动物营养中的应用研究进展[J].饲料广角, 2003(09):15-18.

[21] Cummings JH, Macfarlane GT, Englyst HN. Prebiotic digestion and fermentation[J]. The American journal of clinical nutrition, 2001, 73(2): 415s-420s.

[22] Roy CC, Kien CL, Bouthillier L, et al. Short-chain fatty acids: ready for prime time?[J]. Nutrition in clinical practice, 2006, 21(4): 351-366.

[23] 胡学智.益生元—双歧杆菌生长促进因子[J].工业微生物,2005(02):50-60.

[24] De Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics[M]//Food biotechnology. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008: 1-66.

[25] Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel B L. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer [J]. The American journal of clinical nutrition, 2001, 73(2): 451s-455s.

[26] Burns AJ, Rowland IR. Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics[J]. Current issues in intestinal microbiology, 2000, 1(1): 13-24.

[27] Scholz-Ahrens KE, Schaafsma G, van den Heuvel EGH M, et al. Effects of prebiotics on mineral metabolism [J]. The American journal of clinical nutrition, 2001, 73(2): 459s-464s.

[28] Scholz-Ahrens KE, Ade P, Marten B, et al. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure[J]. The Journal of nutrition, 2007, 137(3): 838s-846s.

[29] Coudray C, Demigne C, Rayssiguier Y. Effects of dietary fibers on magnesium absorption in animals and humans[J]. The Journal of nutrition, 2003, 133(1): 1-4.

[30] Van Loo J AE. Prebiotics promote good health: the basis, the potential, and the emerging evidence[J]. Journal of clinical gastroenterology, 2004, 38: s70-s75.

[31] 刘福君, 赵修南, 聂伟, 汤建芳, 茹祥斌, 顾国明.地黄低聚糖增强小鼠免疫功能的作用[J].中国药理学通报, 1998(01):98.

[32] Paul I, Isore DP, Joardar SN,et al. Orally administered β -glucan of edible mushroom (*Pleurotus florida*) origin upregulates immune response in broiler[J]. Indian Journal of Animal Sciences, 2012,82(7):745-748.

[33] 高世阳, 王艺如, 王彦波.益生元在养殖业中的应用研究[J].饲料研究, 2011(05):21-23.

[34] Hoentjen, F, et al., Reduction of colitis by prebiotics in HLA-B27 transgenic rats is associated with microflora changes and immunomodulation. Inflamm Bowel Dis, 2005. 11(11): p. 977-85.

[35] 张扬, 陈羽, 何兴祥.益生菌与益生元在结直肠癌预防中的作用[J].国际消化病杂志,

2013,33(03):152-154.

[36] Smith PA. The tantalizing links between gut microbes and the brain[J]. Nature News, 2015, 526(7573): 312.

[37] 益生元和益生菌促进猪生长和健康[J].猪业科学, 2018,35(05):27.

[38] Ma X, Fan P, Li LS, et al. Butyrate promotes the recovering of intestinal wound healing through its positive effect on the tight junctions[J]. Journal of animal science, 2012, 90(suppl_4): 266-268.

[39] 吴伟, 王一凡, 李晓翠, 胡士峰, 传周. 低聚果糖、芽孢杆菌制剂对断奶仔猪生长性能及免疫功能的影响[J].中国畜牧兽医, 2012,39(06):109-112.

[40] 王剑峰, 杨宗照, 张雷, 蔡红阳, 姚瑶. 低聚果糖对大长种猪生产性能及免疫抗体的影响试验[J].浙江畜牧兽医, 2013,38(02):3-6.

[41] 邵秀林, 龙翔, 向钊, 左福元.低聚果糖对早期断奶犊牛生长性能和血液理化指标及肠黏膜形态的影响[J].中国畜牧杂志, 2009,45(11):34-38.

[42] Paul I, Isore DP, Joardar SN,et al. Orally administered β -glucan of edible mushroom (*Pleurotus florida*) origin upregulates immune response in broiler[J]. Indian Journal of Animal Sciences, 2012,82(7):745-748.

[43] Yang GQ, 林厦菁.饲料中添加低聚糖对肉鸡生长性能、粪便中产生异味的主要化合物浓度和肉鸡盲肠微生物区系的影响[J].广东饲料, 2016,25(10):49.

[44] Maiorka A, Santin AME, Borges SA, et al. Evaluation of a mix of fumaric, lactic, citric and ascorbic acids on starter diets of broiler[J]. Archives Veterinary Sciences, 2004,9(1):3137.

[45] Bjerrum L, Pedersen K, Engberg RM. The influence of whole wheat feeding on Salmonella infection and gut flora composition in broilers[J]. Avian diseases, 2005, 49(1): 9-15.

[46] Ghazi I, Zarei I, Mapesa J, et al. Rice bran extracts inhibit invasion and intracellular replication of Salmonella typhimurium in mouse and porcine intestinal epithelial cells[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2016, 10: 2167-0412.

[47] Wang Y, Wu ZX, Pang SF, et al. Effect of fructooligosaccharides on non-specific immune function in *Carassius auratus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(4): 488-492.

[48] Holben WE, Williams P, Saarinen M, et al. Phylogenetic analysis of intestinal microflora indicates a novel Mycoplasma phylotype in farmed and wild salmon[J]. Microbial Ecology, 2002, 44(2): 175-185.

[49] 蔡雪峰, 罗琳, 战文斌, 曹海宁, 高鹏.壳寡糖对虹鳟幼鱼肠道菌群影响的研究[J].中国海洋大学学报(自然科学版), 2006(04):606-610.

[50] 孙立威, 文华, 蒋明, 吴凡, 刘伟, 田娟, 仲维玮, 张明明.壳寡糖对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、非特异性免疫及血液学指标的影响[J].广东海洋大学学报, 2011,31(03):43-49.

- [51] 刘爱君, 冷向军, 李小勤, 汪立平, 万虎.甘露寡糖对奥尼罗非鱼生长、肠道结构和非特异性免疫的影响[J].浙江大学学报(农业与生命科学版), 2009,35(03):329-336.
- [52] 庞丽姣, 吴志新, 熊娟, 张朋, 余剑敏, 曲艺, 何超军, 杨丽, 陈孝煊.低聚木糖对草鱼非特异性免疫功能的影响[J].动物营养学报, 2010,22(06):1687-1693.
- [53] 黄燕华, 王国霞, 刘襄河, 周晔, 黄文庆.低聚木糖对凡纳滨对虾生长及消化道主要消化酶活性的影响[J].华南农业大学学报, 2010,31(03):61-64.
- [54] 杨小林, 邱春保.酵母细胞壁、木寡糖及黄霉素对草鱼生长性能的影响[J].饲料研究, 2010(05):69-70.
- [55] Olsen RE, Myklebust R, Kryvi H, et al. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.)[J]. Aquaculture Research, 2001, 32(11): 931-934.
- [56] Refstie S, Bakke-McKellep AM, Penn MH, et al. Capacity for digestive hydrolysis and amino acid absorption in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with soybean meal or inulin with or without addition of antibiotics[J]. Aquaculture, 2006, 261(1): 392-406.
- [57] Grisdale-Helland B, Helland SJ, Gatlin III DM. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Aquaculture, 2008, 283(1-4): 163-167.
- [58] Hamasalim HJ. Synbiotic as feed additives relating to animal health and performance[J]. Advances in Microbiology, 2016: 6(04): 288.
- [59] Lee SJ, Shin NH, Ok JU, et al. Effects of dietary synbiotics from anaerobic microflora on growth performance, noxious gas emission and fecal pathogenic bacteria population in weaning pigs[J]. Asian Australas J Anim Sci, 2009, 22(22): 1202-1208.
- [60] Dehaghani PG, Baboli MJ, Moghadam AT, et al. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings[J]. Czech Journal of Animal Science, 2015,60(5): 224-232.
- [61] Rodriguez-Estrada U, Satoh S, Haga Y, et al. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture Science, 2009, 57(4): 609-617.
- [62] Kwon YM, Ricke SC, Mandal RK. Transposon sequencing: methods and expanding applications. Appl Microbiol Biotechnol. 2016,100:31-43.

饲用乳酸菌的开发利用研究进展

王薇薇¹ 周航¹ 王丽¹ 刘宽博¹ 廖波^{1,2} 王永伟¹ 宋丹¹ 李爱科^{1*}

(1.国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037; 2.湖南农业大学动物科技学院, 长沙 410128)

摘要:随着消费者对食品安全的诉求越来越强烈,我国饲料业的“禁抗”呼声越来越盛,因此,寻找“安全、绿色、环保”的饲用抗生素替代产品已成为学者和业界聚焦的研究方向。饲用乳酸菌制剂是一类可以直接饲喂动物的安全、高效的饲料添加剂,可以通过调节动物肠道微生态平衡、抑制有害菌的定植、降低消化道 pH 值等作用,达到提高动物免疫能力、促进生长和提高饲料利用率等效果。然而,乳酸菌有抗逆性差的特点,导致其在畜禽生产中应用效果不稳定。因此,如何提高饲用乳酸菌制剂的抗逆性,使其更好地发挥饲用效果,也是目前饲用乳酸菌制备工艺研究的热点。另一方面,饲用乳酸菌的安全性问题也开始引起学者和从业者的重视,避免耐药菌株和携带有致病菌株的使用,建立相应的规范与标准,也是行业亟需解决的问题。针对当前乳酸菌制剂的关注热点,本文综述了饲用乳酸菌制剂的抗逆性和安全性研究及其在动物生产中的应用的最新研究进展。

关键词:饲用抗生素; 乳酸菌制剂; 抗逆性; 应用

作为一种高效的饲料添加剂,抗生素具有提高动物生产性能、预防和治疗疾病等功效,过去普遍应用于畜牧生产中。然而,饲用抗生素的长期使用,会破坏动物体内微生态平衡、降低免疫机能。长期使用抗生素还容易产生耐药性菌株,导致抗生素用量不断加大。随之而来的是抗生素在畜禽体内的残留问题,严重危害人类的健康。欧盟、韩国、日本等许多国家禁止使用抗生素作为生长促进剂。农业农村部兽医局局长冯忠武在 2018 年中国饲料发展论坛上表示,药物饲料添加剂将在 2020 年全部退出。农业农村部《兽用抗菌药使用减量化行动试点工作方案(2018-2021 年)》建议,在 2012 年形成一批可复制、可操作性强的兽用抗菌药使用减量化模式,推动建立兽用抗菌药使用减量化管理机制。因此,寻找“安全、绿色、环保”的饲用抗生素替代产品已成为学者和业界聚焦的研究方向。其中,饲用乳酸菌制剂被认为是最有效的抗生素替代产品之一。

乳酸菌是一类能利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的革兰氏阳性细菌的通称^[1]。乳酸菌可在动物肠道内定植,形成肠道屏障,竞争性排斥肠道内源性及外源性潜在致病菌黏附、定植^[2]。同时还能分泌细菌素、有机酸和过氧化氢等活性代谢产物,抑制病原菌的生长,提高免疫力。部分乳酸菌还可以分泌特定的消化酶,提高营养物质的消化率。我国农业部公布允许使用的微生物饲料添加剂有 34 种,其中 22 种属于乳酸菌。美国(FDA)批准饲料中可以使用的微生物有 42 种,其中 30 种属于乳酸菌。可见乳酸菌在微生态制剂中的重要性。本

基金项目:国家重点研发计划课题(2017YFD0500505);北京市家禽产业创新团队(BAIC04-2018);国家重点研发计划(2018YFD0501401)

作者简介:王薇薇(1984 年—),女,内蒙古呼和浩特人,副研究员,博士,主要从事微生态制剂和饲料资源开发利用研究。Email: www@chinagrains.org

*通讯作者:李爱科,研究员,博士生导师, E-mail: lak@chinagrains.org

文综述了饲用乳酸菌的抗逆性、安全性及其在动物生产上的应用最新研究进展。

1 乳酸菌抗逆性研究

乳酸菌制剂在饲料行业中的应用仍存在许多问题,如运输、存储过程中的不良环境,饲料制粒加工过程中的高温、高湿、高压,动物胃肠道的胃酸、胆盐等。这些问题造成了饲用乳酸菌产品普遍具有稳定性差和耐受性差的特点,因此,乳酸菌抗逆性研究一直以来都是国内外研究热点。

1.1 胃液、肠液抗逆性研究

乳酸菌在进入肠道前要经历约 2 h 的低 pH 值 (2.0~3.0) 胃酸环境和十二指肠内的高浓度胆盐 (0.03%~0.30%) 环境。大部分细菌在低 pH 值或高盐作用下膜蛋白被解离,细菌的细胞膜遭到破坏而死亡。研究表明,将乳酸菌制成微胶囊或通过包埋、包衣技术,可提高乳酸菌抗胃液、肠液能力。Holkem 等^[3]利用海藻酸钠为包材制备双歧杆菌微胶囊,其在 pH 4.5 条件下能保持稳定结构,并且在 pH 7.5 下完全释放。张琳等^[4]利用乳化法制备粪肠球菌海藻酸钠微胶囊,可显著增强其对存储、胃液和肠液等体内及体外不良环境的抗性;模拟胃液处理 30 min 和 180 min 后,微囊化粪肠球菌的存活率比未包被菌粉分别提高了 51.80% 和 46.73% ($p<0.05$);模拟肠液处理 180 min 后,微囊化粪肠球菌的存活率比未包被菌粉提高了 21.16% ($p<0.05$),在 50 min 时其释放率高达 87.47%。王森等^[5]利用挤压法制备海藻酸钠-壳聚糖 (Alg-PAAs) 双层微胶囊包被植物乳杆菌,发现该制剂不仅具有良好的控释效果,且与未包埋的菌株对比,微胶囊包被植物乳杆菌在人工胃液和肠液中存活率显著提高 ($p<0.05$),同时在低温条件下具有更好的储藏效果。与传统的海藻酸钠 (Alg) 微胶囊相比,Alg-PAAs 微胶囊具有更强的机械强度和更好的溶胀效果,能有效保护乳酸菌免受胃酸损害,并加快菌在肠液中的释放。Jamilah 等^[6]通过挤压法分别制备了海藻酸钠-绿豆粉微胶囊和海藻酸钠-鹰嘴豆粉微胶囊乳酸菌,并在胶体-微生物细胞悬液中添加保护剂甘油和菊粉。结果显示与未包埋的乳酸菌相比,这两种微胶囊乳酸菌在模拟胃肠液中均具有更高的存活率。张国芳等^[7]采用乳化法,将干酪乳杆菌包埋在海藻酸钠和浓缩乳清蛋白基质中制成微胶囊制剂,在模拟人工胃液中处理 3 h,干酪乳杆菌微胶囊比未包埋干酪乳杆菌存活率更高;干酪乳杆菌微胶囊在人工肠液中处理 60 min,有效活菌数也基本保持不变。Min 等^[8]的研究表明,双层包埋技术可以提高乳酸菌在常温条件下的货架期和通过肠道时的存活率。包衣结构能在胃酸环境下保持稳定,并在肠道中缓慢释放^[9]。韩伟等^[10]利用流化床制粒包衣技术,该乳酸菌制剂在模拟肠液中的活菌存活率能达到 87% 以上。

1.2 抗高温能力

乳酸菌对高温耐受性的研究相对较少,一般认为乳酸菌最适温度为 30~40℃。董佩佩等^[11]观察了不同培养温度对 5 株乳酸菌 (2 株植物乳杆菌,干酪乳杆菌,粪肠球菌,鼠李糖乳杆菌) 活性的影响,发现 40℃ 培养时细菌活性即开始降低。然而,部分家畜饲料需要进行制粒,制粒温度高达 60~90℃,所以饲用乳酸菌制剂需要有一定的耐高温能力。葛春雨等^[12]

分别采用普通调质制粒（OT，75℃，30s）和大料高温调制低温制粒（ET，85℃调质，加入包被乳酸菌后 60℃制粒 30s）两种工艺进行包被乳酸菌制粒研究，结果表明 ET 工艺与 OT 工艺相比显著提高了饲料中包被乳酸菌的存活率（ $P<0.05$ ），存活率达高 86~96%。在实验室工艺研究条件下，制粒条件很难实现，一些研究人员会用高温水浴的方式评价乳酸菌的耐高温能力。曲磊等^[13]处理了一株植物乳杆菌菌液，发现 50℃高温 15min 有效活菌含量降低 50%，60℃和 70℃水浴 5 min，几乎无菌生长。宋献艺等^[14]用从猪粪中分离出的一株德氏乳杆菌和两株粪肠球菌进行高温耐受试验，将活化好的菌悬液分别放到 80℃水浴 30min、60min，结果显示，德氏乳杆菌 30min 时存活率小于 1.0%，两株粪肠 30min 存活率均为 15.0%左右，60min 时存活率均小于 1.0%。

1.3 保质期研究

饲料添加剂在日粮中添加量一般仅为 0.1%~1%^[15]，而为使乳酸菌能起到较好的益生作用，一般要求乳酸菌产品在在饲料中的活菌数不低于 10^6 CFU/g^[16]。但乳酸菌极易受到温度影响，常温保存时，活性明显下降。大量研究表明目前延长乳酸菌制剂保质期的方法有：真空冷冻干燥技术、微胶囊技术、真空包装、充氮气包装^[17]。通过常规保质期测定和加速实验保质期测定方法可以有效检测乳酸菌产品保质期。但市场上常见的乳酸菌添加剂仍要求冷藏或冷冻保存，几乎没有常温可存放的乳酸菌制剂。鉴于饲料厂原料储存条件的限制，如何延长乳酸菌饲料添加剂的保存期成为急需解决的热点问题。

饶甜甜等^[18]为评价嗜酸乳杆菌微胶囊的货架稳定性，将喷雾后的微胶囊分别置于常温（约 25℃）和 4℃条件下贮藏，活菌数都呈下降趋势，4℃贮藏时下降缓慢。3~45 d，活菌数从 7.76×10^7 CFU/g 下降至 1.00×10^7 CFU/g，3 个月后活菌数为 1.70×10^6 CFU/g；而常温贮藏下降一个数量级大约要 10~15 d，第 30 d 时活菌数为 1.20×10^6 CFU/g。刘继业等^[19]制备的直投式植物乳杆菌发酵剂在 4℃条件下存储 8 个月，初始活菌数 1.81×10^{11} cfu/g，单位活菌数呈下降趋势，但保持在 10^{11} cfu/g 以上，储存性能良好。黄皓等^[20]发现乳酸菌微胶囊制剂的储藏稳定性优于全蛋液冻干粉，将乳酸菌微胶囊制剂置于不同温度下（4℃和-20℃）储藏 1 年后活菌存活率分别为 19.3% 和 92.6%。在 4℃条件下乳酸菌微胶囊制剂活菌数的下降很可能会影响其功能性，说明-20℃条件下储藏更利于乳酸菌微胶囊制剂长期保持稳定。

宗绪岩等^[21]对其实验室制备的乳酸菌复合发酵剂进行恒温加速实验，通过数学方法对乳酸菌复合发酵剂的贮藏保质期进行预测。结果显示乳酸菌复合发酵剂 25℃贮藏 1 年，其活菌数量将超过 10%。在 40℃恒温条件下对获得的生物反应动力学模型进行了验证，偏差小于 5%。周中凯等^[16]将直接冻干的菌粉常温贮藏 1 个月，活菌数剩余 4.35×10^7 CFU/g，而合生元（淀粉-乳酸菌）中剩余的活菌数仍然能达到 7.32×10^8 CFU/g。合生元体系中由于有青香蕉淀粉的保护作用，活菌数的下降速率比直接冻干的菌粉更为缓慢，提高了乳酸菌产品的稳定性。王岩等^[22]通过正交试验的方法将 6 种保护剂复配，研究出 3 种配方保护剂。添加保护剂的益生菌液置 25℃条件下保藏 60 d，在保护剂作用下嗜酸乳杆菌、粪肠球菌、枯

草芽孢杆菌的保藏存活率分别为 92.47 %、90.15 %、95.34 %，均高于单因素试验中各试验组的存活率，证实了以一定比例复配的保护剂对益生菌的保护效果高于单一保护剂。杨剖舟等^[23]以海藻酸钠和乳清蛋白质量分数为 2%和 3%为壁材，在氮气体系中采用挤压法包埋长双歧杆菌 BBMN68 活菌体制备冻干微胶囊，通过恒温加速实验测定可在室温条件下贮藏 75 d。郭建林等^[24]将 *Lactobacillus casei* Zhang 菌泥用转谷氨酰胺酶包埋，菌粉在 25℃储藏 120 d 活菌数下降 1 个数量级，活菌数达 10^{10} cfu/g 以上。37℃贮藏 120 d 活菌数下降 4 个数量级，达 10^7 cfu/g 以上。

凝结芽孢杆菌被称为“乳酸菌芽孢”，产芽孢率和产乳酸率都很高，在 90℃仍有较好的耐热性。其冻干粉在常温和 4℃冷冻条件下保藏 1 个月存活率相差不大，可以在常温下进行保藏^[25]。但由于其不在饲料添加剂品种目录中，并不能得到实际应用。

目前提高乳酸菌保质期的研究还处于探索阶段，市场缺乏能常温保存的乳酸菌制剂，如何提高乳酸菌制剂的耐受温度成为其开发利用的关键。一方面，从种质资源入手，寻找耐高温新的乳酸菌来源，并通过筛选驯化出耐高温的优势菌；另一方面，通过对培养基和培养条件的优化及各种保护工艺的手段，提高乳酸菌产品对温度的耐受，达到可以在常温环境下长时间储存的目的。

2 饲用乳酸菌在动物生产中的应用

2.1 母猪

乳酸菌具有提高母猪及其后代仔猪的生产性能和免疫机能，调节肠道微生态，降低腹泻率等功效。楚青惠等^[26]研究发现，对照组及 3 个试验组母猪通过饮水每天每头分别饲喂 0、200、250 和 300 mL 乳酸菌液(活菌浓度 $\geq 1 \times 10^9$ CFU/mL)，与对照组相比，250 mL 乳酸菌液可极显著提高母猪断奶体况评分($P < 0.01$)，试验组母猪断奶后正常发情率和情期受胎率均为 100.00%。试验组仔猪断奶重、平均日增重、仔猪皮毛发育状况评分较对照组均极显著提高($P < 0.01$)，其腹泻率均有降低趋势。饲喂乳酸菌液显著增加母猪初乳免疫球蛋白 G 含量($P < 0.05$)，对乳蛋白、乳脂含量以及血清抗氧化指标也有提高趋势；300 mL 乳酸菌液使母猪粪便中大肠杆菌、沙门氏菌数量显著减少($P < 0.05$)，而乳酸菌数量显著增多($P < 0.05$)。Hayakawa 等^[27]在母猪基础饲料中添加 0.2%的复合益生菌(其中粪肠球菌含量为 1×10^9 cfu/g)，能有效提高母猪的采食量，且仔猪窝重提高了 17%($p < 0.05$)，母猪发情率提高了 24%($p < 0.05$)；单独在哺乳仔猪饲料中添加 0.02%的复合益生菌，仔猪的腹泻率和生长性能均有所改善；在母猪和哺乳仔猪饲料中同时添加该复合益生菌，还能提高断奶仔猪小肠绒毛高度，抑制肌膜层变薄。Brousseau 等^[28]研究发现，在母猪及断奶仔猪饲料中添加 5×10^9 cfu/kg 的乳酸片球菌，可显著降低断奶仔猪回肠微生物多样性 ($p < 0.05$)，促进厚壁菌门形成，且回肠中细菌菌群结构与对照组有明显的差异 ($p < 0.05$)。因此，在母猪饲料中添加乳酸菌类益生菌不仅能缓解自身代谢紊乱，还可能通过改变母猪妊娠期肠道菌群与初乳的组成而影响新生仔猪的被动免疫与肠道菌群组成结构，促进仔猪肠道健康^[29]。

2.2 仔猪

仔猪早期断奶是现代化养猪生产中提高母猪生产性能的重要方法之一,仔猪不可避免地会出现腹泻、免疫功能降低等一系列问题。利用饲用乳酸菌饲喂哺乳及断奶仔猪被认为是缓解仔猪断奶应激的有效手段。

Wang 等^[30]研究表明在日粮中添加微囊化植物乳杆菌 (MLP) 和低聚果糖 (FOS), 可以提高仔猪的平均日增重和采食量; 提高血浆中 IgA 和 IgG 的浓度, 并且使结肠中的乳酸菌数量显著增加 ($P < 0.05$)。Liu 等^[31]给断奶仔猪口服生理盐水 (对照组)、干酪乳杆菌、粪肠球菌、以及干酪乳杆菌和粪肠球菌的组合, 结果表明, 乳酸菌组仔猪平均日增重显著增加。乳酸菌能提高仔猪生长性能的类似报道还有很多^{[32][33][34]}。

乳酸菌能改变仔猪肠道微生态, 抑制病原菌的定植, 提高仔猪免疫机能。Liu 等^[31]给仔猪口服干酪乳杆菌和粪肠球菌, 胃、十二指肠和结肠中的蛋白酶活性增加, 血浆中的免疫球蛋白 A 浓度显著高于其他组 ($p < 0.05$); 复合制剂显著增加了空肠绒毛长度和转化生长因子- β 在空肠中的表达水平 ($p < 0.05$), 同时降低了空肠肿瘤坏死因子- α 的表达水平 ($p < 0.05$)。有研究表明, 屎肠球菌在宿主体内定植可以与沙门氏菌竞争性的争夺位点^[35]。Andrejčáková 等^[36]研究发现, 给被致病菌感染的哺乳仔猪和断奶仔猪饲喂植物乳杆菌、发酵乳杆菌可以显著降低仔猪血清、组织中乳酸脱氢酶的溢出水平 ($p < 0.05$); 这两种乳酸菌与亚麻籽配伍使用, 可以提高仔猪的免疫机能和空肠粘膜的完整性。Yu 等^[37]研究发现, 在鼠伤寒沙门菌攻毒的断奶仔猪模型中, 通过饲喂鼠李糖乳杆菌可以加速沙门菌在早期感染阶段的清除, 并且遏制由沙门氏菌引起的过度炎症反应。

2.3 肉禽

研究表明, 乳酸菌可以提高肉禽的生长性能及机体的免疫力。Peng 等^[38]在肉鸡基础饲料中添加 2×10^9 cfu/kg 植物乳杆菌 B1 结果显示, 肉鸡平均日增重和饲料转化率显著提高 ($p < 0.01$); 盲肠食糜中大肠杆菌总数降低, 乳酸菌总数提高 ($p < 0.05$); 回肠和盲肠中短链脂肪酸含量提高 ($p < 0.05$)。Forte 等^[39]研究发现, 在肉鸡基础饲料中添加 2g/100kg 的嗜酸乳杆菌, 可显著提高 21 和 42 日龄肉鸡平均日增重和饲料转化率 ($p < 0.05$)。Chen 等^[40]研究表明, 在肉鸡基础饲料中分别添加 2×10^{11} cfu/kg 的鼠李糖乳杆菌和屎肠球菌, 均提高肉鸡平均体重、平均日增重、胴体重、粗蛋白表观消化率和饲料转化率 ($p < 0.05$)。Zhang 等^[41]研究发现, 给肉鸡饲喂添加微囊化粪肠球菌的基础日粮能提高肉鸡的日增重, 降低料肉比。陈娟等^[42]在肉鸡基础日粮中添加微囊化粪肠球菌, 9 周后添加微囊化粪肠球菌组比基础日粮组料肉比降低了 4.79% ($P < 0.05$), T-AOC 值比基础日粮组升高 45.73% ($P < 0.01$), 血清 IgG 含量增加 16.04% ($P < 0.01$), IgM 含量增加 23.86% ($P < 0.01$)。Zhang 等^[43]研究表明, 肉鸡饲料中添加格氏乳球菌 B301 可以降低肉鸡腹泻率、死亡率和料肉比, 提高肉鸡平均体重; 盲肠中大肠杆菌群数量降低, 乳酸菌和双歧杆菌总数提高; 血清中免疫球蛋白水平也有所提高。Zhang 等^[44]报道, 在日粮中添加微囊化乳酸菌可显著提高肉鸡生长性能, 免疫功能, 并且可

以改善盲肠微生物群落,调整肉鸡的健康状况。大量的研究都有效证明了乳酸菌能提高肉鸡生长性能和免疫机能的功效^{[45][46][47][48][49]}。

此外,乳酸菌还可以改变家禽肠道微生物的组成,抑制有害菌的定植,保证动物肠道的完整性。Mañes 等^[50]研究发现,约氏乳杆菌 FI9785 能显著改变肉鸡肠道微生物组成。Yang 等^[51]研究表明,饲喂火鸡雏鸡屎肠球菌和乳酸片球菌可以有效抑制肠道中鼠伤寒沙门氏菌的定植。Carter 等^[52]研究发现,在肉鸡饲料中添加唾液乳杆菌和屎肠球菌均能显著降低肉鸡肠道中致病菌的定植,且两种乳酸菌复合使用效果更佳。

还有研究表明,部分乳酸菌具有真菌毒素生物脱毒的功能。Liu 等^[53],在黄曲霉毒素 B1 攻毒肉鸡饲料中添加 3×10^{10} cfu/kg 的由嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、屎肠球菌等比例组成的复合乳酸菌,与对照组相比,复合乳酸菌组肉鸡肝脏、肾脏、血清、回肠食糜和粪便中的黄曲霉毒素 B1 残留,在 14 日龄时,分别降低了 121.5%、80.6%、43.7%、47%和 26.5%;在 35 日龄时,分别降低了 40.6%、60.2%、131.7%、37.9%和 32.9% ($p < 0.05$)。

2.4 蛋禽

乳酸菌除了可以改善蛋鸡的健康状况,还能提高蛋鸡的生产性能和蛋品质。Forte 等^[54],在蛋鸡基础饲料中添加 0.1%嗜酸乳杆菌,能提高蛋鸡肠道中乳酸菌和双歧杆菌含量,降低大肠杆菌、葡萄球菌、梭菌含量;可以显著提高蛋鸡血液抵御病原菌的能力 ($p < 0.05$)。Park 等^[55]研究发现,在蛋鸡饲料中添加 0.005%和 0.01%的屎肠球菌 DSM7134,可以显著提高蛋鸡产蛋率、蛋壳厚度和营养物质消化率,显著降低粪便中大肠杆菌菌群数 ($p < 0.05$)。

2.5 反刍动物

Kenney 等^[56],饲喂肉牛嗜酸乳杆菌和屎肠球菌(1×10^9 cfu/天),可以提高平均日增重;瘤胃发酵特性也随之改变,其中乙酸比例升高,平均 pH 高于对照组。Cull 等^[57]研究表明,肉牛饲喂嗜酸乳杆菌 (1×10^6 cfu/天),可以提高增重,降低料肉比。Zhang 等^[58]在犊牛的基础日粮中每天定量添加植物乳杆菌,结果表明植物乳杆菌可以改善犊牛的生长性能和营养物质消化率并且可以减轻断奶应激。

添加一定量的乳酸菌可以防治奶牛隐性乳房炎,降低发病率。Souza 等^[59]探索了干酪乳酸杆菌在金黄色葡萄球菌感染期间调节牛乳腺上皮细胞的先天免疫应答的能力,研究表明,干酪乳杆菌 BL23 在金黄色葡萄球菌刺激的 bMEC 上显示出抗炎特性。Genis 等^[60]给产犊前 3 周的奶牛在阴道内注射两次乳酸菌后,与未作处理的奶牛相比,阴道治疗使子宫炎患病率降低至 58%,这说明乳酸菌在一定程度下可以防治奶牛隐形乳房炎,降低发病率。

2.6 水产

近年来,水产养殖在畜牧业中占有很大的比例,乳酸菌因其特有的生物学价值也被广泛应用于水产养殖。Sun^[61]在鱼饲料中添加一定量的乳酸乳球菌 HNL12 来饲喂驼背石斑鱼,结果表明乳酸乳球菌 HNL12 可有效增强驼背石斑鱼的生长性能,免疫应答和抗病性。Sha^[62]研究表明屎肠球菌 NRW-2 可以改善虾的生长性能和免疫反应,可作为虾饲料中的有效成分,

应用于实践。Yu^[63]以罗非鱼为实验动物,证实了植物乳杆菌 CCFM639 可以显著提高罗非鱼多的饲料利用率、生长性能以及抗氧化能力;提出了植物乳杆菌 CCFM639 可能是一种新型的鱼类膳食补充剂,可以提高生长性能,防止铝污染引起的水产养殖和食品安全问题。可见,在水产养殖中,乳酸菌是不可缺少的一种有益菌群。

3 饲用乳酸菌的安全性评价研究

益生菌的食品中应用的安全性问题已获得广泛的关注。然而,动物饲料中益生菌应用的安全性问题缺一直以来被大家忽视。然而,我们并不能排除饲用益生菌进入人类食物链的可能性。尽管应用于饲料中的益生菌种属通常被认为是安全的,但是仍然需要一些预防措施,以保护动物、人和环境免受不安全菌株的威胁。理论上,饲用益生菌的安全性风险有以下几点^[63]: (1) 饲喂饲用益生菌的动物发生胃肠道或系统性传染病; (2) 饲喂饲用益生菌的动物产品被消费者进食后,消费者发生胃肠道或系统性传染病; (3) 抗生素耐药基因由益生菌转移至其他致病菌上; (4) 动物生产系统向环境释放传染性微生物或有害化合物; (5) 生产和使用益生菌的人员皮肤和/或眼睛和/或黏膜变得敏感; (6) 益生菌产品中的微生物产生毒素,从而对宿主生长代谢造成危害; (7) 对易感宿主的免疫系统造成过度刺激。

乳酸菌是益生菌中最为安全的菌种之一,原因有 (1) 乳酸菌一直被用于各种发酵食品中^[63]; (2) 人和动物的胃肠道自然地存在大量乳酸菌^[63]; (3) 与乳酸菌相关的传染病极其罕见^[63]。嗜酸乳杆菌和保加利亚乳杆菌均被 FDA 认定为安全菌种^[63]。欧盟食品安全协会 (EFSA) 的安全合格认定 (QPS) 列表中也列出了经鉴定安全的 35 个乳酸菌种^[63]。然而,在易感人群中发现有乳酸菌可穿越肠道黏膜屏障,并导致菌血症和心肌炎症^[63],但是这种情况发生率极低 (小于百万分之一)。屎肠球菌是目前动物饲料中较为常用的饲用乳酸菌之一。但是,大量研究发现,屎肠球菌的某些菌株是条件性致病菌,可在一些临床传染病病人体内被发现,且某些菌株对万古霉素或者氨苄青霉素具有一定耐药性。屎肠球菌具有两个亚种,可以通过多位点序列分型 (MLST) 技术区分,即通过核心基因的序列比对、致病基因 IS16 的有无、以及是否具有对氨苄青霉素的抗性来判定。亚种 B 多是从健康个体的粪便中分离出的,对氨苄青霉素具有一定耐受性。而另一亚种 A 多是从具有氨苄青霉素抗性的临床病人粪便中分离。EFSA 于 2012 年发布了一则屎肠球菌用于动物饲料中的安全性评价准则^[63]。该指南能够对屎肠球菌的安全菌株和可能容易引起人类感染的菌株进行区分。准则中规定,当屎肠球菌菌株对氨苄青霉素的最小抑菌浓度大于 2mg/L 或含有 3 种遗传标记基因 (IS16、esp、hyl_{Efm}) 任意其一时,均不得作为饲料添加剂使用。

4 总结和展望

饲用乳酸菌制剂可以提高动物的生产性能、机体免疫力,治疗和预防相关疾病,改善健康状况等功效,目前已广泛应用于畜牧生产。但饲用乳酸菌在使用过程中仍存在稳定性差、抗逆性差、安全性等问题,因此在产品开发上需要开发和研究全新的技术,让乳酸菌制剂发挥其最大的功效。农业农村部公布了《兽用抗菌药使用减量化行动试点工作方案 (2018-2021

年)》,明确了养殖端减抗和限抗的时间表。作为最有效的抗生素替代品之一,有关饲用乳酸菌制剂的研发和应用仍然是备受关注。同时,为了达到完全替代抗生素的效果,乳酸菌制剂与其他提抗产品的配合使用方案也将成为未来研究的重点。。

参考文献:

- [1] Gosalbes M J,Esteban C D,Galán J L,et al.Integrative food-grade expression system based on the lactose regulon of *Lactobacillus casei*.[J].Appl Environ Microbiol,2000,66(11):4822-4828.
- [2] 譙仕彦,侯成立,曾祥芳.乳酸菌对猪肠道屏障功能的调节作用及其机制[J].动物营养学报, 2014, 26(10):3052-3063.
- [3] Holkem A T,Raddatz G C,Barin J S,et al.Production of microcapsules containing *Bifidobacterium*, BB-12 by emulsification/internal gelation[J].LWT-Food Science and Technology,2016.
- [4] 张琳,贡婷婷,蔡文涛,等.乳化凝胶化法微囊化益生菌抗胁迫作用研究[J].动物营养学报,2015,27(11):3636-3642.
- [5] 王森,高东升,李焘,等.海藻酸钠-壳聚糖双层微胶囊包埋乳酸菌及其特性研究[J].饲料研究,2015(5):55-58.
- [6] Jamilah I,Priyani N,Lusia Natalia S.Viability of lactic acid bacteria coated as synbiotic during storage and gastro-intestinal simulation[C]//IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,2018.
- [7] 张国芳,王婷婷,刘丽波,等.内源乳化法制备干酪乳杆菌微胶囊[J].中国乳品工业,2017,45(3):15-20.
- [8] Min K C,Chung M J,Jin E K,et al.Comparison of Dual Coated (Duolac™) and Uncoated Lactic Acid Bacteria from Potential Probiotics[J].Biotechnology & Biotechnological Equipment,2011,25(3):2489-2493.
- [9] Kim H S,Kamara B J,Good I C,et al.Method for the preparation of stabile microencapsulated lactic acid bacteria[J].Journal of Industrial Microbiology,1988,3(4):253-257.
- [10] 韩伟,张晓琳,王大为,等.一种饲用高活性乳酸菌固态制剂及其制备方法:CN103392911A[P].2013.
- [11] 董佩佩,辛国芹,汪祥燕,等.一株植物乳杆菌贮存过程中耐热保护剂的筛选[J].广东饲料, 2018, 27(06): 25-27.

-
- [12] 葛春雨, 李军国, 段海涛, 等. 饲料加工工艺和复合微生态制剂对肉鸡生长性能和免疫功能的影响[J]. 动物营养学报: 1-12.
- [13] 曲磊, 康元环, 孙武文, 等. 一株鱼源植物乳杆菌的部分生物学特性研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018, (05): 181-184.
- [14] 宋献艺, 张凯, 周胜花. 猪源益生菌对胃肠道环境、高温的耐受性以及体外抑菌效果研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018, (13): 160-162.
- [15] 吴万庆. 微生物饲料添加剂的应用[J]. 水禽世界, 2015(1): 38-39.
- [16] 周中凯, 王俊轩, 李莹. 青香蕉淀粉对乳酸菌在冻干和贮存过程中活性的保护效果[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 144-148.
- [17] 刘丽. 一株潜在有益菌的生物学特性及菌剂的保质期研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014: 9-12.
- [18] 饶甜甜, 刘志彬, 张雯, 时祥柱, 倪莉. 高稳定性乳酸菌饲料制剂生产工艺及其应用效果的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2016, 12(12): 47-51.
- [19] 刘继业. 直投式乳酸菌发酵剂制备技术的研究及其应用[D]. 山东: 山东农业大学, 2017: 22-43.
- [20] 黄皓, 胡珊, 梁卫驱, 罗华建, 陈仕丽, 李艳芳, 徐匆. 乳酸菌微胶囊制剂的功能性与稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 2016, (4): 90-93.
- [21] 宗绪岩, 叶光斌, 白彬阳, 杨金山, 廖华桥. 李丽乳酸菌复合发酵剂贮藏保质期预测研究[J]. 宁夏师范学院学报, 2018, 39(4): 42-45.
- [22] 王岩, 侯美如, 刘宇, 尹珺伊, 秦平伟, 史同瑞. 益生菌保护剂的筛选与优化[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, (9): 208-211.
- [23] 杨凯舟, 刘云, 杨立芳, 冷小京. 长双歧杆菌 BBMN68 微胶囊的制备及其应用性评价[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 71-77.
- [24] 郭建林. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 包埋稳定性研究[D]. 内蒙古农业大学, 2014: 14-20.
- [25] 徐文斌. 乳酸菌芽孢的发酵、保藏条件研究及其合生素在肉鸡饲料中的应用[D]. 吉林: 吉林大学, 2012: 28-40.
- [26] 楚青惠, 汪官保, 曾勇庆, 等. 饲喂乳酸菌对母猪和哺乳仔猪生长性能、血清生化指标及粪便微生物数量的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(11): 3362-3370.
- [27] Hayakawa T, Masuda T, Kurosawa D, et al. Dietary administration of probiotics to sows and/or their neonates improves the reproductive performance, incidence of post-weaning diarrhea and histopathological parameters in the intestine of weaned piglets.[J]. Animal Science Journal, 2016, 87(12):1501-1510.

-
- [28] Brousseau J P, Talbot G, Beaudoin F, et al. Effects of probiotics *Pediococcus acidilactici* strain MA18/5M and *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii* strain SB-CNCM I-1079 on fecal and intestinal microbiota of nursing and weanling piglets[J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(11):5313-5326.
- [29] 计伟,谢春艳,赵艳平,肖定福.乳酸菌的生物学功能及其在母猪和仔猪生产中的应用 [J/OL]. 动物营养学报:1-7[2018-08-27].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5461.S.20180730.1505.018.html>.
- [30] Wang W, Chen J, Zhou H, et al. Effects of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* and fructooligosaccharide on growth performance, blood immune parameters, and intestinal morphology in weaned piglets[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2017, 29(1): 84-94.
- [31] Liu C, Zhu Q, Chang J, et al. Effects of *Lactobacillus casei* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function and gut microbiota of suckling piglets[J]. *Arch Anim Nutr*, 2017, 71(2): 120-133.
- [32] Lojanica M, Manojlovic M, Jeremic D, et al. The effects of probiotic *Enterococcus faecium* DSM 7134 in the weaned pigs nutrition[J]. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2010, 26(1-2): 57-64.
- [33] 张双翔, 胡兴义, 冯旭芳, et al. 乳酸菌、酵母菌和枯草芽孢杆菌组合对哺乳仔猪生长性能、免疫器官指数和血液生理生化指标的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018, (05): 171-173.
- [34] Liu H, Zhang J, Zhang S, et al. Oral administration of *Lactobacillus fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2014, 62(4):860.
- [35] Szabo I, Wieler L H, Tedin K, et al. Influence of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 infection in a porcine animal infection model[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(9): 2621-8.
- [36] Andrejč ěkov á Z, Sopkov á D, Vlčkov á R, et al. Synbiotics suppress the release of lactate dehydrogenase, promote non-specific immunity and integrity of jejunum mucosa in piglets[J]. *Animal Science Journal*, 2016, 87(9):1157-1166.
- [37] Yu J, Zhu Y H, Yang G Y, et al. Anti-inflammatory capacity of *Lactobacillus rhamnosus* GG in monophasic variant *Salmonella* infected piglets is correlated with impeding NLRP6-mediated host inflammatory responses[J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 210:91.

-
- [38] Peng Q, Zeng X F, Zhu J L, et al. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* B1 on growth performance, intestinal microbiota, and short chain fatty acid profiles in broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2016, 95(4):893.
- [39] Forte C, Manuali E, Abbate Y, et al. Dietary *Lactobacillus acidophilus* positively influences growth performance, gut morphology, and gut microbiology in rurally reared chickens[J]. *Poultry Science*, 2017, 97(3).
- [40] Chen F, Gao S S, Zhu L Q, et al. Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* CF supplementation on growth, meat quality, and microenvironment in specific pathogen-free chickens.[J]. *Poult Sci*, 2018, 97(1).
- [41] Zhang L, Li J, Yun T T, et al. Effects of pre-encapsulated and pro-encapsulated *Enterococcus faecalis* on growth performance, blood characteristics, and cecal microflora in broiler chickens[J]. *Poult Sci*, 2015, 94(11): 2821-30.
- [42] 陈娟, 侯义江, 宋丹, et al. 微囊化粪肠球菌和酵母菌对育成期河北柴鸡生长和血清指标的影响[J]. *饲料工业*, 2016, (14): 32-36.
- [43] Zhang T, Xie J, Zhang M, et al. Effect of a potential probiotics *Lactococcus garvieae* B301 on the growth performance, immune parameters and caecum microflora of broiler chickens[J]. *Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition*, 2016, 100(3):413-421.
- [44] Zhang L, Li J, Yun T T, et al. Evaluation of pilot-scale microencapsulation of probiotics and product effect on broilers[J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(10): 4796-4807.
- [45] Song D, Wang Y W, Hou Y J, et al. The effects of dietary supplementation of microencapsulated and the extract of seed on growth performance, immune functions, and serum biochemical parameters in broiler chickens[J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(8): 3271-3277.
- [46] Blajman J E, Olivero C A, Fusari M L, et al. Impact of lyophilized *Lactobacillus salivarius* DSPV 001P administration on growth performance, microbial translocation, and gastrointestinal microbiota of broilers reared under low ambient temperature.[J]. *Research in Veterinary Science*, 2017, 114:388-394.
- [47] Wang S, Peng Q, Jia H M, et al. Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with *Lactobacillus plantarum* B1.[J]. *Poultry Science*, 2017, 96(8).
- [48] Feng J, Wang L, Zhou L, et al. Using In Vitro Immunomodulatory Properties of Lactic Acid Bacteria for Selection of Probiotics against *Salmonella* Infection in Broiler Chicks[J]. *Plos One*, 2016, 11(1):e0147630.

-
- [49] Lan R X, Lee S I, Kim I H. Effects of *Enterococcus faecium* SLB 120 on growth performance, blood parameters, relative organ weight, breast muscle meat quality, excreta microbiota shedding, and noxious gas emission in broilers.[J]. Poultry Science, 2017, 95(supplement2):125.
- [50] Mañes-Lázaro R, Van Diemen P M, Pin C, et al. Administration of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 to chickens affects colonisation by *Campylobacter jejuni* and the intestinal microbiota[J]. British Poultry Science, 2017, 58(4).
- [51] Yang Y, Latorre J D, Khatri B, et al. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria candidates for intestinal epithelial permeability and *Salmonella* Typhimurium colonization in neonatal turkey poults.[J]. Poult Sci, 2018, 97(2).
- [52] Carter A, Adams M, La Ragione R M, et al. Colonisation of poultry by *Salmonella* Enteritidis S1400 is reduced by combined administration of *Lactobacillus salivarius* 59 and *Enterococcus faecium* PXN-33[J]. Veterinary Microbiology, 2017, 199:100-107.
- [53] Liu N, Ding K, Wang J Q, et al. Detoxification, metabolism, and glutathione pathway activity of aflatoxin B1 by dietary lactic acid bacteria in broiler chickens[J]. Journal of Animal Science, 2017, 95(10):4399-4406.
- [54] Forte C, Acuti G, Manuali E, et al. Effects of two different probiotics on microflora, morphology, and morphometry of gut in organic laying hens[J]. Poult Sci, 2016, 95(11):pew164.
- [55] Park J W, Jeong J S, Lee S I, et al. Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens[J]. Poultry Science, 2016, 95(12):pew241.
- [56] Kenney N M, Vanzant E S, Harmon D L, et al. Direct-fed microbials containing lactate-producing bacteria influence ruminal fermentation but not lactate utilization in steers fed a high-concentrate diet[J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(5):2336-2348.
- [57] Cull C A, Renter D G, Bello N M, et al. Performance and carcass characteristics of commercial feedlot cattle from a study of vaccine and direct-fed microbial effects on *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding.[J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(6):3144-51.

-
- [58] Zhang R, Zhou M, Tu Y, et al. Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2016, 100(1): 33-38.
- [59] Souza R F S, Rault L, Seyffert N, et al. *Lactobacillus casei* BL23 modulates the innate immune response in *Staphylococcus aureus*-stimulated bovine mammary epithelial cells[J]. *Benef Microbes*, 2018: 1-12.
- [60] Genis S, Cerri R L A, Bach A, et al. Pre-calving Intravaginal Administration of Lactic Acid Bacteria Reduces Metritis Prevalence and Regulates Blood Neutrophil Gene Expression After Calving in Dairy Cattle[J]. *Front Vet Sci*, 2018, 5: 135.
- [61] Sun Y, He M, Cao Z, et al. Effects of dietary administration of *Lactococcus lactis* HNL12 on growth, innate immune response, and disease resistance of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*)[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2018.
- [62] Sha Y, Wang L, Liu M, et al. Effects of lactic acid bacteria and the corresponding supernatant on the survival, growth performance, immune response and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2016, 452: 28-36.
- [63] Yu L, Zhai Q, Zhu J, et al. Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation enhances growth performance and alleviates aluminum toxicity in tilapia[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017, 143: 307-314.
- [64] Marteau, P. Safety aspects of probiotic products[J]. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 2001,45: 22–24.
- [65] FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food.
- [66] Doron, S. & Snyderman, D.R. Risk and Safety of Probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 2015, 60(suppl. 2): S129–S134.
- [67] Shortt, C. The probiotic century: historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 1999, 10(12): 411–417.
- [68] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the
- [69] healthy human microbiome. *Nature*, 2012, 486(7402): 207–214.
- [70] Saxelin, M., Chuang, N.-H., Chassy, B., Rautelin, H., Mäkelä P.H., Salminen, S. & Gorbach, S.L. *Lactobacilli* and bacteremia in southern Finland, 1989–1992. *Clinical and Infectious Disease*, 1996, 22(3): 564–566.
- [71] US-FDA [United States Food and Drug Administration]. *Micro-organisms & Microbial-Derived Ingredients Used in Food*. 2013.
- [72] Soleman, N., Laferl, H., Kneifel, W., Tucek, G., Budschedl, E., Weber, H. & Mayer, H.K. How safe is safe?-a case of *Lactobacillus paracasei*ssp. *paracasei* endocarditis and

discussion of the safety of lactic acid bacteria. *Scandinavian Journal of Infectious Disease*, 2003,35(10): 759–762.

[73] EFSA. Guidance on the safety assessment of *Enterococcus faecium* in animal nutrition. *EFSA Journal*, 2012, 10 (5) : 2682

Research Progress in Development and Application of Feed Lactic Acid Bacteria Additives

Wang Weiwei¹ Zhou Hang¹ Wang Li¹ Liu Kuanbo¹ Liao Bo^{1,2} Wang Yongwei¹
Song Dan¹ Li Aike^{1*}

(1.Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037, China; 2.Department of Animal
Science, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Under the consumers' demands for food safety, the call for prohibition of feed antibiotics is gaining momentum by our feed industry in China. Thereafter, our researches have been focusing on finding new safe, green, and more efficient substitutes for feed antibiotic additives. Feed lactic acid bacteria (LAB) additive is a kind of direct-fed additive that can influence the balance of gut microbiota in animals. Beside, LAB can also enhance immune function and promote growth performance in animals. Nevertheless, LAB has commonly poor stability and poor tolerance for hostile environment. Therefore, the future research will be focus on improving the resistance ability of lactic acid bacteria additive against high storage temperature or rigorous processing condition, which will be benefit for its application in feed industry. In addition, the safety assessment for LAB additives has been attracting the attention. It is urgent to settle the regulations and standards to regulate the usage of safe (non-resistant of antibiotic and virulence genes-free) strains. Recent research advances on the tolerance of LAB additives and its applications in animal production have been reviewed.

Key words: feed antibiotics additives; LAB additives; tolerance; application

*Corresponding author: Li Aike, professor, E-mail: lak@chinagrains.org
Author: Wang Weiwei, associate professor, E-mail: www@chinagrains.org

仔猪营养与抗病力关系研究进展

余冰 毛湘冰 虞洁 何军 郑萍 罗玉衡 罗钧秋 黄志清 陈代文*

(动物抗病营养教育部重点实验室, 四川农业大学动物营养研究所, 成都温江 611130)

摘要: 猪的疾病感染是目前养猪生产面临的最严峻的问题之一。提高猪的疾病抵抗能力是从事养猪生产和科学研究相关人员共同关注的焦点问题之一。营养物质不但是维持仔猪正常生长发育所必需, 而且是维持免疫系统的功能并使免疫活性得到充分表达的决定性因素。适宜的营养状态或某些营养素的特异性供给与机体抗病力密切相关。本文在参考其他文献的基础上, 主要总结了作者课题组十余年来, 在营养与猪抗病力关系及改善猪抗病力营养方案研究领域开展的部分工作, 从营养与仔猪的一般抗病力和特异性疾病抗病力两个层面阐述了营养与抗病力的关系及可能作用机制。

关键词: 仔猪; 营养; 免疫力; 抗病基因; 抗病力

猪的疾病感染是目前养猪生产面临的最严峻问题之一。据统计, 发展中国家畜牧业每年因疾病造成的经济损失超过 30%, 局部地区甚至高达 50%, 而发达国家通常为 17%^[1]。猪病频发不仅造成巨大的经济损失, 而且带来了抗生素残留等食品安全问题及抗生素大量排放等环保问题。因此, 如何提高猪的疾病抵抗能力是从事养猪生产和科学研究相关人员共同关注的焦点问题之一。通过遗传育种和生物防控手段增强猪对疾病的抵抗在养猪生产中发挥了重要作用。营养物质是猪个体生长和免疫系统发育的物质基础, 不但是维持机体正常生长发育所必需, 而且是维持免疫系统的功能并使免疫活性得到充分表达的决定性因素。营养物质是动物机体抵抗病原入侵的物质基础, 是机体发挥最大免疫力的保障。十余年来, 作者课题组在营养与猪抗病力关系及改善抗病力营养方案研究领域开展了大量工作, 结果表明猪的适宜营养状态或某些营养素的特异性供给与机体抗病力密切相关。因此, 本文在参考其他文献的基础上, 主要就作者课题组在仔猪营养与抗病力关系领域的部分研究进展进行了总结, 以供参考。

1 猪抗病力和抗病基因的概念

1.1 抗病力的概念

猪抗病力根据所指代范围的不同可分为广义和狭义的抗病力^[2]。广义的抗病力一般泛指抗性, 即动物对环境变化适应能力的水平和范围, 包括猪对疾病的抵抗性、对不良气候的耐热性、耐寒性等, 是猪在长期进化过程中形成且能稳定遗传的。狭义的抗病力, 即猪对病原(如病毒、细菌、真菌、寄生虫等)的抵抗能力或易感性。

一般认为, 猪抗病力性状属于阈值性状和数量性状的范畴, 往往受主效基因、微效多基因与环境的共同互作影响。其中, 个体免疫力是衡量猪抗病能力的重要指标, 属于数量性状。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2014BAD13B01); 四川省科技支撑计划项目(2016NZ0006)

作者简介: 余冰(1973—), 女, 四川犍为, 教授, 博士, 主要从事仔猪营养研究。E-mail: ybingtian@163.com

*通讯作者: 陈代文, 教授, 博士生导师, E-mail: daiwenc@sicau.edu.cn

但是,对于大多数的抗病力性状而言,不能简单归为阈性状或数量性状。虽然发病与不发病体现了阈性状的特征,但与单纯的阈性状不同,在进入病理状态后又表现出发病严重程度不同的数量性状特征。例如,兽医临床化验猪的白细胞总数得到的资料属于数量性状的计数资料,根据化验的目的,可按白细胞总数正常或不正常分为两组,清点各组的次数,计数资料就转化为质量性状次数资料。如果按白细胞总数过高、正常、过低分为三组,清点各组次数,就转化成了阈性状资料。可见,多数抗病力性状是同时具备阈性状和数量性状特征的复合性状。现有资料显示,猪的多数抗病力性状具有中等偏低遗传力(h^2),如猪对呼吸道疾病易感性 h^2 为 0.14,萎缩性鼻炎易感性 h^2 为 0.16,肠道疾病 h^2 为 0.59,大肠杆菌抗原的免疫应答 h^2 为 0.29~0.45。

1.2 抗病基因的概念

抗病基因 (defence gene 或者 resistance gene),指能使动物体内产生抗体,在外来环境的刺激下能抵抗病原侵袭,使动物对疾病产生抗病力的基因^[2]。按效应大小,抗病基因一般可分为 3 类:1)单一主基因,这种基因主要控制抗病性状的表达;2)微效多基因,这种基因所控制的抗病性状由多个基因共同作用;3)独立的多基因,与微效多基因不同的是其基因数量少,每个基因对表型的影响相对较大,可以相互区别。然而,大多数抗病力性状一般受到微效和独立的多基因及环境的综合影响,遗传机制相当复杂。目前已知的抗病基因主要包括 3 类基因,即受体类基因、免疫相关基因和信号传导基因。

2 仔猪营养与一般抗病力

2.1 不同品种猪抗病基因表达差异

研究发现,不同品种猪抗病力差异与其抗病基因表达差异有关。Chen 等^[3]以 7 日龄纯种梅山猪和 DLY 杂交仔猪为对象,发现猪 β -防御素 (pBD)-1、2、3 mRNA 不仅能在梅山猪和 DLY 猪的小肠黏膜、呼吸道黏膜和口腔黏膜等具有黏膜的组织中表达,而且在心、肝、脾等实体性器官中也有表达,但具有组织表达量差异性;pBD-1 在梅山猪和 DLY 猪上均以舌和口腔黏膜表达量最高,而 pBD-2 在梅山猪以舌和口腔黏膜表达量最高,在 DLY 猪则是肾和肝中表达量最高;进一步的比较分析发现,梅山猪多数组织中 pBD-1、2、3 基因的表达量均要高于 DLY 猪。与此同时,Qi 等^[4]对藏猪和 DLY 猪的比较分析也发现,藏猪的小肠黏膜、呼吸道黏膜、口腔黏膜等 13 个组织中 pBD-1、3 基因的表达量高于 DLY 猪,而肾和睾丸中 pBD-1 基因以及脾、胸腺和睾丸中 pBD-3 基因表达量显著低于 DLY 猪。这种差异表达可能与上皮组织作为机体和环境间的第一道防御线,长期与外界微生物相接触,在机体抵抗外界微生物入侵中起着重要的防御作用有关,也可能就是我国地方猪种具有较高抗病力的原因之一。与之相反,pBD-2 则表现为藏猪的呼吸道黏膜、口腔黏膜、生殖道黏膜等 14 个组织中基因表达量显著低于 DLY 猪,而小肠黏膜和卵巢中的表达高于 DLY 猪。pBD 在不同品种猪的差异表达,可能暗示在机体防御中 pBD-2 和 pBD-1、3 有不同的防御机制。

朱浩妮等^[5]研究了荣昌猪和 DLY 猪 2 个品种、4 个日龄阶段 (0、7、14 和 21d) 组织器

官 Toll 样受体 (TLRs) 基因的发育表达规律。结果表明, 荣昌仔猪肝、肠系膜淋巴结和空肠黏膜等组织中 TLR2、3、4、7、9 的 mRNA 表达量显著高于 DLY 仔猪; 并且表达量总体随日龄的增加而显著增加。刘筱等^[6]采用 PCR-SSCP 结合核苷酸测序法研究了梅山猪、二花脸猪、苏钟猪、姜曲海猪、淮猪、金华猪、大约克猪、皮特兰猪及金华与皮特兰杂交 F2 代猪(JPF2)9 个群体共 90 个样本 TLR4 基因外显子序列的单核苷酸多态性, 并对猪 TLR4 基因进行了生物信息学分析。结果检测到 4 个突变: G400A、G962A、C1027A、G960A, 其中前 3 个为有义突变, 且 C1027A 突变引起编码氨基酸性质的改变; TLR4 基因多态性检测结果表明猪 TLR4 基因的单核苷酸多态性在中外猪种中存在明显差异, 结合生物信息学分析推测该基因编码蛋白质 LRR(富含亮氨酸重复序列)功能域上的突变可能与猪种对疾病的易感性不同有关。赵叶等^[7]对藏猪和 DLY 猪的研究发现, 在所检测的 19 个组织器官中均能检测出 RIG-I、TLR3 基因的表达; 在藏猪中, RIG-I、TLR3 分别在肝脏和胰腺的表达量最高, 而 DLY 杂交猪中, RIG-I、TLR3 均在肝脏的表达量最高; 绝大部分组织 RIG-I 基因表达量均为藏猪高于 DLY 猪。当接种 PRRS 弱毒苗后, RIG-I 在脾脏、肠系膜和腹股沟淋巴结等组织的表达显著提高, TLR3 在脾脏、肝脏、肠系膜淋巴结等的表达也显著上调; 接种 PRRS 弱毒苗对 DLY 猪肺中 RIG-I 表达的影响强于藏猪^[8]。

综上所述, 地方猪的抗病力优于外种猪, 该表型可能与 β -防御素、TLRs、RIG-I 等抗病基因在地方猪组织器官中的表达量显著高于外种猪有关。

2.2 营养对抗病基因表达的影响

研究表明, 猪的适宜营养状态或某些营养素的特异性供给与机体的免疫应答、免疫功能和抗病基因表达密切相, 进而确保其一般抗病力的充分发挥或者改善其一般抗病力。

2.2.1 营养与猪 β -防御素基因表达

陈金永等^[9]以 IPEC-J2 细胞为模型, 分别研究了不同浓度维生素 A、E 和 D 对 pBD 基因表达的影响。结果发现, VA、VD、VE 均能够不同程度地诱导猪小肠上皮细胞 pBD 基因的表达, 并促进 pBD 蛋白的分泌;进一步在荣昌猪和 DLY 断奶仔猪上研究发现, 接种 PRRS 弱毒疫苗降低了试猪 ADFI、ADG 和血清 VA 水平, 提高了猪血清中 IgA、IgG、IgM 的浓度, 提高了 pBD-2 基因在脾、肠系膜淋巴结和腹股沟淋巴结等的表达; 且攻毒对 DLY 猪的影响要强于荣昌猪; VA 缺乏降低了血清视黄醇的含量与体内部分组织中 pBD-1、3 基因的表达, 攻毒可以加剧这种作用, 补充 VA 能缓解 PRRS 弱毒苗的负面作用。深入研究结果提示, NF- κ B 通路可能是 VA 影响 pBD-2 基因表达的信号转导通路之一; MEK-ERK 通路可能是 VA 影响 pBD-1、3 基因的表达的信号通路之一。齐莎日娜等^[10]选用猪肠上皮细胞系 IPEC-J2 为研究模型, 考察 Arg、Ile 和 Zn^{2+} 对 pBD-1、2、3 基因 mRNA 与蛋白质表达水平的影响。结果显示, Arg、Ile 和 Zn^{2+} 均能够不同程度诱导猪小肠上皮细胞 pBD 基因表达并促进 pBD 蛋白的分泌^[11]。以 DLY 仔猪为对象研究发现, 正常条件下添加 Arg, 会增加血清游离 Arg、鸟氨酸和瓜氨酸, 而降低赖氨酸、苏氨酸、蛋氨酸等浓度; 增加血清 NO、TNOS

和 iNOS 活性以及 IgA、IgG 和 IgM 水平;降低血清 IL-1 β 、TNF- α 、皮质醇浓度;增加 pBD-1、2、3 的表达^[12];在 S.C500 应激情况下,日粮补充 Arg 改善生产性能、有增加 Arg 分解代谢的趋势;添加 Arg,增加 S.C500 诱导的 NO 增加幅度,抑制 IL-1 β 、TNF- α 、皮质醇增加和 IL-2 的降低;Arg 与 S.C500 互作对肠系膜淋巴结中 pBD-1、口腔黏膜和空肠黏膜中 pBD-2,以及对肝、肌肉和空肠黏膜中 pBD-3 基因表达有显著影响。进一步研究表明,NF- κ B 通路可能是精氨酸调控 pBD-2 基因表达的信号转导通路之一;MEK-ERK 通路可能是精氨酸调控 pBD-1、3 基因的表达的信号通路之一。

上述两个试验结果提示,在某些营养素对猪 β -防御素基因表达的调控中,NF- κ B 通路和 MEK-ERK 通路可能起着重要作用。

2.2.2 营养与 TLRs 基因表达

朱浩妮等^[5]在荣昌仔猪和 DLY 仔猪上的研究表明,猪品种、日粮 VA 水平、PRRSV 的攻毒状态,以及它们间的互作影响 TLRs mRNA 的组织表达量;除脾脏外,VA 缺乏均导致组织 TLR2、3、7、9 的 mRNA 表达量显著或极显著增加;PRRSV 攻毒导致各组织中 TLR2、3、7、9 的 mRNA 表达量均有不同程度增加,对各组织中 TLR7 和 TLR9 的影响大于 TLR2 和 TLR3。品种 $\times$ VA、品种 $\times$ 攻毒、VA $\times$ 攻毒、品种 $\times$ VA $\times$ 攻毒对组织 TLR2、3、7、9 的 mRNA 表达量存在不同程度的互作影响。陈渝等^[13]研究了饲料添加 Arg 对免疫应激仔猪生长性能和肠道组织细胞膜外 TLRs 基因表达的影响。结果表明,与对照组相比,仔猪肌肉注射 S. C500 不同程度地降低 ADG 和 ADFI,显著增加在第 9、11 和 18 天血清 IL-6 水平,显著上调空肠和回肠组织中 TLR4 和 TLR5 mRNA 表达量;添加 Arg (0.5%和 1.0%)能够缓减疫苗注射导致的抑制效应,显著抑制仔猪血清 IL-6 水平及空肠和回肠 TLR4 和 TLR5 mRNA 表达水平的上调;显著下调 S.C500 诱导的 TLR4, TLR5, Myd88, p65 NF- κ B 和 TNF- α mRNA 的过量表达,抑制 TLR4-Myd88 信号通路的过度激活,缓减免疫应激^[14]。

2.3 营养对免疫功能的影响

断奶仔猪的研究发现,饲料添加叶酸可改善仔猪生产性能和免疫机能,0.3-3mg/kg 叶酸显著提高外周 CD3+CD8+的比例,显著降低 CD3+CD4+/CD3+CD8+和提高血清 IFN- γ 水平^[15-16]。EGCG 可提高体外培养仔猪淋巴细胞转化率,增加淋巴细胞 IL-2 和 IL-4 的分泌,减少 TNF- α 和 IFN- γ 的分泌,降低 NF- κ B、FOS 和 JUN 基因的表达量^[17]。仔猪饲料添加茶多酚对生长性能及饲料能量、粗蛋白和干物质的表观消化率无显著影响,但提高血清 CD4+及 CD4+/CD8+比值和血清 IL-2、IL-4 含量^[18]。母猪妊娠后期-哺乳期同时添加甘露寡糖(Actigen)可显著改善哺乳期仔猪的生长性能和断奶时非特异性免疫力,且哺乳期仔猪补饲料单独添加 Actigen 也能改善其生产性能及断奶时非特异性免疫力^[19-20]。断奶仔猪饲料添加苯甲酸+牛至油,显著降低仔猪血清 TNF- α 含量,添加苯甲酸+凝结芽孢杆菌+牛至油组显著降低血清 TNF- α 和 IL-1 β 含量以及空肠黏膜 IL-1 β 含量;与此同时,苯甲酸+凝结芽孢杆菌和苯甲酸+凝结芽孢杆菌+牛至油组显著降低仔猪空肠黏膜 NOD1 mRNA 表达水平^[21]。添加酵母水解物

显著改善仔猪 ADG 和 ADFI, 显著提高血清 GH、IGF1 水平以及降低 Leptin、TNF- α 和 DAO 水平, 显著升高空肠黏膜 ZO-1 的基因表达量, 降低 TNF- α 和 IL-1 β 水平及 TNF- α 、IL-1 β 、TLR4 和 CD14 基因表达量; 添加凝结芽孢杆菌显著提高 ADG 和血清 GH、IGF1、C3、LZM、TNF- α 和 IL-10 水平, 显著上调空肠黏膜 ZO-1 和 MUC2 基因表达, 降低 IL-1 β 含量和 TNF- α 基因表达量^[22]。

综上所述, 营养可通过促进免疫系统发育、调节免疫功能、修复受损组织等影响免疫应答和免疫功能, 进而改善仔猪的一般抗病力。

3 仔猪营养与特异性抗病力

疾病发生改变营养代谢, 营养也会影响疾病的发生发展过程。研究二者的定性、定量关系规律是当今医学和营养学的重要内容, 目前很多方面尚不清楚。

3.1 仔猪特异性疾病模型的建立

为了更好弄清疾病对仔猪营养代谢和营养需要的影响, 作者课题组先后构建了多种病原包括病毒(猪圆环病毒、轮状病毒)、细菌(大肠杆菌、沙门氏菌杆菌)、弱毒疫苗(猪瘟、伪狂犬病弱毒、猪繁殖和呼吸综合症)及细菌脂多糖(LPS)攻击动物模型、沙门氏菌攻击巨噬细胞模型^[23]。

轮状病毒(RV)是仔猪病原性腹泻的主要致病因子之一。仔猪对 RV 极为易感, RV 感染初生仔猪死亡率可达 100%, 是引起断奶仔猪腹泻的重要原因^[24]。病毒通过一个未知机制入侵机体, 外壳丢失后, 激活病毒体转录酶和病毒大分子合成。研究发现, 轮状病毒(RV)感染 IPEC-J2 细胞 24 h 后细胞体积缩小, 连接消失, 与周围的细胞脱离呈网状结构, 当感染 72 h 后细胞圆缩、坏死、脱落; RV 感染提高 RIG-I、IPS-1、ISG15 和 IFN- β mRNA 的表达, 对 TLR3 mRNA 的表达无显著影响^[8]; RV 攻毒显著降低仔猪生长性能和空肠绒毛高度, 提高血清中 IFN- β 、IL-6 和 IL-2 水平, 以及十二指肠、空肠和回肠 RIG-I、IPS-1、ISG15 和 IFN- β mRNA 表达^[8, 25-26]。

产肠毒素大肠杆菌(Enterotoxigenic Escherichia coli, ETEC)是导致儿童和仔猪腹泻及胃肠炎的主要原因^[27]。仔猪灌服含 3×10^{11} cfu 大肠杆菌(ETEC)培养液, ADG 降低, F/G 增加, 腹泻率、平均腹泻指数和腹泻百分率显著增加^[21, 28]; ETEC 攻毒显著提高仔猪血清和空肠黏膜 TNF- α 和 IL-1 β 含量, 降低 sIgA 含量; 提高仔猪血清和空肠黏膜 MDA 含量, 显著降低血清 T-AOC 和 T-SOD 活性, 对空肠黏膜 T-AOC 和 T-SOD 活性具有降低趋势; 显著提高仔猪血清 LPS 含量, 有降低空肠黏膜 Claudin-1 mRNA 表达的趋势, 显著提高仔猪空肠黏膜 TLR4、MYD88、P38MAPK、NF- κ Bp65 和 RIPK2 mRNA 基因表达水平^[21]。

圆环病毒(porcine circovirus, PCV)是环病毒科的一种无被膜的单链环状 RNA 病毒, 包括 1 型(PCV-1)和 2 型(PCV-2)。生产上 PCV-2 对养猪生产危害巨大, 以断奶仔猪多系统衰竭综合征为代表疾病^[29], 主要临床症状为进行性消瘦, 全身淋巴结增大, 呼吸困难, 腹泻、苍白及黄疸等。PCV-2 对猪有较强的易感性, 可经口腔、呼吸道途径感染不同年龄的

猪。感染 PCV-2 引起猪组织 IL-4、IL-10、IFN- α 、MCP-1 等细胞因子的水平发生变化，淋巴细胞不能有效地激活和增殖，巨噬细胞表面抗原 MHC-I 类分子和 MHC-II 类分子表达下降，增殖不足的影响大于细胞凋亡；而 B 细胞可能是 PCV-2 复制的重要靶细胞，PCV-2 感染将引起 B 细胞凋亡，使外周血液中 B 细胞和 T 细胞减少等对免疫系统的损伤和抑制。课题组也发现，PCV2 攻毒显著降低仔猪生产性能，降低断奶仔猪血清免疫球蛋白浓度，延迟免疫球蛋白的应答浓度峰值，显著降低断奶血清 IFN- γ 浓度，导致全部断奶仔猪淋巴器官组织发生轻到重度病理变化^[30-31]。

3.2 特异性疾病感染对养分代谢的影响

疾病的本质是代谢紊乱，而疾病的发生发展都能够改变营养代谢，同时营养也能影响疾病的发生过程。目前相关研究主要集中于 PRRS 病毒和轮状病毒对猪营养代谢的影响。

PRRS 又名蓝耳病，是猪的重要传染性疾病。该病以母猪流产和各年龄段猪呼吸困难最为典型。研究表明，经 PRRSV 感染过的猪生产性能相对于对照组的猪都会显著下降^[32-33]。在感染 PRRSV 的第一周，猪体内蛋白分泌减少高达 60%。在试验第 42 天，蛋白分泌减少 24%，之后 38 天减少 5%，从 80 天全期来看，蛋白分泌减少 10%，且感染的猪体内脂肪分泌减少 20%，受 PRRSV 感染的猪更消瘦，胴体重更轻，这与其他研究结果一致^[34-35]。由于 PRRSV 感染，减少试验第 21 天氮、干物质和总能的表观消化率以及整个肠道的消化能力^[33]，并增加了一氧化氮、硫化氢和二氧化碳等气体的排放^[36]。虽然采食量下降，但是试验第 21 天的血糖保持正常，这可能是动员了骨骼肌中的氨基酸（AA）进入糖异生途径和能量的产生^[33]。此外，这些 AA 可能也用于免疫细胞和免疫因子的蛋白合成。以上表明 PRRSV 感染后，体内能量和免疫炎症反应密切相关的代谢保持稳态。

RV 感染，细胞内可能由轮状病毒无结构蛋白 4（NSP4）造成 Ca 从内质网释放。细胞内 Ca 浓度增加触发许多细胞内过程，包括微绒毛细胞骨架中断，降低绒毛顶端表面二糖酶表达、抑制钠溶质转移系统和细胞坏死^[37]。NSP4 在细胞溶解前通过钙依赖性、非经典分泌途径释放，降低上皮细胞的吸收能力，钠溶质转运蛋白的活性和上皮细胞表面消化酶的表达导致腹泻和营养吸收不良，致使单糖酶、双糖酶、碳水化合物、脂肪、蛋白都不能吸收而进入结肠。未消化的食物具有渗透性和结肠不能吸收的水分，导致渗透腹泻^[38]。RV 也会对体内蛋白质代谢造成影响，但具体机制还不清楚。

3.3 营养对特异性疾病感染的缓解效应

3.3.1 营养与猪圆环病毒感染

Ren 等用 0.5%精氨酸、0.5%谷氨酰胺能提高感染 PCV-2 仔猪抗氧化能力和免疫功能，从而减少 PCV-2 对断奶仔猪的负面影响^[39]。饲料中加入 0.2 mg/kg 生物素、0.3mg/kg 叶酸或 0.2mg/kg 甘露寡糖，都能有效提高 PCV-2 攻击断奶仔猪的生产性能和免疫功能^[15, 31]。在感染 PCV-2 猪饲料中分阶段添加不同浓度莱克多巴胺，能有效提高猪日增重、瘦肉率、生长性能和胴体品质^[40]。

3.3.2 营养与猪繁殖与呼吸综合症

在断奶仔猪饲料中添加 17.5%和 29%豆粕,发现豆粕含量与 PRRSV 感染阻止免疫应答能力和生长性能呈线性关系,可能因豆粕中含有天然大豆异黄酮,有抗病毒作用^[41-42]。饲料中添加 1%精氨酸或 0.1%N-乙酰谷氨酸通过提高母猪机体氨基酸利用率和增强母猪免疫功能,降低母猪死胎率和弱仔率,进而提高窝产活仔数和窝重仔猪,后期饲料中添加精氨酸或 N-乙酰谷氨酸提高母猪繁殖性能,且精氨酸效果更好^[43]。在断奶仔猪饲料中添加 10mg/kg 辣椒油树脂、10mg/kg 大蒜植物和 10mg/kg 姜黄油树脂提取物,可提高感染 PRRSV 猪只的免疫能力^[44]。添加苏、色氨基酸可提高接种 PRRSV 弱毒苗诱导的特异性抗体和中和抗体水平,促进 IgG 和 $\alpha 1$ -AGP 的合成以及 IGF-I 的分泌,增强机体的免疫反应,同时上调 TLR3、7 mRNA 的表达量,提高血清 IFN- γ 水平,说明提高日粮苏氨酸和色氨酸的水平可通过免疫识别激活体液免疫和细胞免疫反应,减缓病毒或疫苗诱导的组织损伤,增强机体的免疫保护作用。

3.3.3 营养与猪伪狂犬病病毒感染

在猪伪狂犬病病毒 (PRV) 感染仔猪饲料中增加真回肠可消化苏氨酸,可减少血清 IFN- γ 浓度,增加不同组织 TLR3、TLR7 和 TLR9mRNA 相对丰度,提高免疫功能,调节 T 辅助细胞因子分泌;同时,饲料添加苏氨酸能缓解 PRV 感染导致的肠道形态学病变^[45-46]。

3.3.4 营养与猪轮状病毒感染

在 RV 感染的断奶仔猪日粮中添加 1%L-亮氨酸可能通过 mTOR 通路调节从而缓解空肠粘蛋白的减少速度,增加杯状细胞的数目来减少干扰导致的负面影响^[47]。日粮中添加鼠李糖或果胶寡糖可通过提高空肠黏膜屏障功能和调节肠道微生物,机体免疫能力,肠道抗氧化能力,维持机体正常氧化还原平衡,减轻 RV 引起的腹泻^[48-50]。饲料添加 VD,可激活 RIG-I 通路,调节自噬信号通路,抑制炎性细胞因子产生,进而缓解 RV 感染带来的负面影响^[51-54]。用 4g/L 人乳低聚糖、0.4g/L 益生元、长链低聚果糖混合物饲喂新生仔猪,可减少仔猪腹泻的持续时间,部分原因是其通过调节结肠菌群和 RV 感染的免疫应答起作用^[55],同时人乳低聚糖能抑制 RV 的增殖,减少 NSP4 mRNA 表达^[56]。

3.2.5 营养与仔猪大肠杆菌感染

日粮脂肪来源对仔猪脂肪代谢、微生物菌群结构和炎症反应具有调节作用,对 *E. coli* 攻毒具有保护作用,并表现出脂肪来源的差异性;相对于猪油组,椰子油和鱼油有增加十二指肠 FABP1、空肠 FABP1 和 FABP2 mRNA 表达,降低空肠 IL-1 β 和 IL-6、回肠和盲肠 TLR-2 及 TLR-4 mRNA 表达的趋势;相对于鱼油和猪油,椰子油降低肝脏 IL-6 和 TNF- α 、回肠和盲肠 TLR-2 及 TLR-4 mRNA 表达,增加空肠 PPAR- γ 、肝脏 PPAR- γ 和 IL-1 β mRNA 表达^[28]。饲料添加苯甲酸+凝结芽孢杆菌+牛至油可通过提高仔猪对营养物质的利用率,改善仔猪免疫功能、抗氧化能力和肠道屏障功能,进而保护仔猪免受 *E. coli* 攻毒损伤,显著改善仔猪生长性能和抑制腹泻,其机制可能与抑制空肠 TLR4 和 NOD2 信号通路过度活化、降低

促炎细胞因子的分泌有关^[21]。

4 小结

营养物质是仔猪生长发育和健康保障的物质基础。疾病感染会改变营养素在体内的代谢及其适宜需要量,营养素的合理供给也会影响疾病的发生发展过程。猪对疾病的抵抗能力可分为一般抵抗力和特异性抵抗力。已有的研究证实,适宜的营养状态或某些营养素的特异性供给,是维持免疫系统的功能并使免疫活性得到充分表达的决定性因素,同时能影响某些特异性疾病的发生、发展和转归过程。然而,有关营养与抗病力特别是特异性疾病的定性定量关系规律目前很多方面尚不清楚。深入研究动物营养与仔猪抗病力的关系对揭示动物营养代谢和生命过程具有重要理论意义,对保障动物健康、控制发病或减轻疾病的危害、减少药物的使用、发挥动物生产潜力、确保畜产品品质和安全具有重要实践意义。

主要参考文献:

- [1] 王超,赵书红,朱猛进.猪抗病育种的相关问题及研究进展[J].中国畜牧杂志,2014,50(22):67-72.
- [2] 陈代文,吴德,张克英,等,主编.猪抗病营养原理与实践[M].中国农业大学出版社,2012.
- [3] CHEN JY, QI SRN, GUO RF., et al.Different messenger RNA expression for the antimicrobial peptides β -defensins between Meishan and crossbred pigs[J]. Molecular Biology Reports,2010. 37(3):1633-1639.
- [4] QI SRN, CHEN JY, GUO RF., et al. β -defensins gene expression in tissues of the crossbred and Tibetan pigs[J]. Livestock Science,2009,123(2):161-168.
- [5] 朱浩妮.不同品种仔猪 TLRs 表达规律及 VA 对仔猪 TLRs 表达量影响的研究[D]. 硕士学位论文.雅安: 四川农业大学,2010.
- [6] 刘筱,方晓敏,任守文,等.猪 Toll 样受体 4 基因 (TLR4) 外显子 SNP 检测及生物信息学分析[J].江苏农业学报,2011,27(4):782-789.
- [7] ZHAO Y,YU B,MAO XB,et al. Molecular cloning and expression analysis of IFN- β promoter stimulator 1 in Tibetan pigs[J]. Molecular Biology Reports,2012, 39: 7011-7017.
- [8] 赵叶.不同猪种抗病毒相关模式识别受体基因表达差异及维生素 D 的抗病毒作用与机制[D].博士学位论文.四川农业大学,2013.
- [9] 陈金永.猪 β -防御素基因表达特点及维生素 A 的调节作用[D],博士学位论文.雅安.四川农业大学,2010.
- [10] 齐莎日娜.猪 β -防御素基因表达特点及精氨酸的调节作用[D], 博士学位论文.雅安: 四川农业大学,2010.
- [11] MAO XB,QI SRN,YU B,et al. Zn²⁺ and L-isoleucine induce the β -defensins expressions of porcine in IPEC-J2 cells[J]. Molecular Biology Reports. 2013, 40: 1547-1552.

- [12] MAO XB, QI SRN, YU B, et al. Dietary L-arginine supplementation enhances porcine β -defensins gene expression in some tissues of weaned pigs[J]. *Livestock Science*. 2012, 148: 103-108.
- [13] 陈渝, 陈代文, 余冰, 等. 精氨酸对免疫应激仔猪肠道组织 Toll 样受体基因表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 9: 1527-1535.
- [14] CHEN Y, CHEN DW, TIAN G, et al. Dietary arginine supplementation alleviates immune challenge induced by *Salmonella enterica* serovar *Choleraesuis* bacterin potentially through the Toll-like receptor 4-myeloid differentiation factor 88 signalling pathway in weaned piglets[J]. *British Journal of Nutrition*. 2012, 108: 1069-1076.
- [15] 高庆. 饲料添加叶酸对断奶仔猪生产性能和免疫功能的影响研究[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- [16] 高庆, 张克英, 陈代文. 饲料添加叶酸可缓解断奶仔猪的免疫应激. *饲料工业*. 2012, S1: 11-14.
- [17] 李永义. 茶多酚对氧化应激仔猪的保护作用及机制研究[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- [18] 李永义, 段绪东, 赵娇, 等. 茶多酚对氧化应激仔猪生长性能和免疫功能的影响[J]. *中国畜牧杂志*. 2011, 47(15): 53-57.
- [19] 段绪东. 饲料添加甘露寡糖对母猪繁殖性能、免疫功能及后代生长、免疫和肠道微生物的影响[D]. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [20] DUAN XD, CHEN DW, ZHENG P, et al. Effects of dietary mannan oligosaccharide supplementation on performance and immune response of sows and their offspring[J]. *Animal Feed Science & Technology*. 2016, 218: 17-25.
- [21] 蒲俊宁. 苯甲酸、凝结芽孢杆菌和牛至油对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响[D]. 硕士学位论文. 温江: 四川农业大学, 2017.
- [22] 伏润奇. 饲料添加凝结芽孢杆菌和酵母水解物对断奶仔猪生长性能及肠道健康的影响[D]. 硕士学位论文. 温江: 四川农业大学, 2018.
- [23] 陈代文, 毛湘冰, 余冰, 等. 猪抗病营养研究进展[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(10): 2992-3002.
- [24] 任文华, 崔志洪. 猪轮状病毒概述[J]. *畜牧兽医杂志*. 2005, 24(5): 21-25.
- [25] 毛湘冰, 王爱娜, 汤俊, 等. 饲料添加鼠李糖乳酸杆菌 GG 缓解轮状病毒感染对断奶仔猪血清尿素氮含量和免疫功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(10): 3118-3124.
- [26] 汤俊. 饲料添加鼠李糖乳酸杆菌对轮状病毒攻毒仔猪免疫功能和肠道健康的影响[D]. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2015.
- [27] LI XQ, ZHU YH, ZHANG HF, et al. Risks associated with high-dose *Lactobacillus rhamnosus* in an *Escherichia coli* model of piglet diarrhoea: intestinal microbiota and immune imbalances[J].

PloS one, 2012, 7(7): e40666.

[28] 刘忠臣.不同来源脂肪对仔猪的营养效应及对 E. coli 攻毒的保护作用研究[D].博士学位论文.雅安:四川农业大学,2011.

[29] HARDING JC, CLARK EG, STROKAPPE JH, et al. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): epidemiology and clinical presentation[J]. Swine Health Prod, 1998, 6: 249–254.

[30] 高庆, 张克英, 陈代文, 等. 饲料添加叶酸对 PCV-2 攻击下断奶仔猪体重和组织病变的影响[J]. 中国畜牧杂志. 2012, 48(3): 29-34.

[31] 陈宏. 生物素对断奶仔猪生产性能及免疫功能[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2008.

[32] ESCOBAR J, VAN ALSTINE W G, BAKER D H, et al. Decreased protein accretion in pigs with viral and bacterial pneumonia is associated with increased myostatin expression in muscle[J]. The Journal of nutrition, 2004, 134(11): 3047-3053.

[33] SCHWEER W P. Impact of PRRS and PED viruses on grower pig performance and intestinal function[D], Graduate theses and dissertations. Ames: Iowa State University, 2015.

[34] SCHWEER W P. PRRSv reduces feed efficiency and tissue accretion rates in grow-finisher pigs[J]. ADSA-ASAS Midwest Meeting, 2014.

[35] RAKHSHANDEH A, DEKKERS J C, KERR B J, et al. Effect of immune system stimulation and divergent selection for residual feed intake on digestive capacity of the small intestine in growing pigs[J]. Journal of animal science, 2012, 90(Supplement_4): 233-235.

[36] LI M, SEELNBINDER K, PONDER M, et al. Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on pig growth, diet utilization efficiency, and gas release from stored manure[J]. Journal of animal science, 2015, 93(9): 4424-4435.

[37] GRAHAM DY, SACKMAN JW, ESTES MK. Pathogenesis of rotavirus-induced diarrhea[J]. Digestive diseases and sciences, 1984, 29(11): 1028-1035.

[38] GRAHAM D, ESTES M. Viral infections of the intestine. Gastroenterology[J]. Medical Examination Publishing Company, New Hyde Park, NY, 1988: 566-578.

[39] REN W, LIU G, LI T, et al. Dietary supplementation with arginine and glutamine confers a positive effect in porcine circovirus-infected pig[J]. Journal of Food Agriculture and Environment, 2012, 10: 485-490.

[40] HINSON R, ALLEE G, BOLER D, et al. The effects of dietary ractopamine on the performance and carcass characteristics of late-finishing market pigs with a previous history of porcine circovirus type 2 associated disease (PCVAD)[J]. The Professional Animal Scientist, 2013, 29(2): 89-97.

- [41] PINELLI SA, PERALTA QJ, Sosa CJ, et al. Dietary conjugated linoleic acid and its effect on immune response in pigs infected with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *Research in veterinary science*, 2015, 98: 30-38.
- [42] ROCHELL S, ALEXANDER L, ROCHA G, et al. Effects of dietary soybean meal concentration on growth and immune response of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *Journal of Animal Science*. 2015, 93 (6) :2987-2997
- [43] 杨平,吴德,车炼强,等.饲料添加 L-精氨酸或 N-氨甲酰谷氨酸对感染 PRRSV 妊娠母猪繁殖性能及免疫功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(8): 1351-1360.
- [44] LIU Y, CHE T, SONG M, et al. Dietary plant extracts improve immune responses and growth efficiency of pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *Journal of animal science*, 2013, 91(12): 5668-5679.
- [45] 韩国全,余冰,陈代文,等.苏氨酸对体外培养感染伪狂犬病毒猪空肠上皮细胞免疫相关基因表达的影响[J]. *动物营养学报*. 2012, 24(3): 487-496.
- [46] 赖翔,毛湘冰,余冰,等.饲料添加苏氨酸对伪狂犬病毒诱导的免疫应激仔猪生长性能和肠道健康的影响[J]. *动物营养学报*. 2012, 24(9): 1647-1655.
- [47] MAO XB, LIU MH, TANG J, et al. Dietary leucine supplementation improves the mucin production in the jejunal mucosa of the weaned pigs challenged by porcine rotavirus[J]. *Plos One*. 2015, 10(9): e0137380.
- [48] 汤俊,王爱娜,陈代文,等.饲料中添加鼠李糖乳酸杆菌 GG 缓解轮状病毒感染诱导仔猪氧化应激的研究[J]. *动物营养学报*. 2015, 27(6): 1787-1793.
- [49] MAO XB, GU CS, HU HY, et al. Dietary lactobacillus rhamnosus GG supplementation improves the mucosal barrier function in the intestine of weaned piglets challenged by porcine rotavirus[J]. *Plos One*. 2016, 11(1):e0146312.
- [50] CHEN H, HU HY, CHEN DW, et al. Dietary pectic oligosaccharide administration improves the growth performance and immunity in weaned pigs infected by rotavirus[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 2017, doi: 10.1021/acs.jafc.7b00039.
- [51] ZHAO Y, YU B, MAO XB, et al. Dietary vitamin D supplementation attenuates immune responses of pigs challenged with rotavirus potentially through the retinoic acid-inducible gene I signalling pathway[J]. *British Journal of Nutrition*. 2014, 112(3): 381-389.
- [52] ZHAO Y, YU B, MAO XB, et al. Effect of 25-hydroxyvitamin D3 on rotavirus replication and gene expressions of RIG-I signalling molecule in porcine rotavirus-infected IPEC-J2 cells[J]. *Archives of Animal Nutrition*. 2015, 69(3): 227-235.
- [53] TIAN G, LIANG XF, CHEN DW, et al. Vitamin D3 supplementation alleviates rotavirus infection in pigs and IPEC-J2 cells via regulating the autophagy signaling pathway[J]. *Journal of*

Steroid Biochemistry & Molecular Biology. 2016, 163:157-163.

[54] 廖波,张克英,丁雪梅,等.饲料添加 25-羟基维生素 D3 对轮状病毒攻毒和未攻毒断奶仔猪血清和肠内容物抗体和细胞因子水平的影响[J]. 动物营养学报. 2011, 23(1): 34-42.

[55] LI M, MONACO MH, WANG M,et al. Human milk oligosaccharides shorten rotavirus-induced diarrhea and modulate piglet mucosal immunity and colonic microbiota[J]. The ISME journal, 2014, 8(8): 1609-1620.

[56] HESTER SN,COMSTOCK SS, MONACO MH, et al. Human milk oligosaccharides inhibit acute rotavirus infection in neonatal piglets[J]. The FASEB Journal, 2012, 26(1_MeetingAbstracts): 268.6.

Advance in Research of Nutrition and Disease Resistance in Piglets

YU Bing MAO Xiangbing YU Jie HE Jun ZHENG PING LUO Yuheng LUO Junqiu
HUANG Zhiqing CHEN Daiwen*

(Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of Ministry of Education, Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an, 625014, China)

Abstract: Disease infection of pigs is one of the most serious problems in pig production. Improving the resistance of pigs to diseases is one of the focuses concern. Nutrients are the material basis for growth and immune system development of pigs, which is not only necessary for maintaining normal growth and development, but also a decisive factor in maintaining the function of the immune system. Appropriate nutritional status or specific supply of certain nutrients is closely related to the body's resistance to disease. In this paper, we mainly summarizes some work on the relationship between nutrition and swine disease resistance in the past ten years in our research group. The effects and underlying mechanism of nutrition on the general disease resistance and specific epidemic disease resistance of piglets are illustrated.

Key words: piglet; nutrition; immunity; defence gene; disease resistance.

*Corresponding author, professor, E-mail: daiwenc@sicau.edu.cn

(编辑 ×××)

仔猪肠道损伤模型的建立

王 蕾¹ 易 丹² 吴 涛² 侯永清^{1,2*}

(1.武汉轻工大学农副产品蛋白质饲料资源教育部工程研究中心, 武汉 430023; 2. 武汉轻工大学动物营养与饲料科学湖北省重点实验室, 武汉 430023)

摘 要: 肠道不仅是所有营养物质消化吸收的最终场所, 也是动物体内最大的免疫器官, 是机体防御体系的第一道屏障, 维护动物肠道健康对保障养猪生产至关重要。肠道是机体应激反应的中心器官, 各种应激因素会导致肠道结构损伤与功能紊乱, 导致仔猪健康不良与生长受阻。因此, 建立稳定、可靠的肠道损伤模型是研究仔猪肠道损伤机制及营养干预的关键。本文主要介绍了本研究团队成功建立的几种仔猪肠道损伤模型, 筛选了几种肠道功能紊乱的标志性分子, 为猪和人类的肠道功能障碍研究及营养干预提供了有用参考。

关键词: 仔猪; 肠道损伤; 模型

前言

肠道不仅是所有营养物质消化吸收的最终场所, 也是动物体内最大的免疫器官, 是机体防御体系的第一道屏障, 维护肠道健康对保障养猪生产至关重要^[1-3]。研究证明, 肠道是机体应激反应的中心器官, 各种应激因素(如心理性、生理性、营养性和病原性的应激因子)会导致肠道结构损伤与功能紊乱, 包括肠道屏障功能受损引起的局部或系统性的炎症反应、肠道分泌与吸收功能异常等引起腹泻等。此外, 一些病原性因素(如致病性大肠杆菌、轮状病毒、传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒等)也会损伤仔猪肠道的结构与功能, 病毒性腹泻近年来给养猪业造成了极大的危害^[1]。因此, 肠道功能紊乱是当前危害仔猪健康与生长的核心问题之一, 建立稳定可靠的仔猪肠道损伤模型是研究肠道损伤机制及营养干预的关键。然而, 由于实际条件下肠道损伤的病原(刺激)因子多样化、致病机制复杂、环境控制要求严格等原因, 仔猪腹泻和肠道损伤动物模型通常难以建立^[4]。本文主要介绍了本实验室已成功建立的几种仔猪肠道损伤模型, 并总结了在这些模型下肠道损伤生物标志物研究进展。

1. 单一肠毒素(STa)重组大肠杆菌感染诱导的仔猪肠道损伤模型

产肠毒素大肠杆菌(ETEC)能引起人和动物肠道功能障碍和损伤, 并导致断奶仔猪腹泻, 降低了仔猪的生长性能^[4]。ETEC 是引起腹泻的最常见细菌病原体, 仔猪在感染后常因急性剧烈腹泻而脱水死亡, 给养猪业造成重大经济损失。由于抗生素类药物的大量添加, 近年来具有多重耐药性的超级菌株屡见报道, 给此类疾病的预防控制和治疗带来巨大挑战, 也对人类的健康构成潜在的威胁^[5]。

为了克服致病性大肠杆菌的环境污染及实验猪普遍具有较强耐受性等问题, 本课题组通

基金项目: 国家重点研发计划课题(2016YFD0501210)

第一作者简介: 王蕾(1983-), 女, 湖北天门人, 实验师, E-mail:wanglei_wh@aliyun.com

*通讯作者简介: 侯永清(1965-), 男, 湖北浠水人, 教授, 博士生导师, 研究方向为营养与肠道生理机能。E-mail:hoyuq@aliyun.com

过基因重组技术构建了表达单一肠毒素（STa）重组大肠杆菌（LMG194-STa），其体外相对毒性为大肠杆菌 K88 的 94%^[5]，通过重组大肠杆菌（LMG194-STa）口服感染，成功建立了单一肠毒素重组大肠杆菌诱导下的仔猪腹泻模型^[4]。

1.1 灌服 LMG194-STa 引起仔猪腹泻

研究发现，给 7 日龄仔猪灌服 2×10^9 CFU 重组大肠杆菌（LMG194-STa）4 h 后，仔猪开始出现精神不济并伴随腹泻，腹泻率增加了 266.8% ($P < 0.05$)，大部分仔猪呈现犬坐姿态^[5]。研究表明，大肠杆菌 K88 是导致新生或断奶仔猪腹泻的重要病原菌之一，主要通过其菌体表面的菌毛黏附素特异性结合小肠上皮细胞刷状缘特定的受体，从而在宿主体内定植、分泌肠毒素导致仔猪腹泻^[6]，而 LMG194-STa 则是通过调节肠上皮细胞的氯离子通道引起的电解质失衡，诱发仔猪腹泻，两者都会导致肠道黏膜的急性损伤^[5]。

1.2 灌服 LMG194-STa 破坏了仔猪肠道结构形态

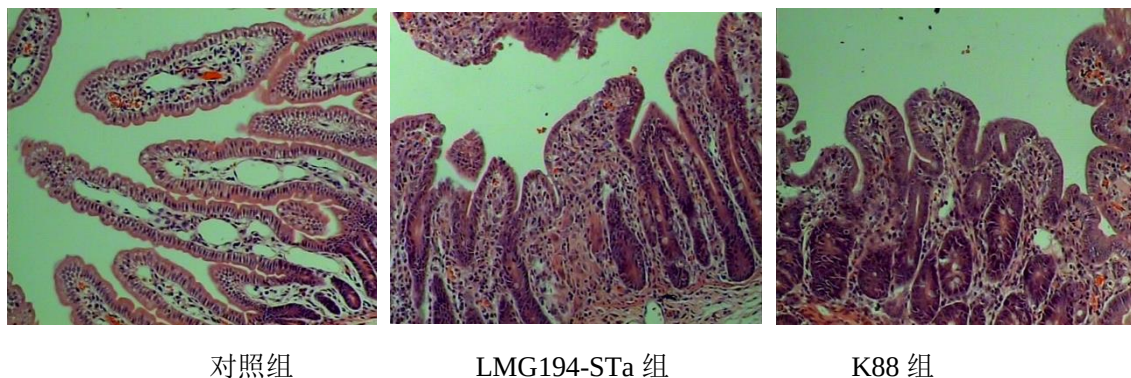


图 1 LMG194-STa 组和 K88 攻毒对仔猪小肠形态结构的影响^[5]

LMG194-STa 可引起小肠损伤的程度与 K88 的程度相同（图 1）。灌服 LMG194-STa 能降低小肠绒毛高度、小肠绒毛高度/隐窝深度的比值及绒毛表面积 ($P < 0.05$)^[4]。可见肠毒素 STa 在一定程度上引发了小肠绒毛的萎缩。这与已发表的关于大肠杆菌感染或大肠杆菌等毒素（如 LPS）对肠道形态结构的影响结果一致^[3, 7, 8]。小绒毛高度、绒毛高度/隐窝深度比值、绒毛表面积等这些指标在很大程度上决定了小肠的消化吸收能力，正常生理情况下，小肠的绒毛高度由隐窝细胞增殖率和细胞周转率共同决定，绒毛高度、绒毛宽度直接与肠绒毛表面积正相关，与小肠的吸收功能同样呈正相关^[9]。隐窝是小肠上皮在绒毛根部下陷至固有层而形成的管状腺，开口于相邻的绒毛之间。小肠隐窝深度反映了肠上皮细胞的生成情况，隐窝变浅说明肠上皮细胞成熟率上升，隐窝的深浅与肠绒毛的正常机能和完整形态密切相关^[10]。绒毛高度/隐窝深度的比值综合反映肠道的功能状态，比值降低则说明肠道形态结构可能受损^[11]，导致肠道吸收功能障碍进而引起腹泻。绒毛表面积则可以直接体现肠绒毛与营养物质的吸收面积，当绒毛受损或绒毛萎缩时，会降低绒毛表面积，进而降低肠道的吸收功能^[11]，导致机体的生长障碍以及腹泻等。

1.3 灌服 LMG194-STa 对仔猪血浆 D-木糖和 DAO 活性的影响

在本肠道损伤模型的研究中，灌服 LMG194-STa 后仔猪血液淋巴细胞数量和二胺氧化

酶(DAO)水平显著增加,血浆D-木糖含量显著降低^[4]。DAO是人类和哺乳动物小肠黏膜上层绒毛细胞中特有的具有高度活性的细胞内酶,在组胺和多种多胺代谢中起重要作用,能够直观反映肠道机械屏障的完整性和受损伤程度^[4],当肠黏膜上皮细胞受到损伤时,DAO才会被释放出来进入血液,导致血液DAO活性增高,血浆DAO活性与肠损伤程度呈正相关^[2,12]。因此,血液中DAO的活性是反映肠黏膜形态结构完整性的重要指标^[7]。血液中D-木糖的含量可以体现肠道的通透性,从而评价吸收功能的强弱。当肠道黏膜形态结构受损时,会导致D-木糖吸收能力下降,血浆D-木糖的含量也会相应降低,以上结果进一步说明了灌服LMG194-STa后仔猪肠道组织形态受损^[4]。

1.4 灌服LMG194-STa对仔猪肠道黏膜功能相关基因相对表达量的影响

灌服LMG194-STa显著下调了仔猪空肠中与肠黏膜生长及完整性有关的基因如villin、i-FABP的相对表达量^[4]。肠道绒毛蛋白(villin)是绒毛细胞分化的标志物,villin作为重要的Ca²⁺肌动蛋白,位于小肠黏膜上皮细胞的刷状缘,标志着肠道细胞的成熟程度,villin表达上调意味着更多的绒毛细胞增殖分化^[2, 13]。villin基因表达量的高低被看作是肠道绒毛正常与损伤的标志之一^[14]。灌服LMG194-STa可以显著下调仔猪空肠和回肠villin的mRNA水平^[4],说明灌服LMG194-STa对仔猪肠道造成了损伤。肠型脂肪酸结合蛋白(intestinal fattyacid-binding protein, i-FABP)是近年来研究较多的用于判定肠道损伤的指标^[14]。i-FABP主要定位于小肠的肠细胞,在小肠缺血和细胞破裂后释放到血液中。当肠绒毛顶端区域细胞受损时,肠黏膜i-FABP基因表达量下降和血液i-FABP含量提高^[15,16]。因此,i-FABP被认为是肠道细胞损伤的另一个标志物。灌服LMG194-STa后,显著下调了仔猪空肠i-FABP的mRNA水平^[4],当肠绒毛顶端区域细胞受损时,肠黏膜i-FABP基因表达量下降^[17]。基质金属蛋白酶-3(MMP3)被认为是肠细胞损伤的标志物,在临床IBD(炎症性肠病)和腹腔疾病中,MMP3在肠内高表达^[18]。LPS刺激可以提高仔猪肠道MMP3 mRNA水平^[3]。研究发现,LMG194-STa处理后仔猪空肠MMP3基因表达水平显著升高。以上这些结果表明,LMG194-STa刺激引起了仔猪肠道损伤。

当仔猪受到大肠杆菌感染时,肠道内炎性细胞因子的表达如IL-1 β 、IL-4、CCL-2(MCP-1)、CXCL9(MIG)、IFN- γ 、HSPH1和VNN1均发生改变^[4]。我们研究发现,灌服LMG194-STa显著上调了空肠IL-4、CCL-2、CXCL9和IFN- γ 的mRNA水平,但显著下调了VNN1的mRNA水平^[4]。这些结果表明,LMG194-STa应诱导了仔猪肠道炎症反应。

当仔猪受到大肠杆菌的感染时,可以改变营养代谢相关基因如PCK1、INSR和LPL的表达^[4]。研究发现,LMG194-STa刺激下调了仔猪空肠INSR和PCK1及回肠LPL的基因相对表达量,但上调了回肠PCK1的基因相对表达量。研究人员推测LMG194-STa可以影响营养物质包括氨基酸、葡萄糖和脂类在肠道的代谢^[4]。

口服重组大肠杆菌菌株(LMG194-STa)成功建立了单一肠毒素重组大肠杆菌感染诱导的仔猪肠道损伤模型。体外实验研究结果表明,重组菌株LMG194-STa与广谱菌株K88

具有相同的毒性，其毒性高于宿主菌株 LMG194。在体内实验研究结果表明，口服 LMG194-STa 可导致仔猪腹泻，对肠道黏膜造成损伤，可以利用该仔猪腹泻和肠道损伤模型，研究不同营养物质对肠毒素导致的肠道损伤的保护作用^[4]。

2. 猪流行性腹泻病毒（PEDV）感染诱导的仔猪肠道损伤模型

猪流行性腹泻病毒（PEDV）感染引起的仔猪腹泻是养猪生产中常见疾病之一，目前国内动物营养学研究中关于 PEDV 感染仔猪模型的研究鲜有报道。PEDV 属于尼多病毒目、冠状病毒科、冠状病毒属，其基因组是单股正链具有感染性的 RNA，5' 端有一个帽子结构（cap），3' 端有一个 Poly（A）。PEDV 主要的结构蛋白包括：纤突蛋白（Spike protein, S）、膜蛋白（Membrane protein, M）和核衣壳蛋白（Nucleocapsid protein, N）。灌服 PEDV 病毒后仔猪肠道可定植大量的 PEDV 病毒^[14]。PEDV 感染会引起急性、重度萎缩性肠炎，并伴有病毒血症^[19]。本课题组经过多次试验，探索出了一种猪肠道损伤的 PEDV 感染模型：给 14 日龄仔猪单次灌服 $10^{4.5}$ TCID₅₀ 的 PEDV YN 株。通过设计合成 PEDV 膜蛋白（M 蛋白）和核衣壳蛋白（N 蛋白）基因的引物，利用 qRT-PCR 方法检测到仔猪空肠黏膜 PEDV M 和 N 蛋白基因的相对表达量显著增加，抗病毒蛋白 MX1 在空肠和回肠中的基因相对表达量也显著提高，表明 PEDV 攻毒成功^[2, 14]。MX 蛋白（黏病毒抗性蛋白）是细胞抗病毒的重要先天性介质^[20]。MX1 是 I 型干扰素的重要下游效应物^[21]，MX1 基因已被证明具有抗多种 RNA 病毒的抗病功能，包括猪的甲型流感病毒^[20]。此外，MX1 在细胞凋亡和细胞因子介导的细胞信号转导中起重要作用^[21]，病毒感染可以诱导其表达^[22,23]。

2.1 PEDV 感染对仔猪腹泻率及血液生化指标的影响

在试验过程中我们观察到 PEDV 感染仔猪均出现腹泻、犬坐、食欲不振、呕吐的表观症状，本试验剂量下 PEDV 感染显著提高了仔猪腹泻率，但并未引起仔猪的死亡^[2, 14]。PEDV 感染后，仔猪平均日增重降低了 37.4%（ $P < 0.05$ ）^[14]。另外，PEDV 感染提高了仔猪血浆 TP（总蛋白）、ALB（白蛋白）、TG（甲状腺球蛋白）、BUN（尿素氮）、CL（血氯）等的含量及 ALT（谷丙转氨酶）和 GGT（ γ -谷氨酰转移酶）的活性，表明 PEDV 感染容易导致仔猪代谢改变^[2]。

2.2 PEDV 感染对仔猪氧化应激的影响

活性氧（ROS）的产生及升高被认为是包括消化性溃疡、炎症性肠病（IBD）和胃肠道癌症等胃肠道黏膜疾病发病的一个重要因素^[2, 24]。MDA 是氧化损伤的重要指标，可作为体内氧化应激的标志^[1, 2, 25]。ROS（如 H_2O_2 ）主要由线粒体作为正常代谢的副产物产生^[26]。细胞具有防御活性氧和其他氧化剂的防御机制，抗氧化酶（包括 CAT）催化 H_2O_2 还原为水^[27]。PEDV 感染显著降低了血浆和回肠 CAT（过氧化氢酶）活性，但显著提高了血浆和小肠 MDA（丙二醛）和 H_2O_2 含量^[2]，说明口服灌服 PEDV 可以引起机体与肠道氧化应激^[2]。

2.3 PEDV 感染对仔猪肠黏膜生长和形态结构的影响

肠道黏膜中总蛋白、RNA 和 DNA 含量，RNA/DNA 比值可以用来评估肠道生长和发育

[2, 28]。研究表明, PEDV 感染显著降低了空肠和回肠 RNA 含量和回肠 RNA/DNA 比值^[2], 说明 PEDV 感染影响了仔猪肠黏膜的生长。

完整的肠道屏障在防止肠腔病原微生物和饮食过敏原渗入肠道黏膜中起着重要作用^[2]。研究表明, PEDV 感染显著降低了仔猪血浆 D-木糖含量^[2, 14], 同时显著提高了血浆中 DAO 活性^[2]。此外, PEDV 感染导致小肠中的 i-FABP 表达显著降低^[2, 14]。这些结果表明, PEDV 感染可以诱导肠道黏膜损伤, 影响小肠的吸收和完整性。

我们进一步研究了 PEDV 感染对 7 日龄仔猪肠道形态结构的影响, 结果发现 PEDV 感染显著降低了仔猪小肠绒毛高度, 提高了小肠隐窝深度, 降低了小肠绒毛高度/隐窝深度比值^[2, 14], 显著降低了空肠和回肠绒毛表面积^[2]。与灌服 LMG194-STa 有类似结果, PEDV 感染仔猪下调了小肠 villin 的 mRNA 水平, 说明 PEDV 诱导了小肠细胞死亡^[2]。以上这些结果说明, PEDV 感染损害了仔猪肠道生长与形态结构。

综上所述, PEDV 感染可降低仔猪生长性能, 引起仔猪严重腹泻、肠道绒毛萎缩、吸收与屏障功能紊乱, 并不导致仔猪死亡。该模型的建立将为 PEDV 感染仔猪肠道功能的营养调控研究提供有效技术手段。

3. 脂多糖 (LPS) 刺激诱导的仔猪肠道损伤模型

生产中各种因素引起的仔猪应激, 制约着养猪生产。脂多糖 (LPS) 刺激可导致仔猪肠道结构及消化、吸收和屏障功能受损, 腹腔注射 LPS 是一种公认的经典动物免疫应激模型制备办法^[29]。另外, 我们研究发现, LPS 刺激影响仔猪肠道免疫应答、黏膜生长、能量代谢、吸收、黏膜屏障功能和抗病毒功能等基因的表达^[8]。我们成功构建了腹腔注射 100 $\mu\text{g/kg BW}$ 的 LPS (*Escherichia coli* serotype 055: B5) 诱导仔猪肠道损伤模型, 并多次利用该模型进行了功能性氨基酸^[3, 8, 26, 28, 30-32]、益生菌^[33]、天然植物精油^[34]等改善肠道功能的研究, 取得了良好效果。

4. 直肠灌注乙酸诱导的仔猪结肠炎模型

溃疡性结肠炎模型动物以鼠类为主, 鲜有仔猪的溃疡性结肠炎模型。我们在仔猪上建立了一种简便易行、重复性好、稳定的溃疡性结肠炎模型^[1, 25, 35]。乙酸诱导溃疡性结肠炎模型是一种典型的化学诱导性炎症模型, 采用乙酸化学性刺激剂可以造成肠黏膜化学性损伤, 继而产生炎症症状^[35]。我们通过直肠灌注乙酸 (10 mL, 10%v/v, 由肛门导管导入 25 cm 处) 诱导仔猪溃疡性结肠炎的模型, 仔猪结肠上皮脱落, 淋巴细胞浸润 (图 2)。利用该模型, 课题组研究了功能性氨基酸^[25]和三丁酸甘油酯^[1]对仔猪结肠功能的保护作用。

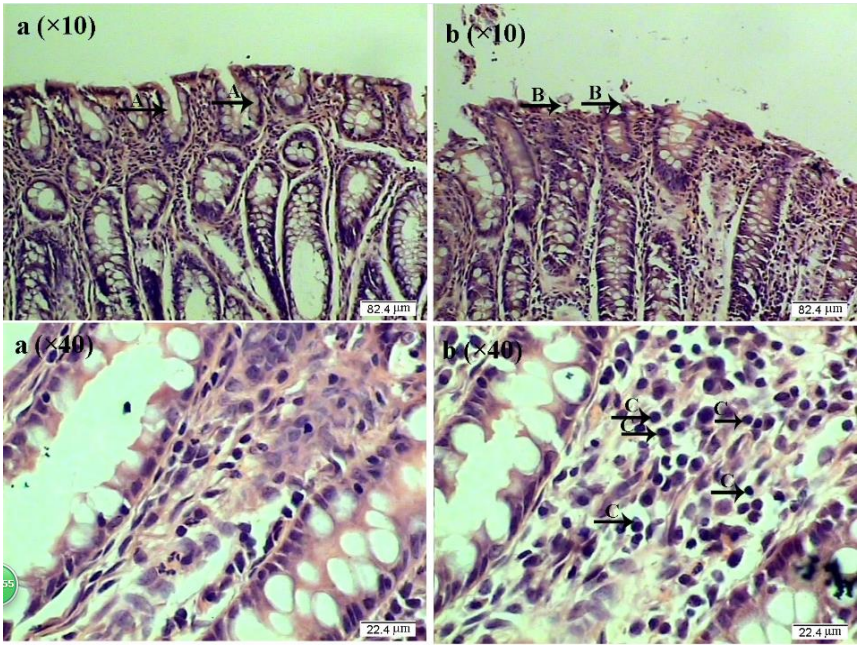
直肠灌注 10% 乙酸后, 仔猪倦怠懒动, 后背微弓, 推测有腹痛感, 采食下降, 出现稀便与脓血便, 血便中可见肠黏膜脱落, 血便第二天消失, 但仍有稀便, 第三天恢复^[35]。

在乙酸刺激诱导的仔猪溃疡性结肠炎的模型中, 结肠黏膜损伤肉眼观察评分和病理切片组织学评分均显著高于对照组^[25, 35]。表现为溃疡和炎性细胞明显浸润, 组织学溃疡表现为结肠黏膜坏死、发炎, 中性粒细胞和淋巴细胞为主要浸润细胞 (图 2)。乙酸刺激仔猪显著

下降了回肠绒毛高度与隐窝深度比值及结肠杯状细胞，显著提高了上皮内淋巴细胞和淋巴细胞密度^[1, 25]。

仔猪直肠灌注 10% 乙酸 3 天后，肠外壁严重粘连和水肿，均出现溃疡，病理切片可见结肠黏膜炎性细胞重度浸润，重度纤维化，黏膜下层大量增厚，黏膜上皮坏死溶解脱落，有大量淋巴细胞，多形核细胞，浆细胞，毛细血管充血，肠腺间质出血。灌注后 7 天可见溃疡灶脱落，仍有毛细血管充血，炎性细胞浸润，但对比灌肠后 3 天已明显减少，另有大量成纤维细胞增生^[35]。

以上这些结果表明，直肠灌注 10% 乙酸成功诱导了仔猪结肠炎。



a) 对照组；b) 乙酸刺激组：结肠损伤以正常隐窝结构变形为特征。A: 杯状细胞；B: 脱落的上皮细胞；C: 淋巴细胞。

图2 直肠灌注乙酸后结肠的形态学变化^[1]

5. 吲哚美辛（IDMT）诱导的仔猪肠道损伤模型

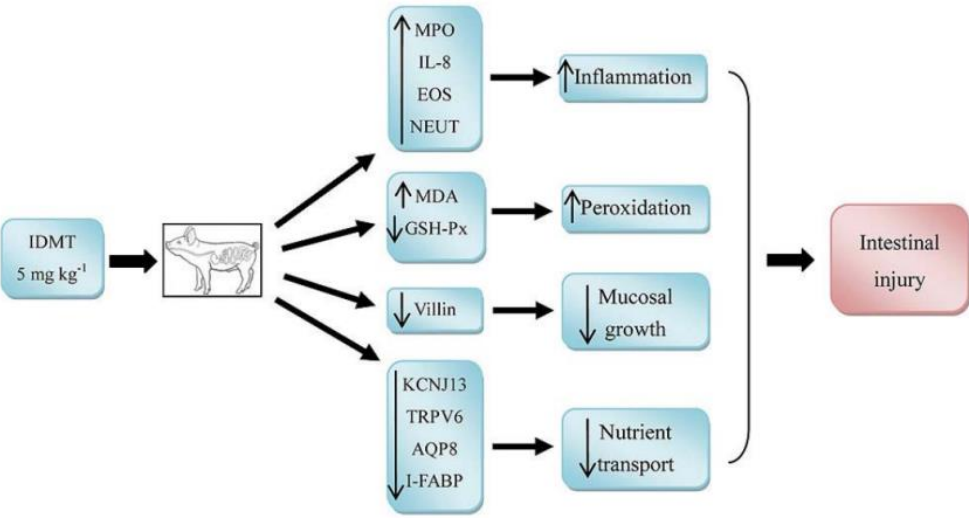
吲哚美辛（IDMT）是一种非甾体抗炎药，它通过抑制前列腺素合成而引起大鼠小肠的严重炎症和溃疡^[36]。我们通过多次摸索，采用 IDMT 作为炎性损伤诱导剂，成功建立了仔猪肠道损伤模型。

5.1 IDMT 对仔猪血液学指标的影响

在本肠道损伤模型中，IDMT 显著提高了血浆 DAO 活性、i-FABP 含量、中性粒细胞（NEUT）和嗜酸性粒细胞（EOS），但降低了血浆中淋巴数量和瓜氨酸浓度^[36]。研究表明，IDMT 容易引起细菌易位，从而导致严重急性炎症和肠屏障功能紊乱^[37]。因此，IDMT 诱导的血液免疫细胞数量的增加可能是由肠道炎症和细菌易位引起的^[36]。

血浆 DAO、血浆和小肠中的 i-FABP 是肠道损伤的生物标志物。在本肠道损伤模型中，IDMT 提高血浆 DAO 活性和 i-FABP 水平^[36]，但降低了仔猪空肠和回肠中的 i-FABP mRNA

水平^[36]，表明 IDMT 可以引起仔猪肠道损伤。这与 IDMT 降低了血液中瓜氨酸水平的结果一致，血浆瓜氨酸降低也被认为是肠道损伤的有效生物标志物^[38]。



MPO：髓过氧化物酶；IL-8：白介素 8；EOS：嗜酸性粒细胞；NEUS：中性粒细胞；MDA：丙二醛；GSH-Px：谷胱甘肽过氧化物酶；Villin：肠道绒毛蛋白；KCNJ13：内向整流钾离子通道 13；TRPV6：瞬时受体阳离子通道亚家族 V 成员 6；AQP8：水通道蛋白 8；i-FABP：肠型脂肪酸结合蛋白

图 3 IDMT 对仔猪肠道损伤作用^[36]

5.2 IDMT 对仔改变肠道形态结构

IDMT 刺激后，仔猪的空肠远端和回肠有大量出血点、肠壁变薄和溃疡^[36]。IDMT 降低仔猪小肠绒毛高度和绒毛表面积（ $P<0.05$ ），表明 IDMT 造成了肠道损伤。

IDMT 可引起严重的肠道炎症和溃疡。IDMT 降低肠内源性前列腺素的产生，导致微循环障碍、肠粘液减少、细胞间连接的破坏及黏膜通透性增加^[36, 37]。黏膜损伤可归因于胆汁酸、蛋白水解酶、肠杆菌和毒素的渗透以及炎症细胞因子的分泌、嗜中性粒细胞浸润和嗜酸性粒细胞浸润^[37]。

5.3 IDMT 诱导仔猪氧化应激

IDMT 刺激提高了仔猪血浆过氧化氢（ H_2O_2 ）水平、空肠丙二醛（MDA）浓度和髓过氧化物酶（MPO）活性，降低了空肠谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性。作为一种非甾体抗炎药，IDMT 能溶解肠细胞膜磷脂，损伤上皮细胞线粒体，导致细胞间钙外排和自由基产生，从而导致肠道过氧化和黏膜氧化应激。研究表明，口服 IDMT 引起小肠溃疡，这可能与小肠中 MPO 活性的显著增加相关^[37]。

5.4 IDMT 对肠黏膜基因表达的影响

在本肠道损伤模型中，IDMT 刺激可下调回肠 villin、i-FABP、TRPV6、AQP10 和 KCNJ13 的 mRNA 水平，但上调了仔猪空肠和回肠中 MMP3、pBD-1 和 IL-8 的 mRNA 水平^[36]。villin 是绒毛细胞分化的标志物，villin 基因相对表达量下调提示 IDMT 抑制了肠道细胞分化，促

进了肠道细胞死亡。如前所述,血浆 i-FABP 水平的升高和肠道 i-FABP 的下调也表明 IDMT 引起肠损伤。此外, MMP3 是肠道损伤的重要介质,包括免疫介导的肠损伤^[18, 39], IDMT 诱导 MMP3 mRNA 水平升高进一步证实了 IDMT 引起了肠损伤。此外,在本模型中, IDMT 刺激引起的肠道炎症,上调了空肠和回肠中 IL-8 和 pBD-1 mRNA 水平。

在 IDMT 诱导的仔猪肠道损伤的模型中还发现, IDMT 刺激可以下调肠营养转运相关蛋白质的表达,如钙转运通道蛋白质 (TRPV6)、钾离子通道蛋白质 (KCNJ13) 和水通道蛋白质 (AQP10)。TRPV6 (瞬时受体阳离子通道亚家族 V 成员 6),是近年来发现的一种高选择性的 Ca^{2+} 跨膜转运通道,主要负责 Ca^{2+} 由细胞外向细胞内的主动跨膜转运,在机体内参与多种病理生理活动的调节^[40],参与肠道跨细胞钙转运^[41]。而 AQP10 是水通道蛋白质,在肠黏膜上皮细胞中表达^[42]。同样,我们以前的研究表明,脂多糖刺激下调了仔猪空肠 AQP 3 和 AQP10 的基因相对表达量。

因此, IDMT 不仅引起肠道损伤,而且损害了肠道营养物质运输能力^[36]。

6. 肠道损伤相关标志物的研究

通过应用以上这些仔猪肠道损伤模型,我们研究了肠道损伤的标志物。血液中 DAO 活性与仔猪腹泻程度显著相关,可以用 DAO 活力检测和 D-木糖试验来评价肠道功能。仔猪肠道损伤与血浆 DAO 活性和 i-FABP 水平密切相关。当仔猪肠道受损,腹泻率增加,血浆 DAO 活性和 i-FABP 水平显著提高。给仔猪灌服 D-木糖,若肠道功能受损,则 D-木糖吸收能力降低,血液 D-木糖水平显著降低。因此,仔猪血浆 D-木糖水平能较好的反映肠黏膜的完整性与吸收功能。此外,在这几种仔猪肠道损伤实验模型下,肠黏膜 villin、i-FABP、pBD-1、KCNJ13 的基因表达量均一致性的显著降低,而 MMP3 表达量一致性的增加。因此,以血浆 DAO 活性、瓜氨酸和 iFABP 水平,肠黏膜 Villin、iFABP、MMP3、pBD-1、KCNJ13 基因为标志物、结合 D-木糖吸收实验和肠黏膜形态学观测的肠道功能检测方法体系,可为仔猪肠道疾病发生提供早期监测、预警及预防。

7. 小结

本实验室成功建立了几种仔猪肠道损伤模型,包括(1)口服单一肠毒素(STa)重组大肠杆菌诱导的仔猪肠道损伤模型;(2)口服猪流行性腹泻病毒(PEDV)诱导的仔猪肠道损伤模型;(3)腹腔注射脂多糖(LPS)诱导的仔猪肠道损伤模型;(4)直肠灌注乙酸诱导的仔猪溃疡性结肠炎模型;(5)腹腔多次注射吲哚美辛(IDMT)诱导的仔猪肠道炎性损伤模型。这几种肠道损伤模型为猪和人类的肠道功能障碍研究和营养干预提供了技术手段。同时,应用这些模型我们确定了肠道损伤的系列标志物,可为仔猪肠道疾病的早期监测、预警及预防提供重要依据。

参考文献:

- [1] HOU YQ,WANG L,YI D,et al.Dietary supplementation with tributyrin alleviates intestinal injury in piglets challenged with intrarectal administration of acetic acid[J]. British Journal of Nutrition,2014,111(10):1748-1758.
- [2] WANG L,ZHOU J,HOU YQ,et al.N-Acetylcysteine supplementation alleviates intestinal injury in piglets infected by porcine epidemic diarrhea virus[J].Amino Acids,2017,49:1931-1943.
- [3] YI D,HOU YQ,XIAO H,et al.N-Acetylcysteine improves intestinal function in lipopolysaccharides-challenged piglets through multiple signaling pathways[J].Amino Acids,2017,49:1915-1929.
- [4] WU T,LV Y,LI XN,et al.Establishment of a recombinant *Escherichia coli*-induced piglet diarrhea model[J].Frontiers in Bioscience,Landmark,2018,23:1517-1534.
- [5] 王磊. 表达单一肠毒素重组大肠杆菌的构建及仔猪腹泻模型的建立[D].武汉: 武汉轻工大学,2016
- [6] 郭彤, 许梓荣.铜离子对引起仔猪腹泻的大肠杆菌 K88 杀菌机理的研究[J].中国预防兽医学报,2004,26(2):127-130.
- [7] HOU YQ,WANG L,YI D,et al.N-acetylcysteine and intestinal health: a focus on its mechanism of action[J].Frontiers in Bioscience,Landmark,2015,20:872-891.
- [8] YI D,HOU YQ,WANG L,et al.Gene expression profiles in the intestine of lipopolysaccharide-challenged piglets[J].Frontiers in Bioscience,Landmark,2016,21:487-501.
- [9] 窦茂鑫.不同类型益生菌制剂对脂多糖刺激仔猪肠道吸收和屏障功能的影响[D].武汉轻工大学,2013.
- [10] 顾宪红, 张宏福, 余锐萍, 等.断奶日龄对仔猪肠粘膜形态的影响[J].畜牧兽医学报,2001,32(4):306-313.
- [11] 王纯刚, 张克英, 丁雪梅.丁酸钠对轮状病毒攻毒和未攻毒断奶仔猪生长性能和肠道发育的影响[J].动物营养学报,2009,21(5):711-718.
- [12] 王蕾, 刘坚, 侯永清, 等. α -酮戊二酸对 LPS 慢性应激仔猪小肠黏膜形态与功能的影响[J].畜牧兽医学报. 2010,41(1):46-52.
- [13] WANG Y,SRINIVASAN K,SIDDIQUI MR,et al.A novel role for villin in intestinal epithelial cell survival and homeostasis[J].Journal of Biological Chemistry,2008,283:9454-9464.
- [14] 李鹏, 吴梦郡, 余魁, 等.幼龄仔猪 PEDV 感染肠道损伤模型的建立[J].中国畜牧兽医,2018,45(6):1715-1721.
- [15] CHENG S,YU J,ZHOU M,et al.Serologic intestinal-fatty acid binding protein in

- necrotizing enterocolitis diagnosis: A meta-analysis. *Biomed Research International*, 2015;156704
- [16] PELSERS MM, HERMENS WT, GLATZ JF. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2005, 352(1-2):15-35.
- [17] FUNAOKO H, KANDA T, FUJII H, et al. Intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) as a new biomarker for intestinal diseases[J]. *Rinsho Byori*, 2010, 58(2):162-168.
- [18] LI CK, PENDER SL, PICKARD KM, et al. Impaired immunity to intestinal bacterial infection in stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3)-deficient mice[J]. *Journal of Immunology*, 2004, 173:5171-5179.
- [19] JUNG K, SAIF LJ. Porcine epidemic diarrhea virus infection: Etiology, epidemiology, pathogenesis and immunoprophylaxis[J]. *Veterinary Journal*, 2015, 204:134-143.
- [20] GODINO RF, FERNÁNDEZ AI. New polymorphism of the influenza virus resistance Mx1 gene in Iberian domestic pigs[J]. *Journal of Postdoctoral Research*, 2016, 4:15-19.
- [21] ALF ADHLI S, AL-MUTAIRI M, AL TAMEEMI B, et al. Influence of MX1 promoter rs2071430 G/T polymorphism on susceptibility to systemic lupus erythematosus[J]. *Clinical Rheumatology*, 2016, 35(3):623-629.
- [22] HALLER O, KOCHS G, WEBER F. Interferon, Mx, and viral countermeasures[J]. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2007, 18(5-6):425-433.
- [23] YAN Q, YANG H, YANG D, et al. Production of transgenic pigs over-expressing the antiviral gene Mx1[J]. *Cell Regeneration (London, England)*, 2014, 3(1):11.
- [24] BHATTACHARYYA A, CHATTOPADHYAY R, MITRA S, et al. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases[J]. *Physiological Reviews*, 2014, 94:329-354.
- [25] WANG Q, HOU Y, YI D, et al. Protective effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in a porcine model. *BMC Gastroenterology*, 2013, 13:133.
- [26] HOU YQ, WANG L, YI D, et al. N-acetylcysteine reduces inflammation in the small intestine by regulating redox, EGF and TLR4 signaling[J]. *Amino Acids*, 2013, 45:513-522.
- [27] WU G, FANG Y, YANG S, et al. Glutathione metabolism and its implications for health[J]. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134:489-492.
- [28] HOU YQ, WANG L, ZHANG W, et al. Protective effects of N-acetylcysteine on intestinal functions of piglets challenged with lipopolysaccharide[J]. *Amino Acids*, 2012, 43:1233-1242.
- [29] 刘玉兰. 仔猪免疫应激及其营养调控研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2017, 53(10):1-3, 11
- [30] HOU YQ, WANG L, DING BY, et al. Dietary α -ketoglutarate supplementation ameliorates intestinal injury in lipopolysaccharide-challenged piglets[J]. *Amino Acids*, 2010, 39:555-564.

- [31] HOU YQ,YAO K,WANG L,et al.Effects of α -ketoglutarate on energy status in the intestinal mucosa of weaned piglets chronically challenged with lipopolysaccharide[J]. British Journal of Nutrition,2011,106:357-363.
- [32] KANG P,ZHANG LL,HOU YQ,et al.Effects of L-proline on the growth performance, and blood parameters in weaned lipopolysaccharide (LPS)-challenged pigs[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2014,27(8):1150-1156.
- [33] ZHAO D,WU T,YI D,et al.Dietary Supplementation with lactobacillus casei alleviates lipopolysaccharide-induced liverinjury in a porcine model[J]. International Journal of Molecular Sciences,2017,18(12):2535.
- [34] WANG L,HOU YQ,YI D, et al.Beneficial roles of dietary oleum cinnamomi in alleviating intestinal injury[J].Frontiers in Bioscience, Landmark,2015,20:814-828.
- [35] 陈星, 王清静, 王蕾, 等.仔猪溃疡性结肠炎模型的建立[J].饲料工业,2013,34(19):24-27.
- [36] YI D,LIU W,HOU Y,et al.Establishment of a porcine model of indomethacin-induced intestinal injury[J].Frontiers in Bioscience, Landmark, 2018,23:2166-2176.
- [37] HIGUCHI K,UMEGAKI E,WATANABE T,et al.Present status and strategy of NSAIDs-induced small bowel injury[J].Journal of Gastroenterology,2009,44:879-888.
- [38] CRENN P,MESSING B,CYNOBER L.Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction[J].Clinical Nutrition,2008,27:328-339.
- [39] PAGE-MCCAW A,EWALD AJ, WERB Z.Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling[J].Nature Reviews. Molecular Cell Biology,2007,8:221-233.
- [40] 谢臣武, 刘模荣.新型钙离子通道 TRPV6 在早期大肠癌中的研究意义[J].现代肿瘤医院,2017,25(24):4072-7075.
- [41] EMKEY RD,EMKEY GR.Calcium metabolism and correcting calcium deficiencies[J].Endocrinology and Metabolism Clinics of North America,2012,41:527-556.
- [42] LAFORENZA U, MICELI E,GASTALDI G,et al.Solute transporters and aquaporins are impaired in celiac disease[J].Biology of the Cell,2010,102:457-467.

Establishment of porcine models of intestinal injury

WANG Lei¹ YI Dan² WU Tao² HOU Yongqing^{1,2*}

1. *Engineering Research Center of Feed Protein Resources on Agricultural By-products, Ministry of Education*; 2. *Hubei Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China*

Abstract: The intestinal tract is not only the ultimate place for nutrients' digestion and absorption, but also the largest immune organ in the pigs. Intestine is the first barrier of the body defense system. Maintaining the gut health of the pigs is vital to the pig industry. The intestinal tract is the central response organ to various stressors, which will lead to intestinal dysfunction, and thereby resulting in poor health and growth retardation in pigs. Therefore, establishment of a stable and repeatable porcine model of intestinal injury is the key measure to study the mechanism of intestinal damage and nutritional intervention. This paper mainly introduces several porcine models of intestinal injury established in our laboratory, and identified biomarkers of intestinal injury with these models. The porcine models of intestinal injury will provide a useful tool for studying intestinal dysfunction and developing nutritional interventions in pigs and humans.

Key words: piglets; intestinal injury; experimental model

* Corresponding author, professor, E-mail: huyq@aliyun.com

断奶仔猪肠上皮屏障损伤修复及其营养调控研究进展

肖 勘 刘玉兰*

(武汉轻工大学动物营养与饲料科学湖北省重点实验室, 武汉 430023)

摘 要: 仔猪早期断奶时肠道结构和功能尚未发育成熟, 断奶时又面临着包括环境、心理和生理多方面的剧烈变化容易引起应激反应, 因此断奶应激对肠道的损伤更是雪上加霜, 常常导致早期断奶综合征的发生。断奶时肠道是最先受到影响的, 断奶后仔猪肠道结构和功能都需要经历重建的过程。肠上皮屏障是肠屏障最重要的结构基础, 是抵御肠道病原微生物和毒素入侵的第一道屏障, 断奶会严重影响肠上皮屏障的结构与功能。断奶后肠上皮屏障的修复受多因子的影响, 包括氨基酸、脂肪酸以及多肽类生长因子等因素的调控。本文将对仔猪早期断奶应激后肠上皮屏障的变化、肠道屏障损伤后的修复过程以及营养调控措施进行综述。

关键词: 断奶应激; 肠上皮屏障; 损伤修复; 营养调控

现代养猪生产中经常采用早期断奶的措施来缩短母猪繁殖周期, 增加母猪年产仔数, 降低母仔间疾病的传播。但早期断奶时仔猪各项机能发育尚未成熟, 仔猪断奶时面临着包括环境改变、母仔分离、饮食改变等生理和心理的应激, 由此导致早期断奶应激综合征的发生。早期断奶应激是猪在整个生长过程中遇到的最大的应激之一, 表现为采食量下降、生长停滞、抗病力下降、腹泻甚至死亡, 是制约养猪业发展的瓶颈, 给养猪业带来严重的经济损失。

1 肠上皮屏障的结构和组成

肠道将肠腔与外环境隔绝开来, 肠上皮屏障是机体抵御外界刺激的最重要的屏障, 主要由肠上皮细胞和细胞间的紧密连接构成。断奶时仔猪的肠道结构和功能本来尚未发育成熟, 早期断奶应激会导致肠黏膜屏障被破坏, 肠道通透性会增加, 毒素、细菌或者相关的抗原等有害物质将会穿过肠上皮细胞, 进入仔猪体内引起炎症反应、吸收不良、腹泻等反应, 最终导致仔猪生长和生产性能下降^[1]。

1.1 肠上皮细胞

肠上皮细胞是机体的第一道防御屏障, 位于肠腔的最外层, 发挥着保护机体免受肠腔内残留的各种有害微生物、毒素或者抗原的入侵的作用。正常的小肠上皮细胞由肠道的隐窝干细胞分化而来, 隐窝细胞异常的增殖和凋亡都会造成上皮细胞层机械屏障的功能障碍^[2]。受到细菌及其内毒素、细胞因子等刺激时, 小肠上皮细胞可能会出现增殖及凋亡异常, 导致肠上皮细胞修复障碍, 引起肠道疾病。肠上皮细胞的稳态调节对黏膜防御屏障结构与功能的维持非常重要^[3]。肠腔内的细菌、毒素、抗原等能通过主动运输机制, 破坏肠上皮细胞顶膜结

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31772615)

作者简介: 肖勘 (1989-), 女, 湖北黄冈人, 讲师, 博士, 主要从事仔猪营养与免疫的研究。手机: 18602757956
E-mail: canxiaok@126.com

通讯作者: 刘玉兰, 教授, 博士, E-mail: yulanflower@126.com

构穿过细胞,进入机体内环境,例如脂多糖可以通过主动运输跨过细胞膜,肠致病性大肠杆菌可以通过与肠上皮细胞膜结合破坏细胞结构和紧密连接结构而进入机体内环境引发全身性免疫反应^[4]。

1.1 紧密连接

细胞间的紧密连接及其相关蛋白是维持完整的肠上皮屏障的结构基础。紧密连接不仅对维持上皮细胞极性、调节肠屏障的通透性发挥作用,还能防止细菌、内毒素和毒性大分子物质进入体内。因此,紧密连接起着栅栏功能(细胞顶部与基侧膜分开)与门控功能(调节肠上皮细胞旁通量)的双重作用。同时紧密连接还能调控细胞的生长和分化,其多种蛋白也能参与协调细胞内的信息转导过程^[5]。紧密连接是一个动态变化的,由许多结构蛋白及各类连接蛋白分子共同组成、具有多种功能的复合体。目前按照紧密连接蛋白按分布部位的不同,大体分为两类:即细胞膜蛋白和细胞质蛋白。细胞膜蛋白主要是如 Occludin、Claudins 蛋白、连接黏附分子(JAM)等都具有跨膜结构,是构成选择性屏障功能的结构蛋白;细胞质蛋白主要包括 Zonula occludens (ZO)s蛋白,它能与多种蛋白结合,起连接和传递信号分子作用。紧密连接的形成是动态变化的以适应肠上皮细胞 4-5 天的细胞更新周期。目前,国内外对紧密连接蛋白的结构及功能的研究取得了很大的进展,它们的功能也逐渐被全面认识。

2 断奶应激对肠上皮屏障损伤的影响

2.1 断奶对肠形态的影响

仔猪断奶后饲料从易消化的、适口性好的母乳转化成难消化、适口性差的固体饲料,因此采食量急速降低,导致营养不良。肠形态也会发生明显变化,表现为肠道黏膜脱落,肠绒毛萎缩,绒毛高度降低,隐窝深度加深。断奶后采食量下降是导致肠形态受损的最重要原因之一,由于能量摄入不能满足细胞的生长需要,肠上皮细胞的更新和成熟受到影响。在 Verdonk 等研究中发现,断奶后低摄食量的仔猪的近端小肠绒毛高度显著下降,而同时高摄入量的小肠绒毛高度几乎没有变化,说明缺乏日粮营养成分会加剧肠道形态结构功能的损伤^[6]。我们的研究也已表明,仔猪早期断奶后第一天肠绒毛显著降低,至断奶后第三天降至最低,随之慢慢恢复,在断奶后 14 天形态能恢复至正常水平;但是肠屏障的恢复却滞后于形态学的恢复,在断奶后 14 天仍没有恢复到正常^[7]。

2.2 断奶对肠屏障的影响

早期断奶后仔猪肠道屏障功能发生紊乱。断奶的仔猪在断奶后第 1 天肠道分泌活动就增强,表现为电阻降低,肠上皮细胞间通透性增加^[7,8]。同时,断奶日龄也对肠上皮屏障的损伤的程度有影响。研究发现,与未断奶仔猪比,28 日龄断奶仔猪的空肠跨膜电阻和细胞间甘露醇的流通量在断奶后第一天没有变化;而 21 日龄断奶的仔猪空肠跨膜电阻在断奶后第一天和第二天显著降低,细胞间甘露醇的流通量显著升高^[8]。在利用早期断奶应激模型研究断奶应激对肠道屏障与健康的影响时,Smith 等^[9]研究证实随着断奶日龄的增加,跨膜电阻显著提高,而通透性显著降低,这表明断奶日龄的增加会改善仔猪肠道屏障功能。仔猪断奶

时肠道的免疫系统均尚未发育成熟,断奶会导致生理和免疫反应的激活,如应激激素的升高,炎症因子的表达增加等,这些均是导致细胞和紧密连接变化的重要因素。Moeser 等^[10]研究了断奶后应激激素变化,结果发现血清促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)和皮质醇在断奶后7天显著增加,表明断奶应激激活了仔猪体内的应激途径,这可能与肠屏障功能紊乱有关。同时,我们前期研究也表明断奶应激使仔猪肠黏膜屏障和肠上皮细胞紧密连接受损,紧密连接蛋白 Occludin、Claudin-1、ZO-1 mRNA 表达和蛋白表达下降明显,紧密连接蛋白结构疏松,分布亦发生紊乱,肠上皮屏障功能在断奶后第一周显著降低,而在第二周才能够开始缓慢恢复^[11]。

总而言之,仔猪肠上皮屏障的结构和功能在断奶前后发生了显著变化,断奶后需要经历修复、重建、更新、适应等过程,为仔猪肠道完成从“婴儿型”向“成人型”转变奠定基础。

3 肠上皮屏障损伤后的修复过程

断奶后,仔猪肠屏障需经历重建的过程,经历一个复杂的网络调控。断奶后其迅速修复和重建对机体维持稳态显得特别重要。肠上皮细胞的更新对于肠道损伤后修复和屏障功能的维持具有非常重要的意义。正常情况下,肠道绒毛上皮细胞会不断的更新,新的细胞从隐窝向绒毛顶端移动,衰老的细胞则会从绒毛顶端脱。肠上皮细胞损伤后立即会触发机体的再生修复机制,此时肠道基底部的隐窝细胞的分裂增殖速度加快,新的细胞向绒毛顶端迁移的速率也会加快,从而修复损伤的肠道黏膜^[1,12]。

当肠上皮细胞被破坏后,其修复机制快速启动:首先肠绒毛的上皮细胞通过移动、爬行至覆盖而使损伤的黏膜表面上皮化,阻止有害物质的吸收,紧接着位于肠腺隐窝细胞不断增殖、分化、成熟、迁移到绒毛顶端形成新的成熟上皮细胞,从而促进黏膜修复。黏膜损伤后,第一阶段主要是绒毛收缩以减少损伤后裸露的表面积,受损细胞邻近的上皮细胞会伪足爬行移位来封闭暴露的基底膜,修复上皮细胞的连续性和正常的通透性;第二阶段是迅速关闭上皮细胞间隙和紧密连接,该过程主要包括两个方面:一是细胞侧膜顶部的紧密连接蛋白的恢复;二是细胞间隙的关闭。紧密连接的修复是肠黏膜屏障功能恢复的首要因素,也是细胞修复中的关键机制。肠上皮细胞的重建过程在细胞损伤后数分钟内就被启动,并且受到多重神经网络、免疫效应细胞、成纤维细胞、内皮细胞及黏膜固有层细胞外基质等的调节。修复机制开始后,隐窝细胞会开启增殖状态直至替换损伤的细胞、修复肠绒毛结构和屏障,使之恢复正常的消化吸收功能。

总之,肠上皮屏障的修复是一个在时间和空间上受修复因子调控的复杂的生物学过程,多种生物活性物质参与机体创伤后的修复过程。许多因子对多种细胞的生长、分化 and 功能活动产生影响,参与损伤后愈合过程。

4 调控仔猪断奶后肠上皮屏障修复的营养措施

4.1 氨基酸及其衍生物

氨基酸是动物肠道正常生长发育的关键营养物质,仔猪肠道优先利用氨基酸来维持生长

和代谢，其利用率可达每天摄入量的 50%。肠道细胞利用氨基酸作为能量基质，能促进肠细胞的合成和增殖。我们的研究表明，肠细胞损伤修复过程中谷氨酰胺、精氨酸能为细胞提供能量，促进 DNA 的合成，进而促进细胞的增殖，提高蛋白质的合成，从而促进肠细胞的损伤修复^[13-17]。哺乳仔猪饲喂多胺和脯氨酸能提高断奶后仔猪小肠黏膜多胺浓度和鸟氨酸脱羧酶含量，促进了肠上皮细胞的增殖和分化，提高了肠上皮紧密连接蛋白 ZO-1、occludin 和 claudin-3 的表达，表明其促进了肠黏膜的成熟，减少了断奶应激导致的黏膜损伤，促进了肠黏膜的修复^[18]。最新的研究还发现芳香族氨基酸能通过激活钙敏感受体调控肠道免疫反应，维持肠道稳态，促进损伤修复^[19]。Zhu 等人的研究发现，给断奶仔猪饲喂 N-乙酰半胱氨酸能够提高肠道的抗氧化功能，促进谷胱甘肽的合成，降低血浆中皮质醇的含量，减少肠细胞的死亡，保护肠形态，降低断奶应激对肠道屏障和形态的损伤^[20]。本课题组的研究也发现，饲料中添加谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸和 N-乙酰半胱氨酸等能缓解应激导致的肠道损伤，保护肠屏障的完整性，提高肠道的能量水平，促进肠屏障的损伤后修复^[21-24]。因此，通过在断奶仔猪饲料中添加氨基酸可以有效的缓解断奶应激对肠道功能损伤，促进肠道功能的恢复，从而保护仔猪的肠道健康。

4.2 脂肪酸

脂肪酸在肠道不仅可以氧化供能，还具有抗炎、抗损伤、调节肠道菌群的功能。短链脂肪酸可以直接被肠道细胞吸收后提供能量，促进代谢和细胞增殖、分化，调节肠道菌群的组成。其中丁酸发挥重要作用。饲料中添加丁酸钠可以提高断奶仔猪生产性能，降低腹泻率，保护肠形态，减少炎症因子分泌，促进紧密连接蛋白的表达，从而提高肠上皮屏障的功能，保护断奶仔猪肠道的健康；体外试验也证实添加丁酸能够缓解应激导致的细胞的损伤，提高紧密连接蛋白的表达，降低炎症反应，保护肠上皮屏障的完整性^[25]。我们的研究表明，日粮添加三丁酸甘油酯能够缓解应激导致的肠道损伤，减少肠细胞的凋亡，提高紧密连接蛋白和激活生长因子信号通路，从而促进损伤后的肠道结构和功能的恢复^[26, 27]。本课题组前期研究还发现，鱼油（富含 n-3 多不饱和脂肪酸，如 EPA 和 DHA）可有效缓解应激导致的仔猪肠道结构和屏障功能损伤，鱼油的这种作用与其抑制 TLR4 和 NODs 信号通路密切相关^[28]。我们的最新研究也发现，EPA 和 DHA 能够有效缓解应激导致的猪小肠上皮细胞（IPEC1）损伤，保护紧密连接的分布，提高细胞的活力，提高肠上皮电阻值，抑制程序性坏死通路，从而促进肠细胞损伤后的修复（未发表数据）。除了鱼油之外，我们还发现亚麻油能提高肠黏膜中总 n-3 PUFA、ALA 和 EPA 的含量，抑制肠道 TLR4 和 NODs 信号通路某些基因的表达，对 LPS 诱导肠道结构和功能的损伤具有一定的缓解作用^[29]。综上所述，脂肪酸在调节断奶仔猪炎症反应，提高肠道屏障损伤后修复方面具有重要作用。

4.3 多肽类生长因子

生长因子是一类由多种细胞产生的多肽类生物活性物质，肠道上皮细胞均可产生多种生长因子。研究发现，肠黏膜损伤后某些生长因子及其受体表达发生明显变化。鉴于篇幅限制，

本文仅对表皮生长因子(EGF)、胰高血糖素样肽-2(GLP-2)、类胰岛素样生长因子(IGF-1)和转化生长因子- β (TGF- β)进行阐述。

表皮生长因子: EGF 在机体中发挥着广泛的生物学作用,不仅可以促进细胞内蛋白质、DNA 和 RNA 合成、抑制胃酸分泌,还能刺激细胞增殖与分化、促进肠道生长发育,维持肠腔黏膜完整性及抗损伤等作用。试验发现,21 日龄断奶仔猪灌服 EGF 后空肠中乳糖酶和蔗糖酶活性提高;外源添加 EGF 可促进短肠综合症中肠黏膜细胞的有丝分裂,从而减轻肠黏膜萎缩的程度。体外也实验发现,EGF 能缓解氧化应激导致的 Caco-2 细胞的肠上皮屏障功能的降低,提高细胞跨膜电阻值和紧密连接蛋白 Occludin、ZO-1 的表达,从而阻止细胞间的通透性降低。近年来也有研究表明,EGF 信号能够促进小肠干细胞和 TA 细胞(transit amplifying cell)的增殖,在小肠的隐窝中 EGF 的下游通路是处于激活状态的^[30]。因此,EGF 与肠道结构和功能的发育密切相关,尤其在损伤后肠黏膜修复过程中发挥重要作用。

胰岛素类生长因子: IGF 是一种能强烈的促细胞分裂的因子,可通过与细胞表面的胰岛素样生长因子受体结合发挥作用。激活后可促进肠道黏膜 DNA 和蛋白质的合成,还可以促进细胞增殖,抑制细胞凋亡,减轻肠黏膜萎缩,从而促进肠道损伤后的修复。IGF-1 能促进肠细胞生长和增殖,从而促进小肠发育。新生仔猪日粮中添加 IGF-1 后小肠隐窝细胞的增殖显著提高,增加小肠重量增加和绒毛高度提高;体外试验也表明,IGF-I 显著提高细胞间紧密连接蛋白 Claudin-1 和 ZO-1 蛋白基因和蛋白水平的表达^[31]。由此可知,IGF 在促进肠上皮屏障中肠细胞以及紧密连接的损伤后修复中有重要作用。

胰高血糖素样肽-2: GLP-2 属于胰高血糖素原衍生肽类的一种单链多肽,是一类重要的肠营养因子。GLP-2 可特异性促肠黏膜生长,促进肠道损伤后修复。GLP-2 不仅对肠上皮细胞的增殖、分化、成熟、迁移有调节作用,还能抑制肠上皮细胞凋亡,从而改善肠绒毛的形态,还能增加肠道重量。Chance 等报道,GLP-2 能阻止大鼠肠黏膜萎缩,使肠重量、肠蛋白含量、肠黏膜厚度以及绒毛高度等指标维持在正常水平;进一步研究表明,应用 GLP-2 可使大鼠的肠道的绒毛长度和黏膜厚度得到恢复,而且 GLP-2 处理可降低肠道细菌向黏膜淋巴结的移位,减少了机体受到进一步感染的可能^[32]。GLP-2 处理能阻止 TNF- α 对人 Caco-2 细胞肠上皮屏障的破坏,提高细胞跨上皮电阻,降低 TNF- α 对紧密连接蛋白 Occludin、ZO-1 的表达与分布的破坏作用,保护了肠上皮屏障^[33]。另有试验表明,GLP-2 可通过增加转化生长因子- β 的表达从而促进肠道损伤后的修复过程^[34]。

转化生长因子: TGF- β 1 广泛分布在肠道中,肠上皮细胞、成纤维细胞及免疫细胞等都能合成并分泌 TGF- β 1。目前发现 TGF- β 1 主要参与细胞的增殖、分化、迁移、粘附、凋亡、细胞外基质的形成、创伤后的修复等过程。我们前期研究发现,仔猪断奶后 TGF- β 1 在绒毛和隐窝中的分布发生改变,建议 TGF- β 1 在仔猪断奶后肠道功能的恢复中发挥作用^[11];进一步研究表明,饲料中添加 TGF- β 1 能有效的缓解应激导致的肠形态和屏障功能的损伤,抑制炎症反应,增加紧密连接蛋白 Occludin、ZO-1 和 Claudin-1 的表达,提高肠屏障的完整性。

细胞实验也表明, TGF- β 1 能够缓解 TNF- α 对猪肠上皮细胞的损伤, 促进其屏障功能的恢复^[35]。TGF- β 1 的修复作用可能通过促进受损肠上皮细胞迁移和胶原合成, 提高细胞外基质沉积, 从而促进肠上皮重建, 提高紧密连接蛋白表达, 进而保护肠上皮屏障功能。我们还发现饲料中添加白头翁素还能提高肠道 TGF- β 1 的表达, 激活生长因子信号通路, 进而保护肠屏障, 促进损伤后修复过程^[36]。因此, 未来以 TGF- β 1 为靶点, 开发富含 TGF- β 1 的饲料产品或者 TGF- β 1 诱生剂, 可为防治断奶应激提供新的方法。

其他: 除了上述几种调控手段, 还有其他的途径来促进断奶后肠屏障的修复, 如益生菌、植物多糖、氧化锌、抗菌肽等都能在一定程度上缓解断奶应激对肠道的损伤, 促进断奶后肠道结构和功能的恢复。

5 小 结

断奶应激是仔猪生产中最严重的应激之一, 肠上皮屏障是肠道抵御外来有害抗原等入侵的结构基础, 通过营养或其他的手段缓解断奶应激对肠道屏障的损伤, 促进损伤后的修复是今后研究的重要切入点。今后科研工作者应以减少抗生素和高铜高锌的使用为目标, 开发新型的肠道保护剂, 综合多种手段结合来降低断奶应激对仔猪的影响, 从而提高养猪生产效率。

参考文献:

- [1] BLIKSLAGER AT, MOESER AJ, GOOKIN, et al. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiological Reviews*, 2007, 87:545-564.
- [2] LANCE W, PETERSON, DAVID A. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2014, 14:141-153.
- [3] JEON MK, KLAUS C, KAEMMERER E, et al. Intestinal barrier: molecular pathways and modifiers[J]. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 2013, 4: 94-99.
- [4] SUZUKI T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2013,70: 631-659.
- [5] WIJTEN PJA, J VAN DER M, and VERSTEGEN MWA. Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: A review[J]. *British Journal of Nutrition*, 2011, 105:967-981.
- [6] VERDONK J, BRUNINX E, VAN DER MEULEN J, et al. Post-weaning feed intake level modulates gut morphology but not gut permeability in weaned piglets[J]. *Livestock Science*, 2007, 108(1): 146-149.
- [7] HU CH, XIAO K, LUAN ZS, et al. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs[J]. *Journal of Animal Science*, 2013, 91(3): 1094-1101.
- [8] MOESER AJ, RYAN KA, NIGHOT PK, et al. Gastrointestinal dysfunction induced by early weaning is attenuated by delayed weaning and mast cell blockade in pigs[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2007, 293(2): G413-G421.

- [9] SMITH F, CLARK JE, OVERMAN BL, et al. Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 298(3): G352 -G363.
- [10] MOESER AJ, VANDER KC, RYAN KA, et al. Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2007, 292(1): G173-G181.
- [11] XIAO K, SONG ZH, JIAO LF, et al. Developmental changes of TGF- β 1 and Smads signaling pathway in intestinal adaption of weaned pigs[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e104589.
- [12] SHIMOMURA M, IKEDA S, TAKAKURA Y, et al. Gastrointestinal stromal tumors of the small intestine in pediatric populations: a case report and literature review[J]. *Pediatric surgery international*. 2010, 26(6): 649-654.
- [13] CHEN SK, LIU YL, WANG XY, et al. Asparagine improves intestinal integrity, inhibits TLR4 and NOD signaling, and differently regulates p38 and ERK1/2 signaling in weanling piglets after LPS challenge[J]. *Innate Immunity*, 2016, 22(8):577-587.
- [14] WANG XY, LIU YL, LI S, et al. Asparagine attenuates intestinal injury, improves energy status and inhibits AMP-activated protein kinase signalling pathways in weaned piglets challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide[J]. *British Journal of Nutrition*, 2015, 28;114(4):553-65.
- [15] ZHU HL, LIU YL, XIE XL, et al. Effect of L-arginine on intestinal mucosal immune barrier function in weaned pigs after *Escherichia coli* LPS challenge[J]. *Innate Immunity*, 2013, 19(3):242-52.
- [16] LIU YL, HAN J, HUANG JJ, et al. Dietary L-arginine Supplementation Improves Intestinal Function in Weaned Pigs after an *Escherichia coli* Lipopolysaccharide Challenge[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 2009, 22(12): 1667 -1675.
- [17] LIU YL, HUANG JJ, HOU YQ, et al. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs[J]. *British Journal of Nutrition*, 2008, 100(3):552-60.
- [18] WANG J, LI GR, TAN BE, et al. Oral administration of putrescine and proline during the suckling period improves epithelial restitution after early weaning in piglets[J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(4): 1679–1688.
- [19] TAN B, HUANG B, WANG J, et al. Aromatic amino acids alleviate intestinal inflammation in piglets through calcium-sensing receptor activation[J]. *Journal of Animal Science*, 2017, 95(4): 201-202.
- [20] Zhu LH, CAI X, GUO Q, et al. Effect of N-acetyl cysteine on enterocyte apoptosis and intracellular signalling pathways' response to oxidative stress in weaned piglets[J]. *British Journal*

of Nutrition, 2013, 110(11): 1938-1947.

[21] WANG HB, LIU YL, SHI HF, et al. Aspartate attenuates intestinal injury and inhibits TLR4 and NODs/NF- κ B and p38 signaling in weaned pigs after LPS challenge[J]. European Journal of Nutrition, 2017,56:1433-1443.

[22] PI DA, LIU YL, SHI HF, et al. Dietary supplementation of aspartate enhances intestinal integrity and energy status in weanling piglets after lipopolysaccharide challenge[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2014, 25: 456-462.

[23] LIU YL, WANG XY, HOU YQ, et al. Roles of amino acids in preventing and treating intestinal diseases: recent studies with pig models[J]. Amino Acids, 2017,49(8):1277-1291.

[24] LIU YL, WANG XY and HU A, et al. Therapeutic potential of amino acids in inflammatory bowel disease[J]. Nutrients. 2017, 9(9): 920.

[25] LIU YL. Fatty acids, inflammation and intestinal health in pigs[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2015, 6:41

[26] XU X, CHEN SK, WANG HB, et al. Medium-chain TAG improve intestinal integrity by suppressing toll-like receptor 4, nucleotide-binding oligomerisation domain proteins and necroptosis signalling in weanling piglets challenged with lipopolysaccharide. British Journal of Nutrition,2018, 119: 1019-1028.

[27] HOU YQ, WANG L, YI D, et al. Dietary supplementation with tributyrin alleviates intestinal injury in piglets challenged with intrarectal administration of acetic acid[J].2014, British Journal of Nutrition,111: 1748-1758.

[28] LIU YL, CHEN F, ODLE J,et al. Fish oil enhances intestinal integrity and inhibits TLR4 and NOD2 signaling pathways in weaned pigs after LPS challenge. Journal of Nutrition, 2012, 142(11): 2017 -2024

[29] ZHU HL, WANG HB, WANG SH, et al. Flaxseed oil attenuates intestinal damage and inflammation by regulating necroptosis and TLR4/NOD signaling pathways following lipopolysaccharide challenge in a piglet model. Molecular Nutrition & Food Research, 2018, 1700814:1-11.

[30] WONG VWY, STANGE DE, PAGE ME, et al. Lrig1 controls intestinal stem-cell homeostasis by negative regulation of ErbB signalling. Nature Cell Biology, 2012, 14: 401-408.

[31] HATAKEYAMA N, KOJIMA T, IBA K, et al. IGF-I regulates tight-junction protein claudin-1 during differentiation of osteoblast-like MC3T3-E1 cells via a MAP-kinase pathway[J]. Cell and Tissue Research, 2008, 334(2): 243-254.

[32] CHANCE WT, FOLEY-NELSON T, THOMAS I, et al. Prevention of parenteral

nutrition-induced gut hypoplasia by coinfusion of glucagon-like peptide-2[J]. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 1997, 273(2): G559-G563.

[33] MORAN GW, O'NEILL C, MCLAUGHIN JT. GLP-2 enhances barrier formation and attenuates TNF α -induced changes in a Caco-2 cell model of the intestinal barrier[J]. Regulatory peptides, 2012, 178(1): 95-101.

[34] BULUT K, MEIER JJ, ANSORGE N, et al. Glucagon-like peptide 2 improves intestinal wound healing through induction of epithelial cell migration in vitro-evidence for a TGF- β -mediated effect[J]. Regulatory peptides, 2004, 121(1): 137-143.

[35] XIAO K, CAO ST, JIAO LF, et al. Transforming growth factor- β 1 protects intestinal integrity and influences Smads and MAPK signal pathways in IPEC-J2 after tumor necrosis factor- α challenge[J]. Innate Immunity, 2017, 23(3): 276-284.

[36] XIAO K, CAO ST, JIAO LF, et al. Anemonin improves intestinal barrier restoration and influences TGF- β 1 and EGFR signaling pathway in lipopolysaccharide-challenged piglets. Innate Immunity, 2016, 22(5): 344-352.

Research Progress on Repair of Intestinal Epithelial Barrier in Weaned Piglets and Its Nutritional Regulation

Xiao Kan, Liu Yulan*

(*Hubei Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Wuhan 430023, China*)

Abstract: Early weaning piglets are abruptly forced to combined stressors, such as removal from sow and littermates, transportation to a new environment, fighting and establishment of social hierarchy, and abrupt changes in diet. Weaning stress is reported to seriously impair intestinal structure and barrier function. It is reported that the intestine would experience reconstruction process at weaning. Intestinal epithelial barrier is the most important structural foundation of intestinal barrier, and it is the first barrier to resist the invasion of intestinal pathogenic microorganisms and toxins. The repair of post-weaning intestinal epithelial barrier is affected by multiple factors, including amino acids, fatty acids and polypeptide growth factors. This review summarized the changes of intestinal epithelial barrier in piglets after early weaning stress, the repair process after intestinal barrier injury and nutritional regulation of intestine restoration.

Key words: early weaning; intestinal barrier; restoration; nutritional regulation; piglets

*Corresponding author, Liu Yulan, professor, E-mail: yulanflower@126.com

妊娠母猪脂代谢、繁殖性能及营养调控

彭健

华中农业大学动物科技学院

母猪妊娠期的营养代谢,尤其是脂质代谢与体脂沉积存在密切关系。妊娠期母猪的脂质代谢特征,不仅决定了母猪妊娠期的体脂沉积规律,而且对仔猪初生性能和母猪泌乳性能产生关键的影响作用。值得注意的是,妊娠期母猪体脂的过度沉积,会引起胎盘脂质毒性,导致胎盘产生慢性炎症,提高了胎盘的氧化应激水平,从而阻碍胎盘的血管发育,导致弱仔的产生,使初生仔猪的初生重不均匀。另一方面,妊娠期体脂过度沉积时,妊娠后期血液中非酯化脂肪酸含量显著增加,从而导致系统性慢性炎症反应,这是降低围产期机体的胰岛素敏感性的重要原因,并降低母猪泌乳期采食量。在母猪妊娠日粮中应用具有高水结合力、强吸水膨胀性和快速发酵特征的功能性纤维,不仅能提高限饲条件下妊娠母猪的饱腹感和饱感,有效防止和改善母猪便秘;而且能调节肠道菌群组成,快速生成大量的短链脂肪酸,有效改善母体的炎症状态,提高胰岛素敏感性。此外,短链脂肪酸代谢生成的 C15 和 C17 等奇数碳链脂肪酸,也对提高母猪围产期胰岛素敏感性有重要作用。因此,控制妊娠期适宜的体脂沉积,是提高母猪繁殖性能和泌乳性能的关键控制点;在妊娠母猪日粮中合理运用功能性纤维,是调控母猪妊娠期体脂沉积的有效的营养调控技术。

1. 母猪妊娠期脂质代谢特征

妊娠会引起母体产生一系列适应性变化,包括激素水平改变,以及糖代谢、蛋白质代谢和脂质代谢的变化^[1]。其中,脂质的代谢变化十分明显,在整个妊娠期母体血清中的胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白(low-density lipoproteins, LDL)胆固醇以及高密度脂蛋白(High-density lipoproteins, HDL)胆固醇均呈显著上升趋势^[2]。妊娠引起的代谢特征主要表现为:在妊娠早期和中期,母体本身的代谢以合成代谢为主,脂质合成增加,母体脂肪蓄积增多。而在妊娠晚期,母体本身以分解代谢为主,脂肪组织脂解活性增加,促进脂肪酸通过胎盘进入胎儿体内,影响胎儿代谢及胎儿生长。因此,妊娠早期的脂质大量沉积,以及妊娠期后期的高血脂是妊娠期脂质代谢的两大主要特征^[3,4]。

1.1. 妊娠早期脂质代谢

在人和大鼠上的研究表明,在妊娠的前三分之二阶段,由于胎盘催乳素水平逐渐升高,促进了胰腺 β 细胞增殖和胰岛素分泌,提高了系统性胰岛素敏感性,导致采食量逐渐增加,胰岛素抗脂解作用增强^[3]。同时,脂肪组织脂蛋白酯酶(Lipoprotein lipase, LPL)活性增强,脂肪组织从乳糜微粒和极低密度脂蛋白(Very low-density lipoproteins, VLDL)中摄取的甘油三酯增加,脂肪组织脂质合成的能力增强^[4]。另外,妊娠早期母体脂肪组织对循环系统中葡萄糖的摄取量增多,对脂解来源的甘油、单酰基甘油、以及游离脂肪酸(Non-esterified fatty acid, NEFA)的重利用增强^[5]。以上这些变化均促进了母体脂肪的蓄积。

1.2. 妊娠后期脂质代谢

在妊娠的后三分之一阶段, 脂肪沉积的趋势逐渐停止, 并转向分解代谢为主, 血液中的甘油三酯、非酯化脂肪酸 (Non-esterized fatty acids, NEFA)、胆固醇和磷脂水平升高^[6]。其中, 甘油三酯的增加幅度最为显著^[7]。甘油三酯水平增加的原因, 一方面是由于妊娠后期胰岛素促进脂质沉积的功能减弱, 同时脂肪组织 LPL 活性减弱, 导致脂肪组织对血液中甘油三酯利用减少^[7]; 另一方面, 由于妊娠后期通常采食量增加, 从饲料或食物来源中吸收的脂质增加, 肝脏甘油三酯合成加快。

妊娠期母体血脂适当的升高, 有利于胎儿从母血中摄取更多的游离脂肪酸及其脂类, 利于胎儿各器官的发育^[8]。在禁食状态下, 甘油三酯能够被母体肝脏高效利用合成酮体, 供给胎儿的代谢需求。在猪初生重与母体及子代血液营养物质关系的研究中发现, 胎儿的初生重与自身血液的甘油三酯水平呈显著正相关。当血液中的甘油三酯通过胎盘转运时, 胎盘组织血管壁上的 LPL 就可以水解甘油三酯, 释放 NEFA 并转运到胎儿, 是妊娠后期胎儿迅速增加初生重的重要的能量来源^[9]。

但是, 研究表明, 随着妊娠的进行, 母体的胰岛素敏感性水平逐渐降低, 而胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) (又可称为胰岛素脱敏) 水平逐渐增强^[10,11]。母体代谢的这种变化, 不仅降低了脂肪的合成能力, 而且是导致脂解增多的主要原因^[12,13]。由于胰岛素脱敏, 妊娠后期胰岛素对激素敏感脂肪酶 (Hormone-sensitive lipase, HSL) 的抑制作用减弱, 脂肪组织脂解酶活性升高, 从而造成血液中 NEFA 和甘油大量增加^[9]。

值得注意的是, 在背膘较厚的妊娠母猪中, 血液中的甘油三酯水平较高, 但是胎儿的甘油三酯水平却较低。同时, 在高背膘母猪群体中 ($\geq 20\text{mm}$), 胎盘脂肪酸转运相关蛋白 CD36、FATP1、FABP4 和 FABP1 表达量也显著下调, 这表明妊娠期母猪体脂沉积较多时, 可能影响胎盘的脂质转运, 进而限制胎儿的生长^[14]。

2. 母猪妊娠期体脂沉积对繁殖性能的影响

妊娠母猪的背膘厚是直观反映母猪体脂沉积情况的重要指标^[15]。母猪妊娠期体脂沉积过多时, 常常导致母猪难产率和初生仔猪死胎率的提高^[16]。因此, 维持母猪妊娠期适宜的背膘厚, 对提高母猪繁殖性能具有重要作用。

很多研究者报道了母猪妊娠期不同阶段背膘厚对繁殖性能的影响。Dourmad 等 (2001) 认为, 大长二元杂母猪断奶时的最适背膘厚是 16 ~ 19 mm, 分娩时的最适背膘厚是 19 ~ 22 mm^[17]。Kim 等 (2016) 度量了美系长大二元杂母猪妊娠 105 d 背膘厚, 结果发现背膘厚 < 20 mm 的母猪繁殖性能比 $\geq 20\text{mm}$ 的母猪更好^[18]。Young 等 (2001) 研究表明, 美系母猪在配种当天的最佳背膘厚为 16 ~ 17 mm, 而在分娩当天背膘厚应 $\geq 17\text{mm}$, 在泌乳期背膘损失应保证在 3 ~ 4 mm 内^[19]。张守全等 (2005) 研究表明, 大白与长白经产母猪配种时背膘厚度为 12.5 ~ 18.0 mm 时, 窝均产活仔数最高, 且初生窝重最大; 当哺乳期背膘损失控制在 3 ~ 6 mm 之间时, 母猪断奶发情间隔最短 (5.24 ± 0.46 天)^[20]。本实验室报道了美系大白母猪妊

娠 109 d 的膘厚对繁殖性能有非常密切的关系。仔猪初生重和断奶重与母猪妊娠 109d 背膘厚呈凸二次曲线的关系, 且母猪背膘厚为 19 ~ 22 mm 时仔猪初生重和断奶重最大。值得注意的是, 当母猪背膘厚 $\geq$ 23 mm 时, 胎盘组织中脂质过度沉积, 从而加剧了胎盘炎症反应和氧化应激, 同时母猪产弱仔率显著提高^[21,22]。

因此, 通过营养调控母猪妊娠期的脂质沉积, 维持母猪妊娠期不同阶段最适膘情, 是提高母猪繁殖性能的有效手段。

3. 母猪妊娠期体脂沉积对泌乳性能的影响

母体进入泌乳期后, 需要大量的能量和其它营养物质来满足泌乳的需要。因此, 母猪泌乳期往往会动用自身的体脂储存来供给乳汁合成的需要。这也就意味着, 如果母体的营养储备不足, 以过薄的背膘进入泌乳期时, 会显著减少母猪的泌乳量, 进而降低仔猪育成率和断奶重^[23]。但需要注意的是, 妊娠期过多的体脂沉积并不意味着在泌乳期能获得更高的泌乳量。在美系大白母猪中的研究表明, 随着妊娠 109 d 背膘厚的增加, 泌乳期采食量极显著的线性下降^[21]。由于摄食提供的能量相对于体成分动用提供的能量更为重要, 因此泌乳期采食量的不足往往会导致母猪泌乳性能和仔猪生长性能的下降。Eissen 和 Kemp (2000) 对多次试验的数据分析也表明, 控制分娩时母猪的体脂储备是提高泌乳期采食量、提高仔猪性能的重要因素^[24]。

除影响泌乳期采食量外, 妊娠期体脂沉积过多或过少时, 还会影响乳腺的发育, 从而影响母猪泌乳能力。对初产母猪而言, 妊娠末期的背膘低于 15mm 时, 乳腺的 DNA 含量显著降低, 表明乳腺组织的发育受到抑制^[25]。但当初产母猪妊娠末期背膘高于 36mm 或经产母猪妊娠 109 d 背膘高于 26mm 时, 也会显著抑制乳腺的发育^[26,27]。因此, 在母猪妊娠期控制适宜的背膘对维持最佳的乳腺发育也具有重要意义。

4. 母猪妊娠期体脂过度沉积对胎盘血管生成的影响

4.1. 母猪妊娠期胎盘血管生成及其生理调节

胎盘组织是妊娠期间唯一联系胎儿与母体的场所, 与胎儿的健康发育密切相关^[28]。胎盘组织中富含血管, 良好的胎盘血管网和血流灌注是胎盘功能和胎儿健康生长的重要保障。

胎盘血管网的形成需要血管发生 (Vasculogenesis) 和血管生成 (Angiogenesis) 密切协作^[29]。血管发生指的是多能间充质干细胞发育生成原始血管腔, 在猪上约为妊娠 30 天左右, 而血管生成是在已经形成的血管基础上通过出芽和套叠的方式形成新的血管, 贯穿于整个妊娠期^[30]。

炎症、运动、低氧以及机械损伤均会刺激血管内皮细胞血管生成, 共同调控血管网络的形成^[31]。在生理状态下, 还原氧 (Reactive oxygen species, ROS) 对内皮细胞血管生成具有重要作用, 可促进血管生成及胚胎滋养层细胞入侵^[32]。然而大量的 ROS 又会造成细胞损伤, 影响组织功能, 导致一系列的妊娠障碍, 包括早产、子痫前期、胎儿宫内发育迟缓、妊娠期糖尿病以及许多情况下的自发流产^[33]。因此, 控制妊娠期间胎盘的炎症和氧化应激水

平，维持正常的胎盘血管生成，对取得良好的繁殖成绩具有至关重要的意义和作用。

4.2. 妊娠期母猪体脂过度沉积对胎盘血管生成的影响和机制

本实验室前期研究发现，母猪妊娠期背膘过厚会引起的胎盘脂毒性，影响胎盘的血管生成^[21]。脂毒性是指当机体脂肪摄入或者合成过多时，超过脂肪组织的沉积能力，进而异位沉积到肝脏、肌肉、心脏、胰腺，甚至胎盘等非脂肪组织中，引起细胞正常信号和功能紊乱甚至死亡的现象^[34]。公认的脂毒性介质主要包括二酰甘油（Diacylglycerol, DAG）和神经酰胺（Ceramide），均由过多的脂肪酸摄入引起，可显著激活炎症信号通路^[35,36]。与背膘适中母猪相比（17-18 mm），背膘过厚（≥23 mm）的母猪胎盘中甘油三酯以及 NEFA 含量更高，并且胎盘脂质含量与仔猪初生重、初生窝重以及胎盘效率均呈显著负相^[21]。此外，高背膘的母猪胎盘炎症因子 IL-1β、IL-6，脂质过氧化物 MDA，以及 ROS 水平均显著升高，胎盘 SOD 活性降低，表明胎盘脂毒性的发生；但却显著降低了母猪胎盘血管密度^[22]。因此，控制母猪妊娠期的背膘沉积对保障胎盘血管的正常发育、降低弱仔发生和提高仔猪初生均匀度均具有积极意义。

最新的一项研究表明，妊娠期肥胖造成的胎盘血管发育受限可能与血管发育关键基因 mRNA m6A 修饰相关，当母猪妊娠期背膘过厚（≥21mm）时，弱仔胎盘 RNA 中 m6A 修饰水平显著升高，而胎盘血管发育和脂质代谢相关基因 mRNA 以及蛋白表达水平显著降低^[37]。同时，在啮齿动物上的研究表明，长期饲喂高脂日粮会抑制胎盘滋养层入侵，导致子宫螺旋动脉重铸不全^[38]。

5. 母猪妊娠期体脂过度沉积对围产期胰岛素敏感性的影响及机制

5.1. 母猪繁殖周期中胰岛素敏感性的变化及原因

如前所述，母猪在繁殖周期各阶段胰岛素敏感性逐渐发生变化。胰岛素敏感性降低或胰岛素抵抗是指胰岛素的靶组织，如肌肉组织（葡萄糖摄取）、肝脏（抑制糖异生）和脂肪细胞（抑制脂类分解）对胰岛素的响应功能下降，导致的葡萄糖代谢异常，从而导致机体中的胰岛素无法维持正常血糖水平^[39]。一般来说，妊娠后期胰岛素敏感性显著下降，胰岛素抵抗增加，并延续到泌乳期，直到断奶后才开始恢复^[40]。

妊娠后期胰岛素抵抗发生的原因包括生理性和病理性两方面的因素。在妊娠后期，胎儿需要更多的营养物质以满足快速生长的需要，此时母体出现适应性的生理变化以降低胰岛素的促合成作用，表现为“生理性胰岛素抵抗”^[41]。生理性胰岛素抵抗的出现与妊娠期间胎盘激素的释放有关。研究表明，由胎盘分泌的激素如皮质醇、孕酮、雌激素、胎盘生乳素，能够拮抗胰岛素^[42]。病理性的胰岛素抵抗的发生则主要由机体的慢性炎症及氧化应激引起。

5.2. 母猪妊娠期体脂过度沉积增加机体胰岛素抵抗的机制

导致胰岛素抵抗发生的因素有很多，包括遗传、代谢和生理变化等^[43]。我们的研究也证实：母猪妊娠期体脂过度沉积是导致胰岛素抵抗的重要原因，其机制包括：（1）诱导发生系统性慢性炎症发生，以肿瘤坏死因子 α 为代表的炎性细胞因子抑制了胰岛素受体信号的

酪氨酸磷酸化的级联反应^[44]；（2）增加循环中 FFA 的水平，FFA 通过激活 PKC 直接影响胰岛素受体信号，或通过上调促炎细胞因子的表达，间接影响了胰岛素受体信号^[45]。在妊娠 109 d 的母猪中，随着背膘的增加，血液中 FFA 的水平显著提高，表明母猪妊娠期过度的体脂沉积可能会加剧围产期胰岛素抵抗的发生^[21]。

最新的研究表明，围产期母猪肠道菌群的变化可能是导致母体发生慢性炎症和胰岛素抵抗的重要诱因。Koren 等研究指出妊娠过程尤其是妊娠后期，母体肠道菌群发生了明显的变化，主要特征为菌群 α 多样性降低，同时与促炎症相关的变形菌门和放线菌门细菌的相对丰度明显增加。无菌小鼠试验表明，与移植妊娠前期母体粪菌小鼠相比，移植了妊娠后期母体粪菌的无菌小鼠表现出明显的胰岛素抵抗和低水平炎症状态，这表明妊娠后期的肠道菌群可能是导致母体出现胰岛素抵抗的重要原因^[46]。本课题组也发现，围产期母猪肠道菌群 α 多样性降低，与促炎症相关的变形菌门和梭杆菌门细菌的相对丰度明显增加，同时肠道产丁酸含量降低。进一步研究发现，肠道短链脂肪酸产生（尤其是丁酸）减少，肠道炎症和系统性炎症加剧，是菌群影响胰岛素敏感性的主要机制（未发表资料）。

6. 母猪围产期胰岛素抵抗降低泌乳期采食量

研究发现，围产期胰岛素抵抗与母猪泌乳期采食量呈负相关关系^[10,11,47]。这是因为动物的摄食动机与血液中葡萄糖的浓度密切相关。当血液中葡萄糖浓度保持较高水平时，摄食中枢受到抑制，而延缓采食动机的启动^[48]。胰岛素能够调节葡萄糖合成糖原，降低血糖浓度，从而增加采食动机。Weldon 等发现，母猪妊娠 60 d 时开始自由采食相对于限制饲喂降低了胰岛素敏感性，减少了其泌乳期采食量；在围产后期外源注射胰岛素后，提高了母猪泌乳期前两周采食量^[49]。因此，改善母猪围产期胰岛素敏感性，可能是提高母猪泌乳期采食量的重要手段。

7. 利用功能性纤维调控妊娠期体脂沉积

7.1 妊娠期限饲是控制母猪体脂过度沉积的主要手段

在妊娠期后期，母猪体脂过度沉积会加剧胰岛素抵抗，从而降低泌乳期食欲，减少泌乳期采食量及泌乳量，降低断奶重；同时母猪本身因大量动用体储存而加大泌乳期失重，影响下一个繁殖周期的繁殖性能。另外，由于妊娠期母猪的维持需要相对于空怀期明显降低，导致妊娠母猪更容易沉积脂肪。因此，在实际生产中限制妊娠母猪的能量摄入，从而控制母猪的体脂沉积是妊娠期饲养管理的重要手段。此外，妊娠限饲也能够有效提高妊娠早期的胚胎着床率，降低早期胚胎损失率^[50]。研究发现，相比于自由采食，妊娠期母猪标准饲喂量控制为 1.8 kg/d，显著降低了母猪分娩时的背膘厚度，显著减少了母猪的体增重，并且降低了血液中 NEFA 的浓度，有效缓解了胰岛素抵抗^[49]。

7.2 功能性纤维提高妊娠期母猪的饱感和饱腹感

日粮纤维是一类不被消化道内源酶降解的多糖和木质素^[52]。由于日粮纤维能量较低，能够一定程度稀释日粮能量浓度，有利于控制能量摄入量。研究表明，母猪妊娠日粮中混合

添加向日葵粕、麦麸、大豆壳、玉米胚芽粕、甜菜渣等纤维，在保证每日消化能摄入量一致的情况下，有效调控母猪妊娠后期背膘厚度，减少妊娠期背膘沉积^[53]。

日粮纤维能够有效减少母猪刻板行为的发生^[54]。Sapkota 等发现，在母猪妊娠日粮中添加甜菜渣显著降低了母猪的刻板行为，并且降低了母猪的平均心率，增加了休息时间；在妊娠日粮中添加抗性淀粉降低了母猪混养后第 1h 内母猪的争斗，表明纤维的添加提高了母猪的饱感，原因可能是纤维在后肠段发酵产生的短链脂肪酸为机体供能，添加纤维组餐后 4 h 血液中的葡萄糖水平高于未添加纤维组，从而延长了饱感的维持时间^[55]。另外，SCFAs，尤其是丙酸，能够激活结肠上皮 L 细胞上的脂肪酸受体 FFA2 及 FFA3，刺激肠道激素 GLP-1 及 PYY 的释放^[56]，二者作为饱感信号参与食欲中枢的调节。除发酵性以外，纤维自身理化特性，也与摄食饱感的产生有关。一方面，纤维增加了动物对食物的咀嚼时间和力度，从而产生更多的饱感信号传递至大脑；另一方面，纤维的松散特性以及系水性、吸水膨胀性能能够增加食糜体积，充盈肠道增加饱腹感；再者，部分粘性纤维能够增加食糜粘性，减缓胃排空及肠道食糜中营养物质的释放，延长饱感^[57]。

7.3. 功能性纤维具有防止和改善母猪便秘的效果

日粮纤维能够缓解母猪围产期便秘，原因是日粮中补充纤维能够促进大肠末端通径和蠕动，促进排便^[57]。不溶性纤维通过增加粪便体积，刺激肠道蠕动；而具有良好水合特性的可溶性纤维通过吸水膨胀增加食糜体积，提高含水量，有益于排便。具有良好发酵性的纤维还可能通过后肠段发酵产 SCFAs，增加有益微生物 *Lactobacillus* 的数量，而减少有害微生物 *Clostridium* 的数量，减少妊娠母猪便秘^[61]。

7.4. 妊娠期运用功能性纤维改善围产期胰岛素敏感性，提高泌乳期采食量

日粮纤维调控妊娠期母猪背膘沉积，有利于改善繁殖期间母猪胰岛素抵抗及炎症状态。Tan 等研究发现，母猪妊娠日粮中添加魔芋粉显著降低了餐后血液中 NEFA 的浓度，降低了母猪围产期的 HOMA-IR 值，提高了 HOMA-IS 值，降低了泌乳早期血液中促炎因子 TNF- α 浓度^[11]。这可能与纤维被母猪后肠段微生物发酵利用有关。一方面，魔芋粉通过发酵生成 SCFA，特别是乙酸、丁酸，为结肠及盲肠细胞提供能量，有益于后肠段肠上皮细胞的损伤修复，维持肠道健康，减少全身性炎症的发生。另一方面，魔芋粉通过调控肠道微生物的组成变化，增加了 *Akkermansia* 与 *Roseburia* 菌属的相对丰度，二者与 HOMA-IS 值呈正相关关系^[11]。由于围产期胰岛素敏感性是影响泌乳期采食量的关键因素^[11]，因此在妊娠期应用 1%-2% 的具有快速发酵特点的功能性纤维，显著提高了母猪泌乳期采食量和仔猪断奶性能^[10,61,62]。

需要指明的是，当前定义下纤维所涵盖的种类繁多。早期我们利用 CF、NDF、ADF 的概念来量化各种纤维来源中纤维含量并比较其生物学价值。但是，随着研究的深入，我们发现相同 CF 或 NDF 含量下，母猪妊娠日粮添加高可溶性纤维组分魔芋粉和甜菜粕改善母猪围产期胰岛素敏感性和繁殖性能的效果，明显优于含有高不可溶性纤维组分的麸皮^[10]。同

时, 谭成全等研究发现, 在 CF、NDF 水平相同、且可溶性纤维水平也相同的条件下, 妊娠日粮中添加魔芋粉显著提高了围产期母猪胰岛素敏感性, 进而提高了整个泌乳期采食量和哺乳仔猪的生长速度, 而日粮中添加另一种具有较好发酵能力的甜菜渣则未能产生相同效果^[61]。这种差异的产生主要来源于纤维原料的发酵方式不同, 即相比于甜菜渣, 魔芋粉具有更快的发酵速度, 这就意味着摄入的魔芋粉在排出体外前, 能在后肠充分发酵, 从而发挥调节肠道菌群和产生短链脂肪酸的作用^[10,63,65]。因此, 在选择母猪妊娠期纤维原料时, 应同时注重对发酵潜力和发酵速度的选择。

8. 总结

综上, 母猪妊娠期不同阶段的脂类代谢具有显著差异, 妊娠前期脂类代谢以合成代谢为主, 母体更易沉积体脂。而在妊娠后期, 脂类代谢的分解代谢加强, 血液中的游离脂肪酸含量增加。妊娠后期体脂过度的沉积会导致母猪胎盘脂质异位沉积, 发生炎症和氧化应激, 阻碍胎盘血管发育, 从而影响仔猪的初生重和均匀度; 此外, 母猪妊娠期体脂过度沉积和围产期肠道菌群的促炎症性变化诱导母体胰岛素抵抗的发生, 进而降低母猪泌乳期采食量。因此, 在妊娠期控制母猪适宜的背膘厚度是生产管理的重要目标。需要注意的是, 不同品种(系)和杂交组合母猪的最适背膘存在差异, 在实际生产中需要区别对待, 针对性地确定背膘控制目标。在妊娠期选用具有高吸水膨胀性、强水结合力和快速发酵特性的功能性纤维, 能在限制饲喂条件下满足妊娠期母猪的饱感, 预防便秘发生, 并能显著降低弱仔发生率, 提高产仔数、断奶重; 同时能显著改善围产期胰岛素敏感性, 提高泌乳期采食量, 是实现通过母猪背膘控制来提高生产性能的一种重要手段。

参考文献

- [1] Ghio A, Bertolotto A, Resi V, et al. Chapter 7 - Triglyceride metabolism in pregnancy[M]. Elsevier Science & Technology, 2011: 133-153.
- [2] Vahratian A, Misra V K, Trudeau S, et al. Prepregnancy body mass index and gestational age-dependent changes in lipid levels during pregnancy[J]. Obstetrics & Gynecology, 2010, 116(1): 107-113.
- [3] Herrera E, Desoye G. Maternal and fetal lipid metabolism under normal and gestational diabetic conditions[J]. Hormone Molecular Biology & Clinical Investigation, 2016, 26(2): 109-127.
- [4] Knopp R H, Boroush M A, O'sullivan J B. Lipid metabolism in pregnancy. II. Postheparin lipolytic activity and hypertriglyceridemia in the pregnant rat[J]. Metabolism-clinical & Experimental, 1975, 24(4): 481-493.
- [5] Herrera E, Campo S D, Marciniak J, et al. Enhanced utilization of glycerol for glyceride synthesis in isolated adipocytes from early pregnant rats[J]. Journal of Physiology &

Biochemistry, 2010, 66(3): 245-253.

- [6] Butte N F. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71(5 Suppl): 1256S.
- [7] Ramos M P, Cresposolans M D, Del C S, et al. Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness[J]. AJP Endocrinology & Metabolism, 2003, 285(2): E318-28.
- [8] Herrera E, Ortega-Senovilla H. Lipid Metabolism During Pregnancy and its Implications for Fetal Growth[J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2014, 15(1).
- [9] Herrera E, Walter P, Verelamoras G. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2000, 54 Suppl 1(Suppl 1): S47.
- [10] Sun H Q, Tan C Q, Wei H K, et al. Effects of different amounts of konjac flour inclusion in gestation diets on physio-chemical properties of diets, postprandial satiety in pregnant sows, lactation feed intake of sows and piglet performance[J]. Animal Reproduction Science, 2015, 152: 55-64.
- [11] Tan C, Wei H, Ao J, et al. Konjac Flour Inclusion in Gestation Diet Changes Gut Microbiota, Alleviates Oxidative Stress, and Improves Insulin Sensitivity in Sows[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2016, 82(19): AEM.01374-16.L
- [12] Barbour L A, Mccurdy C E, Hernandez T L, et al. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes[J]. Diabetes Care, 2007, 30 Suppl 2(2): S112.
- [13] Dahlgren J. Pregnancy and insulin resistance[J]. Metabolic Syndrome & Related Disorders, 2006, 4(2): 149-152.
- [14] Tian L, Dong S S, Hu J, et al. The effect of maternal obesity on fatty acid transporter expression and lipid metabolism in the full-term placenta of lean breed swine[J]. J Anim Physiol Anim Nutr, 2017, 102(14).
- [15] Charette R, Bigras-Poulin M, Martineau G P. Body condition evaluation in sows[J]. Livestock Production Science, 1996, 46(2): 107-115.
- [16] Zaleski H M, Hacker R R. Variables related to the progress of parturition and probability of stillbirth in swine[J]. Canadian Veterinary Journal La Revue Vétérinaire Canadienne, 1993, 34(2): 109.
- [17] Dourmad J Y, Etienne M, Noblet J. Measuring backfat depth in sows to optimize feeding strategy[J]. Productions Animales -Paris- Institut National de la Recherche Agronomique-, 2001, 14(1): 41-50.

- [18] Kim K H, Hosseindoust A, Ingale S L, et al. Effects of Gestational Housing on Reproductive Performance and Behavior of Sows with Different Backfat Thickness[J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2016, 29(1): 142-8.
- [19] Young M G, Tokach M D, Goodband R, et al. The relationship between body condition score and backfat in gestating sows[J]. *Kansas State University Swine Day Report of Progress*, 2001, (10).
- [20] 张守全, 冯定远, 麦月仪, et al. 母猪背膘厚度对其繁殖性能的影响[J]. *养猪*, 2005, (1): 11-12.
- [21] Zhou Y F, Xu T, Cai A L, et al. Excessive backfat of sows at 109 d of gestation induces lipotoxic placental environment and is associated with declining reproductive performance[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(1).
- [22] 徐涛, 周远飞, 蔡安乐, 等. 母猪妊娠末期背膘厚度对产仔性能和胎盘脂质氧化代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(5): 1723-1729.
- [23] Tantasuparuk W. Sow reproductive performance in Thailand: effects of climate, breed, parity, lactation length, weight loss during lactation and weaning-to-service interval[J], 2000.
- [24] Eissen J J, Kanis E, Kemp B. Sow factors affecting voluntary feed intake during lactation[J]. *Livestock Production Science*, 2000, 64(2-3): 147-165.
- [25] Farmer C, Duarte C R A, Vignola M, et al. Body condition of gilts at the end of gestation affects their mammary development[J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(5): 1897-1905.
- [26] Farmer C, Sorensen M T. Factors affecting mammary development in gilts[J]. *Livestock Production Science*, 2001, 70(1-2): 141-148.
- [27] Kim J S, Yang X J, Pangen D, et al. Relationship between backfat thickness of sows during late gestation and reproductive efficiency at different parities[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica Section a-Animal Science*, 2015, 65(1): 1-8.
- [28] Saben J, Lindsey F, Zhong Y, et al. Maternal obesity is associated with a lipotoxic placental environment[J]. *Placenta*, 2014, 35(3): 171.
- [29] Pardali E, Goumans M J, Ten D P. Signaling by members of the TGF-beta family in vascular morphogenesis and disease. [Review] [98 refs][J]. *Trends in Cell Biology*, 2010, 20(9): 556-567.
- [30] Cristofolini A, Fiorimanti M, Campos M, et al. Morphometric study of the porcine placental vascularization[J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2018, 53(1).
- [31] Spencer L, Mann C, Metcalfe M, et al. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential[J]. *European Journal of Cancer*, 2009, 45(12): 2077-2086.
- [32] Pereira R D, Long N E D, Wang R C, et al. Angiogenesis in the Placenta: The Role of

- Reactive Oxygen Species Signaling[J]. Biomed Research International, 2015, 2015(8): 814543.
- [33] Akison L K, Nitert M D, Clifton V L, et al. Review: Alterations in placental glycogen deposition in complicated pregnancies: Current preclinical and clinical evidence[J]. Placenta, 2017, 54.
- [34] Trauner M, Arrese M, Wagner M. Fatty liver and lipotoxicity[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 2010, 1801(3): 299-310.
- [35] Boden G. Obesity and Free Fatty Acids (FFA)[J]. Endocrinology & Metabolism Clinics of North America, 2008, 37(3): 635.
- [36] Chaurasia, Bhagirath, Summers, et al. Ceramides – Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2015, 26(10): 538-550.
- [37] Song T, Lu J, Deng Z, et al. Maternal obesity aggravates the abnormality of porcine placenta by increasing N 6 -methyladenosine[J], 2018.
- [38] Hayes E K, Lechowicz A, Petrik J J, et al. Adverse fetal and neonatal outcomes associated with a life-long high fat diet: role of altered development of the placental vasculature[J]. Plos One, 2012, 7(3): e33370.
- [39] Olefsky J M, Glass C K. Macrophages, inflammation, and insulin resistance[J]. Annual Review of Physiology, 2009, 72(72): 219-246.
- [40] PãRe M C, Etienne M. Insulin sensitivity during pregnancy, lactation, and postweaning in primiparous gilts[J]. Journal of Animal Science, 2007, 85(1): 101-10.
- [41] Pm C, Ed T, Rr W, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes[J]. Am J Physiol, 1993, 264(1 Pt 1): E60.
- [42] Vejrazkova D, Vcelak J, Vankova M, et al. Steroids and insulin resistance in pregnancy[J]. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 2014, 139(1): 122-129.
- [43] Fedor D, Kelley D. Prevention of insulin resistance by n-3 polyunsaturated fatty acids[J]. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 2009, 12(2): 138-146.
- [44] Nguyen M T A, Satoh H, Favelyukis S, et al. JNK and Tumor Necrosis Factor- α Mediate Free Fatty Acid-induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(42): 35361-35371.
- [45] Johnson A M, Olefsky J M. The origins and drivers of insulin resistance[J]. Cell, 2013, 152(4): 673-84.
- [46] Koren O, Goodrich J K, Cullender T C, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy[J]. Cell, 2012, 150(3): 470-480.
- [47] Kim S W, Weaver A C, Yan B S, et al. Improving efficiency of sow productivity: nutrition

- and health[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*(畜牧与生物技术杂志(英文版)), 2013, 4(3): 187-194.
- [48] Woods S C, Seeley R J, Cota D. Regulation of food intake through hypothalamic signaling networks involving mTOR[J]. *Annual Review of Nutrition*, 2008, 28(1): 295.
- [49] Weldon W C, Lewis A J, Louis G F, et al. Postpartum hypophagia in primiparous sows: II. Effects of feeding level during gestation and exogenous insulin on lactation feed intake, glucose tolerance, and epinephrine-stimulated release of nonesterified fatty acids and glucose[J]. *Journal of Animal Science*, 1994, 72(2): 395-403.
- [50] Dyck G W, Palmer W M, Simaraks S. Progesterone and luteinizing hormone concentration in serum of pregnant gilts on different levels of feed consumption[J]. *Canadian Veterinary Journal La Revue Veterinaire Canadienne*, 1980, 60(4): 877-884.
- [51] 张善超. 母猪产程过长综合征的发病原因及防治[J]. *中国猪业*, 2010, 5(2): 44-44.
- [52] Trowell H. Dietary fiber redefined[J]. *Lancet*, 1976, 1.
- [53] Guillemet R, Hamard A, Quesnel H, et al. Dietary fibre for gestating sows: effects on parturition progress, behaviour, litter and sow performance[J]. *Animal An International Journal of Animal Bioscience*, 2007, 1(6): 872-880.
- [54] Brouns F, Edwards S A, English P R. Effect of dietary fibre and feeding system on activity and oral behaviour of group housed gilts[J]. *Applied Animal Behaviour Science*, 1994, 39(3-4): 3-4.
- [55] Sapkota A, Marchant-Forde J N, Richert B T, et al. Including dietary fiber and resistant starch to increase satiety and reduce aggression in gestating sows[J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(5): 2117-2127.
- [56] Kristensen M, Jensen M G. Dietary fibres in the regulation of appetite and food intake. Importance of viscosity[J]. *Appetite*, 2011, 56(1): 65-70.
- [57] Smith U. Dietary fibre, diabetes and obesity[J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1987, 22(sup129): 151-153.
- [58] 李玉分, 李哲. 妊娠母猪便秘的原因及其治疗方法[J]. *现代畜牧科技*, 2015, (2): 80-80.
- [59] Guy-Pierre Martineau D, Ms B B S, Dvm., B éatrice Doiz é D. Pathogenesis, Prevention, and Treatment of Lactational Insufficiency in Sows[J]. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 1992, 8(3): 661.
- [60] Linetzky W D, Alves Pereira C C, Logullo L, et al. Microbiota benefits after inulin and partially hydrolyzed guar gum supplementation: a randomized clinical trial in constipated women[J]. *Nutrici ón Hospitalaria*, 2012, 27(1): p ágs. 123-129.
- [61] Tan C Q, Wei H K, Sun H Q, et al. Effects of supplementing sow diets during two gestations

with konjac flour and *Saccharomyces boulardii* on constipation in peripartal period, lactation feed intake and piglet performance[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2015, 210: 254-262.

- [62] Cheng C, Wei H, Xu C, et al. Maternal Soluble Fiber Diet during Pregnancy Changes the Intestinal Microbiota, Improves Growth Performance, and Reduces Intestinal Permeability in Piglets[J]. *Applied and environmental microbiology*, 2018: AEM. 01047-18.
- [63] Sun H Q, Zhou Y F, Tan C Q, et al. Effects of konjac flour inclusion in gestation diets on the nutrient digestibility, lactation feed intake and reproductive performance of sows[J]. *Animal*, 2014, 8(7): 1089.
- [64] Tan C Q, Sun H Q, Wei H K, et al. Effects of soluble fiber inclusion in gestation diets with varying fermentation characteristics on lactational feed intake of sows over two successive parities[J]. *animal*, 2018, 12(7): 1388-1395.
- [65] Tan C, Wei H, Zhao X, et al. Effects of dietary fibers with high water-binding capacity and swelling capacity on gastrointestinal functions, food intake and body weight in male rats[J]. *Food & Nutrition Research*, 2017, 61(1): 1308118.

肌肉发育与营养调控

黄志清 陈小玲 余冰 虞洁 陈代文^{14*}

(四川农业大学动物营养研究所, 成都 611130)

摘要: 肌肉发育与营养调控重点探索肌肉发育机理, 揭示营养调控肌肉发育及肉品质的作用机制, 为营养改善肉品质奠定理论和技术基础。本文综述了四川农业大学动物营养研究所在营养调控肌肉干细胞定向分化、成肌细胞增殖分化、肌纤维类型形成、肌纤维类型转化和猪肉品质方面的主要研究进展。

关键词: 肌肉发育; 营养调控; 肌纤维; 猪肉品质

随着养猪业的集约化发展和猪的育种改良工作不断开展, 猪的生长速度和胴体瘦肉率等经济性状大幅提升, 然而猪肉品质却出现不同程度的下降。近年来, 人们对猪肉品质的要求逐渐提高, 肉品质问题也越来越受到社会各界的关注。猪的骨骼肌重量占体重的 40%-60%, 是提供畜产品的主要部分, 骨骼肌的生长发育与生长性能密切相关, 并且直接影响着肉品质和养殖者的经济效益。肌纤维是构成肌肉组织的基本结构单位, 肌纤维类型及组成是肌肉生长和肉品质的生化和分子生物学基础, 它不仅决定猪骨骼肌的生长发育, 而且还影响猪肉的生理生化特性、感官品质及宰后鲜肉的品质^[1]。

营养是影响肌肉发育的重要因素之一。本研究团队旨在探究营养调控肌肉发育的潜在机制, 进而通过营养措施调控肌肉发育, 以达到提高猪肉品质的目的, 为高效生产优质猪肉提供理论依据和技术指导。

1 肌肉发育与肉品质

1.1 肌肉发育

肌肉发育起源于中胚层体节的生肌节内的干细胞(生肌前体细胞), 其定向分化成为成肌细胞, 成肌细胞不断进行增殖、分化并相互融合形成肌管, 随着肌管内肌原纤维数增加、肌动蛋白的出现, 细胞核逐渐向周缘移动, 最终形成骨骼肌纤维。肌纤维是肌肉的基本组成单位, 其在发育成熟的过程中高度分化为 4 种类型: 慢速氧化型(I 型, 表达 MyHC I)、快速氧化型(IIa 型, 表达 MyHC IIa)、快速酵解型(IIb 型, 表达 MyHC IIb)和中间型肌纤维(IIx 型, 表达 MyHC IIx)。但是这 4 种表型并不是一成不变的, 它可随生理环境而发生改变, 且由慢向快或由快向慢的方向进行肌纤维转化: $I \leftrightarrow IIa \leftrightarrow IIx \leftrightarrow IIb$ ^[1]。

1.2 肌纤维类型与肉品质

作为家畜主要经济性状的肉品质主要取决于肌肉的颜色、pH 值、系水力、嫩度、肌内

基金项目: “973”计划项目课题(2004CB117506, 2012CB124701); 国家自然科学基金(30972119, 31272459, 31372323, 31472108, 31472110, 31672432); 国家重点研发计划项目课题(2018YFD0500403)

作者简介: 黄志清(1976-), 男, 江西东乡人, 研究员, 博士生导师, 主要从事猪肉品质形成机理与营养调控研究。E-mail: zqhuang@sicau.edu.cn

*通讯作者: 陈代文, 教授, 博士生导师, E-mail: chendwz@sicau.edu.cn

脂肪和风味物质的含量等。氧化型肌纤维（I 型和 IIa 型）肌红蛋白、磷脂含量较高，糖原含量和 ATPase 活性较低，肌纤维直径较细，厌氧酶含量低，有氧代谢能力强，而酵解型肌纤维（IIb 型）则相反。IIx 型的特性则介于氧化型肌纤维和酵解型肌纤维之间。当氧化型肌纤维比例较高时，肌肉的肉色、pH 值、大理石纹评分和肌肉脂肪含量较高，肌肉细嫩，肌肉的保水性能较高。

2 肌肉发育与营养调控研究进展

2.1 干细胞定向分化与营养调控

间充质干细胞（mesenchymal stem cells, MSCs）具有成肌、成脂和成骨分化潜能。我们从 MSC 的来源出发，比较了成年小鼠脂肪（ADSCs）、肌肉（MDSCs）及胎鼠肌肉组织（FMSCs）来源的间充质干细胞的生物学特性，发现 MDSCs 和 FMSCs 比 ADSCs 具有更高的成肌和成骨分化能力，而 ADSCs 和 MDSCs 比 FMSCs 具有更高的成脂分化潜能^[2]。

我们探究了肌肉生长抑制素（myostatin）和精氨酸对猪肌肉来源的间充质干细胞（pMDSCs）成脂分化的影响，发现 myostatin 抑制 pMDSCs 成脂分化，而补充精氨酸可以部分通过促进成脂转录因子 1（ADD1）和过氧化物酶体增殖物激活受体 β （PPAR β ）表达来缓解 myostatin 的抑制作用^[3]。

配对盒转录因子 3（Pax3）及其旁系同源盒转录因子 7（Pax7）可调节骨骼肌纤维的分化，在肌肉发育中起关键作用。我们发现，Pax3⁺/Pax7⁻卫星细胞群（SCs）表现出更高的增殖能力，而 Pax3⁻/Pax7⁺ SCs 具有更高的分化能力^[4]。

2.2 骨骼肌卫星细胞和成肌细胞增殖分化与营养调控

miRNA 在骨骼肌发育和调控肌细胞增殖分化中发挥了重要的作用。我们发现，miR-27a 通过下调 Myostatin 表达，从而促进 C2C12 细胞和猪成肌细胞增殖^[5,6]。除此之外，我们发现 miR-27a 过表达可以通过增加肌球蛋白重链（MyHC）阳性细胞数量，上调 MyoD 和肌细胞生成素的 mRNA 和蛋白质水平，从而促进 C2C12 细胞成肌细胞分化^[7]。有趣的是，我们之后在猪的成肌细胞分化过程中却发现，miR-27a 的过表达降低了 Myogenin 的 mRNA 和蛋白水平以及 p-Akt/Akt 的水平，并且提高了 FoxO1 的蛋白质水平，从而抑制 Myogenin 表达和 Akt / FoxO1 信号通路^[8]，具体原因有待于进一步研究。

肌肉生长抑制素（Myostatin）是骨骼肌生长发育负调控子。我们发现，在 C2C12 细胞增殖和分化过程中，Myostatin 可以激活 JNK 信号通路，从而调控成肌细胞增殖和分化^[9]。Akirin2 是一个与免疫反应相关的基因，其在骨骼肌发生中也起着重要作用。我们克隆了猪 Akirin2 基因^[10]并发现其可促进猪骨骼肌卫星细胞的增殖和分化^[11]。

在营养调控方面，我们发现亮氨酸可以通过上调 miR-27a 和下调 Myostatin 的表达，从而促进 C2C12 细胞增殖^[12]。而在猪成肌细胞分化过程中加入亮氨酸，可以增加肌酸激酶（CK）活性，并增加成肌分化标志物—MyoD 和 Myogenin 的 mRNA 和蛋白质表达水平，通过 Akt/FoxO1 通路促进猪成肌细胞分化^[13]。

2.3 肌纤维类型形成及转化与营养调控

配对盒转录因子 3 (Pax3) 及其旁系同源转录因子 7 (Pax7) 在维持卫星细胞群发挥关键作用。我们发现, 源自 Pax3⁺ / Pax7⁺ 卫星细胞的肌管倾向于表达慢肌球蛋白重链并且表现出节律性收缩, 而源自 Pax3⁻ / Pax7⁺ 卫星细胞的肌管主要表达以瞬时收缩为特征的快肌球蛋白重链^[4]。

Sox6 为 Sox 家族的成员, 是肌纤维类型转化的重要调控因子, 影响肌肉中 I 型肌纤维的含量。我们克隆了猪 Sox6 (pSox6) 基因^[14]并在体外水平证实其可下调 MyHC I 表达和上调 MyHC IIa、MyHC IIx 和 MyHC IIb 的表达^[14]。进一步研究发现, 4 mg /头 pSox6 蛋白主动免疫生长育肥猪可显著提高背最长肌中肌肉 a* (红度) 值和大理石纹评分从而改善猪肉品质, 并显著上调背最长肌中 MyHC I 的表达^[15]。miR-499-5p 因与 Sox6 的表达呈负相关而得到我们关注。我们发现, miR-499-5p 通过下调 Sox6 表达促进猪氧化型肌纤维的形成^[16]。研究还发现, miR-499-5p 通过 NFATc 1/MEF2C 途径和 Thrap1/MEF2C 轴促进氧化型肌纤维的形成 (未发表数据)。此外, 我们发现 miR-139-5p 通过抑制钙调神经磷酸酶 (CaN) -活化 T 细胞的核因子 (NFAT) 信号途径抑制 MyHC I 和 MyHC IIa 的表达, 暗示 miR-139-5p 是氧化型肌纤维形成的抑制因子^[17]。

除了在猪骨骼肌卫星细胞增殖分化中发挥作用外, Akirin2 在肌纤维类型形成和转化中也发挥了重要的作用。我们的研究发现, 过表达猪 Akirin2 增加了 MyHC I 和 MyHC IIa 的 mRNA 表达, 降低了 MyHC IIb 的 mRNA 表达, 并上调 CaN 的主要下游效应物—肌细胞增强因子 2 (MEF2) 和 NFAT 的 mRNA 表达, 以 CaN/NFATc1 信号传导途径调节肌纤维类型转化^[18]。我们在猪骨骼肌卫星细胞上的研究表明, Akirin2 通过 CaN/NFATc1 信号通路促进猪慢肌纤维的形成^[19]。精氨酸是一种条件必需氨基酸, 是一氧化氮合酶的唯一天然底物, 是 NO 合成的前体。我们在猪骨骼肌卫星细胞上的研究表明, 精氨酸具有促进猪慢肌纤维形成的功能且 Akirin2 是其发挥作用的靶标之一^[20]。小鼠体内外研究表明, 精氨酸通过 Sirt1/AMPK 信号通路促进骨骼肌由快肌向慢肌转化^[21]。

除了参与调控成肌细胞增殖分化外, miR-27a 也参与调控猪肌纤维类型转化。我们的研究表明, miR-27a 通过 Akt/FoxO1 信号通路促进猪肌纤维类型由慢肌向快肌转化^[22]。同样, 亮氨酸除了参与成肌细胞增殖分化外, 也参与了猪肌纤维类型转化。我们发现, 亮氨酸通过 Akt/FoxO1 信号通路促进猪肌纤维类型由快肌向慢肌转化且 miR-27a 为其中的一个作用靶点^[22]。

成纤维细胞生长因子 21 (FGF21) 是一种代谢调节因子, 也表达于肌肉组织中。我们的研究表明, FGF21 可以通过与细胞膜上的受体结合, 进而激活 AMPK-PGC1 α 信号通路调节肌纤维类型由快肌转化为慢肌^[23]。

我们从母体营养出发, 研究发现妊娠母猪适度降低能量摄入或增加能量摄入, 均会通过影响线粒体生物功能, 而影响胎儿肌肉发育^[24-26]。而以高脂饲料饲喂宫内发育迟缓 (IUGR)

猪，同样会影响线粒体功能，影响肌肉发育^[27]。我们在母猪饲料添加 25-羟基维生素 D3，结果发现，25-羟基维生素 D3 通过上调后代肌肉维生素 D 受体表达量，调节生肌因子表达量，促进后代肌纤维数量的增加、直径的增粗^[28]。

我们从生后营养出发，研究了能量水平、蛋白水平、淀粉、微量元素、脂肪酸和植物提取物对肌纤维类型形成的影响。我们发现适度降低育肥猪日粮中能量和蛋白质水平，猪背最长肌中肌原纤维的降解增加，钙蛋白酶（ μ -Calpain^[29]）。淀粉是大多数单胃哺乳动物饲料中的主要可消化碳水化合物，而日粮中直链淀粉与支链淀粉比值与机体消化吸收密切相关。我们对直链淀粉与支链淀粉高比值（HR）日粮与低比值（LR）日粮进行研究，发现 HR 日粮会下调背最长肌中 I 型和 IIx 型肌纤维表达，并下调腰大肌 IIx 型肌纤维表达，同时上调背最长肌和腰大肌 IIb 型肌纤维表达^[30]。微量元素对于机体各项生命活动的正常运转起着重要作用。我们的研究发现，大鼠日粮中添加 L-天冬氨酸镁上调葡萄糖转运载体 4 的 mRNA 表达，从而促进大鼠肌糖原合成，抑制糖原降解成乳酸，同时降低腓肠肌快肌纤维比例，提高其慢肌纤维比例^[31]。而在育肥猪宰前 1 周添加 2000 mg/kg L-天冬氨酸镁，可以提高背最长肌 IIa 型肌纤维比例，降低 IIb 型肌纤维比例^[31]。短链脂肪酸对机体的健康发育至关重要。我们探究了饲料添加丁酸钠对肌纤维类型形成的影响，结果发现丁酸钠通过抑制 FoxO1 的活性和上调 MEF2C 表达从而促进小鼠氧化型肌纤维的形成^[32]。

3 营养与猪肉品质研究进展

3.1 能量来源与水平

能量来源对生长肥育猪的肉品质具有显著的影响。我们的研究发现，饲喂小麦-豆粕型饲料的肥育猪较饲喂玉米-豆粕型饲料的猪相比，其平均背膘厚显著降低、眼肌面积显著增加、剪切力显著降低^[33]。饲料油脂来源也显著影响猪肉品质。研究表明，与大豆油相比，鸭油提高生长肥育猪背最长肌肌内脂肪含量，降低剪切力^[34]。饲料淀粉来源同样会影响猪肉品质。低直支比淀粉可降低猪肉剪切力，从而改善肉质^[30]。在饲料能量水平方面，我们的研究发现，提高饲料消化能水平（11.75MJ/kg、13.05 MJ/kg 和 14.36 MJ/kg）缩短育肥时间、增加背膘厚、提高外周脂肪和肌内脂肪含量，对肉质指标无显著影响^[35]。而限制能量摄入（每日自由采食消化能的 80%）降低肥育猪的背膘厚、肌肉脂肪含量，增加眼肌面积，有利于提高瘦肉率^[36]。

3.2 维生素 E

研究发现，在生长育肥猪饲料中添加 250 或 200 mg/kg VE 不影响猪的屠宰性能，但可明显延长猪肉贮存期，且添加时间越长，其效果越明显^[37]。

3.3 镁

镁是体内许多酶的辅助因子，可以有效减少糖酵解和 PSE 肉的发生。结果表明，宰前 7 天饲料添加天冬氨酸镁（MgAsp）提高肉色评分、降低滴水损失，从而提高猪肉品质，且其添加量在 2500-3200mg/kg 时，效果最佳^[38]。

3.4 白藜芦醇

我们研究了饲粮添加白藜芦醇对育肥猪肌肉发育和肉品质的影响,结果表明,饲粮添加白藜芦醇提高了背最长肌 MyHC IIa mRNA 水平,降低了 MyHC IIb mRNA 水平并减少了肌纤维横截面积,显著降低背膘厚、宰后 24h 肌肉 L* (亮度) 值、剪切力和滴水损失,显著提高宰后 24h 肌肉 pH 值和 a* (红度) 值,从而提高猪肉品质^[39]。

3.5 丁酸钠

小鼠上,我们发现饲粮添加丁酸钠可促进氧化型肌纤维的形成^[32]。进一步我们考察了饲粮添加丁酸钠对育肥猪骨骼肌纤维类型和肉品质的影响,结果表明,饲粮添加丁酸钠(3000 mg/kg)显著提高了育肥猪背最长肌的 pH_{24h}、a*_{45 min}、肌内脂肪含量和大理石纹评分,显著降低了 L*_{24h} 和剪切力,从而提高猪肉品质^[40],其机制与饲粮添加丁酸钠促进育肥猪提高氧化型肌纤维比例和提高 miR-378b-3p 表达有关^[40]。

4 小结与展望

肌肉发育是一个相互连结的过程,肌纤维类型及组成与肉品质密切相关。我们以肌肉发育过程为主线,探索了肌肉干细胞定向分化、成肌细胞增殖分化、肌纤维类型形成和肌纤维类型转化及其营养调控,初步阐明营养对肌肉发育的调控机制。由于肌肉发育是一个极其复杂的过程,很多潜在的机制有待于深入研究。继续开展肌肉发育与营养调控,重点开展肌纤维类型形成及转化对于深入了解肌肉的发育过程和高效生产优质猪肉具有重大的理论意义和实践价值。

参考文献:

- [1] PETTE D, STARON RS. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers [J]. Reviews of Physiology Biochemistry & Pharmacology, 1990, 116(116): 1.
- [2] LEI HL, YU B, HUANG ZQ, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from adult mouse adipose, muscle, and fetal muscle [J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(2): 885-892.
- [3] 雷胡龙. Myostatin 和 Arg 对猪间充质干细胞成脂分化的调控作用[D]. 博士学位论文, 四川雅安: 四川农业大学, 2011.
- [4] YANG QM, YU J, YU B, et al. PAX³⁺ skeletal muscle satellite cells retain long-term self-renewal and proliferation [J]. Muscle & Nerve, 2016, 54(5): 943-951.
- [5] HUANG ZQ, CHEN XL, YU B, et al. MicroRNA-27a promotes myoblast proliferation by targeting myostatin [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2012, 423(2): 265-269.
- [6] YANG T, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. MicroRNA-27a promotes porcine myoblast proliferation by downregulating myostatin expression [J]. Animal, 2014, 8(11): 1867-1872.

- [7] CHEN XL, HUANG ZQ, CHEN DW, et al. Role of microRNA-27a in myoblast differentiation [J]. *Cell Biology International*, 2014, 38(2): 266-271.
- [8] ZHANG SR, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. Effects of microRNA-27a on myogenin expression and Akt/FoxO1 signal pathway during porcine myoblast differentiation [J]. *Animal Biotechnology*, 2018, 29(3): 183-189.
- [9] HUANG ZQ, CHEN DW, ZHANG KY, et al. Regulation of myostatin signaling by c-Jun N-terminal kinase in C2C12 cells [J]. *Cellular Signalling*, 2007, 19(11): 2286-2295.
- [10] CHEN XL, HUANG ZQ, JIA G, et al. Molecular cloning, tissue distribution, and functional analysis of porcine Akirin2 [J]. *Animal Biotechnology*, 2012, 23(2): 124-131.
- [11] CHEN XL, LUO YL, HUANG ZQ, et al. Akirin2 regulates proliferation and differentiation of porcine skeletal muscle satellite cells via ERK1/2 and NFATc1 signaling pathways [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 45156.
- [12] CHEN XL, HUANG ZQ, CHEN DW, et al. MicroRNA-27a is induced by leucine and contributes to leucine-induced proliferation promotion in C2C12 cells [J]. *International Journal of Molecular Science*, 2013, 14(7): 14076-14084.
- [13] ZHANG SR, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. Leucine promotes differentiation of porcine myoblasts through the protein kinase B (Akt)/Forkhead box O1 signalling pathway [J]. *British Journal of Nutrition*, 2018, 119(7): 727-733.
- [14] WEN WX, CHEN XL, CHEN DW, et al. Cloning and functional characterization of porcine Sox6 [J]. *Turkish Journal of Biology*, 2016, 40(1): 160-165.
- [15] WANG XQ, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. Effects of active immunization against porcine Sox6 on meat quality and myosin heavy chain isoform expression in growing-finishing pigs [J]. *Animal Biotechnology*, 2018, doi:10.1080/10495398.2018.1481416.
- [16] WANG XY, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. MicroRNA-499-5p regulates porcine myofiber specification by controlling Sox6 expression [J]. *Animal*, 2017, 11(12): 2268-2274.
- [17] XU M, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. MicroRNA-139-5p suppresses myosin heavy chain I and IIa expression via inhibition of the calcineurin/NFAT signaling pathway [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 500(4): 930-936.
- [18] CHEN XL, LUO YL, ZHOU B, et al. Effect of porcine Akirin2 on skeletal myosin heavy chain isoform expression [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(2): 3996-4006.
- [19] CHEN XL, LUO YL, HUANG ZQ, et al. Akirin2 promotes slow myosin heavy chain expression by CaN/NFATc1 signaling in porcine skeletal muscle satellite cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 25158-25166.

- [20] CHEN XL, GUO YF, JIA G, et al. Arginine promotes slow myosin heavy chain expression via Akirin2 and the AMP-activated protein kinase signaling pathway in porcine skeletal muscle satellite cells [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(18): 4734-4740.
- [21] CHEN XL, GUO YF, JIA G, et al. Arginine promotes skeletal muscle fiber type transformation from fast-twitch to slow-twitch via Sirt1/AMPK pathway [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2018. (接收待刊)
- [22] 张树润. 亮氨酸与 miR-27a 影响猪成肌细胞分化和肌纤维类型转化的机理研究[D]. 硕士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2018.
- [23] 关丹丹. 成纤维细胞生长因子 21 对骨骼肌肌纤维类型的影响及其机制研究[D]. 硕士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2016.
- [24] ZOU TD, YU B, YU J, et al. Mitochondrial biogenesis is decreased in skeletal muscle of pig fetuses exposed to maternal high-energy diets [J]. *Animal*, 2016, 11(1): 54-60.
- [25] ZOU TD, YU B, YU J, et al. Moderately decreased maternal dietary energy intake during pregnancy reduces fetal skeletal muscle mitochondrial biogenesis in the pigs [J]. *Genes and Nutrition*, 2016, 11(1): 19.
- [26] ZOU TD, HE DT, YU B, et al. Moderate maternal energy restriction during gestation in pigs attenuates fetal skeletal muscle development through changing myogenic gene expression and myofiber characteristics [J]. *Reproductive Sciences*, 2016, 24(1): 156-167.
- [27] LIU JB, CHEN DW, YAO Y, et al. Intrauterine growth retardation increases the susceptibility of pigs to high-fat diet-induced mitochondrial dysfunction in skeletal muscle [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34835.
- [28] 周辉. 饲料添加 25-羟基维生素 D3 对初产母猪繁殖性能及后代骨骼、肌肉发育的影响[D]. 硕士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2015.
- [29] TANG RY, YU B, ZHANG KY, et al. Effects of nutritional level on pork quality and gene expression of μ -calpain and calpastatin in muscle of finishing pigs [J]. *Meat Science*, 2010, 85(4): 768-771.
- [30] YANG C, CHEN DW, YU B, et al. Effect of dietary amylose/amylopectin ratio on growth performance, carcass traits, and meat quality in finishing pigs [J]. *Meat Science*, 2015, 108: 55-60.
- [31] 吴周燕. 饲料添加 L-天冬氨酸镁对肌纤维类型和猪肉品质的影响[D]. 硕士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2016.
- [32] CHANG S, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. Dietary sodium butyrate supplementation promotes oxidative fiber formation in mice [J]. *Animal Biotechnology*, 2018, 29(3): 212-215.
- [33] 叶小刚. 能量和蛋白质来源对育肥猪生长性能和肉质的影响[D]. 硕士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2013.

- [34] 朱立. 鸭油的营养价值及其对生长育肥猪生产性能、胴体性状和肉品质的影响研究[D]. 硕士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2014.
- [35] 刘作华. 日粮能量水平对猪肌内脂肪沉积的影响及作用机制研究[D]. 博士学位论文, 四川雅安: 四川农业大学, 2008.
- [36] 王丽. 饲粮能量水平和来源对育肥猪骨骼肌脂肪代谢相关基因表达的影响[D]. 硕士学位论文, 四川雅安: 四川农业大学, 2009.
- [37] 李永义. 饲粮添加高铜和 VE 对猪生产性能及猪肉品质的影响研究[D]. 硕士学位论文, 四川雅安: 四川农业大学, 2000.
- [38] 李绍钦. 饲粮短期高剂量添加天冬氨酸镁、氯化钙对猪肉品质的影响[D]. 硕士学位论文, 四川雅安: 四川农业大学, 2003.
- [39] ZHANG C, LUO JQ, YU B, et al. Dietary resveratrol supplementation improves meat quality of finishing pigs through changing muscle fiber characteristics and antioxidative status [J]. Meat Science, 2015, 102: 15-21.
- [40] 张勇. MicroRNA-378b-3p 对猪骨骼肌纤维类型转化的调节作用及其机制[D]. 博士学位论文, 四川成都: 四川农业大学, 2018.

动物肠道微生物-肠-脑轴的研究进展

高 侃 慕春龙 朱伟云¹⁵

(动物消化道营养国家级国际联合研究中心, 江苏省消化道营养与动物健康重点实验室, 南京农业大学消化道微生物研究室, 南京 210095)

摘 要: 肠道微生物群能够调节宿主肠道稳态, 同时肠道菌群也参与调节宿主神经系统功能和行为。近年来, 有关肠道微生物与机体神经系统间的互作研究受到广泛的关注。肠道菌群失调可能导致宿主神经系统功能障碍, 从而引起神经退行性疾病的产生。因此, 研究微生物在肠-脑轴中发挥的作用及其机制, 通过靶向调控肠道微生物菌群结构和功能, 将为神经系统疾病的诊断与治疗提供新的手段。本文结合实验室有关微生物-肠-脑轴的最新研究成果, 综述了肠道微生物对宿主神经发育、情绪、食欲、认知和行为等方面的调节作用, 以及肠道微生物与宿主间的互作在调节神经功能、行为的潜力等研究的进展, 为更好地了解肠道微生物在调控宿主神经系统功能和行为的作用机制提供参考依据。

关键词: 肠道微生物; 微生物代谢产物; 肠-脑轴

肠道微生物基因组比宿主(人和动物)基因组含有更多的基因。肠道菌群功能多样, 主要参与碳水化合物代谢、纤维降解和免疫应答等。此外, 肠道菌群也参与调节宿主的神经生理功能, 如应激、自闭症和疼痛等。肠道菌群主要通过免疫、内分泌和神经通路等途径调控神经生理功能。大量研究已经表明肠脑间的通信是双向的: 一方面, 肠道微生物菌群结构的改变会影响宿主的行为; 另一方面, 宿主行为上的变化能够影响肠道菌群的组成。肠道微生物菌群结构受到许多环境因素和宿主相关因素的影响。由于肠道菌群组成的变化与宿主认知和行为的改变密切相关, 因此, 健康、稳定、多样的肠道微生物菌群对于微生物-肠-脑轴至关重要。

宿主(人和动物)肠道内包含有超过 1000 多种的微生物。宿主(如人和猪等)的肠道微生物在分布上具有区室化、动态性等特点。具有不同代谢和免疫调节能力的微生物定植在肠道内, 与宿主形成复杂的互作网络。肠道微生物的复杂性、多样性、稳定性和恢复力, 使肠道菌群能够更好地适应肠道内环境。不同的因素, 如基因型、日粮、炎症等, 均会影响肠道微生物菌群组成和功能(图 1)。比如, 不同基因型背景的仔猪(梅山猪和约克夏猪)肠道微生物菌群组成具有明显差异。日粮会影响肠道菌群的组成。在猪模型上, 长期饲喂抗性淀粉会引起生长猪结肠微生物菌群结构的改变。肠道不同区室微生物, 如肠腔微生物和肠黏膜微生物, 在菌群组成和氨基酸利用能力上存在明显差异。此外, 这些改变肠道微生物组成的因素同样能够影响宿主的肠神经系统和中枢神经系统功能(图 1)。

基金项目: 国家自然科学基金(31430082); 国家重点基础研究发展计划项目(973 项目)(2013CB127300)

¹⁵通讯作者: 朱伟云, 教授, 博士生导师, E-mail: zhuweiyun@njau.edu.cn

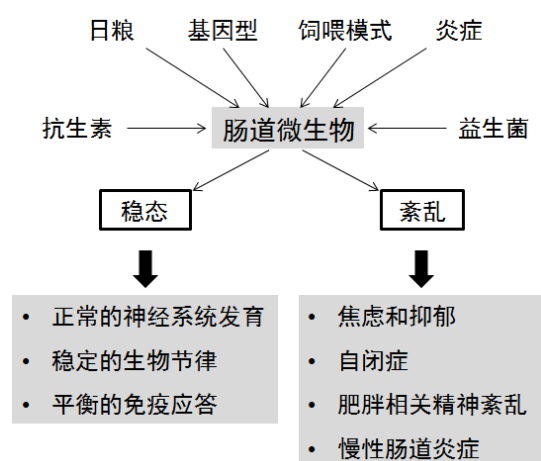


图 1 影响肠道微生物菌群结构的因素及其对神经系统的影响

Fig.1 Factors driving the variation of gut microbiota may affect brain function

肠道微生物菌群参与调控宿主神经系统的发育过程。肠神经系统主要影响肠道蠕动，并负责将神经信号传入中枢神经系统。与正常小鼠相比较，无菌小鼠空肠和回肠的肌间神经丛结构发生改变，该结构性改变与神经密度的降低和神经元数量的减少有关，表明肠道微生物对维持肠道内神经元数量具有重要作用。此外，肠道微生物对机体中枢神经系统的发育过程至关重要。脑源神经营养因子作为一类重要的神经营养因子，促进神经细胞的成熟和分化。与正常小鼠相比较，无菌小鼠脑部海马区和杏仁核脑源神经营养因子表达水平较低，同时伴随着脑部神经成熟过程迟缓，进一步表明了宿主中枢神经发育过程受肠道微生物介导。

肠道微生物菌群参与调控宿主神经功能和行为的调控。与正常小鼠相比，无菌 Swiss 小鼠和 NMRI 小鼠焦虑水平较低。相反的，一些研究发现无菌 F344 大鼠和 BALB/c 小鼠的焦虑水平较高。以上研究表明，肠道微生物能够影响宿主产生焦虑情绪的敏感性。食欲在很大程度上受到肠-脑轴的调节，主要通过平衡能量摄入和消耗来控制能量平衡，从而保持机体的能量储备。肠道菌群通过影响胃肠激素的产生来调节食欲。目前已知微生物降解纤维后产生的短链脂肪酸（Short-chain fatty acid, SCFA）包括乙酸、丙酸和丁酸，能够促进胃肠激素（如酪酪肽和胰高血糖素样肽-1 等）的分泌。这些胃肠激素通过与肠神经系统特异性受体结合，将神经信号上传至中枢神经系统，进而调节机体食欲。此外，肠道微生物菌群组成的变化还与宿主认知、行为的改变密切相关。小鼠肠道微生物菌群数量及其菌群多样性的下降，伴随其认知能力的减退，以及探索性行为的减少。将抑郁患者的粪样移植至无菌受体小鼠肠道内会引起小鼠认知能力受损以及抑郁样行为的产生，进一步表明了肠道微生物在调控神经系统认知、行为等方面是一个重要的因果因素。

肠道微生物-宿主的互作是介导微生物-肠-脑轴的关键过程。微生物相关分子模式和模式识别受体间的互作是宿主识别微生物的重要机制。一些革兰氏阳性菌能够产生脂磷壁酸，作为宿主 Toll 样受体 2 (Toll-like receptor, TLR2) 的配体。TLR2 主要分布于小鼠肠神经元、神经胶质细胞和肠平滑肌表面。与正常小鼠相比，TLR2 基因缺失导致了小鼠肠神经系统结

构和神经生理功能发生紊乱，表明了 TLR2 是肠道微生物与肠神经系统间的重要媒介之一。脂多糖是革兰氏阴性菌外膜的组成成分，作为宿主 TLR4 的特异性配体。TLR4 识别脂多糖后会激活细胞下游免疫应答信号通路，继而诱发强烈的免疫因子表达。肠道炎症的产生会引起肠道屏障功能受损，使脂多糖、免疫因子等更多地进入血液循环。微生物源脂多糖通过与小鼠大脑皮质 TLR4 受体结合会引起脑部的炎症反应，进而导致其认知能力受损。此外，脂多糖-TLR4 信号通路的激活还会引起小鼠焦虑样行为。因此，细菌成分的易位及其对免疫系统的影响，可能在微生物-肠-脑轴调控过程中具有广泛的神经病理相关性。

肠道微生物能够代谢营养素产生多种代谢产物。目前已知微生物降解纤维产生的 SCFA 具有调控宿主神经功能的重要作用。此外，微生物介导的色氨酸代谢产物同样能够调控宿主神经功能。肠道菌群中的孢子形成类细菌（Spore-forming bacteria）能够促进结肠 5-羟色胺的合成，5-羟色胺被肠神经元表面的 5-羟色胺受体识别，从而参与调控肠道蠕动。此外，色氨酸被肠道微生物利用产生的代谢产物（如吲哚、吲哚-3-乙醛、吲哚-3-丙酸等），能够通过血液循环进入中枢神经系统，激活芳香烃受体信号通路，从而抑制脑部炎症反应。因此，微生物色氨酸代谢产物在微生物-肠-脑轴中具有重要的调控作用。

大量的研究通过无菌动物模型、抗生素干预等手段证实了微生物-肠-脑轴的存在。然而，肠道微生物调控神经功能的复杂机制还不完全清楚。如前所述，在宿主小肠和大肠中的微生物菌群的空间组成和分布不同。以猪肠道为例，与小肠微生物($10^3 \sim 10^7$ CFU/mL)相比，大肠微生物数量更多($10^{11} \sim 10^{12}$ CFU/mL)，菌群组成更加多样，同时具有较强的发酵能力。那么，小肠和大肠中的微生物菌群是否对宿主微生物-肠-脑轴做出了相同的贡献？为了解决这一科学问题，采取合适的微生物靶向干预手段至关重要。

因此，实验室首次利用瘦管猪作为研究对象，通过回肠末端瘘管灌注抗生素混剂（氨苄西林、庆大霉素和甲硝唑）特异性地干预大肠微生物菌群，分析大肠微生物区系改变对生长猪脑部神经功能的影响。研究发现，回肠末端抗生素灌注特异性地引起了大肠微生物区系的改变。大肠微生物碳水化合物代谢减弱，而芳香族氨基酸代谢增强。芳香族氨基酸包括色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸，在机体中是一类非常重要的氨基酸，尤其是作为神经递质 5-羟色胺和多巴胺的合成前体。研究发现，抗生素回肠末端灌注后，大肠、血液和下丘脑中的芳香族氨基酸浓度下降，同时伴随着血液和下丘脑 5-羟色胺和多巴胺浓度的下降。以上研究结果揭示了大肠微生物可能通过介导芳香族氨基酸浓度参与脑部神经递质的表达调控（图 2）。

综上所述，肠道微生物菌群与宿主神经功能密切相关，因此，健康、稳定、多样的肠道微生物菌群对于维持宿主神经功能稳定至关重要。宿主（人和动物）肠道不同区室间的微生物在组成、数量和功能上存在差异。因此，结合实验室的最新研究成果，通过特异性干预肠段微生物区系来调控宿主神经系统功能的潜在手段将为临床医学领域中神经疾病的治疗提供新的思路。

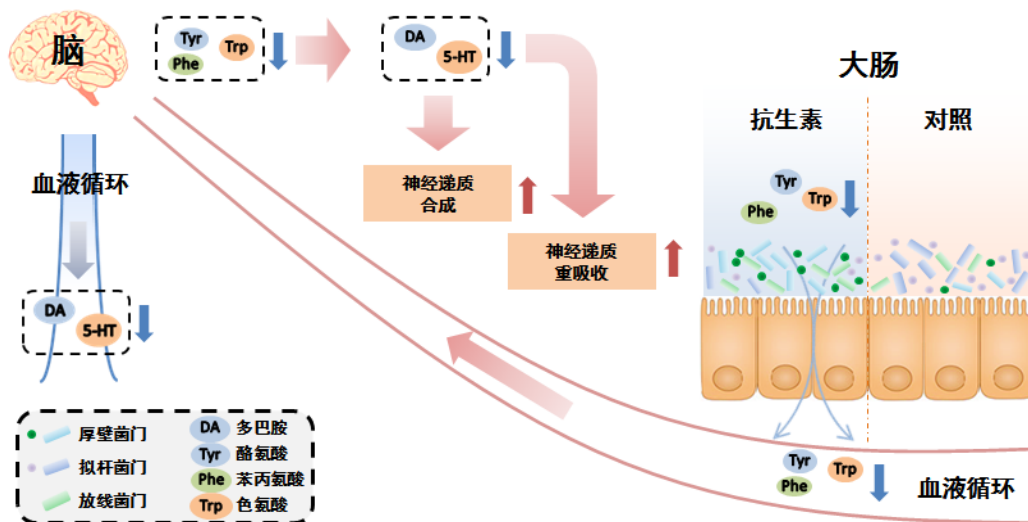


图 2 大肠微生物参与生长猪下丘脑神经递质表达调控的模型

Fig.2 The model of the changes of the hypothalamic neurotransmitter expressions after the antibiotic infusion

猪碳水化合物营养及其平衡模式

何 军¹ 余 冰¹ 郑 萍¹ 罗钧秋¹ 罗玉衡¹ 陈代文¹⁶

(¹四川农业大学动物营养研究所, 动物抗病营养教育部重点实验室, 成都 611130)

摘 要: 碳水化合物是谷物类饲料的主要营养成分, 也是猪等单胃动物最重要的能量来源, 按其结构可分为淀粉和非淀粉多糖 (NSP) 两类。不同来源碳水化合物因其淀粉和 NSP 的组成和含量不同, 导致其在动物体内产生不同的代谢效应, 其根本原因在于不同结构碳水化合物在肠道的消化速度、消化部位等存在差异, 本文就碳水化合物的分类、结构、消化代谢特征及其平衡模式进行综述, 以丰富碳水化合物营养理论, 促进其高效利用。

关键词: 碳水化合物; 消化; 猪; 平衡; 微生物

碳水化合物是机体的组成成分之一和猪等单胃动物最主要的能量来源, 并具有调节细胞活动的重要功能。机体中碳水化合物的存在形式主要有三种, 葡萄糖、糖原和含糖复合物。研究表明, 碳水化合物的生理功能与其种类和在机体内存在的形式有关, 如高支链淀粉饲喂的仔猪比普通淀粉饲喂的仔猪具有更强烈的“血糖-胰岛素”反应^[1, 2]。本文对猪日粮中碳水化合物的分类、结构、消化代谢特征及其平衡模式的研究进行综述, 以促进其高效利用。

1、碳水化合物来源及组成

猪饲料中的碳水化合物来源于多种原料, 如玉米、小麦、豆粕等均含有丰富的碳水化合物, 包括淀粉、单糖、寡糖和各种非淀粉多糖。其中, 淀粉是最重要的碳水化合物, 主要起供能的作用。由于不同阶段猪的饲料配方差异较大, 因此, 日粮中碳水化合物的种类和含量各不相同。如, 断奶仔猪日粮中通常含有较多的易消化吸收的单糖和双糖 (前者主要是葡萄糖和蔗糖, 后者主要来源于乳清粉), 但在生长肥育猪日粮中一般不额外添加这两类碳水化合物; 此外, 由于仔猪消化系统尚未发育完全, 其日粮中 NSP 等难消化的碳水化合物含量较低, 而生长肥育猪和母猪日粮中通常含有更多的 NSP 组分。各种杂粕及糠麸类饲料原料中均含有大量 NSP 组分, 在生长肥育猪和母猪上合理使用不仅可以降低饲料成本, 还能改善生产性能, 保障肠道健康^[3, 4]。

2、日粮碳水化合物的分类与结构特征

碳水化合物按其化学结构, 可分为单糖、双糖和多糖。其中, 单糖是最基本的构成单位, 如葡萄糖、果糖、半乳糖等。寡糖则由 2~10 个不等的单糖分子通过糖苷键连接而成, 如蔗糖、乳糖和麦芽糖等。多糖则是由 10 个以上的单糖分子通过糖苷键连接而成的长链聚合物, 如淀粉、糖原和非淀粉多糖等。猪对不同结构碳水化合物的消化能力存在差异, 其中,

基金项目: 农业部公益性行业科研专项 (201403047)

作者简介: 何 军 (1980—), 男, 重庆人, 研究员, 博士, 主要从事单胃动物营养学与饲料资源开发利用研究。E-mail: hejun8067@163.com

*通讯作者: 陈代文, 教授, 博士生导师, E-mail: chendwz@sicau.edu.cn

单、双糖和淀粉消化率高，可达 90%以上；纤维素等 NSP 组分消化率低，主要依靠后肠微生物的作用进行消化利用。

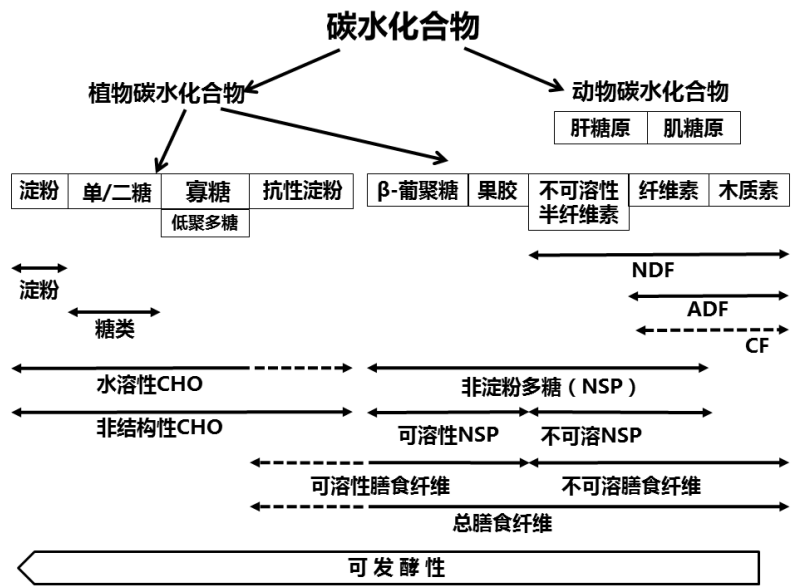


图 1. 碳水化合物分类

淀粉是谷物籽实中最主要的碳水化合物，但不同来源淀粉的结构和形成颗粒的方式也各不相同。按化学结构淀粉可分为两类，即支链淀粉和直链淀粉，它们都是由分支点的 α 糖苷键连接的线性片段。支链淀粉分子较大，一般由几千个葡萄糖残基组成，难溶于水，其分子中只有一个还原性末端，不显现还原性。通常谷物中支链淀粉含量较高（60~80%），对淀粉的理化特性和糊化特性起主要影响。直链淀粉则是由超过 1% 的长链分支形成的以单链为主的螺旋线性大分子。研究表明，支链淀粉和直链淀粉比例、大小、形态以及淀粉颗粒的粒径分布等决定了淀粉的物理化学特性^[5]。非淀粉多糖是由若干单糖通过糖苷键连接成的多聚体，包括除 α -葡聚糖以外的大部分多糖分子，根据其水溶性的差异，分为可溶性 NSP 与不溶性 NSP。由于 NSP 种类多，结构复杂，近年来人们认识到单纯依据其溶解度分类有失精准，如木聚糖，可分为可溶性和不溶性两类。通常 NSP 可分为 3 大类，即纤维素、半纤维素和果胶，其中半纤维素又包括木聚糖、 β -葡聚糖、甘露聚糖、半乳聚糖等。各种谷物和饼粕类饲料原料中均含有大量 NSP，如小麦含有较多的阿拉伯木聚糖，大麦和燕麦中则含有较多的 β -葡聚糖。猪等单胃动物本身不能分解 NSP，故其利用率低，且干扰动物对其它养分的消化吸收，因此人们将其视为一种抗营养因子，并通过在饲料中添加特异性酶制剂以消除其抗营养作用。

3、不同结构碳水化合物对猪肠道消化生理的影响

3.1 淀粉

淀粉是猪等单胃动物最重要的能量来源，但不同饲料原料中淀粉的存在形式和含量存在差异。宾石玉等（2005）采用等能、等氮和等淀粉日粮，比较了不同来源淀粉对仔猪生产性能和养分消化率的影响，发现与抗性淀粉相比，糯米和玉米淀粉显著提高仔猪平均日增重；

淀粉来源显著影响其在小肠不同部位的消化程度,日粮含支链淀粉越多,其消化率越高,消化速度越快^[6]。相振田(2010)利用纯淀粉配制的半纯合日粮也得到了类似的结果,且发现日粮淀粉来源显著影响仔猪肠道形态及微生物菌群。与木薯淀粉相比,含直链淀粉较多的豌豆淀粉可提高小肠绒毛高度和淀粉酶等消化酶活性,上调肠道发育相关基因GLP-2、IGF-1、IGF-1R及葡萄糖转运载体GLUT-2和SGLT-1表达水平;显著提高仔猪后肠食糜中乳酸杆菌和双歧杆菌等有益菌的数量^[7, 8]。杨灿(2015)在生长肥育猪上也得到了类似的研究结果,即适当提高日粮中淀粉直支链比例有利于猪只肠道健康^[9]。

3.2 非淀粉多糖

长期以来,人们将NSP视为一种抗营养因子,但近年的研究表明,NSP组分在调节动物肠道健康和代谢等方面具有重要作用^[3, 4]。与淀粉类似,不同饲料原料中NSP含量和种类差异较大,如与玉米相比,小麦型饲料中含有更多的阿拉伯木聚糖成分。Chen等(2015)比较了不同纤维源对仔猪和生长猪生产性能和肠道屏障功能的影响,结果发现,与玉米和大豆纤维相比,小麦和豌豆纤维可降低猪只腹泻、改善肠粘膜形态、提高后肠有益菌数量,上调肠道粘膜葡萄糖转运蛋白等基因表达水平^[10];进一步通过转录组分析发现,豌豆纤维的肠道保健作用与其参与粘膜免疫、凋亡和新陈代谢等多个信号通路的调控有关^[11]。由于猪等单胃动物本身并不产生可分解利用NSP的酶类,其消化道微生物分泌的各种NSP水解酶是饲料NSP组分得以消化利用的基础。赵瑶(2018)研究发现,饲料中添加15%的豌豆纤维或燕麦麸均可改善生长猪结肠粘液层防御能力,但豌豆纤维效果最佳,二者均能选择性促进生长猪后肠纤维分解菌增殖;其中豌豆纤维可显著提高猪后肠*Lactobacillus*和*Lachnospira*属菌群比例^[12]。

由于NSP组成和结构多样,究竟何种NSP组分在肠道健康中发挥了关键作用,尚不清楚。陈婷婷(2018)发现,与不溶性纤维相比,可溶性纤维可显著改善仔猪结肠屏障功能,提高短链脂肪酸产量,增加结肠微生物丰度与多样性^[13]。Wu等(2017)利用纯合日粮,研究了不同NSP组分对仔猪肠道发育和微生物菌群的影响,发现NSP对仔猪肠道调节作用与其结构密切相关,与纤维素相比,葡聚糖对肠道发育的促进作用更为明显,但二者效果均优于木聚糖;葡聚糖和纤维素均可显著提高后肠*Lactobacillus*等有益菌数量,增加丁酸产量;木聚糖不仅降低仔猪生产性能,还增加肠道*Proteobacteria*等有害菌数量,不利于仔猪肠道健康^[14, 15]。上述研究结果为进一步探明日粮纤维影响动物肠道健康的机理,筛选适宜纤维来源提供了重要参考。

3.3 单糖、双糖和低聚糖

除了淀粉和NSP外,猪饲料中的碳水化合物还包括各种单、双糖和低聚糖等。乳清粉是仔猪教槽料和保育料的重要原料,乳糖含量在60%以上,具有改善饲料适口性、减少腹泻和促进仔猪生长的作用,其原因在于乳糖在消化道内发酵可产生大量的乳酸,降低pH,从而抑制致病性细菌生长^[16]。除乳清粉外,蔗糖和葡萄糖也是仔猪保育料中的常用原料,

不仅为仔猪提供快速能源，还具有改善适口性，提高采食量的作用，二者配合使用可降低乳糖的用量。与 NSP 类似，寡糖和低聚糖等在前肠不被消化利用，但可作为后肠微生物良好的碳素来源，二者经微生物发酵后产生的挥发性脂肪酸（VFA）不仅为宿主提供部分能量，还对肠道健康起着特殊的调节作用。如日粮添加果寡糖（FOS）可增加断奶仔猪肠道粘膜厚度和丁酸产量，提高隐窝细胞数量，促进肠上皮细胞增值^[17]；生长猪日粮添加低聚木糖（XOS）不仅增加后肠丁酸含量，还显著提高乳酸杆菌数量^[18]；而日粮添加果胶寡糖则可改善仔猪肠道屏障功能，缓解轮状病毒对仔猪肠道的损伤^[19]。Wan 等（2017）发现，来源于甲壳类动物的壳寡糖可显著促进仔猪肠道粘膜生长，上调粘膜屏障关键蛋白 Occludin 表达水平^[20]；来源于褐藻的褐藻寡糖不仅增强仔猪免疫和抗氧化能力，还可通过上调肠道粘膜 SGLT1 和 DMT1 等表达水平，改善肠道吸收功能^[21]。寡糖和低聚糖因其绿色、安全和对肠道健康的特殊调节作用使其成为潜在的抗生素替代品之一。

4、不同结构碳水化合物对机体代谢的影响

不同结构碳水化合物在肠道的消化速度、消化部位和消化方式等存在差异，这种差异对机体整体代谢产生重要影响。研究表明，仔猪采食高支链淀粉日粮后显著提高血糖和血脂水平，导致更强烈的“胰岛素-血糖”反应^[2, 6]；日粮淀粉结构影响组织蛋白质合成率（FSR），与糙米和糯米淀粉相比，玉米淀粉显著提高仔猪肠道、胰脏和肝脏 FSR；含支链淀粉较多的糯米则增加尿氮排泄，降低总氮利用率^[6]。戴求仲（2004）利用多血管瘘技术研究了不同淀粉对生长猪门静脉主要代谢产物含量的影响，发现玉米淀粉增加门静脉血中葡萄糖含量，而糯米和抗性淀粉分别增加门静脉血中乳酸和 VFA 含量；与其它淀粉相比，抗性淀粉显著降低门静脉血中总氨基酸含量^[22]。研究表明，直链淀粉和支链淀粉比例是导致其代谢差异的重要原因，如采食低直支比（LR）淀粉饲料显著提高猪只血糖和血脂含量，促进肝脏和肌肉组织中脂肪合成代谢，提高肌肉中 I 型（氧化型）纤维比例^[23]。进一步研究发现，淀粉直/支链比例对肝脏和肌肉的糖脂代谢、细胞增殖分化等诸多信号通路产生影响，进而影响整体代谢^[24]。此外，日粮纤维来源对猪糖脂代谢也产生重要影响。如大豆纤维显著提高生长肥育猪血清甘油三酯和甲状腺素 T3、T4 水平，降低血清总蛋白和磷水平；与玉米纤维相比，大豆纤维和小麦纤维均显著减少背最长肌脂肪含量，小麦纤维显著增加肌肉蛋白质含量^[25]。赵瑶（2018）研究发现，燕麦纤维可显著降低生长猪血脂含量，下调猪背最长肌脂肪分解相关基因表达水平；豌豆纤维则可减少背最长肌 IIb 型纤维比例，下调肌肉 HK-2、PKM 等糖酵解相关基因表达水平，减少肌肉糖酵解^[12]。

5、日粮碳水化合物平衡模式

实践表明，采用相同营养素和营养水平的不同饲料配方，其应用效果差异很大，其根本原因在于营养源的差异，如用单体氨基酸按理想氨基酸模式配制的纯合饲料并不比玉米-豆粕型实用饲料的效果好。淀粉作为猪饲料中最重要的碳水化合物，有直链和支链淀粉之分，且不同来源淀粉的物理特性（如颗粒大小和存在形式等）也存在差异^[5]。与直链淀粉相比，

支链淀粉具有更高的消化速度和消化率,但直链淀粉可调节后肠微生物发酵,有利于肠道健康^[6, 7]。显然,饲料中直链和支链淀粉的比例对其营养生理效应产生重要影响。目前人们对碳水化合物与脂肪和蛋白质之间的平衡模式已有部分探索,但不同结构淀粉究竟以何种比例进行组合饲喂效果最佳,尚未见报道。此外,日粮纤维虽然对仔猪肠道健康具有积极作用,但饲料中纤维含量过高可降低有机物消化率和有效能值,且不同非淀粉多糖组分对仔猪肠道的保健作用存在差异^[10, 15]。因此,饲料中淀粉与各种非淀粉多糖组分之间也应有一个适宜的比例。在仔猪教槽料和保育料的配制中,有关碳水化合物之间的平衡尤为重要,如不同淀粉和纤维的比例、乳糖和蔗糖用量等均影响其饲喂效果。除此之外,作为功能性添加物的各种寡糖、低聚糖等,其营养生理效应也不尽相同。因此,碳水化合物营养的内涵不应仅局限于营养素和营养水平,更应包括碳水化合物的来源及其组合方式(平衡模式)。

6、总结

碳水化合物占猪饲料配方空间和成本的一半以上,且种类多、结构复杂、存在形式各异。传统营养学重点关注了碳水化合物的有效能值,但忽略了不同结构碳水化合物在消化代谢上的差异以及碳水化合物之间的平衡和比例。在弄清不同碳水化合物营养生理效应的基础上,探索碳水化合物之间的平衡模式不仅有助于我们进一步认识代谢的复杂性、深入了解营养的本质和营养需要的含义,还有助于优化饲料配方,提高饲料利用效率,促进动物遗传潜力的充分发挥。

参考文献:

- [1] HE JUN, CHEN DAIWEN, YU BING. Metabolic and transcriptomic responses of weaned pigs induced by different dietary amylose and amylopectin ratio[J]. Plos One, 2010, 5(11): e15110.
- [2] YANG C, HE J, CHEN DW, YU B, MAO XB, YANG Y, YUAN ZC. Effects of corn type and fasting time before slaughter on growth and plasma index in weaning pigs. Journal of Animal Science, 2016, 94(1): 106-116.
- [3] DANIELSEN V, VESTERGAARD EM. Dietary fibre for pregnant sows: effect on performance and behavior. Animal Feed Science and Technology, 2001, 90(1-2): 71-80.
- [4] CANIBE N, BACH KNUDSEN KE. Degradation and physicochemical changes of barley and pea fibre along the gastrointestinal tract of pigs[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(1): 27-39.
- [5] DONA AC, PAGES G, GILBERT RG, et al. Digestion of starch: In vivo and in vitro kinetic models used to characterize oligosaccharide or glucose release[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(3): 599-617.
- [6] 宾石玉. 日粮淀粉来源对断奶仔猪生产性能、小肠淀粉消化和内脏组织蛋白质合成的影响[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2005: 61-63.

- [7] 相振田. 饲料不同来源淀粉对断奶仔猪肠道功能和健康的影响及机理研究[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2011: 35-40.
- [8] XIANG ZT, QI HW, HAN GQ, et al. Real-time TaqMan polymerase chain reaction to quantify the effects of different sources of dietary starch on *Bifidobacterium* in the intestinal tract of piglets[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(25): 5059-5067.
- [9] 杨灿. 日粮淀粉直/支比对猪肉品质和糖脂代谢的影响及其机制[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2015: 60-71.
- [10] CHEN H, MAO XB, YU B, et al. Comparison of jejunal digestive enzyme activities, expression of nutrient transporter genes, and apparent fecal digestibility in weaned piglets fed diets with varied sources of fiber[J]. Animal Feed Science and Technology, 2015, 3(24): 41-47.
- [11] CHE LQ, YU B, HE J, et al. Long-Term Intake of Pea Fiber Affects Colonic Barrier Function, Bacterial and Transcriptional Profile in Pig Model. Nutrition and cancer-an international journal, 2014, 2(8): 1-11.
- [12] 赵瑶. 日粮纤维源对生长猪生产性能和肠道健康的影响机制及肠道微生物的媒介作用[D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2015: 43-54.
- [13] 陈婷婷. 饲料添加可溶性和不可溶性纤维对断奶仔猪生长性能及肠道健康的影响[D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2018: 28-37.
- [14] Tian G, Wu XY, CHEN DW, et al. Adaptation of gut microbiome to different dietary nonstarch polysaccharide fractions in a porcine model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2017, 9(61): 1-12.
- [15] WU XY, CHEN DW, YU B, et al. Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs[J]. Nutrition, 2018, 2(51-52): 20-28.
- [16] NARNAJO VD, BIDNER TD, SOUTHER LL. Comparison of dried whey permeate and a carbohydrate product in diets for nursery pigs[J]. Journal of Animal Science, 2010, 88(5): 1868-1879.
- [17] TSUKAHARA T, IWASAKI Y, NAKAYAMA K, et al. Stimulation of butyrate production in the large intestine of weaning piglets by dietary fructooligosaccharides and its influence on the histological variables of the large intestinal mucosa[J]. Journal of Nutrition Science and Vitaminology, 2003, 49: 414-21.
- [18] 谢菲. 低聚木糖在生长育肥猪饲料中的应用效果研究[D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2018: 27-28.
- [19] MAO XB, CHEN DW, YU B, et al. Dietary apple pectic oligosaccharide improves gut barrier function of rotavirus-challenged weaned pigs by increasing antioxidant capacity of enterocytes[J].

Oncotarget, 2017,11(8): 92420-92430.

[20] WAN J, JIANG F, XU QS, et al. New insights into the role of chitosan oligosaccharide in enhancing growth performance, antioxidant capacity, immunity and intestinal development of weaned pigs[J]. RSC Advances, 2017, 7: 9669-9679.

[21] WAN J, ZHANG J, CHEN DW, et al. Effects of alginate oligosaccharide on the growth performance, antioxidant capacity and intestinal digestion-absorption function in weaned pigs[J]. Animal Feed Science and Technology, 2017, 234: 118-127.

[22] 戴求仲. 日粮淀粉来源对生长猪氨基酸消化率、门静脉净吸收量和组成模式的影响[D]. 博士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2004: 74-78.

[23] YANG C, CHEN DW, YU B, et al. Effect of dietary amylose/amylopectin ratio on growth performance, carcass traits, and meat quality in finishing pigs[J]. Meat Science, 2015, 108: 55-60.

[24] HE J, CHEN DW, YU B. Metabolic and transcriptomic responses of weaned pigs induced by different dietary amylose and amylopectin ratio[J]. PLoS ONE, 2010, 5(11): e15110.

[25] 尹佳, 毛湘冰, 余冰等. 饲料纤维源对育肥猪生长性能、胴体组成和肉品质的影响[J]. 动物营养学报, 2012, 24(8): 1421-1428.

Swine Carbohydrate Nutrition and Its Idea Patterns in Diet¹⁷

He Jun¹ Chen Daiwen¹ Yu Bing¹

(1. *Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China*)

Abstract: Carbohydrates can serve as a major energy source for mono-gastric animals including pigs. The starch and non-starch polysaccharides are two forms of dietary carbohydrates. Recent study shows that ingestion of different sources of carbohydrates induces distinct metabolic responses depending on their compositions and molecular structures. The digestion rate and site of digestion and absorption are variable for different carbohydrates. This paper reviews on carbohydrate classification, chemical structure, digestion and metabolism, and its idea patterns for pigs, which may assist in efficient utilization of the dietary carbohydrates.

Keywords: Carbohydrate; Digestion; Swine; Equilibrium; Microbiota

*Corresponding author, professor, E-mail: chendwz@sicau.edu.cn

中国瘦肉型仔猪有效能需要模型建立

温晓鹿¹⁸ 王 丽¹ 朱 翠 杨雪芬 高开国 蒋宗勇*

(广东省农业科学院动物科学研究所, 广州, 510640)

摘要: 本研究旨在建立中国瘦肉型(三元杂)仔猪能量需要量的数学模型, 确定 3~25kg 瘦肉型仔猪能量需要量, 为修订猪饲养标准提供部分技术参数。本文综述了近年来仔猪有效能需要量的研究方法, 收集整理了近 20 年来的 180 余次中国仔猪试验的生长性能数据, 并对文献提供的饲料配方采用 NRC《猪营养需要》(2012)和中国《猪饲养标准》饲料原料数据库(2004), 重新计算饲料有效能浓度和能量摄入量。采用了综合回归法和析因法两种方法, 估算了中国瘦肉型仔猪能量需要量, 并采用文献对模型进行验证。结果表明: 表明采用析因法所得有效能需要模型比回归法更接近仔猪的真实有效能摄入量, 析因法模型可有效评估仔猪的有效能摄入量。采用析因法, 1) 以 NRC(2012)饲料原料数据库计算, 3~25kg 仔猪的消化能和代谢能每日需要量模型分别为 $DE_i = 0.5441 \times ADG^{1.319} + 110 \times BW^{0.75}$, $ME_i = 0.5145 \times ADG^{1.3213} + 106 \times BW^{0.75}$; 由此得到 3~8kg, 8~25kg 仔猪消化能每日需要量分别为 989kcal、2813kcal, 代谢能每日需要量分别为 949kcal、2703kcal。2) 以中国《猪饲养标准》2004 版饲料原料数据库计算, 3~25kg 仔猪的消化能和代谢能每日需要量模型分别为 $DE_i = 0.4739 \times ADG^{1.3347} + 110 \times BW^{0.75}$, $ME_i = 0.4585 \times ADG^{1.3337} + 106 \times BW^{0.75}$; 由此得到 3~8kg, 8~25kg 仔猪消化能每日需要量分别为 957kcal、2737kcal, 代谢能每日需要量分别为 921kcal、2633kcal。以《中国猪营养标准》饲料原料数据库(2004)计算的仔猪有效能需要量低于以 NRC 饲料原料数据库(2012)计算得到的需要量。

关键词: 仔猪; 能量需要; 回归模型

0 引言

【研究意义】研究能量需要是动物营养需要的重要内容, 对于猪的精准饲养和提高养殖效率具有重要意义。目前我国使用的仔猪能量需要于 2004 年制定, 一直指导着我国养猪生产。但是本模型已经建立十几年, 我国养猪业发生了巨大变化, 已经不能适应我国养猪业生产。因此有必要对我国仔猪能量需要进行重新评估。【前人研究进展】近年来美国、英国、丹麦等均对仔猪的营养需要做了新的估算。NRC(2012)推荐仔猪每天代谢能摄入量是根据经验总结得到的公式, 其仔猪代谢能需要量采用体重与每日代谢能摄入量的回归模型计算得到: $ME(kcal/d) = -783.5 + 315.9 \times BW - 5.7685 \times BW^{2[1]}$ 。英国 ARC(2003)采用析因法给出了生长猪每天代谢能的需要量公式 $ME(MJ/day) = (0.444 \times BW^{0.75}) \times 1.10 + 23.6 \times Pr / 0.44 + 39.3 \times Lr / 0.74$ 。该需要模型, 将猪的代谢能需要分为 3 个部分, 即用于维持的能量需要(MEm)、用于蛋白沉积的能量需要(MEpr)和用于脂肪沉积的能量需要(MElr)^[3]。丹麦(2016)是

¹⁸ 1 共同第一作者。

温晓鹿(1986-), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为猪营养与饲料科学, E-mail: wenzl2013@qq.com

* 通讯作者: 蒋宗勇 研究员 博导 动物营养博士 邮箱: jiangz28@qq.com

根据营养物质消化率和潜在的生理学价值估测而得^[2]。我国 2004 版猪饲养标准中仔猪采用体重与每日消化能摄入量的回归模型计算,类似于 NRC 的回归模型。【本研究切入点】本文综述近十五年来中国学者发表的仔猪营养相关文章,并筛选统计文献。使用 NRC《猪营养需要》(2012)和中国《猪饲养标准》2004 版^[4]两个饲料原料数据库对文章中提到的饲料配方进行重新计算。通过析因法(代谢能摄入量=维持需要+生长需要)和体重与有效能摄入量的回归方程法两种方法推算仔猪有效能需要量,并进行比较验证。【拟解决的关键问题】建立 3~25kg 仔猪消化能和代谢能的需要量模型,为计算仔猪有效能需要量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

综合收集 2000~2018 年国内学者发表的仔猪营养领域 800 余篇文章,并对文献进行筛选。选取仔猪生长性能正常、饲料配方明确、三元杂仔猪、试验持续时间超过两周的文献 180 余篇文章作为研究材料,根据文献计算每篇文献中仔猪平均体重、平均日增重和平均日采食量。根据 NRC《猪营养需要》(2012)和中国《猪饲养标准》(2004)提供的饲料原料数据库,对文献中饲料消化能和代谢能浓度进行重新计算。然后计算每天消化能摄入量,每天代谢能摄入量,维持代谢能需要。

1.2 方法

1.2.1 平均日增重

根据参考文献中仔猪平均体重与平均日增重建立回归方程,回归方程建立好后,将各个阶段仔猪的平均体重带入方程即可得到不同阶段仔猪的平均日增重。

1.2.2 平均日采食量

根据参考文献中仔猪平均体重与平均日采食量建立回归方程,回归方程建立好后,将各个阶段仔猪的平均体重带入方程即可得到不同阶段仔猪的平均采食量。

1.2.3 代谢能和消化能需要量计算

1.2.3.1 回归法

参照 NRC(2012)仔猪阶段代谢能摄入量需要的回归方程。假设仔猪有效能摄入量与体重存在相关性,根据参考文献提供的数据建立体重与能量摄入量的回归方程,然后将不同阶段的平均体重带入方程计算仔猪不同阶段能量摄入量。根据采食量,即可算出代谢能或者消化能浓度。

$$DE=DEi/ADFi$$

$$ME=MEi/ADFi$$

1.2.3.2 析因法

仔猪代谢能需要量包括三部分,用于维持的代谢能需要、蛋白质沉积的能量的需要、脂肪沉积的能量需要。而用于蛋白质和脂肪沉积所需的能量可合并为用于生长的代谢能需要 MEg,即 $MEi=MEg+ME_m$ (许振英, 1989)^[5]。维持的能量需要包括维持机体所有功能和

适度活动所需能量，通常以代谢体重 $BW^{0.75}$ 为基础表示，NRC1998^[6]推荐的猪维持代谢能需要量为 $106\text{kcal/kgBW}^{0.75}$ ，维持消化能需要量为 $110\text{kcal/kgBW}^{0.75}$ 。用于生长的代谢能主要包括蛋白质沉积和脂肪沉积所需的能量。随着能量进食量的提高，蛋白质和脂肪的沉积率成线性升高（Dunkin 等，1982）^[7]。所以在特定的体重范围内仔猪的日增重与用于生长代谢能摄入有显著的相关性。本文建立生长代谢能与仔猪日增重的回归关系，根据不同阶段仔猪的平均日增重即可计算出仔猪生长的代谢能 MEg 需要量，然后加上仔猪维持代谢能需要量 MEm 即可求得仔猪每日代谢能需要量。

1.2.4 模型验证

选用国内外最新发表的仔猪营养相关文献，对本文所得模型进行验证。将参考文献中仔猪的体重和日增重代入回归模型，计算得到仔猪每日有效能需要量。然后根据参考文献计算仔猪的实际有效能摄入量。比较将两者的，验证本模式所得摄入量是否符合仔猪的真实有效能的摄入量。

2 结果

2.1 平均日增重和平均日采食量计算

通过参考文献建立的平均日采食量、平均日增重(Y, g/d)与体重(X, kg)的回归关系（见图 1），方程为：

$$ADFi = 50.221 \times BW + 0.9334 \quad (R^2 = 0.8694, P < 0.001, n=191),$$

$$ADG = 0.0252 \times BW^3 - 1.3468 \times BW^2 + 45.808 \times BW - 14.004 \quad (R^2 = 0.7934, P < 0.001, n=191)。$$

3~8kg, 8~25kg 仔猪的平均日增重（ADG）分别为 201g, 488g；平均日采食量(ADFi)分别为 277g, 830g。见表 1。

2.2 回归方程法计算仔猪有效能需要量

2.2.1 采用 NRC《猪营养需要》饲料原料数据库(2012)计算结果

2.2.1.1 消化能计算

平均体重（x）和消化能摄入量（y）的回归关系见图 2，通过回归分析得到，一元一次方程，一元二次方程，一元三次方程、幂方程，对数方程分别如下：

$$y = 171.02x + 58.037 \quad (R^2 = 0.8618, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.5036x^2 + 184.92x - 27.131 \quad (R^2 = 0.8621, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.151x^3 + 5.9428x^2 + 101.37x + 294.52 \quad (R^2 = 0.8628, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 185.1x^{0.9755} \quad (R^2 = 0.8465, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 2005.4\ln(x) - 2728.1 \quad (R^2 = 0.8165, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数，本文选用一元三次方程 $DEi = -0.151 \times BW^3 + 5.9428 \times BW^2 + 101.37 \times BW + 294.52$ 计算消化能的摄入量与消化能浓度见表 2，结果显示 3~8kg 仔猪的消化能摄入量为

1007kcal/d, 饲料消化能浓度为 3635 kcal/kg; 8~25kg 仔猪的消化能摄入量为 2907kcal/d, 饲料消化能浓度为 3502 kcal/kg。

2.2.1.1 代谢能计算

代谢能摄入量和平均体重的回归关系见图 2, 通过回归分析得到, 一元一次方程, 一元二次方程, 一元三次方程, 幂方程, 对数方程分别如下:

$$y = 164.46x + 53.204 \quad (R^2 = 0.8616, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.4488x^2 + 176.85x - 22.695 \quad (R^2 = 0.8618, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.1436x^3 + 5.6839x^2 + 97.369x + 283.31 \quad (R^2 = 0.8625, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1928.1\ln(x) - 2624.9 \quad (R^2 = 0.8159, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 177.54x^{0.976} \quad (R^2 = 0.8465, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数, 本文选用一元三次方程 $ME_i = -0.1436 \times BW^3 + 5.6839 \times BW^2 + 97.369 \times BW + 283.31$ 计算代谢能的摄入量与代谢能浓度见表 2, 结果显示 3~8kg 仔猪的代谢能摄入量为 967kcal/d, 饲料代谢能浓度为 3491 kcal/kg; 8~25kg 仔猪的代谢能摄入量为 2792kcal/d, 饲料代谢能浓度为 3364 kcal/kg。

2.2.2 采用中国《猪饲养标准》2004 饲料原料数据库计算结果

2.2.2.1 消化能计算

消化能摄入量和平均体重的回归关系见图 3, 通过回归分析得到, 一元一次方程, 一元二次方程, 一元三次方程, 幂方程, 对数方程分别如下:

$$y = 166.12x + 57.671 \quad (R^2 = 0.8615, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.4439x^2 + 178.37x - 17.397 \quad (R^2 = 0.8617, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.1612x^3 + 6.4388x^2 + 89.165x + 326.02 \quad (R^2 = 0.8626, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1946.6\ln(x) - 2645.3 \quad (R^2 = 0.8151, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 180.74x^{0.9736} \quad (R^2 = 0.8424, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数, 本文选用一元三次方程 $DE_i = -0.1612 \times BW^3 + 6.4388 \times BW^2 + 89.165 \times BW + 326.02$ 计算消化能的摄入量与消化能浓度见表 3, 结果显示 3~8kg 仔猪的消化能摄入量为 984kcal/d, 饲料消化能浓度为 3552 kcal/kg; 8~25kg 仔猪的消化能摄入量为 2826kcal/d, 饲料消化能浓度为 3405kcal/kg。

2.2.2.2 代谢能计算

代谢能摄入量和平均体重的回归关系见图 3, 通过回归分析得到, 一元一次方程, 一元二次方程, 一元三次方程, 幂方程, 对数方程分别如下:

$$y = 159.84x + 55.158 \quad (R^2 = 0.8622, P < 0.00, n=1911)$$

$$y = -0.3692x^2 + 170.03x - 7.2825 \quad (R^2 = 0.8624, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -0.151x^3 + 6.0779x^2 + 86.47x + 314.41 \quad (R^2 = 0.8632, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1872.3\ln(x) - 2543.8 \quad (R^2 = 0.8151, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 174.39x^{0.9725} \quad (R^2 = 0.8437, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数,本文选用一元三次方程 $ME_i = -0.151 \times BW^3 + 6.0779 \times BW^2 + 86.47 \times BW + 314.41$ 计算代谢能的摄入量与消代谢浓度见表 3,结果显示 3~8kg 仔猪的代谢能摄入量为 949kcal/d,饲料代谢能浓度为 3426 kcal/kg; 8~25kg 仔猪的代谢能摄入量为 2719kcal/d,饲料代谢能浓度为 3276 kcal/kg。

2.3 析因法计算仔猪有效能需要量

2.3.1 采用 NRC《猪营养需要》饲料原料数据库(2012)计算结果

2.3.1.1 消化能计算

用于生长的消化能摄入量和日增重的回归关系见图 4,通过回归分析得到,一元一次方程,一元二次方程,一元三次方程,幂方程,对数方程分别如下:

$$y = 4.8546x - 416.84 \quad (R^2 = 0.848, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.0004x^2 + 4.5398x - 357.63 \quad (R^2 = 0.8482, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -1E-05x^3 + 0.0128x^2 - 0.3952x + 226.3 \quad (R^2 = 0.8517, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1695.5\ln(x) - 8539.2 \quad (R^2 = 0.7871, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.5441x^{1.319} \quad (R^2 = 0.8632, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数,本文采用幂方程 $DE_g = 0.5441 \times ADG^{1.319}$ 计算生长消化能摄入量,计算结果表明 3~8kg, 8~25kg 仔猪用于生长的消化能摄入量分别为 594kcal, 1913kcal; 消化能每天需要量分别为 989kcal, 2813kcal; 饲料消化能浓度为 3570kcal/kg, 3389kcal/kg。见表 4

2.3.1.2 代谢能计算

生长代谢能摄入量与日增重的回归关系见图 4,通过回归分析得到,一元一次方程,一元二次方程,一元三次方程,幂方程,对数方程分别如下:

$$y = 4.6668x - 404.25 \quad (R^2 = 0.848, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.0004x^2 + 4.3028x - 335.78 \quad (R^2 = 0.8482, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -9E-06x^3 + 0.012x^2 - 0.3005x + 208.9 \quad (R^2 = 0.8515, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1629.1\ln(x) - 8207.7 \quad (R^2 = 0.7862, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.5145x^{1.3213} \quad (R^2 = 0.8634, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数,幂方程相关系数最高,所以选择幂方程。根据方程 $ME_g = 0.5145 \times ADG^{1.3213}$ ($R^2 = 0.8634$) 计算得到 3~8kg, 8~25kg 仔猪用于生长的消化能摄入量分别为 568 kcal、1835 kcal,每日代谢能需要量为 949kcal/d,2703kcal/d;饲料中的代谢能浓度为 3426kcal/kg, 3257kcal/kg。见表 4

2.3.2 采用中国《猪饲养标准》饲料原料数据库(2004)计算结果

2.3.2.1 消化能计算

用于生长的消化能摄入量和日增重的回归关系见图 5，通过回归分析得到，一元一次方程，一元二次方程，一元三次方程，幂方程，对数方程分别如下：

$$y = 4.6877x - 413.8 \quad (R^2 = 0.8508, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.0005x^2 + 4.2908x - 339.14 \quad (R^2 = 0.8511, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -9E-06x^3 + 0.0123x^2 - 0.3933x + 215.1 \quad (R^2 = 0.8544, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1635.9\ln(x) - 8249.2 \quad (R^2 = 0.7884, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.4739x^{1.3347} \quad (R^2 = 0.8589, P < 0.001, n=191)$$

根据相关系数，本文采用幂方程 $DEg = 0.4739 \times ADG^{1.3347}$ ($R^2 = 0.8589$) 计算生长消化能摄入量，计算结果表明 3~8kg, 8~25kg 仔猪用于生长的消化能摄入量分别为 562kcal, 1836kcal；消化能每天需要量分别为 957kcal, 2737kcal；饲料消化能浓度为 3455kcal/kg, 3298kcal/kg。见表 5

2.3.2.2 代谢能计算

生长代谢能摄入量与日增重的回归关系见图 5，通过回归分析得到，一元一次方程，一元二次方程，一元三次方程，幂方程，对数方程分别如下：

$$y = 4.5087x - 398.83 \quad (R^2 = 0.8519, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.0005x^2 + 4.0813x - 318.43 \quad (R^2 = 0.8522, P < 0.001, n=191)$$

$$y = -8E-06x^3 + 0.0115x^2 - 0.2605x + 195.3 \quad (R^2 = 0.8553, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 1572.9\ln(x) - 7932 \quad (R^2 = 0.7888, P < 0.001, n=191)$$

$$y = 0.4584x^{1.3337} \quad (R^2 = 0.8632, P < 0.001, n=191)$$

通过比较可知，幂方程的相关系数最高，因此选择幂方程做回归。根据方程 $MEg = 0.4584 \times ADG^{1.3337}$ 计算的 3~8kg, 8~25kg 仔猪的每日代谢能需要量为 921kcal/d, 2633kcal/d；饲料中的代谢能浓度为 3325kcal/kg, 3172 kcal/kg。见表 5

2.4 模型验证

由表 7 可知，采用回归法计算所得模型与实际有效能摄入量的平均误差为 6.50~7.19%，而采用析因法计算所得模型与实际有效能摄入量的平均误差为 3.44~4.07%。表明采用析因法所得模型更符合仔猪的有效能摄入量。

3 讨论

3.1 日增重和平均日采食量

平均日增重和平均日采食量是仔猪生长的重要指标，反应了仔猪的健康状况和生长潜力。根据模型可知仔猪平均日采食量、日增重跟体重呈线性正相关。根据模型计算的到我国 3~8kg、8~25kg 仔猪平均日增重分别为 201g、488g；平均日采食量分别为 277g、830g。目前国内做仔猪生长曲线的研究比较少。中国《猪饲养标准》（2004）推荐 3~8kg、8~20kg 仔猪平均日增重分别为 240g、440g；平均日采食量分别为 300g、740g。跟中国 2004 相比本模型推荐 3~8kg 仔猪日增重有所降低，8~25kg 仔猪日增重有所增加。NRC《猪营养需要》

(2012) 推荐生长肥育猪的最大采食量公式= $111 \times BW^{0.803} + BW^{0.803} (LCT-T) \times 0.025$, T 为有效环境温度, LCT 为临界温。NRC (2012) 推荐 5~7kg、7~11kg、11~25kg 仔猪日增重分别为 210g、335g、585g; 平均日采食量分别为 280g、493g、953g。本模型推荐的 3~8kg 仔猪日增重和采食量均低于 NRC 推荐 5~7kg 仔猪标准。日本(1998)推荐 5~10kg、10~30kg 仔猪平均日增重分别为 250g、550g; 平均日采食量分别为 380g、1050g。Jones(2012)等^[8]通过试验得到 8~25kg 仔猪的平均日增重和平均日采食量分别为 761g、633g。Urquhart (1995)^[9]推荐生长猪每日采食量为(kg/day) = $0.310 \times BW^{0.50}$, Ramaekers (1996)^[10]推荐猪每日采食量为(kg/day) = $0.12 \times BW^{0.71}$ 。Quiniou 等 (2000)^[11]推荐猪每日采食量为(kg/day) = $0.055 \times BW - 0.00025 \times BW^2$ 。Whittemore 等 (2001)^[12]给出两个猪每日采食量的估测方程 $DFi = 0.084 \times BW^{0.75}$, $DFi = 2.96 \times [1 - \exp(-0.0176 \times BW)]$ 。

3.2 采用不同饲料原料数据建立模型对仔猪有效能需要量评估的影响

饲料原料数据库是配制饲料的依据,本模型中仔猪的有效能摄入量也是根据文献中的配方计算所得。因此数据库的选择在评估有效能需要时具有重要作用。以析因法为例,采用 NRC (2012) 数据计算得到 3~8kg、8~25kg 仔猪消化能每日需要量 989kcal/d、2813kcal/d; 推荐的饲料中消化能的浓度为 3570kcal/kg、3389kcal/kg。采用中国猪饲养标准 2004 版数据库计算得到 3~8kg、8~25kg 仔猪消化能每日需要 957kcal/d、2737kcal/d; 推荐的饲料中消化能的浓度为 3455kcal/kg、3298kcal/kg。采用中国 2004 数据计算得到的 3~8kg、8~25kg 仔猪每日消化能摄入量比采用 NRC (2012) 数据库分别少 31kcal、76kcal; 消化能浓度分别低 115kcal、91kcal。说明采用 NRC (2012) 数据库计算所得消化能需要要高于采用中国 (2004) 计算所得。

本研究表明采用不同的饲料原料数据得到不同回归方程。采用 NRC (2012) 的原料数据库所得的仔猪每日有效能需要量要高于使用中国《猪饲养标准》2004 版数据库。

3.3 采用不同方法建立模型对仔猪有效能需要量评估的影响

猪有效能需要量模型主要有体重回归法和析因法两种。体重回归法是通过建立有效能摄入量的与体重的回归模型来计算仔猪的有效能摄入量。NRC (1998) 和 NRC (2012) 仔猪有效能需要量模型均采用回归法, NRC (2012)^[1]给出的仔猪代谢能摄入量的公式为 $ME_i(\text{kcal/d}) = -783.5 + 315.9 \times BW - 5.7685 \times BW^2$ 。NRC (1998)^[6]仔猪消化能摄入量模型为: $DE_i = -133 + 251 \times BW - 0.99 \times BW^2$ 。Bridges 等 (1986)^[13]提出猪的代谢能摄入量预测公式为 $ME_i(\text{kcal/d}) = a \times \{1 - \exp[-\exp(b) \times BW^c]\}$, 公式中 a、b、c 三个系数可预测不同生长潜力和性别猪的代谢能需要量。Schinckel 等 (2009)^[14]通过试验模型也给出了小母猪、阉公猪、未阉公猪的代谢能摄入量的参照模型分别为: $ME_i(\text{kcal/d}) = 10967 \times \{1 - \exp[-\exp(-3.803) \times BW^{0.9072}]\}$ 、 $ME_i(\text{kcal/d}) = 10447 \times \{1 - \exp[-\exp(-4.283) \times BW^{1.0843}]\}$ 、 $ME_i(\text{kcal/d}) = 10638 \times \{1 - \exp[-\exp(-3.803) \times BW^{0.9072}]\}$ 。析因法是将有效能需要分为维持和生长几个部分,分别计算求和。目前广泛用于分析代谢能分配的模型来源于 Kielanowski(1971)^[15],

他提出代谢能摄入可分为三个独立的部分，维持能量需要、蛋白质沉积能量需要、脂肪沉积能量需要： $ME_i = ME_m + (1/k_p)P + (1/k_l)L$ ，式中： ME_i 为代谢能摄入量； ME_m 为维持代谢能； k_p 和 k_l 分别代表 ME 用于蛋白质和脂肪沉积的分配系数。英国 ARC(2003)^[3]采用了 Kielanowski 的说法，建议猪每天代谢能摄入量公式为 $ME_i(MJ/d) = 0.444 \times BW^{0.75} \times 1.10 + 23.6Pr/0.44 + 39.3Lr/0.74$ 。目前我国对瘦肉型猪代谢能摄入量模型的研究还比较少。仔猪的蛋白沉积和脂肪沉积数据比较少，本文将蛋白沉积和脂肪沉积综合成日增重进行考虑。

通过比较两种研究方法，发现采用回归法计算所得仔猪的代谢能和消化能摄入量要高于析因法的计算结果。以 NRC（2012）数据库为例，析因法计算 3~8kg、8~25kg 仔猪每日消化能需要量 989kcal/d、2813kcal/d；推荐的饲料中消化能的浓度为 3570kcal/kg、3389kcal/kg；回归法计算 3~8kg、8~25kg 仔猪每日消化能需要量 1007kcal/d、2907kcal/d；推荐的饲料中消化能的浓度为 3635kcal/kg、3502kcal/kg。消化能浓度分别高出 65kcal 和 112kcal。跟其他饲养标准的推荐相比（表 6），无论采用析因法还是回归法计算，计算所得结果 3~8kg 阶段仔猪代谢能和消化能需要量均高于 NRC（2012）的推荐量；远低于 NRC（1998）推荐量。跟《中国猪营养需要》2004 版推荐量相接近。而在 8~25kg 阶段，本研究的消化能和代谢能推荐量均低于 NRC（2012）和 NRC（1998）推荐量，但高于中国《猪饲养标准》2004 版推荐量。通过验证分析得到采用析因法所得模型更符合仔猪的有效能摄入量，误差小于 5%，表明本文所得析因法模型可有效评估仔猪的有效能摄入量。

4 结论

- 1) 采用析因法所得有效能需要模型比回归法更接近仔猪的真实有效能摄入量，析因法模型可有效评估仔猪的有效能摄入量。
- 2) 采用析因法，以 NRC（2012）饲料原料数据库计算，3~25kg 仔猪的消化能和代谢能每日需要量模型分别为 $DE_i = 0.5441 \times ADG^{1.319} + 110 \times BW^{0.75}$ ， $ME_i = 0.5145 \times ADG^{1.3213} + 106 \times BW^{0.75}$ 。由此得到 3~8kg、8~25kg 仔猪消化能每日需要量分别为 989kcal、2813kcal，代谢能每日需要量分别为 949kcal、2703kcal。
- 3) 采用析因法，以中国《猪营养标准》2004 版饲料原料数据库计算，3~25kg 仔猪的消化能和代谢能每日需要量模型分别为 $DE_i = 0.4739 \times ADG^{1.3347} + 110 \times BW^{0.75}$ ， $ME_i = 0.4585 \times ADG^{1.3337} + 106 \times BW^{0.75}$ 。由此得到 3~8kg、8~25kg 仔猪消化能每日需要量分别为 957kcal、2737kcal，代谢能每日需要量分别为 921kcal、2633kcal。

参考文献：

1. NRC. Nutrient requirements of swine [S]. Washington ,D.C. :National Academies Press, 2012.
2. Nutrition recommendations for pigs in Denmark[S]. SEGES Pig Research Centre.2016
3. ARC. The nutrient requirements of pigs[S]. Slough: Common wealth Agricultural Bureaux, 2003.
4. 李德发，王康宁，谯仕彦，贾刚，蒋宗勇，陈正玲，林映才，吴德，朱锡明，熊本海，

- 杨立彬, 王凤来. 猪饲养标准[S].中华人民共和国农业部, 2004.
5. 许振英.猪的能量代谢[J].养猪,1989(4):39-42.
 6. NRC. Nutrient requirements of swine [S].Washington ,D. C.:National Academies Press, 1998.
 7. Dunkin A C, Campbell R G. Some aspects of the partition of metabolisable energy in the young pig[J]. EAAP Publication (EAAP), 1982.
 8. Jones C K, Gabler N K, Main R G, et al. Characterizing growth and carcass composition differences in pigs with varying weaning weights and postweaning performance[J]. Journal of animal science, 2012, 90(11): 4072-4080.
 9. Urquhart, R.. Studies on the regulation of energy intake and body composition of growing pigs. Ph.D. thesis,The Queen's University, Belfast.1995
 10. Ramaekers, P. J. L. Control of individual daily growth in group-housed pigs using feeding stations. Ph.D. thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands, 1996.
 11. Quiniou N, Dubois S, Noblet J. Voluntary feed intake and feeding behaviour of group-housed growing pigs are affected by ambient temperature and body weight[J]. Livestock Production Science, 2000, 63(3): 245-253.
 12. Whittemore C T, Green D M, Knap P W. Technical review of the energy and protein requirements of growing pigs: food intake[J]. Animal Science, 2001, 73(1): 3-17.
 13. Bridges T C, Turner L W, Smith E M, tahly T S, Loewer O J. A mathematical procedure for estimating animal growth and body composition [J]. Transactions of the ASAE, 1986, 29(5): 1342-1347.
 14. Schinckel A P, Einstein M E, Jungst S, Booher C, Newman S. Evaluation of different mixed model nonlinear functions to describe the feed intakes of pigs of different sire and dam lines.[J]. Professional Animal Scientist, 2009, 25(3):307-324.
 15. Kielanowski J. Energy requirements of the growing pig [J]. Nottingham Univ Easter Sch Agr Sci Proc, 1971.

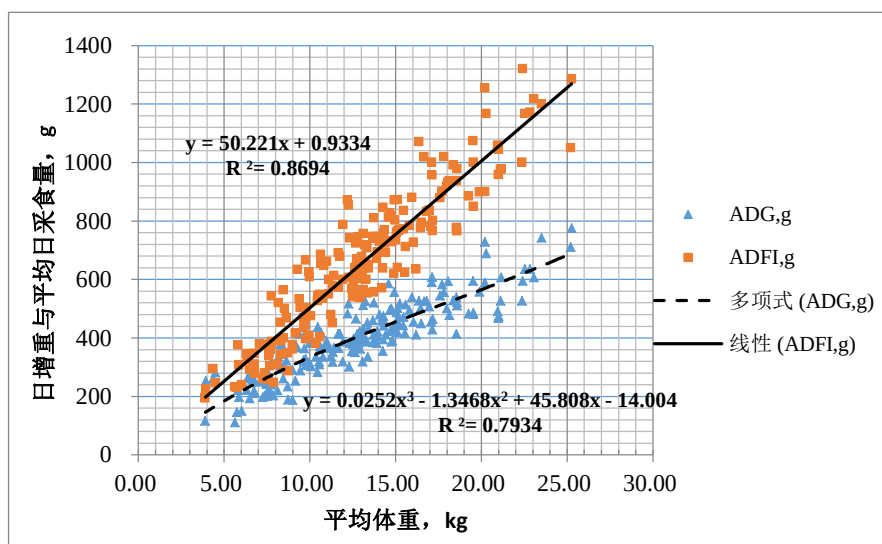


图 1 3~25kg 仔猪能平均日采食量、日增重与平均体重的回归分析

Fig. 1 The regression analysis of average daily feed intake, average daily gain and average body weight for 3 to 25 kg piglets

表 1 不同阶段仔猪的平均日增重和平均日采食量

Table 1 The ADG and ADFi of piglets at different stages

阶段	平均体重	平均日增重	平均日采食量	料重比
3~8kg	5.5kg	201g	277g	1.38
8~25kg	16.5kg	488g	830g	1.70

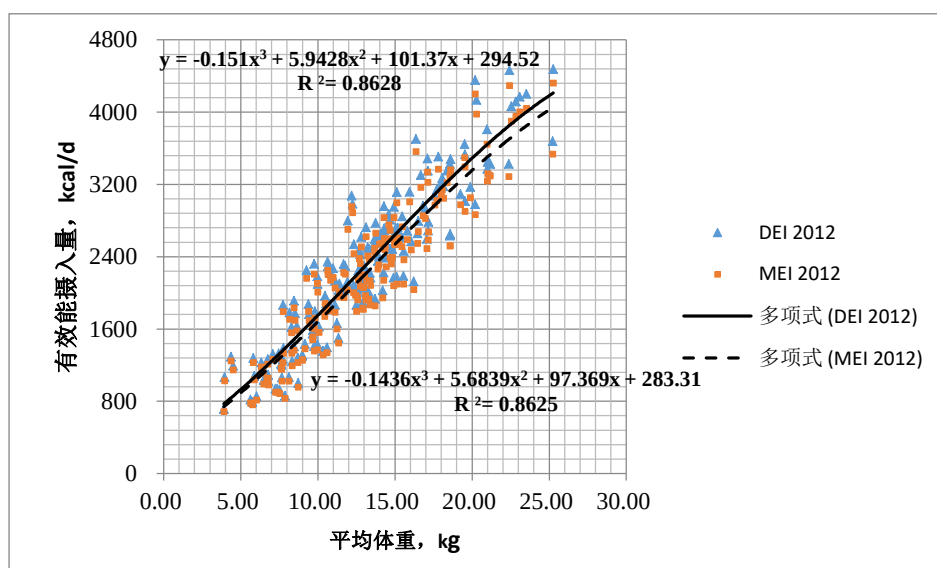


图 2 3~25kg 仔猪代谢能摄入量、消化能摄入量与平均体重的回归分析（NRC2012 数据库）

Fig. 2 The regression analysis of energy intake and average body weight for 3 to 25 kg piglets

表 2 采用回归法计算不同阶段仔猪有效能需要量（NRC2012 数据库）

Table2 Using the regression method to calculate the energy requirements of piglets at different stages (NRC2012 database)

阶段	平均体重 (kg)	平均日采食量 (g)	DEI (kcal/d)	MEI (kcal/d)	DE (kcal/kg)	ME (kcal/kg)
3~8kg	5.5	277	1007	967	3635	3491
8~25kg	16.5	830	2907	2792	3502	3364

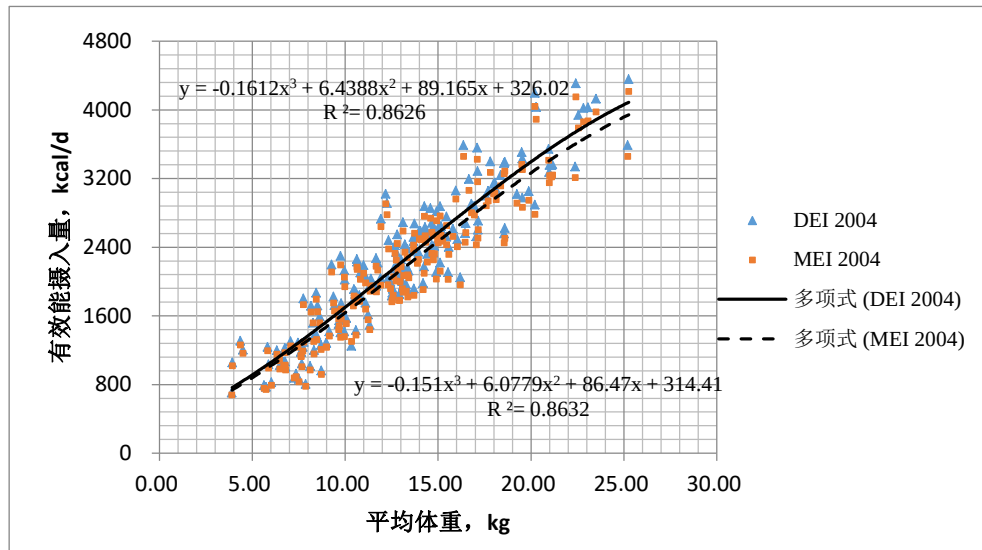


图 3 3~25kg 仔猪代谢能摄入量、消化能摄入量与平均体重的回归分析（中国 2004 数据库）

Fig. 3 The regression analysis of energy intake and average body weight for 3 to 25 kg piglets

表 3 采用回归法计算不同阶段仔猪有效能需要量（中国 2004 数据库）

Table 3 Using the regression method to calculate the effective energy requirements of piglets at different stages (China 2004 database)

阶段	平均体重 (kg)	平均日采食量 (g)	DEI (kcal/d)	MEI (kcal/d)	DE (kcal/kg)	ME (kcal/kg)
3~8kg	5.5	277	984	949	3552	3426
8~25kg	16.5	830	2826	2719	3405	3276

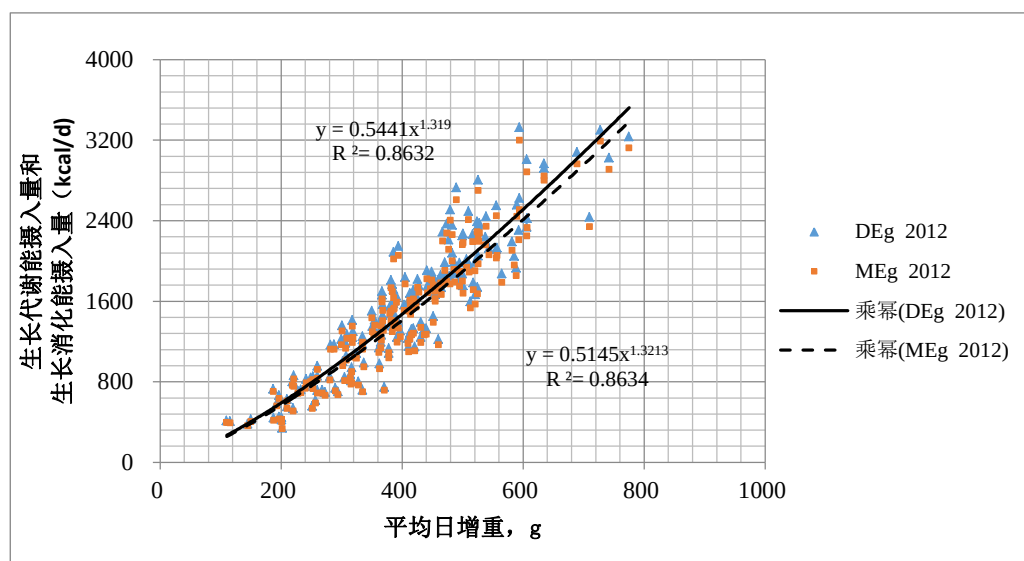


图 4 3~25kg 仔猪生长代谢能摄入量、生长消化能摄入量与平均日增重的回归关系 (NRC2012 数据库)

Fig. 4 The regression analysis of metabolic energy intake and digestive energy intake of growing and average daily gain for 3 to 25 kg piglets

表 4 采用析因法计算不同阶段仔猪代谢能和消化能需要量 (NRC2012 数据库)

Table. 4 Calculated metabolic energy and digestive energy requirements of piglets at different stages using the factorial method (NRC2012 database)

阶段	ME _m (kcal/d)	DE _m (kcal/d)	ME _g (kcal/d)	DE _g (kcal/d)	ME _i (kcal/d)	DE _i (kcal/d)	ME (kcal/kg)	DE (kcal/kg)
3~8kg	381	395	568	594	949	989	3426	3570
8~25kg	868	901	1835	1931	2703	2813	3257	3389

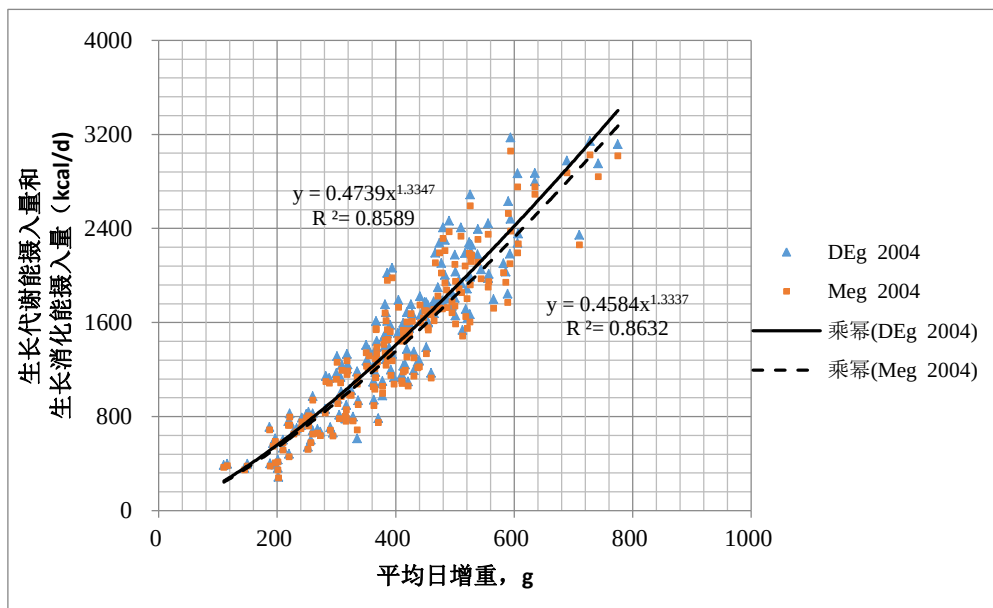


图 5 3~25kg 仔猪用于生长代谢能摄入量和用于生长消化能摄入量与平均日增重的回归关系（中国 2004 数据库）

Fig. 5 4 The regression analysis of metabolic energy intake of growing and average daily gain for 3 to 25 kg piglets

表 5 采用析因法计算不同阶段仔猪代谢能需要量（中国 2004 数据库）

Table 5 Calculation of metabolic energy requirements for piglets at different stages by factorization (China 2004 Database)

阶段	ME _m	DE _m	ME _g	DE _g	ME _i	DE _i	ME	DE
	(kcal/d)	(kcal/d)	(kcal/d)	(kcal/d)	(kcal/d)	(kcal/d)	(kcal/kg)	(kcal/kg)
3~8kg	381	395	541	562	921	957	3325	3455
8~25kg	868	901	1765	1836	2633	2737	3172	3298

表 6 结果汇总及与其他标准的对比

Table 6 Summary of results and comparison with other criteria

项目	消化能							代谢能						
	NRC2012 数据		中国 2004 数据		其他标准推荐			NRC2012 数据		中国 2004 数据		其他标准推荐		
	回归	析因	回归	析因	NRC2012	NRC1998	中国 2004	回归	析因	回归	析因	NRC2012	NRC1998	中国 2004
饲料中有效能浓度 kcal/kg														
3~8kg	3635	3570	3552	3455				3491	3426	3426	3325			
8~25kg	3502	3389	3405	3298				3364	3257	3276	3172			
每日有效能需要量 kcal/d														
3~8kg	1007	989	984	957	804	1217	1005	967	949	949	921	779	1169	965
8~25kg	2907	2813	2826	2737	2947	3739	2310	2792	2703	2719	2633	2858	3589	2405

表 7 模型验证

Table 7 Model validation

参考文献	回归模型计算误差 (%)				析因法计算误差(%)			
	MEI	DEI	MEI	DEI	MEI	DEI	MEI	DEI-
	2004	2004	2012	2012	2004	2004	2012	2012
Hosseindous 等, 2017	8.85	9.41	9.55	8.32	7.12	6.46	8.25	7.77
Deng 等, 2017	5.92	5.82	2.19	5.27	7.40	7.55	8.28	8.33
Shi 等, 2018	9.88	10.08	6.55	10.58	1.90	2.04	1.73	2.15
Choi 等, 2017	7.04	7.52	7.69	6.41	6.14	6.65	5.18	5.56
Choi 等, 2017	5.03	4.89	3.70	6.48	0.06	0.26	1.11	0.97
Li 等, 2018	0.07	0.67	2.53	1.52	0.41	0.99	0.92	1.46
Shang 等, 2018	5.02	5.05	2.86	5.45	2.15	2.20	2.01	2.09
Dong 等, 2018	13.77	13.90	13.05	16.28	2.57	2.60	4.30	4.44
xu 等 2018	3.57	3.50	6.38	4.34	5.63	5.62	6.61	6.60
xu 等 2018	7.23	6.86	10.50	7.20	1.00	0.62	1.56	1.33
平均误差	6.64	6.77	6.50	7.19	3.44	3.50	4.00	4.07

胆汁酸的营养生理作用及其稳态调控研究进展

王 朋 方正锋* 林 森 宋雨默 钟和局 尹华俊 吴 德 车炼强 林 燕 徐盛玉 冯 斌 李 健

(四川农业大学动物营养研究所, 成都 611130)

摘要: 胆汁酸(bile acids, BA)是由胆固醇在肝脏代谢产生的具有两性分子结构的化合物。长期以来,对胆汁酸生理作用的认识停留在通过其洗涤特性形成胶束,促进食物中脂类和脂溶性维生素的消化吸收。直到1995年法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)被首次发现后,胆汁酸作为FXR的内源配体发挥激活FXR信号通路的作用而引起了研究者的重视。系列研究表明,胆汁酸除了激活FXR受体外,还可激活G蛋白偶联胆汁酸受体1(G protein-coupled bile acid receptor 1, GPBAR1,又名TGR5)和维生素D受体(vitamin D receptor, VDR),从而在糖代谢、脂类代谢、免疫调节和胆汁酸稳态调节方面发挥重要作用。但是,由于高浓度的胆汁酸特别是疏水性强的胆汁酸表现出细胞毒性,妊娠期肝内胆汁淤积被认为是导致胎儿宫内发育迟缓、宫内窘迫症、早产甚至死亡的重要因素。因此,客观全面地认识胆汁酸的营养生理作用、科学合理地调控胆汁酸代谢,对维护人和动物健康、提高动物生产均具有重要意义。本文简要介绍了胆汁酸的分类、胆汁酸的营养生理功能、胆汁酸稳态及其调控,以期为动物营养研究及动物生产调控提供新的视觉和参考。

关键词: 胆汁酸; 糖代谢; 脂代谢; 肠道健康; 胎儿存活; 胆汁酸稳态; 营养调控

胆汁酸(bile acid, BA)是由不可溶的胆固醇在肝脏通过分解代谢产生的可溶化合物。BA通常是由4个固醇环和一条5碳酸性支链组成,其中固醇环形成的晶格结构包含一个凸起的疏水面和凹起的亲水面,而5碳酸性支链则通常与甘氨酸或牛磺酸发生结合反应(图1)。BA的两性分子结构使其可以通过胶束的形成促进肠道对食物中脂类和脂溶性维生素的消化吸收。羟基的数量和位置决定BA具有不同的疏水性(疏水性强弱: LCA>DCA>CDCA>CA>UDCA>MCA),强的疏水性伴随着强的细胞毒性(图1)。近年来,胆汁酸受体法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)、G蛋白偶联胆汁酸受体1(G protein-coupled bile acid receptor 1, GPBAR1,又名TGR5)和维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)的相继发现以及这些受体对葡萄糖、脂类和胆汁酸代谢的调控作用^[1-3]赋予了BA更多的生理调控功能。本文主要围绕胆汁酸的分类、胆汁酸的营养生理功能、胆汁酸稳态及其调控进行简要综述,以期为动物营养研究及动物生产调控提供新的视觉和参考。

1 胆汁酸的分类

根据合成部位,BA通常分为初级胆汁酸和次级胆汁酸(图1)。肝脏合成的BA被称为初级胆汁酸,这个过程分别由胆固醇7 α 羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)及下游酶介导的经典途径和固醇27 α 羟化酶(cholesterol 27 α -xylase, CY27A1)及下游酶介导的替代途径组成,这两条通路分别合成了~75%和~25%的BA^[3]。初级胆汁酸在不同物种间存

在较大差异,人上主要有胆酸(cholic acid, CA)和鹅脱氧胆酸(chenodeoxycholic acid, CDCA),啮齿动物上主要有 CA、 α -鼠胆酸(alpha muricholic acid, α -MCA)和 β -鼠胆酸(beta muricholic acid, β -MCA)^[4],猪上主要有猪胆酸(hyocholic acid, HCA), CDCA 和 CA^[5]。BA 具有两性分子结构,因此,在 BA 向胆管腔分泌之前,初级胆汁酸通常与牛磺酸或甘氨酸结合形成甘氨酸结合型胆汁酸(glycine conjugated bile acid, G-BA)或牛磺酸结合型胆汁酸(taurine conjugated bile acid, T-BA),阻止非结合型 BA 以被动扩散方式返回肝脏。不同物种上,结合型胆汁酸组成也不尽相同,人上 G-BA 与 T-BA 比值为 3:1。进入肠道的结合型胆汁酸在肠道微生物的作用下生成的 BA 我们称之为次级胆汁酸。由于次级胆汁酸均是由初级胆汁酸代谢产生,故也存在物种间差异。例如,人上主要包括石胆酸(lithocholic acid, LCA)和脱氧胆酸(deoxycholic acid, DCA),啮齿动物主要包括 ω -鼠胆酸(omega-muricholic acid, ω -MCA),熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)、DCA 和 LCA^[6],猪主要包括猪脱氧胆酸(hyodeoxycholic acid, HDCA)、DCA、LCA 和 UDCA^[7]。重吸收返回肝脏的次级胆汁酸也通常以 T-BA 或 G-BA 形式存在。

2 胆汁酸的营养生理作用

2.1 胆汁酸对脂类和脂溶性维生素消化吸收的作用

脂类是动物主要的能量储存、信号传导以及质膜骨架成分,对动物健康具有至关重要的作用。BA 通过形成混合胶束促进脂类和脂溶性维生素的溶解、消化和吸收^[6]。小肠中,胶束的形成使脂肪酸和甘油一酯的浓度提升大约 1000 倍,进而使脂类物质的扩散速度加快大约 100 倍。但是,只有当 BA 浓度超过临界胶束浓度,混合胶束才可以有效发挥其功能。因此,小肠中 BA 浓度对于食物中脂类和脂溶性维生素溶解、消化和吸收具有至关重要的作用。

BA 促进脂类和脂溶性维生素消化吸收存在剂量和组成差异。在不影响肉鸡日采食量的前提下,饲料添加胆汁酸可以显著提高脂蛋白连接酶、脂肪酶活性和 42 天平均日增重,显著降低 42 天料重比^[8]。然而,BA 促进脂类消化吸收存在剂量效应,较低剂量(40mg/kg)并不会提高日粮脂肪和脂溶性维生素消化吸收,而只有较高剂量(60mg/kg 和 80mg/kg)可以显著改善肉鸡生产性状。人食物中额外添加 CA 也可显著提高胆固醇吸收^[9]。与 CA 相比,人食物中添加 CDCA 并不能显著提高胆固醇吸收,DCA 甚至产生相反效果^[10],这与家禽和猪上研究结果一致^[11, 12]。这些 BA 效果的不同可能与机体对不同 BA 的应答不同有关。对上述研究分析发现,CA 在显著提高肠腔内 CA 以及总胆汁酸(total bile acid, TBA)水平的同时,对其它 BA 影响很小^[9],相反,CDCA 并未提高肠腔内 CDCA 水平以及餐后 TBA 水平峰值,而 DCA 虽然提高了肠腔中 DCA,但是肠腔内 TBA 水平峰值并未改变^[10]。

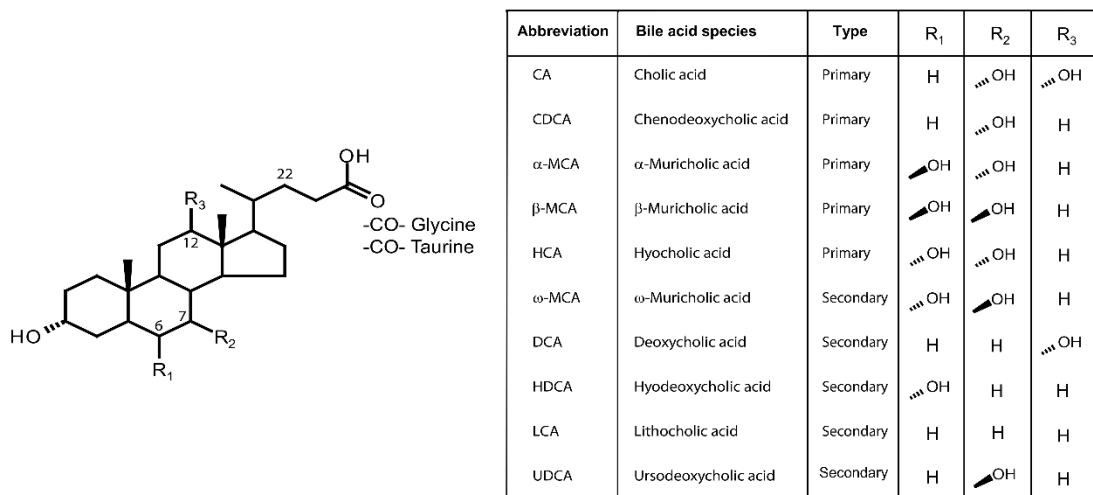


图 1 胆汁酸结构与组成

Figure 1 The structure and composition of bile acids^[13]

2.2 胆汁酸对肝脏代谢稳态及健康的作用

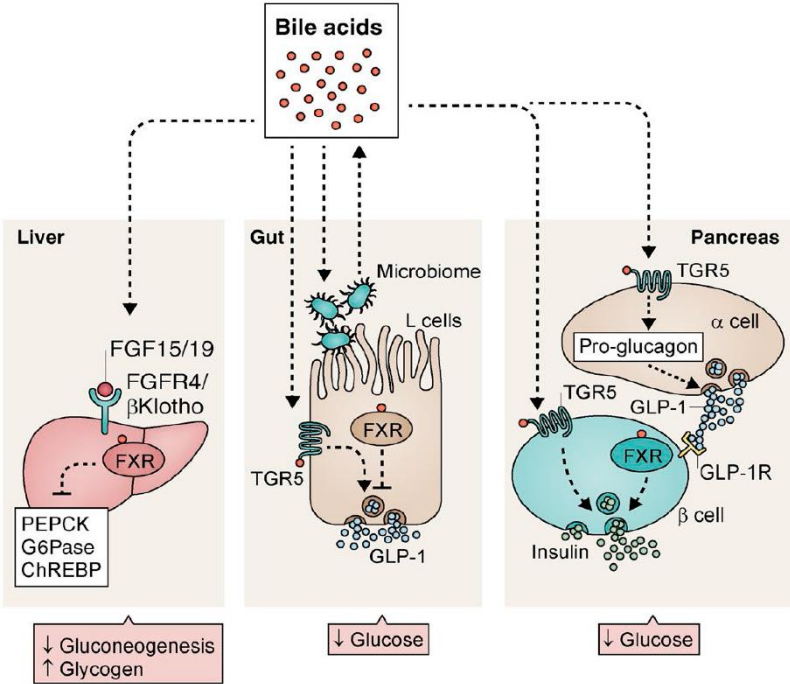
肝脏位于消化道和全身循环的中央位置,在机体葡萄糖代谢和脂代谢上发挥着关键作用。肝脏一方面可以通过肝糖原和糖异生作用维持葡萄糖稳态,另一方面通过吸收食物中甘油三酯和胆固醇合成新的胆固醇,新合成的胆固醇在肝脏作用下合成 BA,进一步作用于肠道,发挥其促进脂类代谢作用。肝脏代谢异常会导致包括糖尿病和动脉粥样硬化在内的多种疾病的发生,因此,维持肝脏代谢稳态对动物和人类健康具有十分重要作用。

2.2.1 胆汁酸与葡萄糖代谢

BA 作为 FXR 的内源配体,通过激活 FXR 调节葡萄糖代谢^[14](见图 2),该调节存在时间效应和组织效应。FXR 激动剂 CA 或人工合成 GW4064 短期处理小鼠(5-16 天)可通过抑制糖异生途径显著降低葡萄糖水平^[14, 15](图 2)。有趣的是, GW4064 长期处理小鼠却会产生相反效果^[16], GW4064 处理高脂日粮小鼠 3 个月可显著提高血糖水平和葡萄糖不耐受,这种相反的结果与小鼠 BA 合成降低和 BA 池减少有关,用天然 FXR 激动剂 CA 替代 GW4064 可以逆转上述代谢异常。以上结果提示,长期使用合成的 FXR 激动剂并不利于葡萄糖代谢的长期调节,天然 BA 在葡萄糖代谢长期调节中效果更趋稳定。肝脏和肠道是 FXR 研究最多以及表达水平最高的部位^[3],然而肠道与肝脏 FXR 的激活会产生截然不同的功效。小鼠上研究发现,BA 可通过激活肝脏 FXR 降低禁食葡萄糖水平,主要表现为促进肝糖原合成和降低糖异生^[15, 17](图 2)。相反,阻止肠道 *Fxr* 基因表达反而有助于机体葡萄糖稳态的维持^[18-20]。

BA 还可通过激活 TGR5 调节葡萄糖代谢^[21]。TGR5 是一种 G 蛋白偶联受体,在肠道、胆囊、棕色和白色脂肪组织、骨骼肌、大脑和胰腺中广泛表达。BA 激活肠道 FXR 会抑制胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1) 的分泌,相反,BA 激活 TGR5 可促进肠道 L 细胞分泌 GLP-1,后者可作用于胰腺 β 细胞,促进胰岛素分泌,调节葡萄糖代谢^[21]。

肠道 FXR 与 TGR5 对 GLP-1 的相反调控意味着肠道 L 细胞 TGR5 的激活可能是采食后的一种快速响应，而 FXR 的激活可能是一种延迟的响应。



PEPCK: 磷酸烯醇式丙酮酸羧基酶; G6Pase: 葡萄糖-6-磷酸酶; ChREBP: 碳水化合物应答元件-结合蛋白; FGFR4: 成纤维生长因子受体 4; β-Klotho: 成纤维细胞生长因子 21 (FGF21) 的辅助因子。

图 2 胆汁酸信号调控机体血糖响应

Figure 2 Bile acid signaling control the systemic glycemic response [22]

2.2.2 胆汁酸与脂类代谢

除了参与食物中脂类和脂溶性维生素溶解、消化和吸收之外，BA 还以其它途径参与调节脂类代谢。与健康人相比，胆结石病人有更高的胆固醇合成、更低的 BA 合成和更少的 BA 池，而更多的胆固醇分泌进入胆汁^[23]。一方面，胆囊中 BA（例如 CDCA）可通过溶解胆固醇进而破坏其结晶和胆结石的形成^[24, 25]。另一方面，BA 还可通过激活 FXR 调节脂类代谢^[26-30]。与葡萄糖代谢相似的是，BA 或 GW4064 短期处理均可通过激活 FXR 改变参与脂肪酸、甘油三酯和脂蛋白代谢的基因表达，显著降低血浆甘油三酯和胆固醇水平，维持正常脂质代谢^[1, 27, 29]。GW4064 长期处理反而会显著提高高脂日粮诱导的血液中甘油三酯累积，而 CA 替代 GW4064 可以完全阻止这种现象发生^[16]。这意味着长期使用合成的 FXR 激动剂也不利于脂类代谢的长期调节，天然 BA 在脂类代谢长期调节中效果更趋稳定。

此外，BA 还可通过激活 FXR 调节自身代谢^[31, 32]，使 BA 维持在相对恒定水平，该部分将在 3.1 节详细描述。综合前述，BA 在调节机体脂类代谢中具有极其重要的作用。

2.3 胆汁酸对肠道发育及健康的作用

不同的 BA 对于肠道细胞的增殖可能具有不同的作用。FXR 作为 BA 的主要受体，其敲

除小鼠表现出更快的结肠细胞增殖速度。与此一致的是, CA、CDCA、DCA 和 LCA 均可抑制体外培养的大鼠小肠细胞增殖^[33]。相反的是, CDCA 处理可显著提高全静脉营养仔猪小肠重量及回肠绒毛比, 同时还改善肠外营养引起的 FXR 下游标志因子成纤维生长因子 19 (fibroblast growth factor19, FGF19)和促肠道生长营养因子胰高血糖素样肽-2 (glucagon-like peptide 2, GLP-2)分泌的下降^[34]。TCA 处理体外培养的大鼠小肠细胞也可促进其增殖^[33]。这些不一致的结果提示, 除了 FXR 之外, 还有其它途径参与调节肠道细胞的增殖。BA 对肠道细胞增殖的调控可能是通过影响酪氨酸激酶、表皮生长因子受体、细胞外信号调节激酶、TGR5 以及 FXR 信号通路共同起作用。

除了调节肠细胞的增殖外, 维持 FXR 的活性还有助于缓解炎症并维持肠道上皮屏障的完整性, 抑制微生物进入肠道, 并调控肠道微生物的生长。研究显示, FXR 的激动剂可抑制肠道巨噬细胞肿瘤坏死因子 α 、白介素-1 β 、白介素-6、环氧合酶-1 和环氧合酶-2 等基因表达。同时, 向野生型小鼠灌喂 FXR 的激动剂 INT747 可以显著缓解葡聚糖硫酸钠诱导的肠道炎症反应增强、形态学评分下降、杯状细胞损失等结肠炎症状, 而 INT747 对于 FXR 敲除小鼠没有该作用^[35]。此外, INT747 还显著降低了肠道的通透性并抑制了肠道炎症因子的表达。以上结果表明 FXR 的激活有助于缓解肠道炎症反应。

2.4 胆汁酸对胎儿存活的影响及机制

综合上文, BA 对脂类吸收、糖脂代谢、肠道发育和健康均有正向调控作用。但不容忽视的是, BA 的疏水性特征使其表现出细胞毒性, BA 的大量累积会损害机体健康。大量研究显示, BA 代谢与胎儿存活之间存在密切关联^[36, 37]。阐明 BA 与胎儿存活之间关系的典型临床案例是妊娠期肝内胆汁淤积 (intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)。研究发现, 母体血清 TBA $\geq 40\mu\text{mol/L}$ 的孕妇比 $<40\mu\text{mol/L}$ 的孕妇有更高的胎儿综合征发生率^[38]。同时, 我们在妊娠母猪上的研究也验证了母体 BA 代谢紊乱严重威胁胎猪存活^[39]。

对 BA 影响胎儿存活的机制研究发现, 妊娠早期胎儿肝脏即可利用胆固醇合成 BA^[40], 然而妊娠期胎儿和新生儿的 BA 肠肝循环尚未完全成熟, 因此, 虽然母体、胎儿之间 BA 转运是双向的, 但是传统观点认为, 胎儿很大程度上依赖胎盘将 BA 转运进入母体进行代谢。ICP 患者升高的母体 BA 水平损害胎盘 BA 转运能力, 导致胎儿 BA 水平升高^[41, 42]。淤积的 BA 可影响肺泡和心脏正常功能导致胎儿死亡。一方面, BA 可显著提高分泌型磷脂酶 A2 活性, 导致肺泡表面活性剂失活^[43]; 另一方面, BA 尤其是 TCA, 可能通过降低心肌收缩引起胎儿节律紊乱, 导致胎儿宫内猝死^[44]。

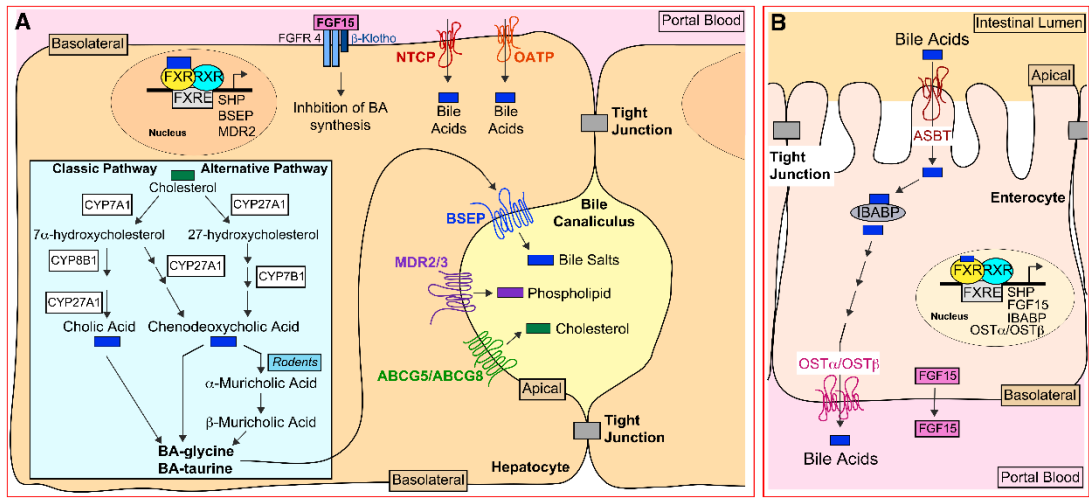
3 胆汁酸代谢稳态及调控

如前文所述, BA 营养生理作用具有两面性: 一方面, 适宜水平的 BA 有助于肠道对脂类的消化吸收, 维持肝脏葡萄糖代谢和脂类代谢平衡; 另一方面, 当 BA 代谢尤其是 BA 分泌和脱毒 (硫酸化、羟基化和葡萄糖醛酸化) 机能受损时, 肝脏合成的 BA 无法有效转运出肝或通过肾脏排泄, 导致大量 BA 或胆盐在肝脏细胞和血液中累积。肝脏中过高 BA 可影响

肠道对脂类的消化吸收,改变肝脏葡萄糖和脂类代谢,导致胆汁淤积发生。因此,维持胆汁酸稳态对机体健康具有重要意义。

3.1 胆汁酸稳态及其调控的分子机制

机体 BA 代谢主要是通过肠肝循环进行,具体途径见图 3。当机体 BA 代谢异常时,BA 可以通过 FXR 和 VDR 进行自我调节,进而维持 BA 稳态。BA 调节自身稳态主要是通过以下几条途径^[32, 45]: 途径 1, BA 激活肝脏 FXR 受体,通过提高小异源二聚体分子伴侣 (small heterodimer partner, SHP) 表达,进而抑制 BA 合成限速酶 CYP7A1 基因表达; 途径 2, BA 激活肠道 FXR, 提高肠道成纤维生长因子 15 (fibroblast growth factor15, FGF15) 或人类同系物成纤维生长因子 19 (fibroblast growth factor19, FGF19) 表达,进而抑制肝脏 *Cyp7a1* 表达; 途径 3, BA 激活肠道 VDR 进而抑制肝脏 *Cyp7a1* 表达。



NTCP: Na⁺-牛磺胆酸共转运多肽; OATP: 有机阴离子转运多肽; MDR2/3: 多药耐药蛋白 2/3; ASBT: 顶端钠依赖性胆酸转运体; OST α : 有机溶质转运体 α ; OST β : 有机溶质转运体 β 。

图 3 胆汁酸在肝脏和肠道的代谢

Figure 3 Bile acids metabolism in liver and intestine^[6]

3.2 繁殖激素对胆汁酸稳态的调控

临床上研究发现,繁殖激素中雌激素与胆汁淤积疾病密切相关。大鼠上一系列研究发现,雌激素代谢产物雌二醇 17- β 葡萄糖醛酸,雌三醇-17 β (β -D-葡萄糖醛酸)和雌三醇-16 α (β -D-葡萄糖醛酸)均可通过抑制胆盐输出泵基因表达 (bile Salt Export Pump, Bsep),阻止 BA 分泌进入胆囊,进而诱导胆汁淤积发生^[46-48]。而雌激素 D-环葡萄糖醛酸的硫酸化可以消除其致胆汁淤积作用^[48]。

虽然雌激素 D-环葡萄糖醛酸在啮齿动物 BA 代谢上具有重要作用,然而孕酮似乎对 BA 稳态具有更强的调控作用。早期研究揭示,胆汁淤积孕妇有更高的血清孕酮水平^[49]和更高的硫酸化孕酮代谢产物水平^[50-52]。最新研究进一步揭示了硫酸化孕酮代谢产物与胆汁酸代谢

之间的关系。作为 FXR 的部分激动剂,硫酸化孕酮代谢产物可以竞争性抑制 BA 介导的 FXR 激活,影响肝脏 BA 吸收^[53]和转运^[47],导致胆汁淤积发生。

3.3 肠道微生物对胆汁酸稳态的调控

肠道微生物在次级胆汁酸合成中发挥至关重要作用。一方面,进入肠道的初级结合型 BA,经肠道微生物作用发生去结合,C₃、C₇和 C₁₂位羟基氧化和 7 α 、7 β 脱羟基以及差向异构化,合成次级胆汁酸^[3]。具有去结合作用的肠道菌属主要有拟杆菌、梭菌、乳杆菌、双歧杆菌及李氏杆菌。具有 7 α 脱羟基作用的肠道菌属主要为梭菌属和真杆菌属。此外,拟杆菌属、真杆菌属、梭菌属、肠杆菌属、消化链球菌属等还具有催化 C₃、C₇和 C₁₂位羟基氧化和异构化的功能^[54]。另一方面,肠道微生物代谢产生的次级胆汁酸还可通过 FXR 调节 BA 代谢。研究表明,小鼠肠道微生物通过降低牛磺 β -鼠胆酸(Taurine conjugated beta-muricholic, T β MCA)水平,缓解其对 FXR 的抑制作用,进而降低 TBA 水平^[4]。

作为介导微生物-宿主之间相互作用的媒介,BA 可影响宿主代谢通路和微生物菌群结构。一方面,BA 可通过促进 BA 代谢菌生长,从而抑制其它胆汁敏感菌生长。另一方面,胆汁流动受阻会导致肠道微生物过度增殖和肠粘膜损伤,进而导致细菌易位通过粘膜屏障,引起系统性感染^[55, 56]。额外摄入 BA 可以抑制胆管堵塞导致的细菌过度增殖和易位^[57],BA 这种功能除了与其发挥洗涤剂特性摧毁细菌质膜直接抗菌之外,还与其通过 FXR 诱导免疫系统产生抗菌剂(例如白介素 8)等有关^[58]。

3.4 营养对胆汁酸稳态的调控

3.4.1 葡萄糖

BA 可以调节葡萄糖代谢,这个过程反之亦然。采食后血液 TBA 水平升高的同时,肝脏 *Cyp7a1* 表达显著升高,然而 BA-FXR-FGF15 介导的负反馈调节在这个过程中并未发挥作用,表明食物中营养参与胆汁酸合成调节^[59]。当用葡萄糖和中链甘油三酯处理禁食小鼠后发现,葡萄糖处理组肝脏 *Cyp7a1* 表达可以达到采食后水平,这意味着采食后胆汁酸合成能力的增加可能是由血糖水平升高所致,而甘油三酯似乎不具备这种作用。这种采食后葡萄糖和 BA 代谢之间的相互调节对于采食后葡萄糖稳态可能具有重要作用,机体对禁食和餐后 BA 合成的响应异常可能会导致糖尿病和肥胖的发生。

3.4.2 脂类

在胆固醇分解代谢中,大约 50%的胆固醇在肝脏转化为 BA,因此,作为 BA 合成前体,胆固醇也可通过调节 BA 代谢维持自身平衡。此外,剩下大约 40%胆固醇进入胆汁以粪便形式排出。早期研究发现,高胆固醇或高脂摄入可以显著提高粪便中 BA 的排泄^[60, 61],然而其是否可以提高肝脏 BA 合成能力,目前尚无确切结论。但是,高脂食物可以改变粪便中 BA 组成,降低 UDCA/DCA 比值^[64],这意味着 BA 代谢发生改变。

3.4.3 VA 和 VD

BA 在促进肠道对食物中脂溶性维生素消化吸收的同时,脂溶性维生素 VA 和 VD 也可

反过来调节 BA 代谢。VA 和 VD 调节 BA 代谢主要通过影响 BA 合成和 BA 脱毒两方面。近期研究发现, VA 和 VD 均可通过降低 *Cyp7a1* 表达抑制 BA 合成^[45]。然而, 两者的具体机制又不尽相同。VD 活性形式 (1 α , 25-二羟基维生素 D3) 可通过维生素 D 受体 VDR 提高 *Fgf15* 表达进而抑制 *Cyp7a1* 表达。VA 可通过同时提高肠道 *Fgf15* 和肝脏 *Shp* 抑制 *Cyp7a1* 表达。VA 双重调节机制为病理性肠道负反馈受损条件下维持胆汁酸稳态提供了新的可能。此外, 1 α , 25-二羟基维生素 D3 可通过激活 VDR, 诱导 BA 脱毒基因-细胞色素 P450 3A4 基因表达, 降低肝脏和肠道中 LCA 毒性^[2], 缓解 LCA 引发的结肠癌^[62]。因此, VA 和 VD 可通过 BA 合成和脱毒两方面维持 BA 代谢稳态, 保护机体健康。

3.4.4 果胶

果胶是在植物细胞壁的初生壁和细胞中间片层中广泛存的一类杂多糖, 根据其分子主链和支链结构的不同, 果胶主要分为同型半乳糖醛酸聚糖、鼠李半乳糖醛酸聚糖、鼠李半乳糖醛酸聚糖 II 和木糖半乳糖醛酸聚糖。作为一种可溶性膳食纤维, 人和啮齿动物上研究均表明, 果胶可以调节 BA 代谢^[63-65], 其途径主要包括: 1) 提高肝脏 BA 合成限速酶 CYP7A1 酶活, 增加 BA 合成; 2) 降低 BA 重吸收, 增加粪便中 BA 排出。

4 小结与展望

BA 作为 FXR、TGR5 和 VDR 等关键信号分子的天然配体, 使 BA 在营养、生理及免疫方面的调控作用越来越受到人们的关注, 但是目前的研究主要集中在人和模式动物 (主要是鼠) 上, 关于胆汁酸代谢与动物生产的关系及其调控在畜禽上还缺乏系统深入的研究。值得重视的是, 对于新生期、快速生长期或特殊营养干预 (如肠外营养) 动物, 适宜的 BA 水平有助于肠道对脂类和脂溶性维生素的消化吸收, 促进肠道生长发育, 并有调节肠道微生物和免疫力的作用; 对于成年非妊娠动物, BA 不仅促进食物中脂类的消化吸收, 还可通过调节糖脂代谢维持机体健康; 然而, 对于孕妇和妊娠动物, 机体 BA 淤积会损害母体和胎儿健康, 提高胎儿宫内发育迟缓、早产甚至死亡等不良结局的风险。因此, 客观全面地认识胆汁酸的营养生理作用、科学合理地调控胆汁酸代谢, 对维护人和动物健康、提高动物生产均具有重要意义。

参考文献:

- [1] SINAL C J, TOHKIN M, MIYATA M, et al. Targeted Disruption of the Nuclear Receptor FXR/BAR Impairs Bile Acid and Lipid Homeostasis [J]. *Cell*, 2000, 102(6): 731-44.
- [2] MAKISHIMA M, LU T T, XIE W, et al. Vitamin D Receptor As an Intestinal Bile Acid Sensor [J]. *Science*, 2002, 296(5571): 1313-6.
- [3] LEFEBVRE P, CARIOU B, LIEN F, et al. Role of Bile Acids and Bile Acid Receptors in Metabolic Regulation [J]. *Physiological Reviews*, 2009, 89(1): 147-91.
- [4] SAYIN S, WAHLSTRÖM A, FELIN J, et al. Gut Microbiota Regulates Bile Acid Metabolism

- by Reducing the Levels of Tauro-beta-muricholic Acid, a Naturally Occurring FXR Antagonist [J]. *Cell metabolism*, 2013, 17(2): 225-35.
- [5] PEREIRAFANTINI P M, LAPHORNE S, JOYCE S A, et al. Altered FXR signalling is associated with bile acid dysmetabolism in short bowel syndrome-associated liver disease [J]. *Journal of Hepatology*, 2014, 61(5): 1115-25.
- [6] DE AGUIAR VALLIM T Q, TARLING E J, EDWARDS P A. Pleiotropic roles of bile acids in metabolism [J]. *Cell metabolism*, 2013, 17(5): 657-69.
- [7] 宋雨默. 万古霉素对妊娠母猪肠道菌群及胆汁酸稳态的影响研究[D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2017:26-32.
- [8] LAI W, HUANG W, DONG B, et al. Effects of dietary supplemental bile acids on performance, carcass characteristics, serum lipid metabolites and intestinal enzyme activities of broiler chickens [J]. *Poult Sci*, 2018, 97(1).
- [9] WOOLLETT L A, BUCKLEY D D, YAO L, et al. Cholic Acid Supplementation Enhances Cholesterol Absorption in Humans [J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(3): 724-31.
- [10] WANG Y, JONES P J H, WOOLLETT L A, et al. Effects of chenodeoxycholic acid and deoxycholic acid on cholesterol absorption and metabolism in humans [J]. *Translational Research*, 2006, 148(1): 37-45.
- [11] PIEKARSKI A, DECUYPERE E, BUYSE J, et al. Chenodeoxycholic acid reduces feed intake and modulates the expression of hypothalamic neuropeptides and hepatic lipogenic genes in broiler chickens [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2016, 229(74-83).
- [12] DE DIEGOCABERO N, MEREU A, MENOYO D, et al. Bile acid mediated effects on gut integrity and performance of early-weaned piglets [J]. *BMC Veterinary Research*, 2015, 11(1): 111.
- [13] SWANN J R, WANT E J, GEIER F M, et al. Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(Supplement 1): 4523-30.
- [14] MA K, SAHA P K, CHAN L, et al. Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2006, 116(4): 1102-9.
- [15] ZHANG Y, LEE F Y, BARRERA G C, et al. Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(4): 1006-11.
- [16] WATANABE M, HORAI Y, HOUTEN S M, et al. Lowering Bile Acid Pool Size with a Synthetic Farnesoid X Receptor (FXR) Agonist Induces Obesity and Diabetes through Reduced Energy Expenditure [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(30): 26913-20.

- [17] POTTHOFF M J, BONEYMONTTOYA J, CHOI M, et al. FGF15/19 Regulates Hepatic Glucose Metabolism By Inhibiting the CREB-PGC-1 α Pathway [J]. *Cell metabolism*, 2011, 13(6): 729-38.
- [18] LI F, JIANG C, KRAUSZ K W, et al. Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity [J]. *Nature Communications*, 2013, 4(2384).
- [19] JIANG C, XIE C, LI F, et al. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2015, 125(1): 386-402.
- [20] JIANG C, XIE C, LV Y, et al. Intestine-selective farnesoid X receptor inhibition improves obesity-related metabolic dysfunction [J]. *Nature communications*, 2015, 6(10166).
- [21] THOMAS C, GIOIELLO A, NORIEGA L, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis [J]. *Cell metabolism*, 2009, 10(3): 167-77.
- [22] SHAPIRO H, KOLODZIEJCZYK A A, HALSTUCH D, et al. Bile acids in glucose metabolism in health and disease [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2018, 215(2): 383-96.
- [23] KERN F. Effects of dietary cholesterol on cholesterol and bile acid homeostasis in patients with cholesterol gallstones [J]. *The Journal of clinical investigation*, 1994, 93(3): 1186-94.
- [24] ISER J H, SALI A. Chenodeoxycholic Acid: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use [J]. *Drugs*, 1981, 21(2): 90-119.
- [25] BELL G D, WHITNEY B, DOWLING R H. Gallstone dissolution in man using chenodeoxycholic acid [J]. *The Lancet*, 1972, 300(7789): 1213-6.
- [26] KAST H R, NGUYEN C M, SINAL C J, et al. Farnesoid X-Activated Receptor Induces Apolipoprotein C-II Transcription: a Molecular Mechanism Linking Plasma Triglyceride Levels to Bile Acids [J]. *Molecular Endocrinology*, 2001, 15(10): 1720-8.
- [27] LAMBERT G, AMAR M J, GUO G L, et al. The Farnesoid X-receptor Is an Essential Regulator of Cholesterol Homeostasis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(4): 2563-70.
- [28] HANNIMAN E A, LAMBERT G, MCCARTHY T C, et al. Loss of functional farnesoid X receptor increases atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Journal of Lipid Research*, 2005, 46(12): 2595-604.
- [29] WATANABE M, HOUTEN S M, WANG L, et al. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2004, 113(10): 1408-18.
- [30] ZHANG Y, WANG X, VALES C, et al. FXR Deficiency Causes Reduced Atherosclerosis in Ldlr^{-/-} Mice [J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2006, 26(10): 2316-21.

- [31] KONG B, WANG L, CHIANG J Y L, et al. Mechanism of tissue-specific farnesoid X receptor in suppressing the expression of genes in bile-acid synthesis in mice† [J]. *Hepatology*, 2012, 56(3): 1034-43.
- [32] INAGAKI T, CHOI M, MOSCHETTA A, et al. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis [J]. *Cell metabolism*, 2005, 2(4): 217-25.
- [33] DOSSA A, ESCOBAR O H, GOLDEN J, et al. Bile acids regulate intestinal cell proliferation by modulating EGFR and FXR signaling [J]. *American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology*, 2016, 310(2).
- [34] JAIN A K, STOLL B J, BURRIN D G, et al. Enteral bile acid treatment improves parenteral nutrition-related liver disease and intestinal mucosal atrophy in neonatal pigs [J]. *American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology*, 2012, 302(2).
- [35] GADALETA R M, VAN ERPECUM K J, OLDENBURG B, et al. Farnesoid X receptor activation inhibits inflammation and preserves the intestinal barrier in inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2011, 60(4): 463-72.
- [36] GEENES V. Intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2009, 15(17): 2049.
- [37] ZECCA E, DE LUCA D, MARRAS M, et al. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy and Neonatal Respiratory Distress Syndrome [J]. *Pediatrics*, 2006, 117(5): 1669-72.
- [38] GLANTZ A, MARSCHALL H U, MATTSSON L A. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Relationships between bile acid levels and fetal complication rates [J]. *Hepatology*, 2004, 40(2): 467-74.
- [39] 王朋.母猪妊娠中后期胆汁酸代谢及其对繁殖性能的影响[D].硕士学位论文.成都:四川农业大学, 2016:01-10.
- [40] SMALLWOOD R A, JABLONSKI P, WATTS J M. Bile acid synthesis in the developing sheep liver [J]. *Clinical Science*, 1973, 45(3): 403-6.
- [41] GEENES V, LOVGREN-SANDBLOM A, BENTHIN L, et al. The Reversed Feto-Maternal Bile Acid Gradient in Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy Is Corrected by Ursodeoxycholic Acid [J]. *PloS one*, 2014, 9(1): 1-9.
- [42] SERRANO M A, BRITES D, LARENA M G, et al. Beneficial effect of ursodeoxycholic acid on alterations induced by cholestasis of pregnancy in bile acid transport across the human placenta [J]. *Journal of hepatology*, 1998, 28(5): 829-39.
- [43] DE LUCA D, MINUCCI A, ZECCA E, et al. Bile acids cause secretory phospholipase A2 activity enhancement, revertible by exogenous surfactant administration [J]. *Intensive Care Medicine*, 2009, 35(2): 321-6.

- [44] WILLIAMSON C, MIRAGOLI M, KADIR S S A, et al. Bile Acid Signaling in Fetal Tissues: Implications for Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy [J]. *Digestive Diseases*, 2011, 29(1): 58-61.
- [45] SCHMIDT D R, HOLMSTROM S T K, BOOKOUT A L, et al. Regulation of bile acid synthesis by fat-soluble vitamins A and D [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(19): 14486-94.
- [46] STIEGER B, FATTINGER K, MADON J, et al. Drug-and estrogen-induced cholestasis through inhibition of the hepatocellular bile salt export pump (Bsep) of rat liver [J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(2): 422-30.
- [47] VALLEJO M, BRIZ O, SERRANO M A, et al. Potential role of trans-inhibition of the bile salt export pump by progesterone metabolites in the etiopathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Journal of Hepatology*, 2006, 44(6): 1150-7.
- [48] MEYERS M, SLIKKER W, VORE M. Steroid D-ring glucuronides: characterization of a new class of cholestatic agents in the rat [J]. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*, 1981, 218(1): 63.
- [49] ESTIÚ M C, MONTE M J, RIVAS L, et al. Effect of ursodeoxycholic acid treatment on the altered progesterone and bile acid homeostasis in the mother-placenta-foetus trio during cholestasis of pregnancy [J]. *British journal of clinical pharmacology*, 2015, 79(2): 316-29.
- [50] MENG L-J, REYES H, PALMA J, et al. Profiles of bile acids and progesterone metabolites in the urine and serum of women with intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Journal of hepatology*, 1997, 27(2): 346-57.
- [51] ABUHAYYEH S, PAPACLEOVOULOU G, LOVGRENSANDBLOM A, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy levels of sulfated progesterone metabolites inhibit farnesoid X receptor resulting in a cholestatic phenotype [J]. *Hepatology*, 2013, 57(2): 716-26.
- [52] REYES H, SJOVALL J. Bile acids and progesterone metabolites in intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Annals of Medicine*, 2000, 32(2): 94-106.
- [53] ABUHAYYEH S, MARTINEZBECERRA P, KADIR S H S A, et al. Inhibition of Na⁺-Taurocholate Co-transporting Polypeptide-mediated Bile Acid Transport by Cholestatic Sulfated Progesterone Metabolites [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(22): 16504-12.
- [54] JIA W, XIE G, JIA W. Bile acid–microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2018, 15(2): 111.
- [55] BERG R D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract [J]. *Trends in microbiology*, 1995, 3(4): 149-54.
- [56] CLEMENTS W D B, PARKS R W, ERWIN P J, et al. Role of the gut in the pathophysiology of extrahepatic biliary obstruction [J]. *Gut*, 1996, 39(4): 587-93.

- [57] LORENZO-ZÚÑIGA V, BARTOLÍ R, PLANAS R, et al. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats [J]. *Hepatology*, 2003, 37(3): 551-7.
- [58] INAGAKI T, MOSCHETTA A, LEE Y K, et al. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(10): 3920-5.
- [59] LI T, FRANCL J M, BOEHME S, et al. Glucose and insulin induction of bile acid synthesis: mechanisms and implication in diabetes and obesity [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, jbc. M111. 305789.
- [60] LIN D, CONNOR W. The long term effects of dietary cholesterol upon the plasma lipids, lipoproteins, cholesterol absorption, and the sterol balance in man: the demonstration of feedback inhibition of cholesterol biosynthesis and increased bile acid excretion [J]. *Journal of lipid research*, 1980, 21(8): 1042-52.
- [61] STENMAN L K, HOLMA R, KORPELA R. High-fat-induced intestinal permeability dysfunction associated with altered fecal bile acids [J]. *World journal of gastroenterology: WJG*, 2012, 18(9): 923.
- [62] WELSH J, WIETZKE J A, ZINSER G M, et al. Vitamin D-3 receptor as a target for breast cancer prevention [J]. *The Journal of nutrition*, 2003, 133(7): 2425S-33S.
- [63] BOSAEUS I, CARLSSON N, SANDBERG A, et al. Effect of wheat bran and pectin on bile acid and cholesterol excretion in ileostomy patients [J]. *Human nutrition Clinical nutrition*, 1986, 40(6): 429-40.
- [64] GARCIADIEZ F, GARCIMEDIIVILLA V, BAYON J E, et al. Pectin Feeding Influences Fecal Bile Acid Excretion, Hepatic Bile Acid and Cholesterol Synthesis and Serum Cholesterol in Rats [J]. *Journal of Nutrition*, 1996, 126(7): 1766-71.
- [65] LEVEILLE G A, SAUBERLICH H E. Mechanism of the Cholesterol-depressing Effect of Pectin in the Cholesterol-fed Rat [J]. *Journal of Nutrition*, 1966, 88(2): 209-14.

The nutritional and physiological functions and homeostasis regulation of bile acids

WANG Peng, FANG ZhengFeng*, LIN Sen, SONG Yumo, ZHONG Heju, YIN Huajun, WU De,
CHE Lianqiang, LIN Yan, XUE Shengyu, FENG Bin, LI Jian

(Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Bile acids are amphipathic structure compound derived from the catabolism of cholesterol in liver. For a long time, the understanding of the physiological function of bile acids

has been limited to the formation of micelles owing to its detergent characteristics, which facilitates the solubilization, digestion and absorption of dietary lipids and fat-soluble vitamins. Since the first discovery of farnesol X receptors (FXR) in 1995, there has been growing interest in bile acids which were identified to be endogenous ligands of FXR and play an important role in activating FXR signaling pathways. Series studies have shown that bile acids also can activate G protein-coupled bile acid receptor 1 (GPBAR1, also known as TGR5) and vitamin D receptor (VDR), thereby participating in the regulation of glucose metabolism, lipid metabolism, immunity adjustment and bile acid homeostasis. However, in light of that high concentration of bile acids, especially hydrophobic BA, show cytotoxicity, intrahepatic cholestasis of pregnancy is considered to be an important factor leading to fetal intrauterine growth retardation, intrauterine distress, preterm delivery and even death. Therefore, an objective and comprehensive understanding of the nutritional and physiological functions of bile acids and the scientific and reasonable regulation of bile acids metabolism are of great significance to the maintenance of human and animal health and the improvement of animal production. This review briefly introduces the classification of bile acids, the nutrition and physiology role of bile acids, bile acids homeostasis and its regulation, which may provide new version and reference for animal nutrition and animal production.

Keywords: bile acids; glucose metabolism; lipid metabolism; intestinal health, fetal survival; bile acids homeostasis; nutritional manipulation

种母猪营养研究进展

吴 德 方正锋 车炼强 徐盛玉 卓 勇 钟和局 彭 燮

四川农业大学 动物营养研究所

摘要：生产中由于后备母猪培育、妊娠、泌乳等各个环节的营养与饲养管理不当，中国母猪的繁殖效率比欧美发达国家低 30-40%。此外，规模化猪场母猪年淘汰率高达 40-50%，提示养猪生产者不仅应当追求单胎的繁殖成绩，而且应该关注母猪的种用年限，以每头母猪终生提供的产仔数或产肉量来衡量母猪的繁殖力。国内外研究营养对母猪繁殖性能的影响主要集中在妊娠和泌乳阶段，后备母猪阶段的研究相对较少。研究涉及的营养素主要以能量、氨基酸、功能性添加剂为主，而维生素、微量元素方面的研究较少。本文重点综述了近年来营养对母猪繁殖力的调控效应，为养猪生产者制定合理的营养与饲养管理方案提供参考。

关键词：后备母猪、妊娠母猪、泌乳母猪、繁殖力、营养

通过品种选育、营养、管理、疾病防控等各环节的努力，中国规模化猪场母猪的繁殖力有了较大提升。尽管如此，中国母猪繁殖力与欧美发达国家相比还有较大差距，体现在后备母猪的留种率低、妊娠母猪产仔数低和弱仔数高、泌乳母猪泌乳力低及断奶后受胎率低等问题。本文重点综述了近年来营养对母猪繁殖性能影响的最新进展。

1 后备母猪营养

中国母猪年淘汰率可达 40-50%，每年需要培育 1600 万~2000 万头后备母猪进入种群，因而后备母猪的培育质量对于其后续繁殖性能及养猪生产效益起着至关重要的作用。然而，养猪生产中因乏情、受胎率低、产仔数低等繁殖障碍导致后备母猪第一胎被淘汰的比例高达 15-20%^[1]，给种猪生产带来巨大的经济损失。因营养及饲养管理不当引起情期启动受阻及卵泡发育质量不佳可能是导致后备母猪淘汰的重要原因。除此之外，肢体疾病也是影响青年后备母猪淘汰率的关键因素^[1]。根据目前的研究结果，营养可能通过影响下丘脑-垂体-性腺轴的基因表达及激素分泌影响后备母猪的繁殖性能及淘汰率。

1.1 能量水平对后备母猪繁殖性能的影响

后备母猪适宜的能量需要量已有部分研究，研究表明能量对后备母猪的繁殖性能存在阶段性和长久性的影响。NRC（2012）后备母猪的能量摄入水平参考生长育肥猪，但日粮赖能比对后备母猪初情启动及卵泡发育的研究较少。研究设计三个代谢能水平（2.94, 3.25, 3.57 Mcal/kg）及两个赖氨酸水平的日粮，结果发现自由采食下各处理之间的初情启动及卵泡发育影响差异不显著，说明日粮能量及赖氨酸水平并不显著影响后备母猪的繁殖性能，可能原因在于低能或低赖氨酸情况下采食量适应性上调导致能量、赖氨酸的摄入量差异不显著的缘故^[2]。而在相同采食量的情况下，发现高能日粮能够显著上调卵巢促卵泡素受体(FSHR)和促黄体素受体(LH/CGR) mRNA 表达^[3]，这些关键基因表达量的变化可能会对卵泡发育产生明

显的调控效应。研究人员^[4]以 NRC（2012）推荐的后备母猪净能值（2374 kcal/kg）为标准，通过降低（2274 kcal/kg）或升高（2474 kcal/kg）后备母猪饲料净能摄入，检测母猪血液中生化指标并运用液相质谱-色谱代谢组学方法来研究配种前不同能量水平饲料对后备母猪血浆代谢组的差异，研究发现能量水平显著影响了后备母猪胰岛素、促黄体素、氨基酸、羟基代葡萄糖苷和磷酸鞘氨醇含量，为深入了解能量摄入与繁殖性能之间的关系提供了依据^[4]。

因后备母猪的卵巢发育始于宫内生长时期，故母体营养能够长久性地改变后代的卵巢发育。研究选用 24 头约克夏妊娠母猪饲喂高、低能量水平，结果发现，母体妊娠期高能量水平显著降低子代母猪 160 天时大卵泡数目及初情阶段小卵泡数目，母体能量水平改变后代卵泡发育的原因可能与卵泡凋亡及抗氧化能力有关^[5]，为后备母猪的培育策略提供了新的思路。

1.2 碳水化合物类型对后备母猪繁殖性能的影响

目前，碳水化合物类型对后备母猪繁殖性能的研究较少，主要集中在日粮纤维上的研究。石建凯等（2017）总结前人研究发现^[6]，日粮纤维水平不同程度地影响了后备母猪的初情启动和卵泡发育。日粮纤维主要通过调节血液中 SCFAs、激素分泌影响卵母细胞质量，但对下丘脑的促性腺激素的分泌影响报道较少^[6]。近年来研究发现，以可溶性和不可溶性纤维来剖分纤维对母猪繁殖性能的影响更加合理。因此，Zhuo 等（2017）研究了后备母猪日粮中添加可溶性纤维对繁殖性能的影响，结果发现可溶性纤维促进了母猪初情启动，并且改善了第一胎的繁殖成绩，其原因可能与纤维改变雌二醇的合成和代谢有关^[7]。为研究高纤维日粮对地方品种的后备母猪性成熟和卵泡发育的影响，程法真等^[8]选用 48 头苏淮小母猪，随机分为 2 组，每组 24 头，分别饲喂含纤维 5.41%、7.58% 的日粮。结果表明，高纤维推迟了母猪的性成熟，可能原因在于高纤维降低后备母猪的能量摄入有关。Li^[9]等选取 36 头长白后备母猪（71.05±4.53 kg，162±3 日龄）随机分到 3 个处理，淀粉组（SG，无糖且含 64% 玉米淀粉）、低糖组（LDG，19.2% 葡萄糖和 44.8% 玉米淀粉）、高糖组（HDG，30% 葡萄糖和 30% 玉米淀粉），结果发现，小母猪的生长性能不受葡萄糖影响，但影响情期启动的日龄；与 SG 相比，HDG 中胰岛素浓度在情期前增加；不同处理血清孕酮水平无差异，而 HDG 的情期启动时雌二醇，黄体生成激素和卵泡刺激素的水平显著更高。由此表明饲料补充葡萄糖可促进后备母猪情期启动。

1.3 氨基酸对后备母猪繁殖性能的影响

低蛋白水平下添加氨基酸可节约饲料资源并降低氮排放。董志岩等^[10]的研究考察了理想氨基酸模式下不同氨基酸水平的低蛋白饲料对后备母猪初情日龄、血清代谢产物和激素浓度的影响，结果发现提高氨基酸水平可以降低母猪的初情日龄，发生这种变化的可能原因在于激素分泌水平的变化。简勇军等^[11]考察日粮中不同蛋氨酸/赖氨酸比值对后备母猪生长及繁殖性能的影响，结果表明，随着日粮蛋氨酸与赖氨酸比值的增加，仔猪初生窝重和仔猪出生个体重显著增加。其中，日粮 Met/Lys=38.2% 时，母猪孕期增重、仔猪初生窝重和仔猪出生个体重均最大，表明母猪后备期的氨基酸水平和比例和后续繁殖性能密切相关。

1.4 饲料霉菌毒素对后备母猪繁殖性能的影响

为了探讨自然霉变玉米及麦麸对后备母猪生产性能的影响^[12], 研究选取 63 头健康 LY 后备母猪 (48.51±3.68kg, 113±8 日龄), 随机分到 7 个处理组, 霉菌毒素污染的玉米分别以 0% (对照组)、25%、50%、75%和 100%的比例等量替换玉米-豆粕型基础饲料中的正常玉米, 100% 霉变麦麸替代正常麦麸和 100%霉变玉米替代正常玉米+100%霉变麦麸替代正常麦麸。结果表明, 长期饲喂含自然霉变玉米 (含低剂量 ZEA、DON 和 AFB1) 饲料降低后备母猪生长性能, 这可能与肝脏相关 IGF1 的表达下降及机体的氧化应激增加有关。玉米 ZEA 能够引起下丘脑-垂体-性腺轴紊乱, 关键机制在于其能够通过雌激素受体依赖的 GSK-3 β 信号途径, 激活卵巢的 Wnt-1/ β -catenin 通路, 引起卵泡发育紊乱^[13]。

1.5 功能性添加物对后备母猪繁殖性能的影响

为了探明不同形态的猪卵巢中卵母细胞体外成熟与脂滴的相关性的影响及小檗碱的调控, 罗晓霏等^[14]将卵泡型卵巢 GV 期和黄体型卵巢 GV 期卵母细胞分别进行体外成熟, 结果表明, 小檗碱组卵母细胞的颗粒细胞扩散率显著高于对照组, 第一极体排出率极显著高于对照组; 体外成熟后, 小檗碱组脂滴含量极显著降低。He^[15]等研究了后备母猪上添加丁酸钠对其随后繁殖性能和初乳组成的影响。选取 40 头 LY 后备母猪 (160-175 日龄) 分为对照组和丁酸钠处理组 (SB, 添加 500mg/kg)。结果表明, 丁酸钠处理能够显著降低母猪配种后的返情率, 说明丁酸钠能够显著改善后备母猪的卵母细胞质量。

2 妊娠母猪营养

妊娠母猪繁殖性能显著影响猪场生产效率, 每头母猪每年提供断奶仔猪及上市肥猪的数量是衡量妊娠母猪繁殖性能的主要经济指标; 同时, 母猪妊娠期营养显著影响后代产肉力及肉品质。因此, 本部分主要综述妊娠母猪的营养需要以及营养对母猪胎儿发育、产仔数、肠道微生物、后代产肉力及产肉品质的影响。

2.1 能量与脂肪营养对妊娠母猪繁殖性能的影响

日粮能量是母猪发挥繁殖生理功能的基础, 不仅影响母猪单胎繁殖性能, 而且对母猪后续胎次的繁殖性能及后代的生长发育产生长久性影响。Jin 等 (2016)^[16]考察了初产母猪的能量需要量, 结合繁殖性能和体况指标最终确定初产母猪代谢能需要为 6400kcal/d。随后 Jin 等 (2018)^[17]考察了日粮能量水平对连续 3 胎母猪生理指标和繁殖性能的影响, 其试验结果表明妊娠母猪在第 1, 2, 3 胎的代谢能摄入分别为 6400 或 6600kcal/d, 7040 或 7260kcal/d, 7680 或 7920kcal/d。

母体妊娠期营养对后代的生长发育有着至关重要的作用, 母体妊娠期营养不足通常导致后代出生重偏低, 阻碍肠道生长和免疫功能的发育。Chen 等 (2017)^[18]研究发现母猪低能摄入会降低仔猪体重、小肠消化吸收功能。此外, 母体低能摄入会显著升高断奶仔猪在 LPS 应激条件下的易感性。胎盘作为联系母体与胎儿的纽带, 胎儿异常生长与胎盘养分转运活性改变有关。该课题组 Che 等 (2017)^[19]利用 iTRAQ 考察了母体能量对胎盘蛋白质组学的影响。

响。其结果暗示母体营养可以通过调节胎盘脂质和能量代谢来改变初生重。

油脂不仅可以作为母猪日粮中的能量来源还可为机体提供必需脂肪酸,不同的油脂由于其脂肪酸组成的差异而导致脂肪的质量和营养价值不同。Jin 等(2017)^[20]研究结果表明,日粮添加鱼油和大豆油可以提高通过提高常乳中脂肪含量来提高哺乳仔猪生长性能,且鱼油组母猪可以通过增加 n-3 多不饱和脂肪酸的有效性和免疫球蛋白的分泌来促进仔猪更好的生长。Laws 等(2018)^[21]研究发现妊娠后期和哺乳期添加棕榈油可以减少母猪哺乳期体损失,增加乳脂含量从而为仔猪提供能量供应;然而妊娠后期添加棕榈油也会导致哺乳期血糖浓度的升高,可能暗示葡萄糖稳态受损。Liu 等(2018)^[22]研究发现妊娠后期添加 2.25% 的共轭亚油酸可以通过增加初乳 IgG 含量来提高被动免疫并提高哺乳仔猪存活率。同时 Su 等(2017)^[23]考察了不同油脂质量(新鲜玉米油和氧化玉米油)和抗氧化剂添加对母猪繁殖性能、乳成分和抗氧化能力的影响。试验结果表明,饲喂氧化玉米油尽管会降低哺乳期采食量,但是对繁殖性能不会造成显著影响;饲喂氧化玉米油对机体抗氧化系统损害可以通过添加抗氧化剂部分改善。

2.2 纤维对妊娠母猪繁殖性能的影响

为了维持体况和控制体增重需要对母猪进行能量限饲,而限饲会导致母猪发生刻板、躁动和攻击行为。添加日粮纤维可以降低饲料能量密度,从而在不增加能量供给的情况下加大采食量,进而增加饱腹感,减少侵略行为。Sapkota 等(2016)^[24]研究发现添加纤维(大豆壳)可以在不影响母猪生产力的情况下,通过降低攻击行为、增加饱腹感来提高母猪福利。Feyera 等(2017)^[25]研究发现,在妊娠最后 2 周增加日粮纤维水平可以降低死胎率和总的初生仔猪死亡率以及哺乳期低活力仔猪和腹泻仔猪的死亡率。Tan 等(2017)^[26]考察了不同发酵特性的可溶性纤维对连续两胎次母猪采食量的影响。研究结果表明,魔芋粉具有高发酵能力,它可以提高胰岛素敏感指数,进而提高哺乳期采食量来改善仔猪在第二个繁殖周期的生长性能。Zhou 等(2017)^[27]研究发现母猪妊娠期添加 1.5% 的菊粉通过肠道微生物的改变来改善母猪体重增长、代谢和炎症状态和新生仔猪 BMI 指数。在肠道微生物的解析中发现,围产期与其他妊娠阶段肠道微生物的变化暗示母猪处于分解代谢,其能量损失和炎症反应增加。Zhou 等(2018)^[28]进一步研究发现,妊娠期添加菊粉可以改善母体糖脂代谢,提高新生仔猪特性,且这些有益效果在高脂日粮中更明显,分析原因可能是由于菊粉诱导 SCFA 的生成及养分消化率的改变造成的。

2.3 蛋白质与氨基酸对妊娠母猪繁殖性能的影响

研究内容主要集中在氨基酸需要量及功能性氨基酸对母体及子代生长发育的影响。Gonçalves 等(2016)^[29]考察了妊娠后期(90d)氨基酸和能量摄入对商业条件下初产、经产母猪繁殖性能的影响。试验结果表明,初产和经产母猪体重增长与能量和氨基酸摄入都有关;经产母猪在高能摄入情况下会增加死胎率;然而妊娠后期增加能量摄入对个体仔猪初生重有正向影响,而氨基酸摄入对其影响不大。Leu 在蛋白质的合成与代谢中起着重要作用。

Wang 等 (2018) [15] 研究发现, 妊娠后期添加 0.4%-0.8% 的 Leu 可以通过调整血浆氨基酸组成模式、氨基酸转载体表达和 mTOR 信号通路来增加蛋白质合成, 从而提高胎儿初生重。Krogh 等 (2016) [16] 研究发现, 从妊娠 30 天开始每天额外添加 25g Arg 至哺乳 28 天对初乳成分会产生影响, 但是对初乳乳产量以及常乳乳成分和乳产量无显著影响。在后代育肥试验中表明, 母体饲喂 Arg 对初生重和断奶重无显著影响, 但是后代饲喂至 140 日龄时其生长性能与母体精氨酸的补充和仔猪初乳的摄入有关 [17]。在乳腺安装留置导管的试验中发现添加精氨酸并没有增加母猪乳腺血浆流量、乳腺 AA 和能量代谢产物; 但乳腺摄取必需 AA 的速率表明 AA 对妊娠后期的乳腺不存在限制性, 而 Lys 和 Leu 是泌乳高峰期产奶量最大的两个限制性必需 AA [18]。Bass 等 (2017) [19] 同样研究发现妊娠后期添加 Arg 对母猪产活仔数、仔猪初生重及泌乳性能并无影响。Ji 等 (2018) [20] 考察了母猪日粮添加脯氨酸对妊娠 45 天和 70 天结肠微生物和细菌代谢产物的影响。试验结果表明, 添加 1% 的脯氨酸会改变结肠微生物组组成和肠腔内一些细菌代谢产物的含量; 此外研究数据还显示随着怀孕过程的进展, 微生物的组成和细菌代谢产物的含量都在发生不断的变化。

2.4 维生素与矿物质对妊娠母猪繁殖性能的影响

胆碱是合成磷脂、神经发育和 DNA 甲基化所必需的。Mudd 等 (2016) [21] 研究发现, 围产期胆碱缺乏会引起哺乳结束时血浆胆碱代谢产物的明显改变; 乳中甜菜碱和特定脂肪酸对于胆碱缺乏和哺乳天数非常敏感。这些营养物质浓度的改变可能会影响新生仔猪的早期发育。Flohr 等 (2016) [22] 考察了不同 VD 添加水平和添加形式 (VD_3 vs. $25(OH)D_3$) 对母猪繁殖性能、血清代谢物和新生儿肌肉特征的影响。研究结果发现 VD_3 和 $25(OH)D_3$ 都能增加血清 $25(OH)D_3$ 含量, 但是 $25(OH)D_3$ 的有效性更高; 断奶仔猪血清 $25(OH)D_3$ 的浓度表明, 哺乳母猪饲料 VD 的浓度比添加形式更能影响乳中维生素的转运。随后 Flohr 等 (2016) [23] 评估了母体 VD 添加对后代生长性能和胴体品质的影响。研究结果显示: 与添加 800 或 9600 IU VD_3 的母猪相比, 添加 2000 IU VD_3 的母猪其仔猪断奶后生长更快。添加 50 μg $25(OH)D_3$ (相当于 2000 IU VD_3) 的母猪与添加 800 IU VD_3 的母猪相比, 其仔猪 ADG 更高; 与添加 9600 IU VD_3 的母猪相比, 其仔猪末重和胴体重均更高。铁是动物生长发育必需的微量元素之一, 缺铁性贫血经常发生在妊娠哺乳期和新生儿后代中。Wan 等 (2017) [24] 考察了母猪在妊娠 85d 到分娩阶段摄入 80mg Fe/kg ($FeSO_4$ vs. $Fe-CGly$) 对母猪繁殖性能和母仔猪机体铁储备的影响。试验结果表明, 妊娠后期以二糖螯合铁替代硫酸亚铁可以通过增加胎盘铁的运输来提高出生窝增重。Tan 等 (2016) [25] 研究了日粮不同 Ca、P 水平 (对照组: 0.70:0.55%; 低钙磷组: 0.60:0.47%; 高钙磷组: 0.81:0.63%) 对群养或单栏饲养母猪繁殖性能和骨代谢指标的影响。研究结果表明, 现阶段 NRC (2012) 推荐的日粮 Ca、P 需要量对现代遗传选育的高繁殖潜力母猪群养或圈养都是足够的。

2.5 功能性添加物对妊娠母猪繁殖性能的影响

母猪在妊娠后期和哺乳期的代谢负担加重会导致系统氧化应激的增加, 同时热应激也会

加重母猪的氧化应激。在炎热气候下,母猪妊娠后期和哺乳期母猪产房通过湿帘降温可以提高哺乳期采食量,添加有机酸可以提高母猪繁殖性能和常乳抗氧化能力^[26]。Meng 等(2018)^[27]研究发现母猪配种后 20d 饲喂 300mg/kg 白藜芦醇至断奶可以通过胎盘 Keap1-Nrf2 通路和 Sirt1 调节胎盘抗氧化基因的表达式来提高母仔猪抗氧化能力,进而改善母猪繁殖性能。Wan 等(2017)考察了妊娠早期添加壳寡糖对胎儿生长发育的影响。研究结果发现添加 100mg/kg 的壳寡糖可以通过提高羊水抗氧化能力和代谢指标的改变来提高胚胎存活和生长^[28]。Xu 等(2018)^[29]进一步对试验中猪卵巢进行转录组分析,鉴定出 486 个 DEGs 与产仔数相关,而且这些大部分 DEGs 参与细胞周期、孕酮介导的卵母细胞成熟、代谢通路、卵母细胞减数分裂等。这进一步加深了我们对壳寡糖提高繁殖性能的分子机制的理解。

目前研究表明母猪妊娠期和哺乳期添加 L-肉碱可以提高其繁殖性能,但是潜在的机制还不是很清楚。Zhang 等(2018)^[30]研究发现,母猪在配种至哺乳 21d 添加 50 mg/kg 的 L-肉碱可以通过改善胎盘发育和增加母猪血浆和胎盘 IGF 含量来提高母猪的繁殖性能。Farmer 等(2016)^[31]考察了妊娠后期外源注射染料木黄酮对胎儿发育和母猪繁殖性能的影响。试验结果发现,从妊娠 90 天开始注射 440mg/d 染料木黄酮直至分娩可以增加母猪血浆 IGF-1 含量和仔猪胴体脂肪含量,但对仔猪的肌肉发育和哺乳母猪和仔猪的性能影响甚微。母体营养可以通过表观遗传修饰途径例如改变 DNA 甲基化水平,持续影响后代生长发育。Liu 等(2017)^[32]通过双酚 A 诱导基因发生 DNA 低甲基化,研究母猪妊娠期日粮添加甲基供体对后代肠道发育及功能的影响。试验结果表明,添加甲基供体能够通过改善新生与断奶仔猪肠道形态,上调肠道酶活与营养物质转运载体基因表达,促进仔猪的生长发育。而妊娠期添加双酚 A 损伤后代肠道发育可以通过添加甲基供体得到缓解。同时该课题组 Zhuo 等(2017)^[33]考察了母体添加甲基供体对后代肌肉特性的影响。研究发现,甲基供体可能通过影响后代肌肉糖原合成和 LDH 基因 DNA 甲基化成都来改善肉品质。

3. 泌乳母猪营养

近年来,营养对泌乳母猪生产成绩的影响研究主要集中在脂肪酸和氨基酸的添加对母猪泌乳性能的影响。同时,提高日粮能量的利用成为较为关注的问题。且部分研究考察了各种植物成分及其提取物对母猪健康的保护作用。

3.1 脂类营养对母猪泌乳成绩的影响

油脂是哺乳母猪重要的能量来源,常有多种添加类型,如动物性油脂(猪油、牛油、鱼油等)、植物性油脂(椰子油、大豆油、玉米油、花生油、菜籽油、棕榈油等)。由于不同来源的油脂含有饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比例存在较大差别,且不饱和脂肪酸(PUFA)又存在 n-6PUFA 和 n-3PUFA 的差别,除了在消化能值方面存在差异外,不同类型脂肪酸对动物机体代谢的影响也存在显著差异。例如, n-3PUFA 特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)被认为具有广泛的抗炎症作用,相反, n-6PUFA 如花生四烯酸代谢产生前列腺素类、类二十烷酸等具有促炎作用。亚麻油由于富含多不饱和脂肪酸,亚麻油的添加

可以提高母猪及仔猪血液中 IgG 和 IgA 的含量, 还可以提高仔猪哺乳期日增重并提高断奶重^[49]。Lu 等^[50]比较了母猪妊娠后期及泌乳期富含(3%)亚麻油及棕榈油的日粮对后代肌纤维类型转换的影响。与棕榈油组相比, 亚麻油促进后代比目鱼肌 I 型生肌基因(MyHC)及 I 型肌纤维标志基因 troponin I 的表达。同时, 母猪日粮添加亚麻油上调了 PGC-1 α 、MEF2c、AMPK 等基因表达, 表明母体油脂类型对后代肌纤维发育的调控可能与上述基因表达有关。大量的试验报道共轭亚油酸(CLA)能够抑制猪脂肪沉积、增加肌内脂肪含量、提高瘦肉率、改善肉质、促进生长等, 但针对 CLA 的母体营养效应的研究却为数不多。游小燕等^[51]发现日粮中添加 CLA 能显著提高初乳与常乳中 CLA-c9,t11 和 CLA-t10,c12 的含量, 但是 CLA 的添加显著降低了仔猪肌内脂肪含量、背脂重和背脂率。张文飞等^[52]发现泌乳期饲料中添加中链脂肪酸甘油三酯(MCT)能缩短母猪产程, 提高采食量和母猪断奶后 7 日发情率。能量利用对于母猪生长和发育具有重要作用, 增加脂质的利用可以改善母猪的能量利用效率。乳化剂可以平衡水油混合物并促进脂质的利用。Wang 等^[53]和 Zhao 等^[54]的研究均表明乳化剂(硬脂酰-2-乳酸钠或溶血磷脂)可以提高营养物质消化率并降低体损失和背膘损失。虽然甘油是合成脂质的必需物质, 但泌乳日粮甘油的添加会降低采食量并增加体损失^[55]。

3.2 碳水化合物营养对泌乳母猪繁殖性能的影响

油脂的添加虽然能提升能量含量, 但日粮中纤维水平与类型同样会影响油脂的能值。Krogh 等^[56]发现不同纤维源(甜菜渣和苜蓿草粉)影响不同脂肪源(大豆油, 棕榈酸脂, 三辛酸甘油酯)对母猪的饲喂效果。魔芋粉含有较高的可溶性纤维, 其添加降低了母猪氧化应激及促炎因子水平, 进而改善了母猪胰岛素敏感性和采食量, 改善了仔猪生长性能^[57]。为提高饲料的营养价值, 饲料发酵和酶制剂的添加均有能改善母猪的泌乳性能。Wang 等^[58]利用发酵玉米和豆粕混合物饲喂泌乳母猪发现, 15%的添加量会提高母猪平均日采食量、营养物质消化率和泌乳量, 并减少母猪背膘损失和断奶至发情间隔。同时, 补饲发酵芦笋下脚料能减少妊娠后期和哺乳期母猪便秘的发生, 并不同程度地改善母猪乳汁质量^[59]。非淀粉多糖很难被机体降解和吸收, 但单一或复合的非淀粉多糖酶的添加会减少泌乳母猪体损失并提高采食量和营养物质的表观消化率^[60, 61]。

3.3 氨基酸营养对母猪繁殖性能的影响

近年来高产母猪哺乳期氨基酸营养已有较多研究, 但研究内容主要集中在单一功能性氨基酸及其衍生物以及低蛋白日粮等对母体代谢及子代生长发育的影响。蛋氨酸通常是猪玉米豆粕型饲料的第二限制性氨基酸, 但由于其首过肠道的代谢率高, 被认为是肠外组织蛋白质合成的第一限制性氨基酸。饲料工业中常用的蛋氨酸添加剂有两类: DL-蛋氨酸(DLM)及其钠盐; 蛋氨酸羟基类似物, 化学名称为 DL-2-羟基-4-甲硫基丁酸(HMTBA), 有钙盐和游离酸两种形式。由于 HMTBA 本质上为短链脂肪酸, 与 DLM 在吸收和代谢上均有不同。泌乳日粮 DLM 和 HMTBA 的添加能促进后代的肠道生长, HMTBA 的添加还能增加仔猪肠道的抗氧化能力而不影响母体的能量平衡^[62]。当日粮 Met/Lys 在 0.27~0.57 范围内时, 提高母猪

泌乳日粮 Met/Lys 不会显著影响母猪性能、仔猪性能及母乳中乳蛋白等常规组分的含量，然而却极显著增加了泌乳后期母乳中 Hcy 的含量^[63]。β-羟基-β 甲基丁酸（HMB）是亮氨酸的代谢产物，它具有促进骨骼肌生长的功能。在泌乳母猪日粮中添加 0.2%HMB 增加了泌乳 28 天乳和后代骨骼肌中 HMB 的含量，并促进后代的生长性能和酵解型肌纤维的转化^[64]。N-氨甲酰谷氨酸(NCG)作为精氨酸合成的前体物质，泌乳日粮添加 NCG 能降低母猪血浆尿素氮的浓度，改善母猪的免疫机能，并提高哺乳仔猪的生长性能^[65]。低蛋白日粮中添加合成氨基酸一直是动物营养研究热门领域，泌乳母猪低蛋白日粮中添加合成氨基酸不会影响母猪和仔猪的生产性能^[66-68]。适宜的氨基酸模式是应用低蛋白日粮的基础，SID Val:SID Lys 的比值在 88%和 113%时母猪的背膘损失及仔猪的生长性能最佳^[69]。

3.4 维生素营养及功能性添加物对母猪繁殖性能的影响

泌乳母猪维生素的研究主要集中在其特殊的生理功能上。VE 引起抗氧化特性及激素调节功能。提高母猪 VE 水平能够通过提高乳汁免疫球蛋白含量改善仔猪的生长性能^[70]。Zhou 等^[71, 72]的研究表明，日粮添加 25-羟-维生素 D3 能提高断奶仔猪数、改善乳品质、改善后代的骨骼生长、同时还能促进肌纤维的生长。胆碱对于磷脂合成、神经发育和 DNA 甲基化是必需的，日粮胆碱的缺乏降低了血浆胆碱、甜菜碱和二甲基甘氨酸的含量，并减少了乳中甜菜碱的含量，但增加了乳中长链脂肪酸的含量，这些营养物质可能会影响婴儿早期的发育^[73]。

泌乳母猪日粮酸化剂的运用能提高采食量和免疫能力，改善肠道菌群结构^[74]，而微生物制剂和酸化剂的复配也能起到相同的效果^[75]。复合益生菌发酵液的单独添加能提高母猪采食量和断奶仔猪的重，并改善母猪免疫能力^[76]。而植物成分及其提取物（中草药渣、植物精油、王不留行黄酮苷、葛根异黄酮、生姜、八角、丹参、人参来源的多糖等）的添加也具有提升免疫力的功效，同时还能提升母猪的抗氧化能力，起到改善母猪生产性能的作用^[77-81]。虽然水飞蓟素在其他研究中具有抗氧化和提高血液催乳素的作用，但在泌乳母猪日粮中添加 1g/day 或 8g/day 的水飞蓟素不能提高泌乳母猪血液中的催乳素和抗氧化能力，也不能提高母猪和仔猪的生产性能^[82]。低聚壳聚糖的添加能提升幼龄的免疫功能，但在泌乳母猪上其能提高采食量和降低背膘损失^[83]。Jensen 等^[84]研究表明夜间减少水的供给会增加口渴行为的产生并增加供水后一小时内的饮水量，但不会改变 24 小时总的饮水量和泌乳行为。水作为必需营养素，其功能十分重要但研究较少，值得所有畜牧生产者高度重视。

4 结语

总结以上研究看出，国内畜牧工作者主要以妊娠和泌乳母猪为研究对象，中国规模化猪场后备母猪每年进入种群的数量高达 1600 万-2000 万头，但对后备母猪的研究较少，对后备母猪的营养与饲养管理研究亟待加强。研究涉及的营养素以能量、氨基酸、功能性添加物为主，而维生素、微量元素方面的研究较少。种母猪的营养及饲养管理是一门艺术，养猪生产者不仅应当追求单胎的繁殖成绩，而且应该关注母猪的种用年限，以每头母猪终生提供的产仔数或产肉量来系统衡量母猪的繁殖力。

参考文献

- [1] Zhao Y, Liu X, Mo D, et al. Analysis of reasons for sow culling and seasonal effects on reproductive disorders in Southern China.[J]. Animal Reproduction Science, 2015, 159:191-197.
- [2] Calderón Díaz J A, Vallet J L, Lents C A, et al. Age at puberty, ovulation rate, and uterine length of developing gilts fed two lysine and three metabolizable energy concentrations from 100 to 260 d of age.[J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(7):3521-3527.
- [3] 梁鸿雁, 赵春霞, 韩华. 饲粮能量水平对后备母猪卵巢发育及相关基因表达的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(9):3287-3292.
- [4] 时梦, 李天天, 王红亮,等. 后备母猪配种前采食不同能量水平日粮对其繁殖性能、血浆氨基酸谱和血浆代谢组的影响[C]/ 中国猪业科技大会暨中国畜牧兽医学会2015年学术年会论文集. 2015.
- [5] Xu M, Che L, Yang Z, Zhang P, Shi J, Li J, Lin Y, Fang Z, Che L, Feng B, Wu D, Xu S. Effect of High Fat Dietary Intake during Maternal Gestation on Offspring Ovarian Health in a Pig Model[J]. Nutrients. 2016, 8(8). pii: E498
- [6] 石建凯, 石晓琳, 张攀,等. 饲粮纤维对后备母猪卵母细胞质量的影响及其作用机制[J]. 动物营养学报, 2017, 29(8):2630-2635.
- [7] Zhuo Y, Shi X, Lv G, et al. Beneficial effects of dietary soluble fiber supplementation in replacement gilts: Pubertal onset and subsequent performance[J]. Animal Reproduction Science, 2017, 186:11.
- [8] 程法真, 魏全伟, 吴国云,等. 米糠替代部分玉米的高纤维日粮对后备母猪性成熟及卵泡发育的影响[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(9):54-57.
- [9] Li F, Zhu Y, Ding L, et al. Effects of Dietary Glucose on Serum Estrogen Levels and Onset of Puberty in Gilts[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2016, 29(9):1309-1313.
- [10] 董志岩, 刘亚轩, 方桂友,等. 不同氨基酸水平的低蛋白质饲粮对后备母猪初情日龄、血清代谢产物和激素浓度的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(1):131-138.
- [11] 简勇军, 刘国庆, 赵丽红,等. 日粮蛋氨酸与赖氨酸比值对后备母猪生长及繁殖性能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(9):32-36.
- [12] 庞晓雪. 饲粮中自然霉变玉米及麦麸对后备母猪生产性能的影响[D]. 四川农业大学, 2016.
- [13] Yang L, Zhou M, Huang L, et al. Zearalenone promotes follicle growth through modulation of Wnt-1/ β -catenin signaling pathway and expression of estrogen receptor genes in ovaries of post-weaning piglets[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2018, 66(30):7899-7906.

- [14] 罗晓霏, 王俊丽, 武丽,等. 小檗碱对猪卵巢卵母细胞体外成熟及其脂滴含量和分布的影响[J]. 北京农学院学报, 2016, 31(4):40-45.
- [15] He B, Wang M, Guo H, et al. Effects of sodium butyrate supplementation on reproductive performance and colostrum composition in gilts[J]. *Animal*, 2016, 10(10):1722-1727.
- [16] Jin S, Jung S, Jang J, et al. Effects of Dietary Energy Levels on the Physiological Parameters and Reproductive Performance of Gestating Gilts [J]. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 2016, 29(7): 1004.
- [17] Jin S, Jin Y, Jang J, et al. Effects of dietary energy levels on physiological parameters and reproductive performance of gestating sows over three consecutive parities [J]. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 2018, 31(3): 410.
- [18] Chen Y, Mou D, Hu L, et al. Effects of Maternal Low-Energy Diet during Gestation on Intestinal Morphology, Disaccharidase Activity, and Immune Response to Lipopolysaccharide Challenge in Pig Offspring [J]. *Nutrients*, 2017, 9(10): 1115.
- [19] Che L, Yang Z, Xu M, et al. Maternal nutrition modulates fetal development by inducing placental efficiency changes in gilts [J]. *BMC genomics*, 2017, 18(1): 213.
- [20] Jin C, Fang Z, Lin Y, et al. Influence of dietary fat source on sow and litter performance, colostrum and milk fatty acid profile in late gestation and lactation [J]. *Animal Science Journal*, 2017, 88(11): 1768-78.
- [21] Laws J, Juniper D, Lean I, et al. Supplementing sow diets with palm oil during late gestation and lactation: effects on milk production, sow hormonal profiles and growth and development of her offspring [J]. *animal*, 2018, 1-9.
- [22] Liu H, Wu F, Bai L, et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation during late gestation on colostrum yield, fatty acid composition, and IgG concentrations in primiparous sows [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2018, ja):
- [23] Su G, Zhao J, Luo G, et al. Effects of oil quality and antioxidant supplementation on sow performance, milk composition and oxidative status in serum and placenta [J]. *Lipids in health and disease*, 2017, 16(1): 107.
- [24] Sapkota A, Marchant-Forde J, Richert B, et al. Including dietary fiber and resistant starch to increase satiety and reduce aggression in gestating sows [J]. *Journal of animal science*, 2016, 94(5): 2117-27.
- [25] Feyera T, Højgaard C K, Vinther J, et al. Dietary supplement rich in fiber fed to late gestating sows during transition reduces rate of stillborn piglets [J]. *Journal of animal science*, 2017, 95(12): 5430-8.
- [26] Tan C, Sun H, Wei H, et al. Effects of soluble fiber inclusion in gestation diets with varying

- fermentation characteristics on lactational feed intake of sows over two successive parities [J]. *animal*, 2018, 12(7): 1388-95.
- [27] Zhou P, Zhao Y, Zhang P, et al. Microbial Mechanistic Insight into the Role of Inulin in Improving Maternal Health in a Pregnant Sow Model [J]. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8(2242).
- [28] Zhou P, Wang Y, Li S, et al. Effects of prebiotic inulin addition to low-or high-fat diet on maternal metabolic status and neonatal traits of offspring in a pregnant sow model [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 48(125-33).
- [29] Gonçalves M, Gourley K, Dritz S S, et al. Effects of amino acids and energy intake during late gestation of high-performing gilts and sows on litter and reproductive performance under commercial conditions [J]. *Journal of animal science*, 2016, 94(5): 1993-2003.
- [30] Wang C-x, Chen F, Zhang W-f, et al. Leucine Promotes the Growth of Fetal Pigs by Increasing Protein Synthesis through the mTOR Signaling Pathway in Longissimus Dorsi Muscle at Late Gestation [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2018, 66(15): 3840-9.
- [31] Krogh U, Oksbjerg N, Purup S, et al. Colostrum and milk production in multiparous sows fed supplementary arginine during gestation and lactation [J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(suppl_3): 22-5.
- [32] Krogh U, Oksbjerg N, Ramaekers P, et al. Long-term effects of maternal arginine supplementation and colostrum intake on pre-and postweaning growth in pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(suppl_3): 117-20.
- [33] Krogh U, Oksbjerg N, Storm A C, et al. Mammary nutrient uptake in multiparous sows fed supplementary arginine during gestation and lactation [J]. *Journal of animal science*, 2017, 95(6): 2517-32.
- [34] Bass B, Bradley C, Johnson Z, et al. Influence of dietary L-arginine supplementation of sows during late pregnancy on piglet birth weight and sow and litter performance during lactation [J]. *Journal of animal science*, 2017, 95(1): 248-56.
- [35] Ji Y, Guo Q, Yin Y, et al. Dietary proline supplementation alters colonic luminal microbiota and bacterial metabolite composition between days 45 and 70 of pregnancy in Huanjiang mini-pigs [J]. *Journal of animal science and biotechnology*, 2018, 9(1): 18.
- [36] Mudd A T, Alexander L S, Johnson S K, et al. Perinatal Dietary Choline Deficiency in Sows Influences Concentrations of Choline Metabolites, Fatty Acids, and Amino Acids in Milk throughout Lactation-4 [J]. *The Journal of nutrition*, 2016, 146(11): 2216-23.
- [37] Flohr J R, Woodworth J C, Bergstrom J, et al. Evaluating the impact of maternal vitamin D

- supplementation: I. Sow performance, serum vitamin metabolites, and neonatal muscle characteristics [J]. *Journal of animal science*, 2016, 94(11): 4629-42.
- [38] Flohr J R, Woodworth J C, Bergstrom J, et al. Evaluating the impact of maternal vitamin D supplementation on sow performance: II. Subsequent growth performance and carcass characteristics of growing pigs [J]. *Journal of animal science*, 2016, 94(11): 4643-53.
- [39] Wan D, Zhang Y, Wu X, et al. Maternal dietary supplementation with ferrous N-carbamylglycinate chelate affects sow reproductive performance and iron status of neonatal piglets [J]. *animal*, 2018, 12(7): 1372-9.
- [40] Tan F, Kontulainen S, Beaulieu A. Effects of dietary calcium and phosphorus on reproductive performance and markers of bone turnover in stall-or group-housed sows [J]. *Journal of animal science*, 2016, 94(10): 4205-16.
- [41] Chen J, Guo J, Guan W-t, et al. Effect of pad-fan cooling and dietary organic acid supplementation during late gestation and lactation on reproductive performance and antioxidant status of multiparous sows in hot weather [J]. *Tropical animal health and production*, 2018, 50(5): 973-82.
- [42] Meng Q, Guo T, Li G, et al. Dietary resveratrol improves antioxidant status of sows and piglets and regulates antioxidant gene expression in placenta by Keap1-Nrf2 pathway and Sirt1 [J]. *Journal of animal science and biotechnology*, 2018, 9(1): 34.
- [43] Wan J, Jiang F, Zhang J, et al. Amniotic fluid metabolomics and biochemistry analysis provides novel insights into the diet-regulated foetal growth in a pig model [J]. *Scientific reports*, 2017, 7(44782).
- [44] Xu Q, Qu C, Wan J, et al. Effect of dietary chitosan oligosaccharide supplementation on the pig ovary transcriptome [J]. *RSC Advances*, 2018, 8(24): 13266-73.
- [45] Zhang S, Tian M, Song H, et al. Effects of L-carnitine on reproductive performance, milk composition, placental development and IGF concentrations in blood plasma and placental chorions in sows [J]. *Archives of animal nutrition*, 2018, 1-14.
- [46] Farmer C, Robertson P, Xiao C, et al. Exogenous genistein in late gestation: effects on fetal development and sow and piglet performance [J]. *animal*, 2016, 10(9): 1423-30.
- [47] Liu H, Wang J, Mou D, et al. Maternal Methyl Donor Supplementation during Gestation Counteracts the Bisphenol A-Induced Impairment of Intestinal Morphology, Disaccharidase Activity, and Nutrient Transporters Gene Expression in Newborn and Weaning Pigs [J]. *Nutrients*, 2017, 9(5):
- [48] Zhuo Y, Wang J, Liu H, et al. Effects of maternal methyl donor on the pork characteristics of offspring pigs with prenatal exposure to bisphenol A [J]. *animal*, 2018, 12(6): 1306-15.

- [49] Chen X L, Wang N, Tian M L, et al. Dietary linseed oil in the maternal diet affects immunoglobulins, tissue fatty acid composition and expression of lipid metabolism-related genes in piglets[J]. *Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition*, 2016, 101(5):e257-e265.
- [50] Lu Z Q, Ren Y, Zhou X H, et al. Maternal dietary linoleic acid supplementation promotes muscle fibre type transformation in suckling piglets.[J]. *Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition*, 2016, 101(6):1130-1136.
- [51] 游小燕, 谢跃伟, 何琦琳, 等. 母猪日粮中添加共轭亚油酸对哺乳仔猪生长性能和脂肪沉积的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2016, 52(9): 58-61.
- [52] 张文飞, 张红菊, 管武太, 等. 饲料中添加中链脂肪酸甘油三酯对母猪繁殖性能、血清生化指标及初乳成分的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(10): 3256-3263.
- [53] Wang C Q, Bai Y S, Zhao X, et al. Effects of feeding sodium stearoyl-2-lactylate diets to lactating sows on performance, digestibility of nutrients, composition, and fat globule size in milk.[J]. *Journal of Animal Science*, 2017, 95(11): 5091-5099.
- [54] Zhao P Y, Z F Zhang, R X Lan, et al. Effect of lysophospholipids in diets differing in fat contents on growth performance, nutrient digestibility, milk composition and litter performance of lactating sows[J]. *Animal*, 2017, 11(06): 984-990.
- [55] Hernandez F, J Orengo, C Villodre, et al. Addition of crude glycerin to pig diets: sow and litter performance, and metabolic and feed intake regulating hormones[J]. *Animal*, 2016, 10(6): 919-926.
- [56] Krogh U, T S Bruun, J Poulsen, et al. Impact of fat source and dietary fibers on feed intake, plasma metabolites, litter gain and the yield and composition of milk in sows[J]. *Animal*, 2017, 11(06): 975-983.
- [57] 谭成全. 妊娠日粮中可溶性纤维对母猪妊娠期饱感和泌乳期采食量的影响及其作用机理研究[D]. 华中农业大学, 2016.
- [58] Wang Chunchun, C Lin, W Su, et al. Effects of supplementing sow diets with fermented corn and soybean meal mixed feed during lactation on the performance of sows and progeny[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(1): 206-214.
- [59] 毛春瑕, 石显亮, 何余湧, 等. 补饲发酵芦笋下脚料对母猪粪便形态和乳汁质量的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(6): 1867-1876.
- [60] Cozannet P, Lawlor P G, Leterme P, et al. Reducing body weight loss during lactation in sows: a meta-analysis on the use of a non-starch polysaccharide-hydrolysing enzyme supplement[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(7): 2777-2788.
- [61] Zhou Pan, Nuntapaitoon Morakot, Pedersen T F, et al. Effects of mono-component xylanase

- supplementation on nutrient digestibility and performance of lactating sows fed a coarsely ground diet[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(1): 181-193.
- [62] Heju, Zhong, Guangmang, et al. Increased maternal consumption of methionine as its hydroxyl analog promoted neonatal intestinal growth without compromising maternal energy homeostasis[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 7(1):182-195.
- [63] 赵曦晨. 日粮蛋/赖比对泌乳母猪性能及蛋氨酸代谢影响的研究[D]. 华中农业大学, 2017.
- [64] Wan H, Zhu J, Wu C, et al. Haifeng, Jiatao, Caimei, et al. Transfer of β -hydroxy- β -methylbutyrate from sows to their offspring and its impact on muscle fiber type transformation and performance in pigs[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(2):438-449.
- [65] 安亚南, 赖玉娇, 孙卫, 等. 泌乳期日粮添加N-氨甲酰谷氨酸对经产母猪和哺乳仔猪的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2017, 53(6): 98-101.
- [66] 崔家军, 张鹤亮, 张兆琴, 等. 低蛋白质补充氨基酸日粮对哺乳母猪繁殖性能、背膘厚和乳成分的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(11): 2945-2950.
- [67] Greiner L, Srichana P, Usry J L, et al. The use of feed-grade amino acids in lactating sow diets[J]. *Journal of Animal Science & Biotechnology*, 2018, 9(2):3.
- [68] Huber L A, Rudar M, Trottier N L, et al. Whole-Body Nitrogen Utilization and Tissue Protein and Casein Synthesis in Lactating Primiparous Sows Fed Low- and High- Protein Diets[J]. *Journal of Animal Science*, 2018. 96(6):2380-2391
- [69] Barea R, Brossard L, Floc'H N L, et al. The standardized ileal digestible valine-to-lysine requirement ratio is at least seventy percent in postweaned piglets.[J]. *Journal of Animal Science*, 2009, 87(3):935-947.
- [70] Wang L, Xu X, Su G, et al. High concentration of vitamin E supplementation in sow diet during the last week of gestation and lactation affects the immunological variables and antioxidative parameters in piglets[J]. *Journal of Dairy Research*, 2016, 84(1):8-13.
- [71] Zhou H, Chen Y, Zhuo Y, et al. Effects of 25-hydroxycholecalciferol supplementation in maternal diets on milk quality and serum bone status markers of sows and bone quality of piglets.[J]. *Animal Science Journal*, 2017, 88(3):476.
- [72] Hui Z, Chen Y, Gang L, et al. Improving maternal vitamin D status promotes prenatal and postnatal skeletal muscle development of pig offspring[J]. *Nutrition*, 2016, 32(10):1144-1152.
- [73] A. T. Mudd, L. S. Alexander, S. K. Johnson, 等. P Mudd A T, Alexander L S, Johnson S K, et al. Perinatal Dietary Choline Deficiency in Sows Influences Concentrations of Choline

- Metabolites, Fatty Acids, and Amino Acids in Milk throughout Lactation.[J]. *Journal of Nutrition*, 2016, 146(11):2216-2223.
- [74] 张婧婧, 刘庚寿, 李伟, 等. 不同剂型酸化剂对哺乳母猪生产性能、初乳成分和肠道菌群结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(6): 2064-2070.
- [75] 汪晶晶, 任红立, 董佳琦, 等. 微生态制剂和复合酸化剂对哺乳母猪生产性能、血清生化 and 免疫指标以及乳成分的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, (2): 685-695.
- [76] 董佳琦, 金三俊, 汪晶晶, 等. 复合益生菌发酵液对哺乳母猪生产性能、血清生化及免疫指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, (1): 343-349.
- [77] 李华伟, 祝倩, 姬玉娇, 等. 中药渣对泌乳母猪及其仔猪血浆生化参数和抗氧化能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(6): 2100-2107.
- [78] 周选武, 杨开云, 陈代文, 等. 饲料添加抗生素和植物精油对母猪生产性能、免疫功能 and 乳成分的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(3): 995-1002.
- [79] 王芳芳, 武洪志, 刁华杰, 等. 王不留行黄酮苷和葛根异黄酮对哺乳母猪泌乳性能及血清激素和抗氧化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(12): 3977-3987.
- [80] 李雪艳, 杨在宾, 姜淑贞, 等. 妊娠后期和泌乳期日粮添加生姜、八角和丹参对母猪抗氧化性能和繁殖性能的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(1): 134-139.
- [81] Qian-yun Xi, Yong Jiang, Shuai Zhao, et al. Effect of ginseng polysaccharides on the immunity and growth of piglets by dietary supplementation during late pregnancy and lactating sows[J]. *Animal science journal*, 2017, 88(6):863-872.
- [82] Farmer C, Lapointe J, Cormier I. Providing the plant extract silymarin to lactating sows: effects on litter performance and oxidative stress in sows[J]. *Animal*, 2017, 11(3):405-410.
- [83] 刘莹莹, 张星, 任慧波, 等. 低聚壳聚糖对母猪繁殖性能、泌乳性能和血浆生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(12): 4525-4533.
- [84] Jensen MB, Sarahlina Aagaard Schild, Theil P K, et al. The effect of varying duration of water restriction on drinking behaviour, welfare and production of lactating sows[J]. *Animal*, 2016, 10(6): 961-969.

单胃动物内源氨基酸损失的测定方法及影响因素研究进展

贺 喜 李 瑞

(湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南长沙 410128; 湖南畜禽安全生产协同创新中心, 湖南长沙, 410128)

摘 要: 氨基酸消化率是评价饲料蛋白质生物学效价的重要指标, 要精准测定氨基酸消化率, 就需对内源氨基酸损失进行准确估测。精准测定内源氨基酸损失不仅可以节约日粮蛋白资源, 降低饲料成本, 还可减少因氮排放造成的环境污染。目前, 内源氨基酸损失测定的方法主要包括无氮日粮法、绝食法、差量法、酶解蛋白日粮法、回归法、高精氨酸法和同位素法等。而内源氨基酸损失又与动物、饲养环境、日粮组成(日粮蛋白、纤维、抗营养因子)及测定方法等因素有关。为此, 本文综述了内源氨基酸损失的测定方法及影响因素。

关键词: 单胃动物; 氨基酸消化率; 内源氨基酸损失

饲料原料氨基酸消化率的精确测定是评估动物氨基酸营养需要和制定日粮配方的基础。众多研究表明, 单胃动物小肠是氨基酸吸收、转运的主要场所, 因为氨基酸在大肠中的净吸收量很少, 加之后肠微生物代谢活动使得后肠食糜中的氨基酸组分发生了很大变化^[1-2]。因而, 在单胃动物氨基酸消化率评定中, 回肠末端真消化率因其有更好的可加性、合理性和准确性而被广泛采用^[3]。但要测定回肠末端氨基酸真消化率, 就必需精准评估动物的内源性氨基酸的损失^[2]。动物消化道中内源性氨基酸来源包括肠道分泌消化液(唾液、胃液、胆汁和胰腺分泌的酶)、肠道脱落细胞和粘蛋白等^[4]。内源氨基酸损失分为氨基酸基础内源损失和特异性内源损失: 基础内源损失和干物质采食量以及动物的代谢状态有关, 而与日粮的组成没有关系; 而特异性内源损失与饲料的组成直接相关, 日粮的蛋白质和纤维及抗营养因子的不同都会导致特异性内源损失的差异^[5,6]。本文就单胃动物内源氨基酸损失的测定方法及影响内源氨基酸测定的因素进行综述。

1 内源氨基酸损失测定方法

日粮氨基酸有效性评估对饲料原料饲用价值和畜禽氨基酸需要量评定至关重要。在畜禽营养研究中, 常以回肠氨基酸消化率(ID)测定来评估日粮氨基酸有效性。畜禽ID值可用表观回肠消化率(AID)、标准回肠消化率(SID)和真回肠消化率(TID)表示。三者与内源氨基酸损失(IAA_{end})密切相联, IAA_{end} 包括基础 IAA_{end} 和特殊 IAA_{end} 两部分, 基础 IAA_{end} 校正AID得SID, 而 IAA_{end} 校正AID为TID。诸多研究推荐饲料原料以SID AA作为畜禽AA营养需求和日粮配制参考, 因为SID测定相对简单, 且具有可加性, 可避免AID缺乏可加性和TID测定的复杂性(需要明确特殊 IAA_{end})的不足。为此, 针对内源氨基酸损失测定开展了大量研究, 下文具体就各种测定技术和方法进行介绍。

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0501209); 湖南省科技计划项目 2016NK2124; 科技部科技基础性工作专项(2014FY111000-3)

作者简介: 贺喜, 教授, 博士生导师, E-mail: hexi111@126.com

1.1 无氮日粮法

无氮日粮（NFD）法是畜禽饲料及原料氨基酸消化率评定的经典方法。其假定畜禽内源性氨基酸为畜禽采食 NFD 后进入食糜或粪中的蛋白质和氨基酸，且内源性氨基酸的排泄量及氨基酸组成与日粮组成无关^[4]。然而，NFD 法忽略畜禽正常生理状态，畜禽采食 NFD，消化道中的消化液和消化酶分泌会减少，流入后肠道蛋白总量也相应减少，这样会低估回肠末端内源性氨基酸的含量^[3]。另外，采食 NFD 会影响畜禽体内正常的蛋白质代谢。Jansman 等^[7]发现，采食 NFD 的畜禽回肠中脯氨酸和甘氨酸损失增加。这可能是由于 NFD 中缺乏氨基酸，畜禽为维持正常的生理功能会动用体蛋白来释放氨基酸，其中谷氨酰胺可代谢成谷氨酸、脯氨酸等^[3,8]。目前，NFD 配制过程中常加入少量合成纤维和高可消化蛋白（如酪蛋白）来改善畜禽采食 NFD 后出现的异常生理状况^[2]。

1.2 绝食法

绝食法通常应用于禽类研究，其中最为经典的动物模型是去盲肠成年公鸡。该法将绝食动物 30~36 h 阶段排泄物中的氮和氨基酸记作内源排泄量，此法简单易行，且成本低^[9]。然而多数研究表明，采用绝食法测定动物内源氨基酸损失，其测定值会偏低，不能代表动物正常采食条件下肠道内源氮排泄情况^[10,11]。这可能与绝食状态下，动物处于负氮平衡的非正常生理状态及缺乏饲料采食对消化道的刺激等有关。任立芹等^[12]采用绝食法与无氮日粮法测定黄羽肉鸡内源性氨基酸排泄量，结果发现，绝食组、强饲 25 g 和 40 g 无氮日粮组内源性氨基酸排泄量依次显著增加，可能是无氮日粮刺激肠道导致内源性氨基酸的排泄量高于绝食法测定值，且随强饲量增加而增加。

1.3 差量法

差量法认为动物内源性氨基酸排泄量随日粮蛋白质水平的升高而升高，并达到阈值后在某一蛋白水平区间内出现一平台期，并假定这一蛋白水平区间内，内源性氨基酸排泄量恒定^[13-14]。此法假定的恒定排泄量较无氮日粮法和回归法认为的更符合动物正常生理条件下的测定值。王国兴等^[15]采用差量法测定鸭饲料氨基酸真消化率和内源氨基酸排泄量的研究发现，差量法测得日粮氨基酸真消化率和内源氨基酸排泄量，在 10 %~20 % 的日粮蛋白水平范围较恒定，测定值与无氮日粮法、回归法和饥饿法相当，略高于饥饿法。

1.4 酶解酪蛋白法/超滤法

酶解酪蛋白法/超滤法的原理：给动物饲喂含酶解酪蛋白（由分子质量小于 5 kDa 的游离氨基酸和小肽组成）半纯和日粮，收集回肠食糜，上清过分子质量分离点为 10 kDa 的超滤管，分子质量>10 kDa 的超滤残留物与离心沉淀物混合用于内源性氨基酸测定；分子质量<10 kDa 超滤液则是来自饲料中未被消化吸收的外源性氨基酸^[16]。郭广涛等^[17]报道，酶解酪蛋白/超滤法的滤液中可能包含一部分低分子量的内源氨基酸和小肽，从而低估内源氨基酸的损失。而 Yin 等^[18]在生长猪上采用酶解酪蛋白法测定 40 种饲料原料标准回肠氨基酸消化率时发现，酶解酪蛋白法测定的内源性粗蛋白和氨基酸损失较无氮日粮测定值高，高估了内

源氨基酸的损失，这可能与食糜中未被吸收的酶解酪蛋白产物有关^[17]。Golian 等^[19]比较了酶解酪蛋白法、无氮日粮法和回归法测定肉鸡回肠氨基酸内源损失，结果发现，无氮日粮法与回归法测定结果相似，而二者与酶解酪蛋白法的测定值差异较大。虽然酶解酪蛋白技术测定回肠内源性氨基酸损失报道不一，但此法可直接测定全部种类的氨基酸和氮的内源量，相较于¹⁵N 同位素法和高精氨酸具有明显优势^[20]。

1.5 回归法

回归法假定动物排泄物或消化道食糜中蛋白质（或氨基酸或回肠表观可消化氨基酸）总流量与氨基酸摄入量间呈线性关系，那么采用不同蛋白质水平的试验日粮喂动物，外推至摄入氮为零的日粮时，线性回归方程的截距即为内源氮和氨基酸的排泄量^[21,2]。理论上该法测定的内源氮或氨基酸损失较无氮日粮法应具有更高的准确性，因为这种方法饲喂下，动物更趋向于正常生理状态下的采食^[16]。Spindler 等^[22]发现，对低蛋白含量的饲料原料采用回归法测定氨基酸消化率要优于无氮日粮法。但也有研究表明，采用回归外法与无氮日粮法测定氨基酸消化率差异不显著，且回归法较无氮日粮需要更多的日粮处理，试验操作较繁琐。Eklund 等^[23]报道，采用回归法测定棉粕猪标准回肠氨基酸和氨基酸内源损失，除了甘氨酸和脯氨酸结果偏低外，其他氨基酸测定结果与无氮日粮法测定的值相近。这可能与 1) 回归法、无氮日粮法均认为不同日粮扣除同量内源性氨基酸；2) 回归法外推至食入蛋白质量为零时，近似于无氮日粮法；3) 氨基酸摄入量与食糜中氨基酸总流量间不呈线性关系等有关。

1.6 高精氨酸法

高精氨酸是一种人工合成、稳定的赖氨酸类似物，不用于动物体蛋白合成，日粮中的赖氨酸与甲基异脲发生胍基化反应生成高精氨酸，高精氨酸进入肝脏，在精氨酸酶催化下生成赖氨酸和尿素，而吸收的高精氨酸不会出现在肠道，因此，可被用来区分动物肠道内源性 & 外源性赖氨酸，从而测出内源性赖氨酸的流量，再根据动物肠道内源性氨基酸的组成相对恒定的这一条件，计算其他内源氨基酸流量^[24-25]。张鹤亮等^[26]采用无氮日粮法、回归法、高精氨酸法测定生长猪回肠内源氨基酸流量，结果显示，回归法和无氮日粮法低估了日粮内源氨基酸损失，高精氨酸法是估计内源氨基酸损失较准确。然而，动物内源性氨基酸组成模式实际上存在差异，另外，高精氨酸测定技术在对受热损害的饲料蛋白质进行胍基化处理后，其代表性差，可导致对内源性氮估测误差^[24]。

1.7 同位素法

同位素标记法是运用同位素示踪原理，借助稳定性或放射性同位素标记外源（日粮）或内源（动物）氮，进而区分排泄物或食糜中的外、内源氮，可直接对动物内源氨基酸排泄量进行估测^[27]。已报道的标记方法有¹³C^[28-29]，¹⁵N 亮氨酸^[20,30]，¹⁵N 异亮氨酸和¹⁵N 同位素稀释技术^[31]。在标记物选择上，因外源（日粮）氮标记只能选择可有效标记的蛋白源，且被机体吸收的标记氨基酸能迅速分泌入肠腔，使得食糜中未消化的日粮氮和内源氮无法区分，而内源标记（动物）可测定采食条件下动物内源氨基酸排泄量，另外，通过标记物¹⁵N 亮氨

酸的转氨基作用, 标记其他氨基酸, 进而直接测定其他氨基酸排泄量, 因此采用标记动物的方法较为理想^[17,27]。同位素内源(动物)标记基本原理是, 静脉连续灌注 ^{15}N 标记物 7~10 d, 标记内源氮前体池, 当 ^{15}N 标记物在体内各部位达到平衡状态后, 消化道内源氮损失量中 ^{15}N 富集度与血浆游离氨基酸中 ^{15}N 富集度相同, 进而通过相应公式换算得出内源氨基酸排泄量^[27]。

2 影响内源氨基酸损失测定的因素

综合各类文献报道发现, 影响动物内源氨基酸损失测定的因素主要包括动物、日粮、饲养环境及测定方法等。

2.1 动物因素

2.1.1 动物种类、日龄或体重

禽畜日粮配制时, 禽类氨基酸营养标准参照 NRC 1994, 而猪氨基酸营养标准参照 NRC 1998 和 2012, 不同种类动物氨基酸需要不同, 说明动物种类差异决定其内源氨基酸损失必存差异。与此同时, 动物日龄或体重也影响动物内源氨基酸损失, 这可能是由于不同体重或日龄的动物生理成熟度有差异。Adedokun 等^[32]发现, 5 日龄肉仔鸡回肠内源氨基酸损失是 15 日龄时的 2 倍, 这与肉仔鸡肠道发育存在差异有关。Leterme 等^[33]报道, 猪体重的增加, 内源氮和多数氨基酸的排泄量呈线性增加, 而单位干物质采食量(DMI)氨基酸的总和以及多数氨基酸的内源损失曲线下降。Hodgkinson 等^[34]测定猪回肠氨基酸损失发现, 体重 6.4 kg 显著高于 53 kg。Presto 等^[35]研究也发现, 体重为 25.9 kg 猪的所有必需氨基酸和非必需氨基酸的内源损失量均高于 93.2 kg 的猪, 计算得到的回肠氮损失分别为 1.411、0.86 g/kg DMI。

2.1.2 动物采食量

动物采食日粮会刺激消化道, 而消化道中的消化液、消化酶、脱落细胞及粘蛋白, 均是内源氨基酸的组成成分, 所以采食量会影响动物内源氨基酸损失。Thompson 和 Applegate^[36]报道, 肉鸡绝食 24 h, 小肠绒毛形态发生显著改变, 粘液减少 46 %。Smirnov 等^[37]也发现, 4 周龄的肉鸡绝食和水 72 h, 肠道表面积粘液层厚度降低。Moter 等^[38]研究采食量对生长猪内源氨基酸损失的影响发现, 日粮采食量的增加, 猪内源氨基酸的排泄量呈线性增加, 然而单位采食量对应的内源蛋白和大部分氨基酸损失线性减少。

2.1.3 肠道粘膜更新速率与肠道健康

动物肠道粘膜更新伴随着粘蛋白合成与分解, 由于更新速率不同, 那么动物内源氮或氨基酸排泄量将呈动态变化^[39]。研究发现, 影响肠粘膜更新速率的因素主要包括日粮、日粮氨基酸水平、肠道微生物等, 因为日粮进入动物肠道会刺激消化道粘蛋白分泌, 氨基酸可为粘蛋白合成提供原料, 而肠道微生物可附着在肠粘膜相应位点上, 还可分解利用后肠段粘蛋白^[39-40]。同样, 动物肠道健康也是影响其内源氮或氨基酸排泄量关键因素。Adedokun 等^[39]报道, 肠道微生物可促进动物十二指肠和回肠的更新, 而病原菌的入侵这种更新速率会加剧。Collier 等^[41]研究发现, 肉鸡感染产气荚膜梭菌, 肠粘膜更新速率加快, 粘蛋白分泌

增加，出现肠坏死现象。

2.2 日粮因素

2.2.1 日粮蛋白和氨基酸

日粮蛋白水平或氨基酸通过增加动物肠道消化酶的分泌和粘蛋白更新来影响内源氨基酸损失^[39]。Adedokun 等^[42]发现，增加肉鸡和火鸡日粮中酪蛋白水平，肠道内源氨基酸排泄量增加。这可能是由于增加日粮蛋白质水平刺激消化道分泌粘蛋白和促进了消化酶的分泌。另外，平衡日粮氨基酸可减少动物内源氨基酸或氮的排泄量。Nitrayová 等^[43]采用无氮日粮+氨基酸模式研究生长猪内源氮损失，结果发现，不添加氨基酸的无氮日粮内源氮损失较大，而添加氨基酸组内源氮损失较小，且随着氨基酸添加比例的增加，内源氮损失有下降趋势。这说明，日粮氨基酸模式越接近平衡，采食无氮日粮的动物体蛋白分解等代谢活动越慢，内源氨基酸和氮损失就越小。此外，日粮蛋白结构也会影响动物内源氮或氨基酸损失^[44]。

2.2.2 日粮纤维

研究表明，日粮纤维含量与纤维类型会影响肠道粘蛋白分泌，粘液组成，肠道食糜粘性和食糜在肠道的滞留时间等，同时日粮纤维的持水性、发酵性等特性会引起肠道内容物物化特性变化，影响动物内源氮和氨基酸的损失^[5,33,2]。Kluth 和 Rodehutschord^[45]报道，高纤维含量的日粮可增加肉鸡内源氨基酸损失，但对内源氨基酸的组成没有影响。Mariscal-Landín 等^[46]发现，中性洗涤纤维会增加生长猪回肠氨基酸和蛋白损失，但对回肠氨基酸消化率没有影响。

2.2.3 抗营养因子

日粮中的抗营养因子对蛋白或氨基酸消化率有负面作用。饲料中较常见的抗营养因子主要有非淀粉多糖（NSP）、蛋白酶抑制剂、植酸、单宁等，而这些抗营养因子主要通过影响内源酶的分泌、肠道细胞的脱落及粘蛋白的产生来影响内源氮和氨基酸损失^[39]。NSP 不能被单胃动物肠道消化、吸收，其会影响食糜理化性质和营养物质的消化吸收。马秋刚等^[47]开展纤维素、果胶和淀粉对生长猪氨基酸消化率影响试验发现，纤维素或果胶不同程度抑制了生长猪氨基酸消化率，而淀粉对其影响较轻。蛋白酶抑制剂可与蛋白酶的必需基团结合，在动物肠道抑制消化酶活性，引起消化腺组织增生^[48-49]。单胃动物体内缺乏植酸酶，植物性饲料中的植酸酶不能有效降解，而植酸能螯合蛋白、消化酶和矿物质等，影响内源蛋白代谢和粘蛋白的分泌^[50]。Asem 等^[51]在试验中发现，植酸会促进肉鸡肠道粘蛋白分泌，增加内源氨基酸损失。Zeng 等^[52]在生长猪日粮中添加植酸酶可促进回肠植酸降解，提高回肠粗蛋白质和氨基酸消化率。单宁味苦涩，影响饲料适口性和动物采食量，同时其还可与蛋白酶结合影响消化酶活性^[48]。

2.3 饲养环境与应激

动物所处环境的清洁度、温度及动物受到应激状况均会影响机体营养素的周转代谢，进而影响内源氨基酸的损失。Floc'h 等^[53]报道，猪舍卫生条件差会导致仔猪肠道发生炎症反应，

影响机体色氨酸代谢和生理功能,这可能卫生条件差,易滋生病原微生物,导致动物感染病原菌,损害肠道健康有关。仲菊等^[54-55]研究不同温度对肉鸡内源氨基酸排泄量及氨基酸消化率发现,低温(8℃)、常温(24℃)和高温(30~32℃)组肉鸡36 h总内源氨基酸排泄量随温度升高而呈下降趋势,分别为785.5、534.5、395.23 mg/只,尿酸、氮沉积率和氮平衡值受温度影响极显著,表观代谢能值高温组显著高于低温组,这说明温度影响肉鸡机体氮代谢,低温条件下,机体氮损失增加。Morales等^[56-57]研究发现,热应激条件下(24-45℃),生长猪必需氨基酸消化率受到不同程度影响,尤其是精氨酸和组氨酸影响度较大,然除脯氨酸的内源损失升高外,其他氨基酸的内源损失无影响,且内源蛋白组成没有变化,可能是猪对热应激的适应性较好,而低温可能对内源损失的影响更大。此外,免疫刺激因素也影响动物内源氮或氨基酸排放^[58]。

2.4 其他因素

研究还发现,动物内源氨基酸损失影响因素除上述介绍的外,还有饲料加工工艺^[59],饲料添加剂^[52]及测定方法^[39]等因素。

3 小结

氨基酸标准回肠可消化氨基酸(SID AA)的测定已被广泛应用于单胃动物氨基酸营养需要研究和日粮配方设计中,因此,准确测定氨基酸内源损失至关重要。内源氨基酸损失测定虽有众多方法,但从诸多文献报道的方法和其研究结果表明,无氮日粮法较为常用,且可行度较高,已被广泛应用于氨基酸消化率评定试验中,良好的无氮日粮配方设计有利于试验结果更接近理论值。在测定方法的探索中,科研人员发现,有很多因素左右着试验测定值,针对这些影响因素开展了大量试验研究,但各因素具体的影响机制还有待于进一步的试验确认。为此,开展内源氨基酸损失测定及相关影响因素的作用机制研究将有助于进一步精准动物氨基酸营养需要。

参考文献

- [1] Stein H H, Sève B, Fuller M F, *et al.* Invited review: amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: terminology and application[J]. J Anim Sci, 2007, 85, 172-180.
- [2] Adeola O, Xue P C, Cowieson A J, *et al.* Basal endogenous losses of amino acids in protein nutrition research for swine and poultry[J]. Anim Feed Sci Tech, 2016, 221 (2016) 274-283.
- [3] 赵晓芳,张宏福,林海.猪内源氨基酸测定技术评述[J]. 动物营养学报, 2005, (01):13-19.
- [4] 王旭贞.畜禽内源氨基酸损失的影响因素[J]. 中国畜牧杂志, 2016, (09):83-86.
- [5] Piel C, Montagne L, Sève B, *et al.* Increasing digesta viscosity using carboxymethylcellulose in weaned piglets stimulates ileal goblet cell numbers and maturation[J]. J Nutr, 2005, 135, 86-91.
- [6] Kong C, Adeola O. Additivity of amino acid digestibility in corn and soybean meal for broiler chickens and White Pekin ducks[J]. Poult Sci, 2013,92, 2381-2388.

- [7] Jansman A, Smink W, Van Leeuwen P, *et al.* Evaluation through literature data of the amount and amino acid composition of basal endogenous crude protein at the terminal ileum of pigs[J]. Anim Feed Sci Tech, 2002, 98, 49-60.
- [8] Zhai H, Adeola O. Apparent and standardized ileal digestibilities of amino acids for pigs fed corn- and soybean meal-based diets at varying crude protein levels[J]. J Anim Sci, 2011, 89, 3626-3633.
- [9] 陶青燕, 王康宁. 畜禽内源氨基酸代谢及测定方法学研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2006, 42(17): 44-46.
- [10] Adedokun S, Parsons C, Adeola O, *et al.* Comparison of apparent and standardized amino acid digestibility of feed ingredients in cecectomized roosters laying hens, and broilers[J]. Poult Sci, 2008, 87, 145-145.
- [11] Adedokun S A, Utterback P, Parsons C M, *et al.* Comparison of amino acid digestibility of feed ingredients in broilers: laying hens and caecectomised roosters[J]. Br Poult Sci, 2009, 50, 350-358.
- [12] 任立芹, 赵峰, 谭会泽, 等. 绝食法与无氮饲粮法测定黄羽肉鸡内源性氨基酸排泄量及变异的比较研究[J]. 动物营养学报, 2012, (12): 2424-2435.
- [13] Fernández-Fígares I, Nieto R, Aguilera J F. Estimation of endogenous amino acid losses in growing chickens given soya-bean meal supplemented or not with dl-methionine[J]. Anim Sci, 2002, 75(3): 415-426.
- [14] Moter V, Stein H H. 2004. Effect of feed intake on endogenous losses and amino acid and energy digestibility by growing pigs [J]. J Anim Sci, 83: 3518-3525.
- [15] 王国兴, 王康宁, 贾刚, 等. 差量法测定鸭饲料氨基酸真消化率和内源氨基酸排泄量的研究[J]. 动物营养学报, 2008, (01): 16-22.
- [16] 杨峰, 李铁军, 印遇龙. 畜禽内源性氨基酸排泄量的测定方法研究进展[J]. 中国饲料, 2008, (02): 7-10.
- [17] 郭广涛, 王康宁, 李霞. 差量法和酶解酪蛋白法测定鸭饲料氨基酸真消化率及内源排泄量的比较研究[J]. 动物营养学报, 2008, (01): 23-28.
- [18] Yin Y L, Li T J, Huang R L, *et al.* Evaluating standardized ileal digestibility of amino acids in growing pigs [J]. Anim Feed Sci Tech, 2008, 140: 385-401.
- [19] Golian A, Guenter W, Hoehler D, *et al.* Comparison of various methods for endogenous ileal amino acid flow determination in broiler chickens[J]. Poult Sci, 2008, 87(4): 706-712.
- [20] Soomro R N, Yao J, EL-HACK M E A B D, *et al.* 15 N-Leucine: Health benefits, applications and issues related to ileal endogenous amino acid losses in poultry[J]. World's Poult Sci J, 2017, 73(1): 145-162.

- [21] 姚军虎,王康宁. 单胃动物消化道内源氨基酸排泄量测定方法学研究进展[J]. 国外畜牧科技,1998,(04):6-10.
- [22] Spindler H K, Mosenthin R, Rosenfelder P, *et al.* Determination of basal ileal endogenous losses and standardized ileal digestibility of amino acids in barley fed to growing pigs[J]. J Anim Sci Biotechno, 2016, 7(1): 56.
- [23] Eklund M, Sauer N, Schöne F, *et al.* Effect of processing of rapeseed under defined conditions in a pilot plant on chemical composition and standardized ileal amino acid digestibility in rapeseed meal for pigs[J]. J Anim Sci, 2015, 93(6): 2813-2825.
- [24] 李铁军, 印遇龙, 黄瑞林, 等. 高精氨酸法测定猪回肠内源性氨基酸排泄量的研究[J]. 动物营养学报, 2004, 16(4) : 7-12.
- [25] Yin J, Ren W, Hou Y, *et al.* Use of homoarginine for measuring true ileal digestibility of amino acids in food protein[J]. Amino acids, 2015, 47(9): 1795-1803.
- [26] 张鹤亮,李德发,譙仕彦,等. 3 种内源氨基酸测定方法的准确性比较分析[J]. 畜牧兽医学报,2010,(10):1346-1353.
- [27] 周传社,谭支良. 同位素标记内源氮法测定回肠内源氨基酸排泄量研究进展[J]. 中国饲料,2006,(10):6-8+11.
- [28] Arentson R A, Zimmerman D R. True digestibility of amino acids and protein in pigs with ^{13}C as a label to determine endogenous amino acid excretion[J]. J Anim Sci, 1995, 73(4): 1077-1085.
- [29] 胡金杰. C_3 和 C_4 植物中 ^{13}C 标记测定山羊内源氮和内源氨基酸的方法研究[D].长沙: 湖南农业大学,2013,12-14.
- [30] 胡如久,汪菲,李晶,等. 一次注射 ^{15}N -亮氨酸示踪法检测鸡内源氨基酸损失量适宜参数的研究[J]. 动物营养学报,2015,(10):3047-3056.
- [31] Lien K A, Sauer W C, Dugan M E. Evaluation of the ^{15}N -isotope dilution technique for determining the recovery of endogenous protein in ileal digesta of pigs: effect of the pattern of blood sampling, precursor pools, and isotope dilution technique[J]. J Anim Sci, 1997, 75(1): 159-169.
- [32] Adedokun S A, Parsons C M, Lilburn M S, *et al.* Endogenous amino acid flow in broiler chicks is affected by the age of birds and method of estimation[J]. Poul Sci, 2007a, 86(12): 2590-2597.
- [33] Leterme P, Théwis A. Effect of pig bodyweight on ileal amino acid endogenous losses after ingestion of a protein-free diet enriched in pea inner fibre isolates[J]. Reprod Nutr Dev, 2004, 44(5): 407-417.
- [34] Hodgkinson S M, Moughan P J, Reynolds G W, *et al.* The effect of dietary peptide

concentration on endogenous ileal amino acid loss in the growing pig[J]. *Brit J Nutr*, 2000, 83(4): 421-430.

[35] Presto M H, Lyberg K, Lindberg J E. Effect of body weight on ileal endogenous nitrogen and amino acid loss in PVTC-cannulated pigs[J]. *Livest Sci*, 2010, 134(1-3): 18-20.

[36] Thompson K L, Applegate T J. Feed withdrawal alters small-intestinal morphology and mucus of broilers[J]. *Poult Sci*, 2006, 85(9): 1535-1540.

[37] Smirnov A, Sklan D, Uni Z. Mucin dynamics in the chick small intestine are altered by starvation[J]. *J Nutr*, 2004, 134(4): 736-742.

[38] Moter V, Stein H H. Effect of feed intake on endogenous losses and amino acid and energy digestibility by growing pigs[J]. *J Anim Sci*, 2004, 82(12): 3518-3525.

[39] Adedokun S A, Adeola O, Parsons C M, *et al.* Factors affecting endogenous amino acid flow in chickens and the need for consistency in methodology[J]. *Poult Sci*, 2011, 90(8): 1737-1748.

[40] Wu G, Bazer F W, Dai Z, *et al.* Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond[J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2014, 2(1): 387-417.

[41] Collier C T, Hofacre C L, Payne A M, *et al.* Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth[J]. *Vet Immunol Immunop*, 2008, 122(1): 104-115.

[42] Adedokun S A, Parsons C M, Lilburn M S, *et al.* Endogenous amino acid flow in broiler chicks is affected by the age of birds and method of estimation[J]. *Poult Sci*, 2007b, 86(12): 2590-2597.

[43] Nitrayová S, Heger J, Patráš P, *et al.* Effect of essential: Total N ratio on endogenous amino acid losses and N retention in growing pigs[J]. *Livest Sci*, 2010, 134(1): 62-64.

[44] Rutherford S M, Cui J, Goroncy A K, *et al.* Dietary protein structure affects endogenous ileal amino acids but not true ileal amino acid digestibility in growing male rats[J]. *J Nutr*, 2015, 145(2): 193-198.

[45] Kluth H, Rodehutschord M. Effect of inclusion of cellulose in the diet on the inevitable endogenous amino acid losses in the ileum of broiler chicken[J]. *Poult Sci*, 2009, 88(6): 1199-1205.

[46] Mariscal-Landín G, Reis de Souza T C, Bayardo Uribe A. Neutral detergent fiber increases endogenous ileal losses but has no effect on ileal digestibility of amino acids in growing pigs[J]. *Anim Sci J*, 2017, 88(2): 322-330.

[47] 马秋刚. 不同种类非淀粉多糖对生长猪氨基酸和微量元素消化率的影响[A]. 中国畜牧兽医学动物营养学分会. 中国畜牧兽医学动物营养学分会第十次学术研讨会论文集[C]. 中国畜牧兽医学动物营养学分会, 2008: 1.

- [48] Gilani G S, Xiao C W, Cockell K A. Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality[J]. *Br J Nutr*, 2012, 108(S2): S315-S332.
- [49] Huang W, Wood C, L'Abbé M R, *et al.* Soy protein isolate increases hepatic thyroid hormone receptor content and inhibits its binding to target genes in rats[J]. *J Nutr*, 2005, 135(7): 1631-1635.
- [50] Amerah A M, Plumstead P W, Barnard L P, *et al.* Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets[J]. *Poult Sci*, 2014, 93(4): 906-915.
- [51] Onyango E M, Asem E K, Adeola O. Phytic acid increases mucin and endogenous amino acid losses from the gastrointestinal tract of chickens[J]. *Br J Nutr*, 2008, 101(6): 836-842.
- [52] Zeng Z K, Li Q Y, Zhao P F, *et al.* A new phytase continuously hydrolyzes phytate and improves amino acid digestibility and mineral balance in growing pigs fed phosphorous-deficient diet[J]. *J Anim Sci*, 2016, 94(2): 629-638.
- [53] Floc'h L, LeBellego L, Matte J J, *et al.* The effect of sanitary status degradation and dietary tryptophan content on growth rate and tryptophan metabolism in weaning pigs[J]. *J Anim Sci*, 2009, 87(5): 1686-1694.
- [54] 仲菊,杨全明,王本平,刘华林. 环境温度对鸡饲料氨基酸真消化率的影响[J]. *动物营养学报*, 2003, (01): 54-60.
- [55] 仲菊,杨全明,王本平,刘华林. 环境温度、饲料、性别对肉鸡氨基酸表观消化率和氮、能代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2004, (02): 22-28.
- [56] Morales A, Pérez M, Castro P, *et al.* Heat stress affects the apparent and standardized ileal digestibilities of amino acids in growing pigs[J]. *J Anim Sci*, 2016a, 94(8): 3362-3369.
- [57] Morales A, Hernández L, Buenabad L, *et al.* Effect of heat stress on the endogenous intestinal loss of amino acids in growing pigs[J]. *J Anim Sci*, 2016b, 94(1): 165-172.
- [58] 翟强,姜建阳,韩先杰,等. 免疫应激对不同品种猪氨基酸消化率的影响[J]. *中国农学通报*, 2011, (03): 325-328.
- [59] Loar R E, Wamsley K G S, Evans A, *et al.* Effects of varying conditioning temperature and mixer-added fat on feed manufacturing efficiency, 28-to 42-day broiler performance, early skeletal effect, and true amino acid digestibility[J]. *J Appl Poultry Res*, 2014, 23(3): 444-455.

Research Advance on Determination Methods for Endogenous Amino Acid Losses and Its Affecting Factors in Monogastric Animals

HE Xi , LI Rui

(College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Hunan Changsha 410128, China;

Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Hunan Changsha 410128, China)

Abstract: Amino acid digestibility is an important index for evaluating the biologic effect of feed protein sources. To accurately determine amino acid digestibility, it is necessary to accurately estimate the endogenous amino acid losses. Accurate determination of the endogenous amino acid losses can not only save the dietary protein sources and reduce the feed cost, but also alleviate environmental pollution caused by nitrogen emission. At present, the determination methods of endogenous amino acid losses mainly include nitrogen-free diet, fasting method, differential method, enzyme hydrolyzed protein diet, regression method, homo-arginine diet and isotope marked technique et al. Factors affecting the endogenous amino acid losses are related to animals, feeding environment, diet composition (dietary protein, fiber and antinutritional factors), measurement methods and so on. In this paper, the determination method and influencing factors of endogenous amino acid loss are reviewed.

Key words: Monogastric animals; Amino acid digestibility; Endogenous amino acid losses

鸡蛋蛋清品质的营养调控研究

齐广海 王晓翠 武书庚 张海军 王 晶

(中国农业科学院饲料研究所, 农业部饲料生物技术重点开放实验室, 北京 100081)

摘 要: 鸡蛋蛋清品质是蛋鸡生产中最为关注的重要性状之一, 蛋清品质下降在集约化养殖、优质饲料蛋白原料缺乏和产蛋后期表现得更为严重。如何改善鸡蛋蛋清品质, 是蛋鸡产业面临的重要问题。本文在介绍鸡蛋蛋清组成及其影响因素的基础上, 主要综述了国内外尤其是本团队近年来在饲料蛋白水平、饲料蛋白原料和抗氧化物质对蛋清品质的影响方面所进行的研究工作, 期望为鸡蛋蛋清品质的营养调控提供借鉴。

关键词: 鸡蛋清; 饲料蛋白; 抗氧化物质; 蛋鸡; 营养调控

鸡蛋清是一种以蛋白质(11%)为分散相、水(88%)为分散质的淡黄色透明胶体溶液, 是氨基酸组成最接近人体的优质、廉价动物源性蛋白。而蛋白高度和哈氏单位^[1]是衡量蛋清品质、鸡蛋货架期的关键指标, 蛋清蛋白、氨基酸组成及碳水化合物含量显著影响其起泡性、乳化性和稳定性。蛋清品质下降一直是蛋鸡生产者和消费者最为关注的问题之一。影响蛋清品质的因素主要包括: 饲料营养来源及水平、蛋鸡周龄和品种、疾病(传染性支气管炎)、应激(冷、热)、储存条件和时间等等。随着我国蛋鸡养殖生产向着集约化、规模化的不断发展, 加之由于饲料豆粕资源短缺, 非常规蛋白原料的使用越来越多, 以及蛋鸡产蛋后期的机体氧化还原体系失衡, 导致生殖系统功能降低, 这些因素使鲜蛋品质下降(蛋清稀化)问题日益突出。因此, 笔者在简述鸡蛋蛋清组成及其影响因素的基础上, 围绕饲料蛋白和抗氧化物质对鸡蛋清品质的影响及其机制等方面, 回顾了国内外尤其是本团队近年来在鸡蛋蛋清品质调控方面所做的研究工作, 以期对鸡蛋蛋清品质的营养调控提供借鉴。

1 鸡蛋蛋清的组成及其影响因素

1.1 鸡蛋蛋清的组成

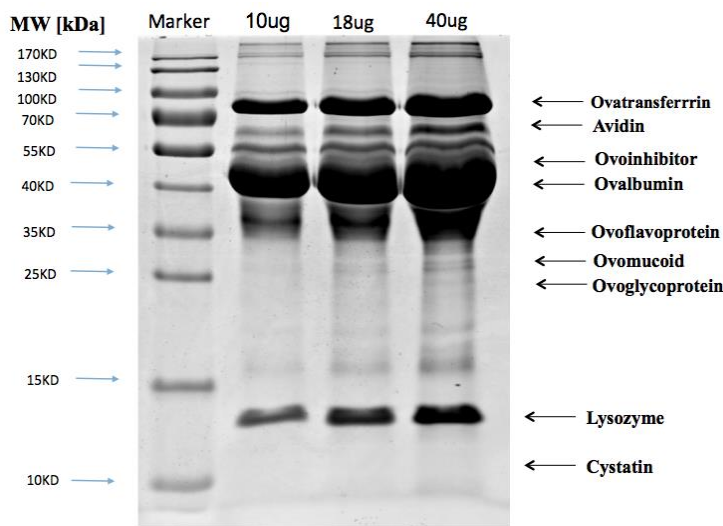
蛋清约占鸡蛋重的 60%, 除溶菌酶外的蛋清蛋白都属于糖蛋白: 卵清蛋白(54%)、卵转铁蛋白(13%)、卵类黏蛋白(11%)、卵黏蛋白(3.5%)、溶菌酶(3.5%)等高丰度蛋白(图 1)占总蛋白的 86%^[2]。此外, 还包括抗生物素蛋白(0.05%)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂(0.05%)、卵球蛋白(0.5%)、卵黄蛋白(0.8%)、卵糖蛋白(1.0%)、巨球蛋白(1%)和卵抑制剂(1.5%)等微量蛋白^[3]。

其中, 高丰度蛋白对蛋清性状起主要作用。其一, 卵清蛋白(45 kDa)是典型的球蛋白, 亦是蛋清中唯一内部含自由巯基的蛋白质; 由 A1(含 2 个磷酸盐基团)、A2(含 1 个磷酸

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-40-K12); 家禽产业技术体系北京市创新团队(CARS-PSTP)

作者简介: 齐广海(1963—), 男, 陕西周至人, 研究员, 博士生导师, 主要从事家禽营养与饲料研究。E-mail: qiguanghai@caas.cn

盐基团)及 A3 (不含磷酸盐基团)以 85:12:3 的比例^[4]组成;含 3.5%糖基和 386 个氨基酸残基,其氨基酸链的 N 端是乙酰甘氨酸, C 端是脯氨酸^[5]。其二,卵转铁蛋白(76 kDa)由 686 个氨基酸残基组成的单体糖蛋白^[4],有结合和传递铁的能力。其三,卵类黏蛋白(28 kDa)的糖基化程度较高,是胰蛋白酶抑制剂,亦是食物过敏原物质,还可做抑菌剂。其四,溶菌酶(14,400 Da)是含 129 个氨基酸残基的单一多肽链,也是唯一的非糖蛋白,等电点 10.7,可与带负电的蛋白(如卵黏蛋白)结合,且两者络合物影响蛋清的凝胶性^[3]。含 33%碳水化合物的卵黏蛋白在蛋清蛋白中含量排在第五位,对蛋清凝胶性起关键作用,其含量影响鸡蛋蛋白高度和哈氏单位;卵黏蛋白有 α (匀质, α_1 和 α_2) 和 β (不匀质)两种亚基, α -亚基(含 11%~15%碳水化合物, 150~220 kDa)富含天冬氨酸和谷氨酸; β -亚基(含 50%~57%碳水化合物, 400~523 kDa)富含丝氨酸和苏氨酸。根据溶解度(亚基比例)的不同,可把卵黏蛋白分为两类:可溶性卵黏蛋白(8 300 Da, 87% α -亚基+13% β -亚基)存在于浓蛋清和稀蛋清中;不溶性卵黏蛋白(220~270 kDa, 67% α -亚基+33% β -亚基)仅存在于浓蛋清中^[6]。



Ovotransferrin: 卵转铁蛋白; Avidin: 抗生物素蛋白; Ovoinhibitor: 卵抑制剂; Ovalbumin: 卵清蛋白; Ovocleoprotein: 卵黄蛋白; Ovomuroid: 卵类黏蛋白; Ovocleoprotein: 卵糖蛋白; Lysozyme: 溶菌酶; Cystatin: 半胱氨酸蛋白酶抑制剂。

图 1 鸡蛋蛋清的蛋白质组成^[7]

Fig. 1 Protein composition of egg ovalbumin of laying hens

1.2 鸡蛋清稀化的可能机制

储存壳蛋和新产蛋均会出现蛋清稀化,但蛋清稀化的机制尚不完全清楚。新产鸡蛋的哈氏单位通常在 75-82 之间,甚至可达 90 左右,但从产出那一刻开始,浓蛋白便会随储存时间的延长逐渐转化为低黏度状态,哈氏单位逐渐降低,直至完全水化,称蛋白稀化。蛋白质构象改变对储存过程中蛋清稀化起着至关重要的作用,当前关于其稀化机制有三种观点:最被认可的观点是卵黏蛋白 β -亚基的降解;其二,有学者认为蛋清 pH 升高降低卵黏蛋白与溶菌酶相互作用,改变了其络合物形式;第三,储存期内 S-卵清蛋白含量升高,且与哈氏单

位负相关,所以卵清蛋白转化成 S-卵清蛋白也可能是蛋清稀化的部分原因^[8]。产蛋鸡的输卵管膨大部约占输卵管长度的 50%,是蛋清合成、分泌的靶器官^[9],其健康状况与鲜蛋蛋清品质密切相关。其皱褶黏膜层由具纤毛和无纤毛的单层柱状上皮细胞排列而成,固有层分布着丰富的管状腺。膨大部皱褶高度和表面上皮细胞高度是影响蛋清品质的重要因素^[10]。研究显示,传染性支气管炎病毒严重损害产蛋鸡的生殖系统,引起膨大部颗粒上皮细胞和管状腺上皮细胞出现病理变化,降低膨大部的蛋清蛋白合成,形成水样蛋清鸡蛋^[11]; H9N2 亚型禽流感病毒亦可降低产蛋鸡的输卵管膨大部的卵清蛋白合成量,导致鲜蛋蛋清稀化^[12]。研究表明,皮质酮可下调产蛋鸡膨大部组织的卵清蛋白、卵清蛋白-Y、卵转铁蛋白、卵抑制剂等蛋白和 mRNA 表达量,进而影响鲜蛋的蛋清品质^[13]。

因此,储存壳蛋和鲜鸡蛋蛋清稀化的机制可能并不完全相同,比如 S-卵清蛋白含量与储存蛋的哈氏单位间呈高度负相关,或可作为衡量储存壳蛋新鲜度的一个指标,但 S-卵清蛋白含量与产蛋鸡周龄、营养情况和蛋重无关。储存壳蛋蛋清的稀化机制主要考虑鸡蛋蛋清蛋白质含量、相互作用及蛋白质构象;而鲜蛋蛋清的稀化机制要从产蛋鸡本身入手,围绕机体蛋白代谢,聚焦蛋清分泌靶器官,进行系统研究以揭示其机制。

2 饲料蛋白水平对蛋清品质的影响

在一定范围内,饲料 CP 水平降低不会影响鸡蛋蛋清品质。在总含硫氨基酸(TSAA):赖氨酸(Lys)比例恒定的条件下,20-72 周龄内海兰 W-36 产蛋鸡饲料 CP 水平降低 1.5 个百分点,对鸡蛋蛋白高度无显著影响^[14]。然而,付胜勇等(2012)^[15]在添加 6 种晶体氨基酸的基础上,使试验饲料具有相同的标准回肠可消化氨基酸(SID AA)模式,将 540 只 20 周龄海兰灰蛋鸡分为 5 个处理,每处理 6 个重复,饲料 CP 水平从 18.0%按 0.5%差值降到 16.0%,试验期 12 周,结果发现 16.5%组的鸡蛋蛋白高度与对照组无显著差异,而 16.0%组的蛋白高度显著低于对照组,且鸡蛋蛋白高度与 SID 亮氨酸(Leu)摄入量显著相关。这与 Novak 等(2006)^[16]的研究结果一致,该试验给 44 周龄海兰 W-98 蛋鸡饲喂玉米-豆粕饲料,通过调整玉米和豆粕比例并添加晶体 Lys、Trp 和 Thr,保证饲料 CP 水平(16.0%、14.5%和 13.0%)和 TSAA:Lys 比例(0.92、0.82 和 0.72),试验期 20 周,发现 14.5%CP 组和 16.0%CP 组的鸡蛋蛋清比例等品质无显著差异,而 13.0%CP 组的鸡蛋蛋清比例、蛋清蛋白和干物质含量显著低于 16.0%CP 组,作者认为其原因可能是饲料中过低的 CP 水平引起蛋鸡体内蛋白合成受到抑制或限制。在不影响鸡蛋清品质的前提下,降低饲料 CP 水平,既可缓解豆粕资源短缺问题,节约饲料成本、同时可降低氮排放减少环境污染。但当前关于饲料 CP 水平对蛋清品质的影响仅局限在蛋白高度、哈氏单位等表观指标,而产蛋鸡不同品种及阶段对蛋白质的需求可能不同,因此后续研究需考虑蛋鸡品种及生理阶段的影响,以期在蛋鸡实际生产中更加合理、高效地应用低蛋白饲料。

3 饲料蛋白原料对蛋清品质的影响及机理

饲料蛋白质量是影响蛋清品质(蛋白高度和哈氏单位)的最重要营养因素。不同的饲料

蛋白原料可能通过其氨基酸模式、抗营养因子等影响动物体内的蛋白代谢,进而影响蛋清品质。豆粕的氨基酸组成比较平衡,系产蛋鸡饲料的首选蛋白原料^[17];但国内豆粕生产严重依赖进口大豆,价格高、波动大;棉粕、菜粕、花生粕等油料饼粕,以及淀粉加工副产物等蛋白原料价格低廉,是替代豆粕的潜在原料。当前,关于饲料 CP 原料与蛋清品质的研究主要局限于棉粕,Yuan 等(2014)^[18]将 360 只 40 周龄海兰褐产蛋鸡按产蛋率相近的原则分 5 个处理,每处理 4 个重复,在玉米-豆粕饲料基础上分别添加 6%普通棉粕、6%、8%和 10%的膨化棉粕,试验期 8 周,发现 10%膨化棉粕(游离棉酚: 40 mg/kg)饲料显著降低 8 周末的鸡蛋蛋白高度和哈氏单位。基于理想氨基酸模式的概念,何涛(2016)^[7]在饲料中添加 7 种晶体氨基酸,使其保持相同的 SID AA 模式和等氮等能水平,将 432 只 40 周龄健康海兰褐产蛋鸡按产蛋率相近的原则分为 6 个处理:对照组为玉米-豆粕型饲料;4 个试验组分别按 25%、50%、75% 和 100%的棉粕蛋白替代豆粕蛋白;第 6 组添加与 100%棉粕蛋白组相同含量的游离棉酚(28.35 mg/kg),试验期 12 周,结果表明:全棉粕蛋白饲料显著降低 12 周末的鸡蛋蛋白高度、哈氏单位和蛋清蛋白含量,且饲料中 28.35 mg/kg 游离棉酚并非致蛋清品质降低的主要原因。研究证实,饲料氨基酸只有被小肠吸收后才能发挥作用,小肠氨基酸转运体对于饲料蛋白的利用至关重要^[19-20],且赖氨酸(Lys)和精氨酸(Arg)间存在拮抗^[21],棉籽蛋白饲料中 SID Arg: Lys 远远高于豆粕饲料(149 对 113),在饲料 CP 恒定的前提下无法消除过量 Arg。而试验饲料中并未添加晶体亮氨酸(Leu),致棉粕蛋白饲料 SID Leu: Lys 远低于豆粕蛋白饲料(119 对 156),而 Leu 缺乏不利于机体蛋白合成^[15, 22]。因此,蛋清品质差异可能与棉粕蛋白与豆粕蛋白的化学组成、氨基酸模式、蛋白和小肽消化、代谢不同有关^[16]。进一步研究表明,全棉粕蛋白饲料可引起产蛋鸡血液孕酮水平降低,抑制了输卵管膨大部的上皮细胞和管状腺细胞生长,导致膨大部指数降低,其黏膜柱状上皮细胞不完整,管腔内蛋白分泌物较少,蛋白合成、分泌功能降低,最终引起蛋清蛋白的差异化表达,降低蛋清品质^[23-24]。

双低菜粕是一种低芥酸、低硫苷、氨基酸组成平衡的非常规蛋白原料,是极具开发潜力的饲料蛋白资源。王晓翠^[25](2015)以 32 周龄京红 1 号产蛋鸡为试验动物,试验饲料中添加 7 种晶体氨基酸,使其具相同 SID AA 模式,并保证等氮等能水平,以玉米-豆粕型饲料为对照,29.20%双低菜粕替代豆粕连续饲喂 12 周,表明玉米-豆粕组和玉米-双低菜粕组的鸡蛋蛋白高度和哈氏单位无显著差异。可见,双低菜粕可以作为豆粕的替代物。除此之外,今后还应研究普通菜粕、花生粕、棕榈粕、昆虫蛋白等非常规蛋白原料对蛋清品质的影响及其机制,以便在蛋鸡饲料中更好利用其他蛋白原料。

4 饲料抗氧化物质对蛋清品质的影响

蛋鸡在集约化饲养过程中,经较长高峰产蛋期后,进入产蛋后期的蛋鸡机体可能出现活性氧(reactive oxygen species, ROS)过度产生、抗氧化系统功能减弱等导致自由基过剩,损伤 DNA、蛋白质,导致体内氧化还原系统失衡、生殖系统功能降低,使体内的蛋白合成

和转运能力降低^[26]，在鲜蛋蛋清品质上表现为蛋白高度、哈氏单位、浓蛋白比例下降^[27]，大大缩短鸡蛋货架期。机体氧化还原是一种动态平衡，自由基产生过多或抗氧化防御机能削弱，就会产生氧化应激，诱发疾病、衰老等^[28]。饲料抗氧化剂可延缓饲料营养物质氧化，提高其稳定性并延长储存期；同时消除、抑制或减缓体内自由基生成，调节机体氧化还原平衡，减少氧化应激的产生。目前，除了合成抗氧化剂以外，人们越来越重视植物源性抗氧化物质^[29]的潜在应用价值。

4.1 茶多酚对蛋清品质的影响及可能机制

许多研究证实，茶多酚（tea polyphenols, TP）可通过提高抗氧化能力改善鸡蛋蛋白高度和哈氏单位等蛋清品质。Yuan 等（2016）^[30]采用 1+3×3 因子设计，将 300 只 67 周龄罗曼蛋鸡分为 10 个处理，以玉米-豆粕型饲料为对照组，试验组在对照组饲料基础上添加钆（5, 10 和 15 mg/kg）和 TP（0, 600 和 1 000 mg/kg），试验期 5 周，结果显示，600 mg/kg TP 组的鸡蛋蛋白高度和哈氏单位显著高于未添加 TP 组。茶多酚改善蛋清品质可能有以下几个原因：其一，多酚可与蛋白质、多糖形成复合物，提高 β -卵黏蛋白含量和蛋清凝胶强度^[31]，其二，TP 作为典型的黄酮类天然抗氧化物，可直接清除体内 ROS，同时提高体内超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）和过氧化氢酶（CAT）等抗氧化酶活性，抑制炎症反应，刺激核转录因子(Nrf2)，提高抗氧化能力，保护细胞免受损伤^[32-33]，有效调控机体氧化应激和细胞凋亡^[34]，改善膨大部组织功能，提高蛋白合成、分泌功能^[35]。其三，蛋清稀化与输卵管膨大部腺上皮细胞和管腔组织形态相关^[11-12]。有研究证实，200 mg/kg TP 显著提高产蛋后期的蛋鸡输卵管膨大部的皱褶高度和表面上皮细胞高度^[35]，但纤毛在整个蛋清形成过程中起何种作用还需进一步研究。

茶多酚可降低蛋白质氧化损伤。本实验室前期研究显示，在玉米-豆粕型饲料基础上，添加 200 mg/kg TP 连续饲喂 65 周龄海兰褐蛋鸡 10 周，与基础饲料相比，200 mg/kg TP 显著降低 10 周末的蛋清蛋白质羰基含量和表面疏水力、提高蛋白巯基含量^[35]。与此类似，发现 500 mg/kg 绿茶提取物显著降低老龄大鼠心脏和肝脏的蛋白质羰基含量^[36]。蛋白质是 ROS 攻击的主要靶标之一，导致氨基酸残基发生氧化修饰，改变其结构和功能^[37]。氧化损伤致蛋白质羰基含量和表面疏水力增加，巯基含量降低，这三个指标是衡量蛋白氧化损伤的关键指标^[38-40]。适宜剂量 TP 通过平衡氧化/抗氧化系统提高机体抗氧化防御系统性能，降低蛋白氧化损伤^[41-42]。而且，TP 可通过介导金属结合蛋白、细胞增殖、免疫功能相关蛋白表达和 p53 信号通路调控细胞凋亡和自噬，改善氧化应激引起的蛋清品质降低^[43]。

4.2 其它抗氧化物质对鸡蛋清品质的影响

近年来，本研究室针对抗氧化物质对蛋清品质的影响做了一系列探索，证实低聚异麦芽糖（IMO）、L-肉碱、吡咯喹啉醌（PQQ）、锌、葡萄原花青素（GPC）等抗氧化物质通过提高机体抗氧化能力改善蛋清品质。IMO 是一种可提高机体抗氧化能力的新型功能性低聚糖，武书庚等^[44]（2011）采用单因子完全随机区组设计，选用 600 只 29 周龄健康海兰褐蛋鸡，分 5 个处理，每处理 6 个重复，在玉米-豆粕-棉粕-花生粕型饲料基础上，分别添加 1g/kg、

2g/kg、4g/kg 和 8g/kg IMO, 基础饲料为对照组, 试验期 8 周, 结果显示 2 g/kg IMO 显著提高 37 周龄海兰褐蛋鸡的鸡蛋蛋白高度。L-肉碱作为一种水溶性维生素, 同样具抗氧化功效, 我们选用 576 只 53 周龄海兰褐蛋鸡进行 L-肉碱对蛋清品质的影响研究, 以玉米-豆粕型饲料为对照, 试验组在对照组基础上分别添加 25 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg 和 400 mg/kg L-肉碱, 试验 6 周, 表明 25 mg/kg L-肉碱显著提高 59 周龄海兰褐蛋鸡的鸡蛋蛋白高度和哈氏单位^[45]。PQQ 作为一种具有抗氧化功能的类维生素物质, 也可以提高蛋鸡的抗氧化能力。赵芹等 (2014)^[46] 选用 288 只 29 周龄海兰褐蛋鸡为试验鸡, I 组为对照, 饲喂玉米-豆粕型基础饲料, II 组为病理模型, 饲喂高能低蛋白饲料, III 组和 IV 组分别在 II 组基础上添加 0.08 mg/kg 和 0.16 mg/kg PQQ, 预饲 1 周, 饲养期 8 周, 发现 0.08 mg/kg PQQ 可显著改善高能低蛋白饲料引起的鸡蛋蛋白高度和哈氏单位的降低。微量元素锌作为 Cu/Zn-SOD 的重要组成部分, 参与 SOD 合成及活性维持^[47]; 同时参与体内 300 多种酶 (如氨基酰转移酶) 的形成, 可促进体内蛋白周转代谢, 提高鸡蛋蛋白含量。张亚男等 (2013)^[48] 选用 504 只 54 周龄海兰灰蛋鸡据产蛋率相近原则分成 7 组, 每组 6 个重复, 正试期 6 周, 玉米-豆粕型基础饲料 (29.07mg/kg 锌) 饲喂所有试验鸡 4 周以排除锌的影响, 而后分别饲喂基础饲料和基础饲料基础上分别添加硫酸锌 (35、70 和 140 mg/kg 锌) 和蛋氨酸锌 (35、70 和 140 mg/kg 锌) 的试验饲料, 试验期 6 周, 结果显示: 70 mg/kg 硫酸锌显著提高 61 周龄蛋鸡的鸡蛋蛋白高度和哈氏单位。关于 GPC 的研究, 我们选将 288 只 64 周龄罗曼蛋鸡分 4 个组, 每组 6 个重复, 在玉米-豆粕饲料基础上添加 50 mg/kg、100 mg/kg GPC 及 200 mg/kg 特丁基对苯二酚, 试验期 8 周, 结果表明: 50 mg/kg GPC 显著提高 8 周末的鸡蛋哈氏单位^[49]。此外, 褚静娟等^[50] (2016) 以 180 只 39 周龄海兰灰产蛋鸡为试验动物, 在玉米-豆粕型饲料基础上添加 5.0 g/kg、7.5 g/kg 和 10.0 g/kg 复合抗氧化剂 (VC、VE、茶多酚、异黄酮和硫辛酸等复合物), 试验期 8 周, 结果显示: 10 g/kg 复合抗氧化剂显著提高 8 周末的鸡蛋哈氏单位和机体抗氧化能力。虽然以上研究对蛋清品质的影响局限在蛋白高度和哈氏单位等表观指标, 但为蛋清品质的调控提供了方向, 尚需深入研究不同种类抗氧化剂的配伍组合及其机制。

5 展 望

鸡蛋是质优、价廉的动物蛋白, 蛋清品质一直是消费者和生产者关注的重要问题之一, 饲料蛋白和蛋鸡周龄是两个主要影响因素, 提高新鲜鸡蛋蛋清品质有助于提高鸡蛋营养价值, 延长货架期, 最终提高蛋禽业的经济效益。因此, 从营养角度调控鸡蛋蛋清品质具有重要的科学意义和实际应用价值。而精准调控蛋清品质的关键是明确关键基因和代谢通路, 棉籽蛋白和 TP 有可能通过改善产蛋鸡输卵管膨大部的组织形态和功能, 调控蛋白合成、分泌, 影响蛋清品质, 但其作用机制尚需进一步探讨。此外, 蛋清蛋白中除溶菌酶外都是糖蛋白, 亦可从蛋白质糖基化修饰角度入手, 探讨调控蛋清品质的机制; 再者, 来源于植物和食用菌的具抗氧化、抗衰老、提高免疫力功效的多糖, 在调控蛋清品质效果方面是否优于植物多酚类物质也有必要深入研究; 而且, 当前代谢组、转录组、蛋白组等组学技术, 为揭示蛋清品质调控机制提供有力保障。

参考文献:

- [1] HAUGH R R. The haugh unit for measuring egg quality. US Egg Poultry Magazine, 1937, 43:552-555, 572-573.
- [2] DATTA D, BHATTACHARJEE S, NATH A, et al. Separation of ovalbumin from chicken egg white using two-stage ultrafiltration technique [J]. Separation and Purification Technology, 2009, 66(2): 353-361.
- [3] ABEYRATHNE E D N S, LEE H Y, AHN D U. Egg white proteins and their potential use in food processing or as nutraceutical and pharmaceutical agents-A review [J]. Poultry Science, 2013, 92(12):3292-3299.
- [4] STADELMAN W J, COTTERILL O J. 2001. Egg science and technology. 4th ed Avi Publ Co., Westport, CT.
- [5] NISBET A D, SAUNDY R H, MOIR A J G, et al. The complete amino-acid sequence of hen ovalbumin [J]. Febs Journal, 2010, 115(2):335-345.
- [6] OMANA D A, WANG J, WU J. Co-extraction of egg white proteins using ion-exchange chromatography from ovomucin-removed egg white [J]. Journal of Chromatography B, 2010, 878(21):1771-1776.
- [7] 何涛. 脱粉棉籽蛋白对鸡蛋品质的影响及其机理 [D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [8] 王晓翠,武书庚,岳洪源,等. 卵黏蛋白: 结构组成、理化性质、在浓蛋白液化中的作用及营养调控 [J]. 动物营养学报, 2015, 27(2):327-333.
- [9] WYBURN G M, JOHNSTON H S, DRAPER M H, et al. The fine structure of the infundibulum and magnum of the oviduct of gallus domesticus [J]. Experimental Physiology, 1970, 55(3): 213-232.
- [10] KIMARO W H, MADEKUROZWA M C, GROENEWALD H B. Histomorphometrical and ultrastructural study of the effects of carbendazim on the magnum of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) [J]. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 2013, 80(1):579-586.
- [11] CHOUSALKAR K K, ROBERTS J R. Ultrastructural study of infectious bronchitis virus infection in infundibulum and magnum of commercial laying hens [J]. Veterinary Microbiology, 2007,122(3):223-236.
- [12] 李涛. 产蛋鸡感染 H9N2 亚型禽流感病毒后输卵管中卵清蛋白基因表达的变化 [D]. 硕士学位论文. 杨凌:西北农林科技大学, 2014.
- [13] KIM J, CHOI Y H. Differential abundance of egg white proteins in laying hens treated with corticosterone [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(51):12346- 12359.

- [14] KHAJALI F, KHOSHOUIE E A, DEHKORDI S K, et al. Production performance and egg quality of Hy-line w-36 laying hens reduced-protein diets at a constant total sulfur amino acid: lysine ratio [J]. *Journal of Applied Poultry Research*, 2008,17(3):390-397.
- [15] 付胜勇,武书庚,张海军,等. 标准回肠可消化氨基酸模式下降低饲料粗蛋白质水平对蛋鸡生产线性能、蛋品质和氮平衡的影响 [J]. *动物营养学报*,2012,24(9):1683-1693.
- [16] NOVAK C, YAKOUT H M, SCHEIDELER S E. The effects of dietary protein level and total sulfur amino acid: lysine ratio on egg production parameters and egg yield in Hy-Line W-98 hens [J]. *Poultry Science*, 2006, 85(12):2195-2206.
- [17] MARTENS S D, TIEMANN T T, BINDELLE J, et al. Alternative plant protein sources for pigs and chickens in the tropis-nutritional value and constraints: a review [J]. *Journal of Agriculture and Rural Delpoment in the Tropics and Subtropics*, 2012,113(2):101-123.
- [18] YUAN C, SONG H H, ZHANG X Y, et al. Effect of expanded cottonseed meal on laying performance, egg quality, concentrations of free gossypol in tissue, serum and egg of laying hens [J]. *Animal Science Journal*, 2014, 85(5):549-554.
- [19] HE L, YANG H, HOU Y, et al. Effects of dietary L-lysine intake on the intestinal mucosa and expression of CAT genes in weaned piglets [J]. *Amino Acids*, 2013, 45(2):1-9.
- [20] GILBERT E R, Li H, EMMERSON D A, et al. Dietary protein quality and feed restriction influence abundance of nutrient transporter mRNA in the small intestine of broiler chicks [J]. *The Journal of Nutrition*, 2008, 138(2):262-271.
- [21] BRAKE J, BALNAVE D, DIBNER J J. Optimum dietary arginine: lysine ratio for broiler chickens is altered during heat stress in association with changes in intestinal uptake and dietary sodium chloride [J]. *British Poultry Science*, 1998, 39(5):639-647.
- [22] YIN Y, YAO K, LIU Z, et al. Supplementing L-leucine to a low-protein diet increases tissue protein synthesis in weanling pigs [J]. *Amino Acids*, 2010, 39(5):1477-1486.
- [23] WANG X C, ZHANG H J, WANG H, et al. Effect of different protein ingredients on performance, egg quality, organ health, and jejunum morphology of laying hens [J]. *Poultry Science*, 2017, 96(5):1316-1324.
- [24] HE T, ZHANG H J, WANG J, et al. Proteomic comparison by iTRAQ combined with mass spectrometry of egg white protein in laying hens (*Gallus gallus*) fed with soybean meal and cottonseed meal [J]. *Plos One*, 2017, 12(8):e0182886.
- [25] 王晓翠. 理想蛋白模式下饲料蛋白源对蛋品质的影响及其机理研究 [D]. 博士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015.
- [26] STADTMAN E R. Protein oxidation in aging and age-related diseases [J]. *Annals of the New York Academy of Science*, 2001, 928(1):22-38.

- [27] SILVERSIDES F G, SCOTT T A. Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens [J]. Poultry Science, 2001, 80(8):1240-1245.
- [28] YU J, CHEN Y, ZHAI L, et al. Antioxidative effect of ginseng stem-leaf saponins on oxidative stress induced by cyclophosphamide in chickens [J]. Poultry Science, 2015, 94(5):927-933.
- [29] 萨茹丽,杨斌,敖长金. 天然植物提取物在动物氧化应激中的研究概况 [J]. 动物营养学报,2018,30(6):2021-2026.
- [30] YUAN Z H, ZHANG K Y, DING X M, et al. Effect of tea polyphenols on production performance, egg quality, and hepatic antioxidant status of laying hens in vanadium-containing diets [J]. Poultry Science, 2016, 95(7):1709-1717.
- [31] HATANAKA Y, YAMAUCHI A, KOBAYASHI O, et al. Electron microscopic analysis of the effects of tea extracts on strength improvement of egg white gels [J]. Food Science & Technology Research, 2009, 15(1):5-10.
- [32] FREI B, HIGDON J V. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies [J]. Journal of Nutrition, 2003, 133(10):3275S-3284S.
- [33] KANSANEN E, KUOSMANEN S M, LEINONEN H, et al. The Keap-Nrf2 pathway: mechanisms of activation and dysregulation in cancer [J]. Redox Biology, 2013, 1(1):45-49.
- [34] HIGDON J V, FREI B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions [J]. Critical Reviews in Food Technology, 2003, 43(1):89-143.
- [35] WANG X C, WANG X H, WANG J, et al. Dietary tea polyphenol supplementation improved egg production performance, albumen quality, and magnum morphology of Hy-Line Brown hens during the late laying period [J]. Journal of Animal Science, 2018, 96(1):225-235.
- [36] WANG Y C. Supplementation of green tea attenuates protein carbonyls formation in aged mice [J]. Life Science Journal, 2013, 10(3):1034-1037.
- [37] CECARINI V, GEE J, FIORETTI E, et al. Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism [J]. Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research, 2007, 1773(2):93-104.
- [38] KHOLARI F S, DEHPOUR A R, NOURBAKHS M, et al. Erythrocytes membrane alterations reflecting liver damage in CCl₄-induced cirrhotic rats: the ameliorative effect of naltrexone [J]. Acta Medica Iranica, 2016, 54(10):631-639.
- [39] TROMBETTA D, GANGEMI S, SAIJIA A, et al. Increase protein carbonyl groups in the serum of the patients affected by thalassemia major [J]. Annals of Hematology, 2006, 85(8):520-522.

- [40] YUKSEL A, AVCI E, UYMAZ B, et al. General composition and protein surface hydrophobicity of goat, sheep and cow milk in the region of Mount Ida [J]. *Small Ruminant Research*, 2012, 106(2-3):137-144.
- [41] KIM H S, QUON M J, KIM J A. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties: lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate [J]. *Redox Biology*, 2014, 2:187-195.
- [42] VAYALIL P K, ELMETS C A, KATIYAR S K. Treatment of green tea polyphenols in hydrophilic cream prevents UVB-induced oxidation of lipids and proteins, depletion of antioxidant enzymes and phosphorylation of MAPK proteins in SKH-1 hairless mouse skin [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(5): 927-936.
- [43] WANG J, BAI X, DING X, et al. Quantitative proteomic analysis reveals the role of tea polyphenol EGCG in egg white in response to vanadium stress [J]. *Nutrition*, 2017,20:39-40.
- [44] 武书庚,高春起,张海军,等. 低聚异麦芽糖对产蛋鸡生产性能、盲肠微生物和免疫机能的影响 [J]. *动物营养学报*,2011,23(9):1560-1568.
- [45] 徐少辉,武书庚,张海军,等. 饲料中添加 L-肉碱对产蛋鸡生产性能、但品质及脂质代谢的影响 [J]. *动物营养学报*,2011,23(4):640-646.
- [46] 赵芹,张海军,武书庚,等. 吡咯喹啉醌对高能低蛋白饲料蛋鸡生产性能、蛋品质、血浆脂质代谢及抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*,2014,26(4):885-892.
- [47] OTEIZA P L, CLEGG M S, ZAGO M P. Zinc deficiency induces oxidative stress and AP-1 activation in 3T3 cells [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 28(7): 1091-1099.
- [48] 张亚男,齐晓龙,武书庚,等. 硫酸锌和蛋氨酸锌对产蛋后期鸡蛋生产性能、蛋品质及抗氧化性能的影响 [J]. *动物营养学报*,2013,25(12): 2873-2882.
- [49] 张玉,武书庚,王晶,等. 葡萄原花青素对产蛋后期蛋鸡生产性能和抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*,2016,28(4):1129-1136.
- [50] 褚静娟,谷娟,顾永远,等. 复合抗氧化剂对蛋鸡抗氧化、生产性能和鸡蛋抗氧化能力的影响 [J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*,2016,34(4):1-5. 20.

Nutritional Modulation of Egg Albumen Quality of Laying hens: A Review

QI Guang-hai WANG Xiao-cui WU Shu-geng ZHANG Hai-jun WANG Jing

*(Key Laboratory of Feed Biotechnology of Ministry of Agriculture, Feed Research Institute,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)*

Abstract: The albumen quality of egg is one of most importance characteristics in laying hen production. The decreasing of albumen is more serious in the intensive production, the lack of high-quality protein ingredients, and in the late period of laying hens. How to improved the egg white quality is one of the hot topics in egg-laying hens industry. This paper reviewed the protein composition of egg white, the effect of dietary protein levels and protein ingredients on albumen quality of hens and its mechanism, the effect of dietary antioxidants of albumen quality of chicken eggs, to providing a clue to nutritional modulation of albumen quality in the future.

Key words: egg white; dietary protein; dietary antioxidant; laying hen; nutritional modulation

Author, QI Guang-hai, Professor, E-mail: qiguanghai@caas.cn

饲料营养价值快速评定技术：适用范围与局限性

赵景鹏 林 海*

（山东农业大学动物科技学院，山东省动物生物工程与疾病防治重点实验室，泰安 271018）

摘要：活体消化代谢试验是评定饲料养分生物效价最客观的方法，但在统筹安排方面受到不少限制，如成本高、耗时长、牵涉动物福利问题等，故不适合用作日常检测技术。在有大量实测数据的基础上，通过体外化学分析、仿生消化或近红外光谱（NIRS）建立预测模型，可实现饲料有效养分的快速评价。体外消化法检测谷物消化率的准确度较高，但不宜用来评定农工副产品。NIRS 是眼下饲料工业最实用的现场评价工具，但定标过程依赖于湿化学分析、预测方程、体内实测值和体外估测值。总之，现有饲料营养价值评定方法各有利弊，互有关联，很难建立适用于所有条件的单一技术。

关键词：饲料营养价值；饲料快速评定；体外消化；近红外光谱

在单胃动物生产中，饲料支出占总成本的 65%-70%^[1]，故饲料质量至关重要。通常，猪、鸡配合饲料以谷物和饼粕类蛋白饲料（玉米、小麦和豆粕）为主要原料。近年，迫于口粮、工业用粮（如燃料生产）与饲料粮的竞争，为提高成本效益，动物营养学家和饲料工业使用大量替代原料，如来自谷物和油籽加工的副产品。受不同农艺条件、遗传组成和加工技术影响^[2-5]，无论传统饲料原料还是农工副产品，种间和种内养分含量差异都很大。即便是相同来源的原料，不同批次间也如此。为配制均衡饲料，使动物达到理想的生产性能，有必要建立饲料营养价值日常评定技术。这项工作必须在原料添加到饲料中之前进行，但像湿化学分析和活体代谢试验等经典方法非常耗时，亟需研制快速、实用的评价技术。当然，评价的准确度也是一个关乎成本、动物性能和粪污排放的关键考虑点。

1 饲料营养价值评定新理念

在传统意义上，饲料营养价值评定是对可消化或可代谢养分的量化。为使单一原料的营养参数在配制全价混合饲料时更具可加性，学术界就饲料有效氨基酸、有效磷和有效能评价分别提出了标准回肠氨基酸消化率（SID）、全肠道标准磷利用率（STTD）和净能（NE）理念^[6-10]，并统一了它们的测定标准，包括动物管理、无氮饲料/无磷饲料的配制、样品采集与送检和热增耗（HI）、维持净能（NE_m）、生产净能（NE_p）的分析，以解决不同来源的数据差异大、可比性差、无法应用于生产实践的问题。目前，这方面的评价工作主要围绕能量饲料（玉米、小麦、大麦、燕麦）和蛋白质饲料（豆粕、棉粕和菜籽粕）展开，其中不乏对原料类型、产地、年份和干燥、储存、加工（去壳、粉碎、制粒等）等环境条件影响的探究与比较。今后还应考虑品种和日龄特异性，进一步细化和充实饲料原料数据库。

基金项目：现代农业产业技术体系建设专项资金（CARS-41）；国家重点研发计划（2016YFD0500510）；国家自然科学基金（31672442）；山东省“双一流”建设奖补资金

作者简介：赵景鹏（1981-），男，山东泰安人，博士，主要从事家禽健康养殖技术研究。E-mail: zjp1299@sda.edu.cn

*通讯作者：林 海，男，教授，博士生导师，E-mail: hailin@sda.edu.cn

农工副产品富含动物难以消化的非淀粉多糖（NSP），它们类型多样，性质多变，只有借助微生物才能降解。随着非常规原料在猪、鸡饲料中的用量越来越大，这些纤维成分的功能特性引起广泛关注。例如，纤维在后肠发酵产生挥发性脂肪酸（VFA），包括乙酸、丙酸和丁酸。乙酸通过主动运输到达脂肪组织和骨骼肌，合成脂肪酸或氧化供能。丙酸进入肝脏，经糖异生作用以糖原形式贮存。丁酸是结肠上皮细胞的主要能量来源，具有促生长、促分化、提高免疫力的作用。在猪的维持能量需要中，这些短链脂肪酸的产能占比高达 25%^[11]。利用从猪肠道分离的细菌，已有学者研究了去壳大麦或燕麦、扁豆、菜籽加工副产品等替代原料的体外发酵参数^[12-14]，包括产气、产物和动力学特征。

2 饲料常规评定技术

2.1 湿化学分析

湿化学只能检测饲料总养分，而不能直接评价有效养分，如标准回肠消化率、代谢能或净能值。基于化学分析，Noblet 和 Prez^[15]预估了猪饲料的消化能值，准确度尚可（ $R^2=0.75$ ）。耗时长和危险化学品的使用、处置是制约湿化学日常应用的主要因素。

2.2 饲料营养价值表

很多国际机构如 NRC（美国国家研究委员会）、INRA（法国国家农业研究院）、CVB（荷兰）和 FEDNA（西班牙动物营养发展协会）都提供了饲料原料营养价值表^[16]，但这是汇总相关高校和科研院所的测试结果，经筛选、整理、归类和平均后给出的。其只具有普遍意义的代表性，用在某一具体的饲料原料上必然会有误差。实际上，多数营养学家和饲料企业在使用这些参考值时，都会根据经验进行修正。

2.3 预测方程

依据原料有效养分与其它营养素的正、负（强）相关关系，有学者建立了通过饲料基础成分推测猪消化能值（高精度， $R^2=0.97$ ）、禽氮校正表观代谢能值（ $AME_n = 39.78 \times CP + 69.68 \times EE + 35.4 \times NFE$ ）的回归方程^[15, 17]。化学分析的误差和拟合方程效应因子的取舍，可能影响评估结果的准确性。

2.4 动物试验

活体代谢模型是测定原料消化率最可靠的方法，其准确度取决于试验流程的规范性，如排泄物的收集、指示剂的选择等。现有饲料有效养分实测值的变异很大，拿小麦 AME_n 值来说，Wiseman^[18]、Garnsworthy 等^[19]和 Rafuse^[20]的报道范围分别为 2.03-2.97 Mcal/kg、1.84-3.32 Mcal/kg 和 3.01-3.34 Mcal/kg。本法在统筹安排方面受到不少限制，如成本高、耗时长、牵涉动物福利问题等。

3 饲料快速评价技术

3.1 体外消化

体外消化法是指模拟动物胃肠道酶环境，测定养分消化率。简言之，通过水浴和透析，饲料样本经适当粉碎后分 3 步进行消化。第 1 步，使用胃蛋白酶模拟胃消化；第 2 步，使用

胰酶模拟小肠消化；第 3 步，使用 NSP 酶（复合酶，包括纤维素酶、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶和果胶酶）模拟大肠消化。结合计算机技术，中国农业科学院北京畜牧兽医研究所研发了单胃动物程控仿生消化系统。本法可在短时间内筛查大量样本，对动物无侵害，成本相对较低。

在猪上，Boisen 和 Fernández^[21]检测了 31 种不同饲料原料的 90 个样本，发现有机质体外酶消化率与活体全肠道能量消化率具有良好的线性关系 ($R^2 = 0.94$, $RSD = 3.4$, $CV = 4.4$)。Regmi 等^[22]分析了 8 种饲料原料的单一样本，得到类似结果 ($R^2 = 0.97$)。对于原料的种内变异，谷物饲料的可预测性良好，菜籽粕和玉米 DDGS 较差。对于同种饲料原料的多个样本，相比概略养分 ($R^2 = 0.63$)，体外能量消化率是最好的单一预测因子 ($R^2 = 0.71$)。使用体外消化法预测的准确度 ($R^2 = 0.71$, $SE = 5.5$) 与使用概略养分 ($R^2 = 0.75$, $SE = 5.0$) 类似，不过，前者很难预测玉米 DDGS 的能量 ($R^2 = 0.29$) 和有机质消化率 ($R^2 = 0.63$)^[23]。在肉鸡上，谷物和土豆的体外淀粉消化率(只消化到第 2 步)与活体回肠消化率高度相关^[24]。在猪上，对于豌豆，两者呈线性关系 ($R^2 = 0.76$)^[25]；对于土豆淀粉和小麦麸(原样或挤压膨化)混合物，两者高度相关 ($r = 0.98$)^[26]。此外，猪对豌豆的氮消化率 ($r = 0.70$)、必需氨基酸消化率 ($r = 0.92$) 在体外和体内条件下高度正相关^[27]，但拿鸡对大豆粕 ($R^2 = 0.59$) 和菜籽粕 ($R^2 = 0.33$) 来说，两者相关性很低。Wang 等^[28]评价了菜籽粕、玉米 DDGS、大豆粕和小麸皮，发现体外能量消化率与活体全肠道表观能量消化率的相关性中等偏差(平均 $R^2 = 0.69$)，其中小麸皮最高 ($R^2 = 0.79$)，玉米 DDGS 最低 ($R^2 = 0.29$)。上述结果表明，要准确预测家禽能量消化率，每种饲料门类都应建立不同的体外消化方法。

本法能够利用的消化酶种类受限，有时不得不改用具有混合酶性质的并不稳定的胃液、小肠液冻干品^[29]。本法对环境条件的依赖性较强，温度和 pH 值要求可按最适酶活控制，但酶的动态补充、酶解产物的及时排出(吸收)、pH 值的渐变过程等，都无法模拟实现。由于模拟与实测间的差距，往往需要用对象动物的有效指标实测值校正模拟测值。而且，这也只限于评估消化层次的有效指标(如 DE、DCP、DAA)。

3.2 体外发酵

尽管饲料纤维不能被单胃动物内源酶消化，降低养分消化率^[30]，但是，它可能具有改善宿主动物肠道健康的重要作用^[31]。在动物大肠内，纤维被微生物酶分解，这在体外条件下可使用纯化的纤维降解酶或活菌制剂(取自猪盲肠、直肠、粪便或家禽盲肠内容物)模拟。作为微生物发酵的主要终产物，VFA 可用来预测大肠能量消化率^[32]。在这种情况下，宜使用纯化酶建模，并开展活体试验进行验证。基于猪粪分离菌和家禽盲肠内容物，有学者研究了体外发酵产物和微生物组成变化^[33-36]。体外发酵后，NSP ($r = 0.96$) 和有机质 ($r = 0.77$) 降解率与猪活体测定结果高度相关^[37-38]。在体内和体外条件下，去壳和带壳大麦、燕麦样本具有类似的发酵特征和代谢产物。因此，体外发酵模型可作为快速评价饲料原料功能特性的一个选择。不过，该法没有考虑代谢产物在大肠内生成和吸收的同步进行，故可能高估 VFA

的能量贡献。

3.3 近红外光谱 (NIRS)

毫无疑问, NIRS 是目前评价饲料营养价值最快速的方法。样品制备非常简单, 不需要任何前处理, 如稀释或衍生化 (如脂肪酸甲酯化)。有了定标方程, NIRS 在不到 1 分钟的时间内就能给出评估结果。当前 NIRS 设备较上世纪有了巨大进步, 如样品扫描光谱的转移兼容、定标软件的仪器间通用等^[39-40]。

3.3.1 定标

在定标建模时, NIRS 需要收集多种 (> 60) 差异较大的同名饲料的实测养分, 离不开其它评定方法的参与^[41-42]。随着技术进步和业务模式创新, 一些饲料原料和添加剂供应商推出了 NIRS 服务, 帮助客户测定有效能和可消化氨基酸, 如德国赢创 (Evonik) 工业集团、法国安迪苏、英国 AB Vista 及其附属公司 Aunir。客户在本土扫描饲料原料, 通过互联网把数据传给它们, 在数小时内收到结果。这种合作有利于降低定标成本, 使 NIRS 有更广阔的应用前景。

3.3.2 应用

国际标准化组织 (ISO)、美国官方分析化学师协会 (AOAC)、美国谷物化学师协会 (AACC) 制定了 NIRS 的使用规则, 建立了小麦、豆粕、谷物中水分、粗蛋白和油脂的 NIRS 分析方法。我国早在“七五”国家攻关项目协作中, 就在玉米、小麦、饼粕类、糠麸类等 20 多种饲料原料的代谢能 (鸡) 和消化能 (猪) 测定上取得了满意结果。我国于 2003 年发布的 GB/T18868-2002, 将 NIRS 方法用于饲料中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸以及蛋氨酸的测定。

使用 NIRS 可以预测养分的消化率, 例如粗蛋白和能量^[43-45]。不同饲料原料的蛋白质浓度已用 NIRS 准确测量, 包括全粒玉米、小麦和狼尾草。使用 NIRS 预测食用油脂脂肪酸 (饱和/不饱和) 含量的准确度非常高 ($R^2 = 0.99$)。当使用 NIRS 预测猪对大麦的消化能值时, 交叉验证的标准误很小, 仅为 57 Kcal/kg。可是, 使用 NIRS 预测肉鸡 AME 的准确度不高 ($R^2 = 0.52$)。

4 小 结

体外消化模型预测谷物全肠道表观消化率具有较高的准确度, 但不适合预测农工副产品。随着技术进步, 定标方程完善, NIRS 成为眼下饲料工业最实用的快速评定工具, 但它依赖于湿化学分析、预测方程、体内实测值和体外估测值。总之, 现有饲料营养价值评价方法各有利弊, 互有关联, 很难建立适用于所有条件的单一技术。

参考文献:

[1] WOYENGO T A, JHA R, BELTRANENA E, et al. Nutrient digestibility of lentil and regular-and low-oligosaccharide, micronized full-fat soybean fed to grower pigs [J]. Journal of Animal Science, 2014, 92:229-237.

- [2] JHA R, OVEREND D N, SIMMINS P H, et al. D. Chemical characteristics, feed processing quality, voluntary feed intake, growth performance, and energy digestibility among wheat classes fed in pelleted diets fed to weaned pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 170:78-90.
- [3] JHR R, BINDELLE J, ROSSNAGEL B, et al. In vitro evaluation of the fermentation characteristics of the carbohydrate fractions of hull-less barley and other cereals in the gastrointestinal tract of pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 163:185-193.
- [4] TIWARI U P, JHA R. Nutrient profile and digestibility of tubers and agro-industrial coproducts determined using an in vitro model of swine [J]. *Animal Nutrition*, 2016, 2(4):357-360.
- [5] HERNOT D C, BOILEAU T W, BAUER L L, et al. In vitro digestion characteristics of unprocessed and processed whole grains and their components [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56:10721-10726.
- [6] STEIN H H, SEVE B, FULLER M F, et al. Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application [J]. *Journal of Animal Science*, 2007, 85(1):172-180.
- [7] ADEDOKUN S A, ADEOLA O, PARSONS C M, et al. Factors affecting endogenous amino acid flow in chickens and the need for consistency in methodology [J]. *Poultry Science*, 2011, 90(8):1737-1748.
- [8] DONKOH A, MOUGHAN P J. Endogenous ileal nitrogen and amino acid flows in the growing pig receiving a protein-free diet and diets containing enzymically hydrolyzed casein or graded levels of meat and bone meal [J]. *Animal Science*, 1999, 68(3):511-518.
- [9] BIRKETT S, LANGE K D. Limitations of conventional models and a conceptual framework for a nutrient flow representation of energy utilization by animals [J]. *British Journal of Nutrition*, 2001, 86(6):647-659.
- [10] SARMIENTO-FRANCO L, MACLEOD M G, MCNAB J M. True metabolisable energy, heat increment and net energy values of two high fibre foodstuffs in cockerels [J]. *British Poultry Science*, 2000, 41:625-629.
- [11] YEN J T, NIENABER J A, HILL D A, et al. Potential contribution of absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious swine [J]. *Journal of Animal Science*, 1991, 69:2001-2012.
- [12] WILLIAMS B A, BOSCH M W, Boer H, et al. An in vitro batch culture method to assess potential fermentability of feed ingredients for monogastric diets [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 123-124:445-462.
- [13] JHA R, BINDELLE J, VAN KESSEL A, et al. In vitro fibre fermentation of feed ingredients

with varying fermentable carbohydrate and protein levels and protein synthesis by colonic bacteria isolated from pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 165:191-200.

[14] WOYENGO T A, JHA R, BELTRANENA E, et al. In vitro digestion and fermentation characteristics of canola co-products simulate their digestion in the pig intestine [J]. *Animal*, 2015, 10:911-918.

[15] NOBLET J, PEREZ J M. Prediction of digestibility of nutrients and energy values of pig diets from chemical analysis [J]. *Journal of Animal Science*, 1993, 71:3389-3398.

[16] MATEOS G G, FONDEVILA G, MATEOS G G, et al. Main factors affecting the nutritive value of poultry ingredients: cereals and soybean meal [C]. *Proceedings of the 25th World's Poultry Congress* (Sept 5-9, 2016), Beijing, China, pp. 30-36, 2016.

[17] NOBLET J, FORTUNE H, SHI X S, et al. Prediction of net energy value of feeds for growing pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 1994, 72:344-354.

[18] WISEMAN J. Correlation between physical measurements and dietary energy values of wheat for poultry and pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2000, 84:1-11.

[19] GARNSWORTHY P C, WISEMAN J, FEGEROS K. Prediction of chemical, nutritive and agronomic characteristics of wheat by near infrared spectroscopy [J]. *Journal of Agricultural Science*, 2000, 135:409-417.

[20] RAFUSE J L, SILVERSIDES F G, BEDFORD M R, et al. Effect of cultivar and enzyme supplementation on nutrient availability and performance of broilers fed Maritime Canadian wheat [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2005, 85:493-499.

[21] BOISEN S, FERNÁNDEZ J A. Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by in vitro analyses [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1997, 68:277-286.

[22] REGMI P R, SAUER W C, ZIJLSTRA R T. Prediction of in vivo apparent total tract energy digestibility of barley in grower pigs using an in vitro digestibility technique [J]. *Journal of Animal Science*, 2008, 86:2619-2626.

[23] ANDERSON P. Energy determination of corn co-products in finishing pigs and the use of an in vitro organic matter digestibility assay to predict in vivo energy [D]. *MSc Dissertation*, Iowa State University, Ames, IA, USA, 2009.

[24] WEURDING R E, VELDMAN A, VEEN W A G, et al. In vitro starch digestion correlates well with rate and extent of starch digestion in broiler chickens [J]. *Journal of Nutrition*, 2001, 131:2336-2342.

[25] MONTROYA C A, LETERME P. Effect of particle size on the digestible energy content of field pea (*Pisum sativum* L.) in growing pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011,

169:113-120.

[26] SUN T, LAERKE H N, JORGENSEN H, et al. The effect of extrusion cooking of different starch sources on the in vitro and in vivo digestibility in growing pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 131:66-85.

[27] MONTROYA C A, LETERME P. Validation of an in vitro technique for determining ileal starch digestion of field peas (*Pisum sativum*) in pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 177:259-265.

[28] WANG L. Mid-infrared spectroscopy estimates nutrient digestibility in pigs to improve in vitro digestion models [D]. PhD Dissertation. University of Alberta, Edmonton, AB, Canada, 2014.

[29] REGMI P R, FERGUSON N S, ZIJLSTRA R T. In vitro digestibility techniques to predict apparent total tract energy digestibility of wheat in grower pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2009, 87:3620-3629.

[30] JHA R, ROSSNAGEL B, PIEPER R, et al. Barley and oat cultivars with diverse carbohydrate composition alter ileal and total tract nutrient digestibility and fermentation metabolites in weaned piglets [J]. *Animal*, 2010, 4:724-731.

[31] JHA R, BERROCOSO J D. Review: Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine [J]. *Animal*, 2015, 9:1441-452.

[32] MCBURNEY M I, SAUER W C. Fiber and large bowel energy absorption: validation of the integrated ileostomy-fermentation model using pigs [J]. *Journal of Nutrition*, 1993, 123:721-727.

[33] JHA R, OWUSU-ASIEDU A, SIMMINS P H, et al. Degradation and fermentation characteristics of wheat coproducts from flour milling in the pig intestine studied in vitro [J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90:173-175.

[34] GUO F C, WILLIAMS B A, KWAKKEL R P, et al. In vitro fermentation characteristics of two mushroom species, an herb, and their polysaccharide fractions, using chicken cecal contents as inoculum [J]. *Poultry Science*, 2003, 82:1608-1615.

[35] DUNKLEY K D, DUNKLEY C S, NJONGMETA N L, et al. Comparison of in vitro fermentation and molecular microbial profiles of high fiber feed substrates incubated with chicken cecal inocula [J]. *Poultry Science*, 2007, 86: 801-810.

[36] MALABAD C, BALAGSO K, HAYGOOD A, et al. Effects of in vitro fermentation of alternative feedstuffs on intestinal microbiota of chicken analyzed using 16S ribosomal DNA typing [C]. *Proceedings of the Annual CTAHR/COE Student Research Symposium*, Honolulu, HI, USA, 2016.

[37] ANGUITA M, CANIBE N, PEREZ J F, et al. Influence of the amount of dietary fiber on the

available energy from hindgut fermentation in growing pigs: use of cannulated pigs and in vitro fermentation [J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84:2766-2778.

[38] CHRISTENSEN D N, BACH KNUDSEN K E, WOLSTRUP J, et al. Integration of ileum cannulated pigs and in vitro fermentation to quantify the effect of diet composition on the amount of short-chain fatty acids available from fermentation in the large intestine [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79: 755-762.

[39] DETHOMAS F A, BRIMMER P J. 2002. Monochromators for near-infrared spectroscopy. In: J. M. Chalmers and P. R. Griffiths, editors, *Handbook of Vibrational Theory* Vol. 1. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK. 383-392.

[40] VALDES E V, LEESON S. Near infrared reflectance analysis as a method to measure metabolizable energy in complete poultry feeds [J]. *Poultry Science*, 1992, 71:1179-1187.

[41] FERNANDEZ-AHUMADA E, GARRIDO-VARO A, GUERRERO J E, et al. Taking NIR calibrations of feed compounds from the laboratory to the process: Calibration transfer between pre-dispersive and post-dispersive instruments [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56:10135-10141.

[42] WANG L F, SWIFT M L, ZIJLSTRA R T. A non-calibration spectroscopic method to estimate ether extract and fatty acid digestibility of feed and its validation with flaxseed and field pea in pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2014, 92:4531-4539.

[43] ZIJLSTRA R T, SWIFT M L, WANG L F, et al. Near infrared reflectance spectroscopy accurately predicts the digestible energy content of barley for pigs [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2011, 91:301-304.

[44] JIANG H Y, Zhu Y J, Wei L M, et al. Analysis of protein, starch and oil content of single intact kernels by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Plant Breeding*, 2007, 126:492-497.

[45] TIWARI U P, TURANO B, JHA R. Nutritional characteristics and in vitro digestibility by near-infrared spectroscopy of local and hybrid napiergrass varieties grown in rain-fed and irrigated conditions [J]. *Animal Production Science*, 2014, 54:1775-1778.

Rapid Feed Evaluation Methods: Scope and Limitations

ZHAO Jingpeng LIN Hai*

(Shandong Key Laboratory for Animal Biotechnology and Disease Control, Department of Animal Science, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: In vivo studies are considered the best method to get nutritional value of any feedstuff. However, using an animal model for routine evaluation is not practical due to logistical limitations, such as costs and time involved and ethical concerns. Using large amounts of data from wet chemistry and after validation with in vivo studies, predictive models can be set up with regression equation, in vitro digestion and near infrared spectroscopy (NIRS) to achieve rapid feed evaluation that is reliable and logistically practical. The in vitro methods to determine the nutritional value and digestibility have been found to be better especially for cereal grains, but the accuracy is poor for the coproducts. At present, NIRS is the best and most promising rapid feed evaluation technique available for routine use. However, prediction of NIRS is based on data from wet chemistry, in vivo and in vitro studies. Thus, there is no single technique which can be referred independently as the best method that can be applied in all conditions.

Key words: feed nutritive value; rapid feed evaluation; in vitro digestion; near infrared spectroscopy

*Corresponding author, LIN Hai, professor, E-mail: hailin@sdau.edu.cn

肉鸭与蛋鸭营养需要研究进展

Ahmed Mohamed Fouad^{1,2} 阮 栋¹ 王 爽¹ 陈 伟¹ 夏伟光¹ 张亚男¹ 罗 茜¹ 郑春田^{1*}

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广州 510640, 中国; 2. 开罗大学农学院, 动物生产系, 吉萨 12613, 埃及)

摘 要: 消费者对鸭肉、鸭蛋和相关产品的需求逐年增加。为了满足消费者的需求和提高水禽行业的受益, 养殖者们采用了经典和现代的选育方案来提高鸭的经济性状。然而, 未被选育的肉鸭和蛋鸭的营养需求可能不足以满足现代其生产潜能。因此, 饲料不均衡可导致生产性能低下, 同时由于营养缺乏或过剩所导致的粪便等问题间接影响了鸭的健康和福利。本文归纳了前人在肉鸭和蛋鸭方面开展的营养需求研究, 并在此基础上提出需要解决的进一步问题。此外, 通过比较前人研究结果, 本文提出如何降低商业饲料成本, 发挥鸭的遗传潜力, 保护环境, 满足鸭的福利和健康需求的方法。

关键词: 肉鸭; 蛋鸭; 营养需要

中图分类号: 文献标识码: 文章编号:

近半个世纪以来, 全球的肉鸭和蛋鸭年饲养量持续增加。亚洲是全球最大的肉鸭和蛋鸭生产区^[1], 其中, 中国是其主要的生产地^[2]。育种改良技术已培育出高生产性能的肉鸭品种, 如驰名中外的北京鸭, 其改良型品系产肉率高、胴体脂肪沉积率低, 6 周龄活体重显著高于未改良型北京鸭品系 11 周龄的活体重 (3.2kg VS 1.7kg)^[1,3,4]。龙岩山麻鸭由于具有体型适中 (1.2-1.3kg), 开产早 (110 日龄), 产蛋量高 (>280 枚/年), 饲养量大 (>3 亿只), 高温环境适应性和抗病能力强等优点^[2,5,6], 因此成为较多蛋鸭研究的主要对象。然而, 美国 NRC (1994)^[7]推荐的肉鸭营养需要量来源于 40 年前的研究数据或其它品种, 且美国 NRC(1994)^[7]未推荐蛋鸭营养需要量。因此, 本文针对目前最新的肉鸭和蛋鸭营养需要量研究进行综述, 旨在为鸭生产和饲料配制提供数据参考。

1 能量和蛋白

能量和蛋白质是配制饲料首要考虑的营养因素, 也是饲料组成中价格最为昂贵的部分, 对肉用和蛋用型家禽的生产性能和繁殖性能均具有重要影响^[8]。Fan 等^[9]研究发现, 饲料表观代谢能水平为 2.6-3.1Mcal/kg 显著改善了 2-6 周龄北京鸭生产性能, 显著增加了北京鸭的体脂沉积并对其胴体品质产生负面影响; 以生长性能为评价指标, 推荐在饲料蛋白质水平为

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-42-13), 国家重点研发项目(2018YFD0501504)

作者简介: Ahmed Mohamed Fouad (1983—), 男, 埃及开罗人, 博士, 助理教授, 从事家禽营养研究。E-mail: ahmedmfouad2000@yahoo.com.

通讯作者: 郑春田 (1972—), 男, 安徽滁州人, 博士, 研究员, 主要从事动物营养研究。E-mail: zhengcht@163.com.

18%条件下 2-6 周龄北京鸭适宜的饲料表观代谢能为 3.0 Mcal/kg。Xie 等^[10]研究表明,在饲料蛋白质水平为 20.5%和表观代谢能水平为 2.45-3.05 Mcal/kg 的条件下,1-3 周龄北京鸭公鸭获得最佳生长性能和胴体品质的饲料表观代谢能水平为 2.9Mcal/kg。Wickramasuriya 等^[11]研究发现,在饲喂出壳-21 日龄韩国地方品种鸭蛋白质水平为 18%、表观代谢能水平为 2.6-3.3 Mcal/kg 的饲料中,获得最高生产性能和胴体重的表观代谢能为 2.9Mcal/kg。饲料代谢能和蛋白质适宜需要的研究多见于肉鸭,在蛋鸭上鲜有报道。Thongwittaya 等^[12]研究了饲料代谢能和蛋白质水平对蛋鸭(咔叽-康贝尔鸭×泰国本地鸭)生产性能的影响,并推荐 18-37 周龄蛋鸭适宜表观代谢能和蛋白质水平分别为 2.7 Mcal/kg 和 16.5%。本团队研究发现,表观代谢能水平为 2.5Mcal/kg、蛋白质水平为 17%即可满足蛋鸭产蛋期能量和蛋白质需要^[13]。绍兴鸭中研究发现,饲料代谢能水平增加显著提高了肝脏中甘油三酯的含量($P<0.05$)。随饲料粗蛋白质水平升高,肝脏中脂肪含量有降低的趋势($P=0.08$)。由此可见,在本试验中,饲料代谢能水平为 2.7Mcal/kg、粗蛋白质水平为 18%时,绍兴鸭的生产性能达到最佳^[14]。

2 氨基酸

氨基酸对家禽的生长、免疫和肉质及蛋品质具有重要的影响^[8,15]。蛋氨酸(Met)是家禽第一限制性氨基酸。谢明研究了 3-7 周龄北京鸭蛋氨酸需要量,发现北京鸭需 0.337%Met 来获得最高的日增重,但根据产肉性能则需要 Met 水平为 0.339%^[16]。Elkin 等报道^[17],北京鸭前 2 周内需要 0.338%Met 来满足最佳体增重。谢明^[18]发现,在北京鸭前三周饲料中含有 0.481%Met 能获得最佳生长性能。Zeng 等^[19]发现,3-4 周龄北京鸭需要 0.510、0.445 和 0.404%Met 来满足最佳日增重、胸肌重及羽毛发育,但对于 15-35 日龄鸭而言,分别需要 0.468、0.408、0.484%Met 可满足最佳体增重、胸肌重和最佳羽毛发育。此外,60-66 周龄绍兴鸭需要 0.40%蛋氨酸来满足最佳产蛋率、平均蛋重和饲料转化率等生产性能^[20]。Fouad^[21]发现,19-47 周龄龙岩麻鸭在饲喂含有 0.41%蛋氨酸时蛋重、日产蛋重、FCR 等生产性能最佳。

赖氨酸(Lys)是家禽第二限制性氨基酸。Bones 等^[22]发现,前三周北京鸭饲料中需 1.06%Lys 获得最大体重,4-7 周龄需要 1.02%Lys 获得最佳体重、屠体重和胸肌重。谢明等^[23]发现,7-21 日龄雄性北京鸭分别需要 0.84、0.90 和 0.98%赖氨酸来获得最佳体重、饲料转化率和胸肌重。需满足 1-21 日龄雄性韩国本地鸭最佳体重和饲料转化率的饲料赖氨酸水平分别为 0.71 和 1.01%^[24]。本团队推荐饲料中赖氨酸水平为 0.8%时可满足 22-38 周龄龙岩鸭产蛋率、平均蛋重、日产蛋重和饲料转化率等产蛋性能和蛋壳质量^[25]。

苏氨酸(Thr)是家禽第三限制性氨基酸。Zhang 等^[26]研究了 1-14 日龄北京鸭 Thr 需要量并发现,0.86、0.92、0.95%Thr 能分别获得最高体重、最优饲料转化效率和最大胸肌重。Xie 等^[27]推荐 1-21 日龄北京鸭饲料中需 0.67%Thr 可满足最大体增重。Zhang 等^[28]建议 14-35 日龄北京鸭饲料中含有 0.75、0.74 和 0.73%Thr 能分别满足标准的体增重、FCR 和胸肌重。满足 14-45 周龄龙岩鸭产蛋期最大化产蛋率、日产蛋重、饲料转化率则需要 0.57%Thr^[29]。

精氨酸(Arg)虽未纳入限制性氨基酸,但是家禽的必需氨基酸,其原因是家禽自身不

能合成精氨酸。精氨酸在不同生理条件下可合成其他重要代谢物，如一氧化氮、肌酸、鸟氨酸、谷氨酸、多胺、脯氨酸、谷氨酰胺和胍基丁胺等^[30]。Wang 等^[31]发现，在出壳到 21 日龄雄性北京鸭中，需 0.95、1.16 和 0.99%Arg 来分别满足最佳体增重、FCR、和胸肌重。本团队研究发现，17-31 周龄龙岩鸭中需要 1.46%Arg 来达到最佳蛋重和蛋壳质量^[32]。

3 矿物元素

钙是蛋禽重要的矿物元素，以碳酸钙的形式构成蛋壳（96%），与磷形成羟基磷灰石参与骨的形成（60%-70%）^[33,34]。因此，饲料钙、磷、维生素 D 的缺乏，其比例的不平衡将影响家禽生产。研究表明，蛋鸭饲料中钙缺乏会降低产蛋率、蛋重、蛋壳厚度和强度，降低蛋壳钙含量，这主要是由于钙不足降低了蛋壳形成过程中与钙转运相关基因的 mRNA 水平，降低了血浆和蛋壳腺内钙的含量^[35,36]。在北京鸭和骡鸭的研究表明，饲料钙缺乏可引起佝偻病，并降低生长速率和饲料转化率，死亡率增加^[37,38]。龙岩麻鸭试验结果表明，饲料钙水平为 3.6%，磷水平 0.40%时，可满足产蛋期（20-33 周龄）蛋鸭的正常生产，同时骨骼生长也达到最佳^[39]。北京鸭育雏期（0-3 周龄）以平均日增重和饲料转化率为评价指标，饲料钙和有效磷的含量分别为 0.806%钙、0.403%磷和 0.796%钙、0.379%磷^[40]，生长期（3-6 周龄）达到最佳日增重，钙和有效磷的水平分别为 0.72%和 0.37%^[41]。本团队研究了不同钙源（石粉 vs 贝壳粉）和粒度（< 0.1mm vs 1.18~2 mm）在蛋鸭生产中的应用，并发现，大粒钙显著提高了蛋鸭的蛋重和饲料转化率，提高了蛋壳强度、哈氏单位；与贝壳粉相比，石粉显著提高了蛋清重、胫骨强度和蛋壳钙和磷的含量；同时，大粒石粉组蛋壳横断面较为坚实，平滑，整体结构致密，乳突单元排列紧密，各乳突连接较好，而小粒石粉组蛋壳整体致密性不及大粒石粉组，乳突层与纤维层联系越松散^[42]。蛋鸭生产中，推荐应用大粒石粉可获得较佳生产新能。

铜在机体内不仅发挥促生长和抗菌作用，也是多种酶的辅助因子，如细胞色素氧化酶、赖氨酸氧化酶、酪氨酸酶、植酸二苯丙酮酸水解酶、多巴胺羟化酶，和铜锌超氧化物歧化酶等^[43]。饲料铜缺乏可导致动物生长缓慢、骨骼异常、羽毛褪色、贫血、高甘油三酯血症、高胆固醇血症等^[43]。产蛋鸡中发现，随饲料铜水平的增加，蛋鸡生产性能和蛋品质提高，而软破蛋率下降，并提高血液中高密度脂蛋白的含量；同时，提高饲料铜水平能降低血浆胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白的含量^[44-47]。此外，肉鸡饲料中添加铜，可提高肉鸡的生长性能、胸肌产量和肉品质，降低死亡率，改善机体的免疫性能，并增加肠道有益菌群（乳酸菌和双歧杆菌），降低有害菌群（大肠杆菌）的丰度^[48,49]。在北京鸭公雏的研究表明，饲料铜水平为 7 mg/kg，可提高肉鸭的生长性能（出壳-56 日龄）^[50]。饲料铜水平为 5 mg/kg，山麻蛋鸭在产蛋期（17-45 周龄）可发挥最大的遗传潜力^[51]。为减少鸭肉和鸭蛋中胆固醇的含量，饲料铜水平比正常生产需要量要高。因此，饲料铜水平增加至 157 mg/kg，可降低肉鸭胆固醇的含量^[50]。然而，饲料铜水平超过 120 mg/kg，将导致家禽的脾、肝脏、肠道等组织形态异常^[52]。

锌是多种酶的辅助因子,如铜锌超氧化物歧化酶(与氧化还原反应有关),碳酸酐酶(与在蛋壳形成过程中提供碳酸氢根有关)和碱性磷酸酶(与骨骼结构和钙化有关)等。锌还可参与机体脂质和蛋白质代谢,调节机体激素水平^[53-56]。因此,饲料锌不足会降低家禽的产蛋率和孵化性能,抑制胚胎的生长发育和羽毛生长,以及免疫器官的发育和增殖,还会提高家禽腿病发生率和死亡率,导致氧化损伤^[57-61]。研究表明,饲料中添加锌可通过提高碳酸酐酶的活性而改善后期产蛋鸡的蛋壳品质^[60],提高机体免疫反应(体液和细胞免疫),抵抗疾病^[62,63],提高骨骼钙磷含量,增强胫骨强度^[64],还可通过调节蛋白合成代谢提高肉鸡的生长性能、胴体品质和胸肉产量^[55],改善肉品质,改善肉的颜色、系水力、剪切力和风味^[56]。饲料添加锌还可提高肉种鸭的产蛋量和蛋重,提高种鸭的受精率和孵化率,改善机体的抗氧化状态^[60]。为达到肉鸭(1-56日龄)的最佳日增重,饲料锌添加量至少为 30 mg/kg;为降低脂肪沉积和改善肉品质,饲料锌添加量至少为 120 mg/kg^[65]。本团队研究了不同饲料锌添加水平(15-90 mg/kg)对龙岩山麻鸭影响,发现,随锌水平的增加,蛋鸭的产蛋性能和蛋品质无显著变化,但血浆 T-SOD 和 GSH-Px 的含量和肝脏中 CuZn-SOD 和 GSH-Px 的基因表达均呈二次变化。综合产蛋性能和抗氧化状态,推荐产蛋鸭饲料锌添加水平为 30 mg/kg^[66]。

锰是家禽生产中的必需微量元素,在骨骼生长和蛋壳形成过程中发挥重要作用,参与碳水化合物和脂质代谢^[67]。锰是多种酶的辅助因子,如水解酶、转移酶、激酶、脂肪酶、超氧化物歧化酶等^[68,69]。此外,锰还是维持家禽内分泌系统^[70,71]、免疫系统^[72]、氧化还原系统^[73]、骨骼生长^[74]、蛋壳结构和强度^[75]的必需元素,可提高孵化率,减少胚胎死亡率^[76],还可调控机体脂肪的沉积,改善肉品质^[8]。饲料锰不足会导致不同类型的脱腱病,抑制骨骼生长,降低产蛋量,增加破蛋率^[77,78]。本团队前期研究表明,饲料锰添加水平(0-90 mg/kg)对蛋鸭的产蛋性能和蛋品质无显著影响,但可提高血浆 T-SOD 和 Mn-SOD 活性,因此,饲料中添加 30 mg/kg 锰即可满足蛋鸭的正常生产,但为使蛋鸭的抗氧化系统达到最佳状态,龙岩山麻鸭(17-36 周龄)饲料锰水平为 90 mg/kg^[79]。

铁是形成血红蛋白的必需微量元素,也是多种酶的激活因子,如琥珀酸脱氢酶,过氧化氢酶和细胞色素 c 氧化酶等^[80]。饲料铁不足会抑制肉鸡的生长,降低采食量和饲料转化率,增加死亡率^[81]。铁不足可降低肉种鸡和种鹌鹑的产蛋率、蛋重和受精率^[82,83]。饲料添加铁可提高肉鸡的生长速度和抗氧化酶的活性,提高胸腺重量和细胞免疫反应^[84,85]。龙岩山麻鸭的研究表明,使蛋鸭的生产性能、蛋黄颜色、血红蛋白和红细胞压积达到最佳,饲料铁水平分别需 52.2、97.2 和 127.2 mg/kg^[86]。

硒是谷胱甘肽过氧化物酶的组成部分,也是形成甲状腺氨酸脱碘酶的必需元素,甲状腺氨酸脱碘酶可在甲状腺合成活性激素三碘甲状腺素(T₃)^[87]。饲料硒不足会抑制脾、胸腺等组织器官的发育^[88-90],导致肝脏、肾脏和胰腺的氧化损伤^[91-93],降低产蛋率、蛋重和孵化率^[94],影响增重和羽毛生长^[95]。饲料中添加硒可提高产蛋率、蛋重和抗氧化能力^[96,97],并能改善肉品质,促进羽毛生长^[98]和免疫系统改善^[99],提高精液质量(增加优势精子,降低

死亡和不正常精子的数量)、受精率和孵化率^[100]。饲料硒水平为 0.4 mg/kg, 可提高樱桃谷肉鸭(1-49 日龄)的生长速度^[101]。龙岩山麻鸭的研究表明, 产蛋初期和高峰期硒水平分别为 0.18 和 0.24 mg/kg, 可满足正常的生产性能需要, 但为改善机体的氧化还原状态, 硒水平需达到 0.38 mg/kg^[102]。此外, 为抵抗氧化应激, 北京鸭(孵化-3 周龄)饲料硒水平需为 0.236 mg/kg^[103]。

4 水溶性维生素

胆碱是家禽生产中重要的维生素, 在调节脂质代谢和肝脏功能等方面发挥着重要作用^[104]。饲喂胆碱缺乏饲料影响家禽生长并诱发脂肪肝综合征和骨短粗病等^[105-107]。Lein 和 Jan^[108]在饲料中补充胆碱发现, 产蛋高峰期饲料添加 2136 mg/kg 胆碱能显著改善产蛋率, 并降低肝脏脂肪沉积。然而, Ma 等^[109]研究发现在绍兴鸭产蛋高峰期补充胆碱 20 周并没有改善产蛋率, 但分别添加 500 和 750 mg/kg 胆碱, 降低了肝脏脂肪沉积和鸭蛋胆固醇含量。在肉用型鸭(白北京鸭)^[106,107]的研究发现, 饲料中添加 778、810 和 1182 mg/kg 胆碱能增强磷脂合成, 提高生长速度; 而饲料中添加 779 和 980 mg/kg 胆碱则提高磷脂生成, 并使 21-42 日龄的平均日增重最大化。

核黄素(维生素 B2)作为内源性抗氧化剂, 能保护细胞免受氧化损伤^[110], 是完成谷胱甘肽氧化还原循环和产生还原型谷胱甘肽的必需维生素。在肉禽中, 核黄素缺乏可导致生长迟缓、腿部病变、抗氧化防御系统不平衡, 最终造成胴体率下降、肉品质低、死亡率高等症状^[111-115]。同时在蛋禽研究方面, 核黄素缺乏降低产蛋率、蛋重和孵化率^[116,117]。Tang 等^[113]在 1-21 日龄北京鸭的研究中, 在玉米-玉米蛋白粉基础饲料中添加 3.31 和 5.2 mg/kg 核黄素, 雄性北京鸭可以分别获得最佳日增重和饲料转化效率(FCR)等生产性能, 雌性北京鸭则在核黄素添加量为 3.27 和 3.33 mg/kg 时效果最好。此外, 玉米豆粕型基础饲料中, 添加 3.01 和 2.79mg/kg 核黄素, 0-21 日龄北京鸭达到最佳体重增加和 FCR^[114]。动物生长年龄影响核黄素的需要量, Tan 等^[115]研究表明, 饲料中添加 2.43 和 2.31mg/kg 核黄素, 15-35 日龄雄性北京鸭获得最佳体增重和 FCR。王爽等^[118]对 22-34 周龄龙岩麻鸭的研究报道, 1.32mg/kg 核黄素可以获得较好的产蛋率、蛋重和 FCR。

生物素是一种辅酶, 在碳水化合物, 蛋白质和脂质代谢中起着重要作用^[119]。饲料生物素缺乏可导致脂肪肝和肾综合征, 并引起孵化率低, 生长速度慢, 以及禽类足垫皮炎的发生率增加等^[117-122]。研究发现, 将生物素注入受精卵, 或通过饮水或补饲生物素都可以提高产蛋量, 生育能力, 孵化率和体增重^[120-123]。Zhu 等^[122]研究报道, 饲料中添加 0.18 mg/kg 生物素, 4 周龄雄性北京鸭获得良好生产性能, 添加 0.21 mg/kg 生物素显著降低脚垫皮炎的发生。

叶酸是维持肉鸡正常生长速度和 FCR 以及蛋禽获得更好的蛋重和更高的孵化率^[127,128]所必需的。饲料添加 4 mg/kg 叶酸, 可以改善 24 周龄蛋鸡的蛋重和日产蛋重^[129]。补饲叶酸可以缓解热应激引起的氧化应激, 提高鹌鹑的生产性能和胴体产量^[130]。提高蛋鸡饲料中叶酸水平, 能增加蛋叶酸沉积, 这对于预防人体内的许多疾病至关重要^[131]。Liu 等^[129]研究表

明叶酸在肉鸡的胚胎发育中起重要作用。此外, Li 等^[133]研究发现, 在受精卵内补充 150 μ g 叶酸可显著提高肉鸡的孵化率, 提高生长性能, 增加抗体产生 (IgG 和 IgM) 以及细胞因子 (IL-2 和 IL-4) 的分泌。夏伟光等^[134]对山麻鸭的研究表明, 玉米豆粕型饲料不添加叶酸也可满足 18-32 周龄蛋鸭生产性能的需要, 但饲料中添加 1.0mg/kg 叶酸可以显著改善蛋壳质量。

吡哆醇 (维生素 B6) 缺乏会导致饲料消耗及分解代谢受到抑制, 并阻碍器官 (冠、垂肉、卵巢和静脉) 的生长, 从而导致产蛋量, 蛋重, 生育力和孵化率下降, 以及禽类后代的羽毛生长受损等^[135,136]。在肉鸡的研究中, 吡哆醇缺乏将导致高死亡率, 日增重偏低, 低抗体产生和骨结构的改变, 从而导致鸡群中腿部问题的发生增加^[137,138]。将吡哆醇注入火鸡的受精蛋中可提高其孵化率^[139]。蛋鸡饲料补充 8.0mg/kg 吡哆醇能提高产蛋量, 改善 FCR^[140]。此外, 0-4 周龄北京鸭饲料中添加 2.44mg/kg 吡哆醇可以显著改善生长性能^[141]。

烟酸是辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸生物合成所需的前体, 在代谢中起着十分重要的作用^[142]。烟酸缺乏可引起肉禽生长速度降低、羽毛生长减慢、腿部问题的发生率增加等问题^[143,144], 并造成蛋禽蛋壳质量差, 产蛋量低, 孵化率下降等负面影响^[145]。玉米-豆粕型饲料中添加 60mg/kg 烟酸, 可改善肉鸡的增重, 料肉比和肉质^[146]。研究报道, 提高饲料烟酸水平可显著改善产蛋鸡的产蛋量, FCR 和蛋壳质量^[147]。在雄性北京鸭的研究中, Xie 等^[148]在北京鸭中研究发现, 对 0-21 日龄北京鸭饲喂含有 40mg/kg 烟酸的试验饲料, 能达到理想生长性能, 并降低了弓腿畸形的发生率。王爽等^[149]研究发现, 饲料中添加 90mg/kg 烟酸可显著提高龙岩麻鸭产蛋初期蛋壳厚度。

硫胺素作为辅助酶, 参与丙酮酸和 α -酮戊二酸的氧化脱羧, 从而促进乙酰辅酶 A (CoA) 和琥珀酰辅酶 A 的产生, 参与碳水化合物、蛋白质和脂质的代谢^[119]。饲喂硫胺素缺乏的饲料将导致家禽食欲下降, 生长缓慢, 胴体产量和孵化率降低, 以及碳水化合物代谢受损及高死亡率等^[150-153]。此实验室之前的一项研究表明, 提供含有 1.55 mg/kg 硫胺素的试验饲料, 可以最大限度地提高 22-42 周龄的龙岩麻鸭的产蛋性能(实验室未发表的数据)。

5 脂溶性维生素

维生素 A (又称视黄醇) 对胚胎发育、生长及繁殖和免疫系统功能起着重要的作用。蛋禽缺乏维生素 A, 不仅会引起其胚胎神经系统缺陷, 影响胚胎发育, VA 缺乏并能影响产蛋率和孵化率并降低抗体生成^[154-157]。Yuan 等^[158-160]研究表明, 适当的 VA 日粮能够提高肉鸡和肉种鸡的抗体生成率, 产蛋率, 蛋品质和孵化率。魏立民等^[161]研究发现含有 2500 IU/kg 维生素 A 的饲料能够提高孵化-21 日龄樱桃谷肉鸭生产性能。王爽等^[162]发现玉米豆粕型饲料中所含有的 VA 能够满足 20-36 周龄龙岩蛋鸭生产性能和蛋品质需要, 但额外添加 400IU 的维生素 A 能够提高机体抗氧化能力。

维生素 D 和它的活性形式 (麦角钙化醇和胆钙化醇) 能够通过影响钙磷代谢影响骨骼发育和蛋壳质量, 此外, VD 还有诸多其他生物学功能。Stadelman 等^[163]报道, 维生素 D 缺

乏会降低种禽的孵化率和后代的生长速率。Aslam 等^[164]研究发现缺乏维生素 D 导致免疫器官生长发育迟缓，巨噬细胞数量减少和其吞噬作用减弱。补充维生素 D 或者其活性形式能够提高生产性能，胸肌率，肉品质（通过增加皮肤和肌肉色泽，多汁性和嫩度）^[165-167]，并能提高免疫系统防御能力^[168,169]，提高产蛋率，蛋重和孵化率等性能^[170]。王爽等^[171]研究表明，饲料中含有 1000IU/kg 的维生素 D 能够满足 2 周龄樱桃谷鸭的需要。产蛋鸭中发现，从提高免疫器官相对重量和抑制脂质过氧化方面考虑，含有 550IU/kg 维生素 D 的饲料能够满足孵化期到 4 周龄的金定鸭的需要^[172]。研究发现，饲料中添加 VD 并未影响 16-18 周龄的龙岩蛋鸭产蛋率，蛋重，饲料转化率和蛋品质等生产性能，但维持骨骼沉积需要添加 800IU/kg 维生素 D^[173]。Chen^[174]发现，要实现 30-50 周龄的台湾菜鸭的最佳产蛋性能和蛋壳质量分别需要在日粮中添加 1069 IU/kg 和 989IU/kg 的维生素 D。

维生素 E 具有抗氧化特性，能保护细胞膜免受自由基的伤害。VE 影响家禽的繁殖力、孵化率、免疫力以及肉蛋品质等形状。研究表明，VE 缺乏能降低产蛋率、繁殖和孵化能力^[175]，抑制免疫器官生长发育^[176]，并造成胸肌萎缩^[177]。日粮中补充 VE 可以提高产蛋率、蛋品质、繁殖力和精液质量（提高精子的活力和浓度，减少死亡和畸形精子的比例）^[178-180]，还可以增强体液和细胞免疫反应^[181]，并能通过减少滴水损失和提高嫩度和肌肉脂肪来提高肉品质^[182]。尽管维生素 E 对家禽营养很重要，但在蛋鸭中的研究仍较少，目前仅有一项研究了日粮中添加维生素 E 对台湾菜鸭生产性能的影响^[183]。Chen 和 Hsu^[183]推荐 30-36 周龄台湾菜鸭的日粮中添加 400mg/kg α -生育酚能提高产蛋率、产蛋总重和改善饲料转化率。

表 1 肉鸭与蛋鸭营养需要汇总表

Table 1 Nutrient requirement of meat-type ducks and laying-type ducks							
营养素	1-21 日龄	22-42 日龄	产蛋期	营养素	1-21 日龄	22-42 日龄	产蛋期
Nutrient	1-21d	22-42d	Laying period	Nutrient	1-21d	22-42d	Laying period
代谢能 ME, kcal/kg	2900	3000	2500	维生素 A VA, IU	10000	8000	12000
粗蛋白 CP,%	20	18	17	维生素 D3 VD3, IU	3000	3000	2000
蛋氨酸 Met,%	0.48-0.50	0.47-0.50	0.40	维生素 E VE, mg/kg	20	20	38
赖氨酸 Lys, %	1.1	1.0	0.80	维生素 K VK, mg/kg	2.0	2.0	1.0
苏氨酸 Thr, %	0.70-0.80	0.70-0.80	0.60	维生素 B1 VB1, mg/kg	2.0	2.0	3.0
色氨酸 Trp, %	0.23	0.23	0.21	维生素 B2 VB2, mg/kg	10.0	8.0	9.6
钙 Ca, %	0.83	0.89	3.60	维生素 B6 VB6, mg/kg	4.0	4.0	6.0
可利用磷 AP, %	0.40	0.40	0.35	维生素 B12 VB12, mg/kg	0.02	0.02	0.03
锰 Mn, mg/kg	80-100	80-100	90	胆碱 Choline, mg/kg	1000	750	500
锌 Zn, mg/kg	60	60	60	泛酸 Pantothenic acid, mg/kg	20.0	10.0	28.5
铁 Fe, mg/kg	60	60	50	叶酸 Folic acid, mg/kg	1.0	1.0	0.6
铜 Cu, mg/kg	10	10	10	生物素 Biotin, mg/kg	0.2	0.2	0.15
碘 I, mg/kg	0.2	0.2	0.2	尼克酸 Niacin, mg/kg	50.0	50.0	25.0
硒 Se, mg/kg	0.3	0.3	0.4				

5 小 结

营养缺乏可直接影响家禽的生产性能。由于营养缺乏症之间相互作用，并致使症状复杂化。然而，通过提高饲料中营养水平的方法来改善这些症状并非有效，即提高蛋白、氨基酸、钙、磷和其他营养物质来满足动物营养需要的方式并不值得推荐。因为提高营养浓度可影响动物福利和健康，并增加环境污染。基于对北京鸭和龙岩产蛋鸭的营养需要量的推荐(表 1)，并考虑年龄和性别，并根据实际情况做出判断，来达到动物最佳生产性能。

参考文献:

- [1] HUANG J F, PINGEL H, GUY G, et al. A century of progress in waterfowl production, and a history of the WPSA waterfowl working group[J]. *World's Poultry Science Journal*, 2012, 68: 551–663.
- [2] ZENG T, CHEN L, DU X, et al. Association analysis between feed efficiency studies and expression of hypothalamic neuropeptide genes in laying ducks[J]. *Anim Genet*, 2016; 47: 606–609.
- [3] XU T, GU L, SCHACHTCHNEIDER K M, et al. Identification of differentially expressed genes in breast muscle and skin fat of postnatal Pekin duck[J]. *PLoS One*, 2014, 9: e107574.
- [4] WANG X, FANG C, HE J, et al. Comparison of the meat metabolite composition of Linwu and Pekin ducks using 600 MHz ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Poultry Science*, 2017, 96: 192–199.
- [5] LIN R L, CHEN H P, ROUVIER R, et al. Genetic parameters of body weight, egg production, and shell quality traits in the Shan ma laying duck (*Anas platyrhynchos*) [J]. *Poultry Science*, 2016, 95: 2514–2519.
- [6] ZHU Z M, MIAO Z W, CHEN H P, et al. Ovarian transcriptomic analysis of Shanma ducks at peak and late stages of egg production[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 2017, 30(9): 1215–1224.
- [7] National Research Council. Nutrient requirements of poultry. 9th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1994.
- [8] FOUAD A M, EL-SENOUSEY H K. Nutritional factors affecting abdominal fat deposition in poultry: a review[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 2014, 27: 1057–1068.
- [9] FAN H P, XIE M, WANG W W, et al. Effects of dietary energy on growth performance and carcass quality of white growing Pekin ducks from two to six weeks of age[J]. *Poultry Science*, 2008, 87: 1162–1164.
- [10] XIE M, ZHAO J N, HOU S S, et al. The apparent metabolizable energy requirement of white Pekin ducklings from hatch to 3 weeks of age[J]. *Animal Feed Science Technology*, 2010, 157: 95–98.

- [11] WICKRAMASURIYA S S, YOO J, KIM J C, et al. The apparent metabolizable energy requirement of male Korean native ducklings from hatch to 21 days of age[J]. *Poultry Science*, 2016, 95: 77–83.
- [12] THONGWITTAYA N, PLEUSAMRAN P, CHOKTAWORN N, et al. Energy and protein requirements of khaki Campbell x Thai native growing ducks[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 1992, 5: 357–363.
- [13] 夏伟光, 张罕星, 林映才, 等. 饲料代谢能和粗蛋白质水平对蛋鸭产蛋性能的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26 (12): 3599–3607
- [14] 王爽, 马维英, 陈伟, 等. 饲料代谢能及粗蛋白质水平对绍兴鸭产蛋性能、蛋品质及血浆生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(12): 3803–3810
- [15] KIDD M T. Nutritional modulation of immune function in broilers[J]. *Poultry Science*, 2004, 83: 650–657.
- [16] XIE M, HOU S S, HUANG W. Methionine requirements of male white Peking ducks from twenty-one to forty-nine days of age[J]. *Poultry Science*, 2006, 85: 743–746.
- [17] ELKIN R G, STEWART T S, ROGLER J C. Methionine requirement of male white Pekin ducklings. *Poultry Science*, 1986, 65: 1771–1776.
- [18] XIE M, HOU S S, HUANG W, ZHAO L, et al. Interrelationship between methionine and cystine of early Peking ducklings[J]. *Poultry Science*, 2004, 83: 1703–1708.
- [19] ZENG Q F, ZHANG Q, CHEN X, et al. Effect of dietary methionine content on growth performance, carcass traits, and feather growth of Pekin duck from 15 to 35 days of age[J]. *Poultry Science*, 2015, 94: 1592–1599.
- [20] HE J H, LI J B, GAO F X, et al. Dietary methionine requirement of the Chinese egg-laying duck[J]. *British Poultry Science*, 2003, 44: 741–745.
- [21] FOUAD A M, RUAN D, LIN Y C, et al. Effects of dietary methionine on performance, egg quality and glutathione redox system in egg-laying ducks[J]. *British Poultry Science*, 2016, 57: 818–823.
- [22] BONS A, TIMMLER R, JEROCH H. Lysine requirement of growing male Pekin ducks[J]. *British Poultry Science*, 2002, 43: 677–686.
- [23] XIE M, GUO Y, ZHANG T, et al. Lysine requirement of male white pek in ducklings from seven to twenty-one days of age[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 2009, 22: 1386–1390.
- [24] WICKRAMASURIYA S S, YI Y J, YOO J, et al. Lysine requirements of Korean native ducklings for three weeks after hatch[J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2016, 25: 464–473.

- [25] FOUAD A M, CHEN W, RUAN D, et al. Effects of dietary lysine supplementation on performance, egg quality and development of reproductive system in egg-laying ducks[J]. *Journal of Applied Animal Research*, 2018, 46(1):386-391.
- [26] ZHANG Q, ZENG Q F, COTTER P, et al. Dietary threonine response of Pekin ducks from hatch to 14 d of age based on performance, serology, and intestinal mucin secretion[J]. *Poultry Science*, 2016, 95:1348–1355.
- [27] XIE M, ZHANG L, WEN Z G, et al. Threonine requirement of white Pekin ducks from hatch to 21 d of age[J]. *British Poultry Science*, 2014, 55:553–557.
- [28] ZHANG Q, XU L, DOSTER A, et al. Dietary threonine requirement of Pekin ducks from 15 to 35 days of age based on performance, yield, serum natural antibodies, and intestinal mucin secretion[J]. *Poultry Science*, 2014, 93:1972–1980.
- [29] FOUAD A M, ZHANG H X, CHEN W, et al. Estimation of L-threonine requirements for Longyan laying ducks[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 2017, 30:206–210.
- [30] FOUAD A M, EL-SENOUSEY HK, YANG X J, et al. Role of dietary l-arginine in poultry production[J]. *International Journal of Poultry Science*, 2012, 11:718–729.
- [31] WANG C, XIE M, HUANG W, et al. Arginine requirements of white Pekin ducks from 1 to 21 days of age[J]. *Poultry Science*, 2013, 92:1007–1010.
- [32] XIA W G, FOUAD A M, CHEN W, et al. Estimation of dietary arginine requirements for Longyan laying ducks[J]. *Poultry Science*, 2017, 96:144–150.
- [33] RATH N C, HUFF G R, HUFF W E, et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry[J]. *Poultry Science*, 2000, 79:1024–1032.
- [34] HINCKE M T, NYS Y, GAUTRON J, et al. The eggshell: structure, composition and mineralization[J]. *Frontier in Biosciences*, 2012, 17:1266–1280.
- [35] CHEN W L, SHEN T F. Comparative studies on the utilization of calcium between laying Tsaiya duck and leghorn hen[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 1989;2:67–75.
- [36] CHEN W, ZHAO F, TIAN Z M, et al. Dietary calcium deficiency in laying ducks impairs eggshell quality by suppressing shell biomineralization[J]. *Journal of Experimental Biology*. 2015, 218:3336–3343.
- [37] DEAN W F, SCOTT M L, YOUNG R J, et al. Calcium requirement of ducklings[J]. *Poultry Science*, 1967, 46:1496–1499.
- [38] LIN I M, SHEN T F. Studies on duck nutrition. II. Calcium and phosphorus requirements of mule ducklings[J]. *Poultry Science*, 1979, 58:124–130.
- [39] XIA W G, ZHANG H X, LIN Y C, et al. Evaluation of dietary calcium requirements for laying Longyan shelducks[J]. *Poultry Science*, 2015, 94:2932–2937.

- [40] WANG S., CHEN W., Zhang H.X., et al. Influence of particle size and calcium source on production performance, egg quality, and bone parameters in laying ducks[J]. Poultry Science,2014,83:2560-2566.
- [41] XIE M, WANG S X, HOU S S, et al. Interaction between dietary calcium and non-phytate phosphorus on growth performance and bone ash in early white Pekin ducklings[J]. Animal Feed Science and Technology,2009,151:161–6.
- [42] 谢明,王顺祥,侯水生,等. 3~6 周龄北京鸭钙磷需要量的研究[J]. 动物营养学报,2009,21(01):25–30.
- [43] LEESON S. Copper metabolism and dietary needs[J]. World's Poultry Science Journal,2009,65:353–366.
- [44] LIM H S, PAIK I K. Effects of dietary supplementation of copper chelates in the form of methionine, chitosan and yeast in laying hens[J]. Asian-Australian Journal of Animal Science. 2006,19:1174–1179.
- [45] GÜÇL B K, KARA K, BEYAZ L, et al. Influence of dietary copper proteinate on performance, selected biochemical parameters, lipid peroxidation, liver, and egg copper content in laying hens[J]. Biological Trace Element Research,2008,125:160–169.
- [46] PEKEL A Y, ALP M. Effects of different dietary copper sources on laying hen performance and egg yolk cholesterol[J]. The Journal of Applied Poultry Research,2011,20:506–513.
- [47] JEGEDE A V, ODUGUWA O O, OSO A O, et al.Growth performance, blood characteristics and plasma lipids of growing pullet fed dietary concentrations of organic and inorganic copper sources[J]. Livestock Science,2012,145:298–302.
- [48] WANG C, WANG M Q, YE S S, et al.Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers[J]. Poultry Science,2011,90:2223–2228.
- [49] MROCZEK-SOSNOWSKA N, ŁUKASIEWICZ M, WNUK A, et al. In ovo administration of copper nanoparticles and copper sulfate positively influences chicken performance[J]. Journal of Science and Food Agriculture,2016,96:3058–3062.
- [50] ATTIA Y A, QOTA E M, ZEWEIL H S, et al.Effect of different dietary concentrations of inorganic and organic copper on growth performance and lipid metabolism of white Pekin male ducks. British Poultry Science,2012,53:77–88.
- [51] FOUAD A M, LI Y, CHEN W, et al.Effects of dietary copper supplementation on laying performance, egg quality and plasma cholesterol fractions in laying ducks[J]. Pakistan Journal of Nutrition,2016,15:878–82.
- [52] ATTIA Y A, ABDALAH AA, ZEWEIL HS, et al. Effect of inorganic or organic copper additions on reproductive performance, lipid metabolism and morphology of organs of

- dual-purpose breeding hens[J]. *Archiv für Geflügelk*,2011,3:169–178.
- [53] KIDD M T, FERKET P R, QURESHI M A. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity[J]. *World's Poultry Science Journal*,1996,52:309–324.
- [54] AMEN M H, AL-DARAJI H J. Influence of dietary supplementation with zinc on sex hormones concentrations of broiler breeder chickens[J]. *Pakistan Journal of Nutrition*,2011,10:1089–1093.
- [55] GAO J, LV Z, LI C, et al. Maternal zinc supplementation enhanced skeletal muscle development through increasing protein synthesis and inhibiting protein degradation of their offspring[J]. *Biological Trace Element Research*,2014,162:309–316.
- [56] LIU Z H, LU L, WANG RL, et al. Effects of supplemental zinc source and level on antioxidant ability and fat metabolism-related enzymes of broilers[J]. *Poultry Science*,2011,94:2686–94.
- [57] BLAMBERG D L, BLACKWOOD U B, SUPPLEE W C, et al. Effect of zinc deficiency in hens on hatchability and embryonic development[J]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*,1960,104:217–20.
- [58] SCHUSTER N H, HINDMARSH M. Plasma alkaline phosphatase as a screening test for low zinc status in broiler hybrid chickens affected with ‘clubbed down’ [J]. *Australian Veterinary Journal*,1980,56:499–501.
- [59] CUI H, XI P, JUNLIANG D, et al. Pathology of lymphoid organs in chickens fed a diet deficient in zinc[J]. *Avian Pathology*,2004,33:519–24.
- [60] ZHANG L, WANG YX, XIAO X, et al. Effects of zinc Glycinate on productive and reproductive performance, zinc concentration and antioxidant status in broiler breeders[J]. *Biological Trace Element Research*,2017,178(2):320–326.
- [61] ZHU Y, LIAO X, LU L, et al. Maternal dietary zinc supplementation enhances the epigenetic-activated antioxidant ability of chick embryos from maternal normal and high temperatures[J]. *Oncotarget*,2017,8(12):19814–24.
- [62] SUNDER G S, PANDA A K, GOPINATH N C S, et al. Effects of higher levels of zinc supplementation on performance, mineral availability, and immune competence in broiler chickens[J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2008,17:79–86.
- [63] JAROSZ Ł, MAREK A, GRADZKI Z, et al. The effect of feed supplementation with zinc chelate and zinc sulphate on selected humoral and cell-mediated immune parameters and cytokine concentration in broiler chickens[J]. *Research in Veterinary Science*,2017,112:59–65.
- [64] KWIECIEŃ M, WINIARSKA-MIECZAN A, MILCZAREK A, et al. Effects of zinc glycine

- chelate on growth performance, carcass characteristics, bone quality, and mineral content in bone of broiler chicken[J]. *Livestock Science*,2016,191:43–50.
- [65] ATTIA Y A, AL-HAMID A A, ZEWEIL H S, et al.Effect of dietary amounts of inorganic and organic zinc on productive and physiological traits of white Pekin ducks[J]. *Animal*,2013,7:895–900.
- [66] CHEN W, WANG S, ZHANG HX, et al.Optimization of dietary zinc for egg production and antioxidant capacity in Chinese egg-laying ducks fed a diet based on corn-wheat bran and soybean meal[J]. *Poultry Science*,2017;96(7):2336–43.
- [67] OLGUN O.Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. *World's Poultry Science Journal*,2017;73:45–56.
- [68] LU L, JI C, LUO X G, et al.The effect of supplemental manganese in broiler diets on abdominal fat deposition and meat quality[J]. *Animal Feed Science and Technology*,2006,129:49–59.
- [69] LU L, LUO X G, JI C, et al.Effect of manganese supplementation and source on carcass traits, meat quality and lipid oxidation in broilers[J]. *Journal of Animal Science*,2007,85:812–22.
- [70] LIU X F, ZHANG LM, ZHANG Z, et al.Manganese-induced effects on testicular trace element levels and crucial hormonal parameters of Hyline cocks[J]. *Biological Trace Element Research*,2013,151:217–24.
- [71] XIE J, TIAN C, ZHU Y, et al.Effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-I and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens[J]. *Poultry Science*,2014,93:959–69.
- [72] LIU X, LI Z, HAN C, et al.Effects of dietary manganese on cu, Fe, Zn, Ca, Se, IL-1 β , and IL-2 changes of immune organs in cocks[J]. *Biological Trace Element Research*,2012,148:336–44.
- [73] LI S, LU L, HAO S, et al.Dietary manganese modulates expression of the manganese-containing superoxide dismutase gene in chickens[J]. *The Journal of Nutrition*,2011,141:189–94.
- [74] WANG J, WANG Z Y, WANG Z J, et al.Effects of manganese deficiency on chondrocyte development in tibia growth plate of arbor acres chicks[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*,2015,33:23–9.
- [75] XIAO JF, ZHANG YN, WU SG, et al. Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: a strategy to improve eggshell quality in laying hens[J]. *Poultry Science*,2014,93:380–8.
- [76] ZHU YW, LU L, LI WX, et al.Effects of maternal dietary manganese and incubation

- temperature on hatchability, antioxidant status, and expression of heat shock proteins in chick embryos[J]. *Journal of Animal Science*,2015,93:5725–34.
- [77] PARKER H E, ANDREWS F N, CARRICK C W, et al.Effect of manganese on bone formation studied with radioactive isotopes[J]. *Poultry Science*,1955,34:1154–1158.
- [78] LEACH R M, GROSS J R.The effect of manganese deficiency upon the ultrastructure of the eggshell[J]. *Poultry Science*,1983,62:499–504.
- [79] FOUAD A M, LI Y, CHEN W, et al.Effects of dietary manganese supplementation on laying performance, egg quality and antioxidant status in laying ducks[J]. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*,2016,11:570–575.
- [80] MA X, LIAO X, LU L, et al. Determination of dietary iron requirements by full expression of iron-containing enzymes in various tissues of broilers[J]. *The Journal of Nutrition*,2016,146:2267–2273.
- [81] MA X Y, LIU S B, LU L, et al. Relative bioavailability of iron proteinate for broilers fed a casein-dextrose diet[J]. *Poultry Science*,2014,93:556–563.
- [82] BESS F, VIEIRA S L, FAVERO A,et al. Dietary iron effects on broiler breeder performance and egg iron contents[J]. *Animal Feed Science and Technology*,2012,178:67–73.
- [83] MOHAMMADI H, FARZINPOUR A, VAZIRY A. Reproductive performance of breeder quails fed diets supplemented with L-cysteine-coated iron oxide nanoparticles[J]. *Reproduction in Domestic Animals*,2017,52:298–304.
- [84] SUN J, LIU D, SHI R.Supplemental dietary iron glycine modifies growth, immune function, and antioxidant enzyme activities in broiler chickens[J]. *Livestock Science*,2015,176:129–134.
- [85] JAROSZ Ł, KWIECIEŃ M, MAREK A, et al.Effects of feed supplementation with glycine chelate and iron sulfate on selected parameters of cell-mediated immune response in broiler chickens[J]. *Research in Veterinary Science*,2016,107:68–74.
- [86] 夏伟光,林映才,郑春田,等.饲料铁水平对山麻鸭产蛋性能、蛋品质及肝脏和血液指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2016,28:71-78.
- [87] JIANHUA H, OHTSUKA A, HAYASHI K.Selenium influences growth via thyroid hormone status in broiler chickens[J]. *British Journal of Nutrition*,2000,84:727–732.
- [88] PENG X, CUI H, FANG J, et al.Low selenium diet alters cell cycle phase, apoptotic population and modifies oxidative stress markers of spleens in broilers[J]. *Biological Trace Element Research*,2012,148:182–186.
- [89] PENG X, CUI Y, CUI W, et al.The cell cycle arrest and apoptosis of bursa of Fabricius induced by low selenium in chickens[J]. *Biological Trace Element Research*,2011,139,32–40.

- [90] PENG X, CUI H, YUAN J, et al. Low-selenium diet induces cell cycle arrest of thymocytes and alters serum IL-2 content in chickens[J]. *Biological Trace Element Research*, 2011, 144: 688–694.
- [91] SUN D, LI C, GAO J, et al. Effects of selenium deficiency on principal indexes of chicken kidney function[J]. *Biological Trace Element Research*, 2015, 164: 58–63.
- [92] XU J X, CAO C Y, SUN Y C, et al. Effects on liver hydrogen peroxide metabolism induced by dietary selenium deficiency or excess in chickens[J]. *Biological Trace Element Research*, 2014, 159: 174–182.
- [93] AVANZO JL, XAVIER de MENDONÇA JUNIOR C, de CERQUEIRA CESAR M. Role of antioxidant systems in induced nutritional pancreatic atrophy in chicken[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2002, 131: 815–823.
- [94] LATSHAW JD, ORT JF, DIESEM CD. The selenium requirements of the hen and effects of a deficiency[J]. *Poultry Science*, 1977, 56: 1876–1881.
- [95] THOMPSON JN, SCOTT ML. Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy of the pancreas in selenium-deficient chicks[J]. *The Journal of Nutrition*, 1970, 100: 797–809.
- [96] RAJASHREE K, MUTHUKUMAR T, KARTHIKEYAN N. Comparative study of the effects of organic selenium on hen performance and productivity of broiler breeders[J]. *British Poultry Science*, 2014, 55: 367–374.
- [97] ZHANG L, WANG YX, ZHOU Y, et al. Different PQH. Sources of maternal selenium affect selenium retention, antioxidant status, and meat quality of 56-day-old offspring of broiler breeders[J]. *Poultry Science*, 2014, 93: 2210–2219.
- [98] PERIĆ L, MILOŠEVIĆ N, ŽIKIĆ D, et al. Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens[J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2009, 18: 403–409.
- [99] CAI S J, WU C X, GONG L M, et al. Effects of nanoselenium on performance, meat quality, immune function, oxidation resistance, and tissue selenium content in broilers[J]. *Poultry Science*, 2012, 91: 2532–2539.
- [100] BISWAS A, MOHAN J, MANDAL A B, et al. Semen characteristics and biochemical composition of cloacal foam of male Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*) fed diet incorporated with selenium[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2017, 101: 229–235.
- [101] BALTIC MŽ, STARČEVIĆ MD, BAŠIĆ M, et al. Effects of dietary selenium-yeast concentrations on growth performance and carcass composition of ducks[J]. *Animal Production Science*, 2017; <https://doi.org/10.1071/AN16126>.

- [102] CHEN W, ZHANG H X, WANG S, et al.Estimation of dietary selenium requirement for Chinese egg-laying ducks[J]. *Animal Production Science*,2015,55:1056–1063.
- [103] 汪忠艳, 0~3 周龄北京对硒的需要量及其作用机理的研究[D]. 硕士学位论文.湛江:广东海洋大学,2006.
- [104] SCHEXNAILDER R, GRIFFITH M.Liver fat and egg production of laying hens as influenced by choline and other nutrients[J]. *Poultry Science*,1973,52:1188–1194.
- [105] SIMON J.Choline, betaine and methionine interactions in chickens, pigs and fish (including crustaceans) [J]. *World's Poultry Science Journal*,1999,55:353–374.
- [106] WEN Z G, TANG J, HOU S S, et al.Choline requirements of white Pekin ducks from hatch to 21 days of age[J]. *Poultry Science*,2014,93:3091–3096.
- [107] WEN Z G, HOU S S, TANG J, et al.Choline requirements of male white Pekin ducks from 21 to 42 d of age[J]. *British Poultry Science*,2014,55:548–552.
- [108] LIEN T F, JAN D F.The lipogenic capacity of hepatocytes and lipolytic rate of adipocytes in Tsaiya ducks during growing and laying periods[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*,1999,1258–1262.
- [109] MA W, WANG S, SHEN D, et al.Effects of choline level in diet on lipid metabolism in Shaoxing ducks during the initial egg-laying period[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*,2014,45:233–242.
- [110] ASHOORI M, SAEDISOMEOLIA A.Riboflavin (vitamin B₂) and oxidative stress: a review[J]. *British Journal of Nutrition*,2014,111:1985–1991.
- [111] RUIZ N, HARMS R H.Riboflavin requirement of broiler fed acorn soybean diet[J]. *Poultry Science*,1988,67:794–799.
- [112] OLKOWSKI A A, CLASSEN H L.The study of riboflavin requirements in broiler chickens[J]. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*,1998,68:316–327.
- [113] TANG J, XIE M, YANG J, et al.Riboflavin requirements of white Pekin ducks from hatch to 21 d of age[J]. *British Poultry Science*,2013,54:407–411.
- [114] TANG J, WEN Z G, GUO Z B, et al.Dietary riboflavin supplementation improve the growth performance and antioxidant status of starter white Pekin ducks fed a corn-soybean meal diets[J]. *Livestock Science*,2014,170:131–136.
- [115] TANG J, HU J, WEN ZG, et al.Effects of riboflavin supplementation on growth performance, carcass traits, and riboflavin status of growing male white Pekin ducks[J]. *Animal Feed Science and Technology*,2015,209:274–279.
- [116] SQUIRES M W, NABER E C.Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: riboflavin study[J]. *Poultry Science*,1993,72:483–494.

- [117] ARIJENIWA A, IKHIMIOYA I, BAMIDELE O K, et al. Riboflavin requirement of breeding hens in a humid tropical environment[J]. *Journal of Applied Animal Research*, 1996, 10: 163–6.
- [118] 王爽, 陈伟, 阮栋, 等. 饲料核黄素水平对笼养蛋鸭产蛋性能、蛋品质、血液生化及抗氧化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26 (11): 3284–3290
- [119] WEBER G M. Improvement of flock productivity through supply of vitamins for higher laying performance and better egg quality[J]. *World's Poultry Science Journal*, 2009, 65: 443–57.
- [120] WATKINS B A, KRATZER F H. Dietary biotin effects on polyunsaturated fatty acids in chick tissue lipids and prostaglandin E2 levels in freeze-clamped hearts[J]. *Poultry Science*, 1987, 66: 1818–28.
- [121] WHITEHEAD C C, PEARSON R A, HERRON K M. Biotin requirements of broiler breeders fed diets of different protein content and effect of insufficient biotin on the viability of progeny[J]. *British Poultry Science*, 1985, 26: 73–82.
- [122] ZHU Y W, XIE M, HUANG W, et al. Effects of biotin on growth performance and foot pad dermatitis of starter white Pekin ducklings[J]. *British Poultry Science*, 2012, 53: 646–650.
- [123] ROBEL E J. The value of supplemental biotin for increasing hatchability of turkey eggs[J]. *Poultry Science*, 1991, 70: 1716–1722.
- [124] DARYABARI H, AKHLAGHI A, ZAMIRI M J, et al. Reproductive performance and oviductal expression of avidin and avidin-related protein-2 in young and old broiler breeder hens orally exposed to supplementary biotin. *Poultry Science*, 2014, 93: 2289–2295.
- [125] DARYABARI H, AKHLAGHI A, ZAMIRI M J, et al. Oral administration of supplementary biotin differentially influences the fertility rate and oviductal expression of avidin and avidin-related protein-2 in low- and high-fertility broiler line hens[J]. *Poultry Science*, 2015, 94: 289–295.
- [126] SUN Z W, FAN Q H, WANG X X, et al. High dietary biotin levels affect the footpad and hock health of broiler chickens reared at different stocking densities and litter conditions[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2017, 101(3): 521–530.
- [127] TAYLOR L W. The effect of folic acid on egg production and hatchability[J]. *Poultry Science*, 1947, 26: 372–376.
- [128] PESTI G M, ROWLAND G N, RYU K S. Folate deficiency in chicks fed diets containing practical ingredients[J]. *Poultry Science*, 1991, 70: 600–604.
- [129] JING M, MUNYAKA P M, TACTACANA G B, et al. Performance, serum biochemical responses, and gene expression of intestinal folate transporters of young and older laying

- hens in response to dietary folic acid supplementation and challenge with *Escherichia coli* lipopolysaccharide[J]. *Poultry Science*, 2014,93:122–31.
- [130] SAHIN K, ONDERCI M, SAHIN N, et al. Dietary vitamin C and folic acid supplementation ameliorates the detrimental effects of heat stress in Japanese quail[J]. *The Journal of Nutrition*, 2003,133:1882–1886.
- [131] DICKSON T M, TACTACAN G B, HEBERT K, et al. Optimization of folate deposition in eggs through dietary supplementation of folic acid over the entire production cycle of Hy-line W36, Hy-line W98, and CV20 laying hens[J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2010;19:80–91.
- [132] LI S, ZHI L, LIU Y, et al. Effect of in ovo feeding of folic acid on the folate metabolism, immune function and epigenetic modification of immune effector molecules of broiler[J]. *British Journal of Nutrition*, 2016,115:411–421.
- [133] LIU Y, ZHI L, SHEN J, et al. Effect of in ovo folic acid injection on hepatic IGF2 expression and embryo growth of broilers[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2016,7:40.
- [134] 夏伟光,王胜林,陈伟,等. 饲料叶酸添加水平对山麻鸭产蛋性能、蛋品质、生殖器官及血浆生殖激素指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2016; 28 (7) :2024-2031.
- [135] ATTAR M W, DAGHIR N J, ASMAR J. Influence of vitamin B6 deficiency on certain serum components in mature female chickens[J]. *Poultry Science*, 1967,46:838–843.
- [136] WEISS F G, SCOTT M L. Influence of vitamin B-6 upon reproduction and upon plasma and egg cholesterol in chickens[J]. *The Journal of Nutrition*, 1979,109:1010–1017.
- [137] BLALOCK T L, THAXTON J P, GARLICH J D. Humoral immunity in chicks experiencing marginal vitamin B-6 deficiency[J]. *The Journal of Nutrition*, 1984,114:312–322.
- [138] WALDENSTEDT L. Nutritional factors of importance for optimal leg health in broilers: a review[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006,126:291–307.
- [139] ROBEL E J, CHRISTENSEN V L. Increasing hatchability of turkey eggs by injecting eggs with pyridoxine[J]. *British Poultry Science*, 1991,32:509–513.
- [140] KUCUK O, KAHRAMAN A, KURT I, et al. Combination of zinc and pyridoxine supplementation to the diet of laying hens improves performance and egg quality[J]. *Biological Trace Element Research*, 2008,126:165–175.
- [141] XIE M, TANG J, WEN Z, et al. Effects of pyridoxine on growth performance and plasma aminotransferases and homocysteine of white Pekin ducks[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 2014,27:1744–1748.
- [142] PARK I K, MARQUARDT R R. Effect of niacin deficiency on the thermal stability of

- NAD-and NADP-dependent dehydrogenases in liver and pectoral muscle of Japanese quail[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,1996,28:1169–1177.
- [143] CHILDS G R, CARRICK C W, HAUGE S M.The niacin requirement of young chickens[J]. Poultry Science,1952,31:551–558.
- [144] PARK I K, MARQUARDT R R.Effects of niacin deficiency on pyridine nucleotide levels and enzyme activities in various organs of young growing quail[J]. The Journal of Nutrition,1982,112:863–873.
- [145] ADAMS R L, CARRICK C W A. Study of the niacin requirement of the laying hen[J]. Poultry Science,1967,46:712–718.
- [146] JIANG R R, ZHAO G P, CHEN J L, et al.Effect of dietary supplemental nicotinic acid on growth performance, carcass characteristics and meat quality in three genotypes of chicken[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2011,95:137–145.
- [147] GUNGOR T, YIGIT A A, BASALAN M.The effects of supplemental niacin in laying hen diet on performance and egg quality characteristics[J]. Revue de médecine vétérinaire,2003,154:371–374.
- [148] XIE M, HAN X F, HUANG W, et al.Effects of niacin status on tryptophan requirements of starter white Pekin ducks[J]. Livestock Science,2014,159:75–8.
- [149] 王爽,张罕星,阮栋,等.饲料烟酸添加水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能、蛋品质及血浆生化指标的影响[J]. 动物营养学报,2014,26 (7) :1807-1813
- [150] POLIN D, OTT WH, WYNOSKY ER, et al.Estimation of thiamine requirement for optimum hatchability from the relationship between dietary and yolk levels of the vitamin[J]. Poultry Science,1963,42:925–8.
- [151] SULLIVAN T W, HEIL H M, ARMINTROUT M E.Dietary thiamine and pyridoxine requirements of young turkeys[J]. Poultry Science,1967,46:1560–4.
- [152] CHARLES O W, ROLAND D A, EDWARDS H M.Thiamine deficiency identification and treatment in commercial turkeys and coturnix quail[J]. Poultry Science,1972,51:419–423.
- [153] GRIES C L, SCOTT M L.The pathology of thiamin, riboflavin, pantothenic acid and niacin deficiencies in the chick[J]. The Journal of Nutrition, 1972,102:1269–1285.
- [154] OGUNMODEDE B K.Vitamin A.Requirement of broiler chicks in Nigeria[J]. Poultry Science,1981,60:2622–2627.
- [155] FRIEDMAN A, SKLAN D.Impaired T.Lymphocyte immune response in vitamin a depleted rats and chicks[J]. British Journal of Nutrition,1989,62:439–449.
- [156] SQUIRES M W, NABER E C. Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: vitamin a study[J]. Poultry Science,1993,72:154–164.

- [157] MADEN M, GALE E, KOSTETSKII I, et al. Vitamin A-deficient quail embryos have half a hindbrain and other neural defects[J]. *Current Biology*, 1996, 6: 417–26.
- [158] YUAN J, ROSHDY A R, GUO Y, et al. Effect of dietary vitamin a on reproductive performance and immune response of broiler breeders[J]. *PLoS One*, 2014, 9: e105677.
- [159] FAN X, LIU S, LIU G, et al. Vitamin a deficiency impairs mucin expression and suppresses the mucosal immune function of the respiratory tract in chicks[J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0139131.
- [160] CHEN F, JIANG Z, JIANG S, et al. Dietary vitamin a supplementation improved reproductive performance by regulating ovarian expression of hormone receptors, caspase-3 and Fas in broiler breeders[J]. *Poultry Science*, 2016, 95: 30–40.
- [161] 魏立民, 侯水生, 黄苇, 等. 维生素A对0~3周龄北京鸭生产性能和肠道发育的影响[J]. *动物营养学报*, 2009, 21: 462–467.
- [162] 王爽, 张罕星, 陈伟, 等. 饲料维生素A水平对产蛋高峰期蛋鸭生产性能、蛋品质及血液抗氧化指标的影响[J]. *中国家禽*, 2016, 13 (38) : 26-30
- [163] STADELMAN W J, BOUCHER R V, CALLENBACH E W. The effect of vitamin D in the turkey breeder ration on egg production and hatchability and on growth and calcification of the poults[J]. *Poultry Science*, 1950, 29: 146–152.
- [164] ASLAM SM, GARLICH JD, QURESHI MA, et al. Deficiency alters the immune responses of broiler chicks[J]. *Poultry Science*, 1998, 77: 842–849.
- [165] HAN J C, YANG X D, ZHANG T, et al. Effects of 1 α hydroxycholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one-to twenty-one-day-old broilers[J]. *Poultry Science*, 2009, 88: 323–329.
- [166] HAN J C, WANG Y L, QIU H X, et al. One alphahydroxycholecalciferol improves growth performance, tibia quality, and meat color of broilers fed calcium-and phosphorus-deficient diets[J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 2011, 25: 267–271.
- [167] VIGNALE K, GREENE ES, CALDAS JV, et al. 25-hydroxycholecalciferol enhances male broiler breast meat yield through the mTOR pathway[J]. *The Journal of Nutrition*, 2015, 145: 855–863.
- [168] CHOU S H, CHUNG T K, Yu B. Effects of supplemental 25-hydroxycholecalciferol on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2009, 88: 2333–2341.
- [169] SHOJADOOST B, BEHBOUDI S, VILLANUEVA A I, et al. Vitamin D3 modulates the function of chicken macrophages[J]. *Research in Veterinary Science*, 2015, 100: 45–51.

- [170] ATENCIO A, EDWARDS H M, PESTI G. Effects of vitamin D3 dietary supplementation of broiler breeder hens on the performance and bone abnormalities of the progeny[J]. Poultry Science,2005,84:1058–1068.
- [171] 王爽,侯水生,谢明,等.不同钙磷水平及维生素D对生长前期北京鸭生产性能、血液生化指标[J]. 畜牧兽医学报,2009;41:1414–1420.
- [172] 解俊美,王安.饲料维生素D添加水平对蛋雏鸭免疫及抗氧化功能的影响[J]. 动物营养学报,2012,24:819.1824.
- [173] 王爽,林映才,张罕星等. 饲料维生素D水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能、血液生化及胫骨指标的影响[J]. 中国畜牧杂志,2013,5:22–26.
- [174] CHEN T F. Effects of vitamin D3 supplementation on laying performance and eggshell quality of laying Tsaiya ducks[J]. Asian-Australian Journal of Animal Science,2000,13:131–133.
- [175] OLSON G, MATTERSON L D, TLUSTOHOWICZ J.Effect of vitamin E and antioxidants on fertility and hatchability as affected by unsaturated fatty acids[J]. Poultry Science,1962,41:675–677.
- [176] CHANG WP, HOM JS, DIETERT RR, et al.Effect of dietary vitamin E and selenium deficiency on chicken Splenocyte Proliferan and cell surface marker expresssion[J]. Immunopharm Immunot,1994,16:203–223.
- [177] BIERI JG. Current aspects of vitamin a, vitamin E, and selenium in poultry nutrition[J]. World's Poultry Science Journal,1960,16:245–258.
- [178] SAHIN N, SAHIN K, ONDERC M, et al.Effects of dietary lycopene and vitamin E on egg production, antioxidant status and cholesterol levels in Japanese quail. Asian-Australian Journal of Animal Science,2006,19:224–230.
- [179] BISWAS A, MOHAN J, SASTRY K V H. Effect of vitamin E on production performance and egg quality traits in Indian native Kadaknath hen[J]. Asian- Australian Journal of Animal Science,2010,23:396.
- [180] BISWAS A, MOHAN J, SASTRY K V H.Effect of higher dietary vitamin E concentrations on physical and biochemical characteristics of semen in Kadaknath cockerels[J]. British Poultry Science,2009,50:733–738.
- [181] LESHCHINSKY T V, KLASING K C.Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens[J]. Poultry Science,2001,80:1590–1599.
- [182] CHENG K, NIU Y, ZHENG X C, et al.A comparison of natural (D- α -tocopherol) and synthetic (DL- α -tocopherol acetate) vitamin E supplementation on the growth performance, meat quality and oxidative status of broilers[J]. Asian-Australian Journal of Animal

Science,2016,29:681–688.

- [183] CHEN T F, HSU J C. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids-enriched diet supplemented with different levels of alpha-tocopherol on lipid metabolism in laying Tsaiya ducks[J]. Asian-Australian Journal of Animal Science,2004,17:1562–1569.

Nutritional requirements of meat-type and egg-type ducks

FOUAD Ahmed Mohamed, RUAN Dong, WANG Shuang, CHEN Wei, XIA Weiguang, ZHANG Yanan, LUO Xi, ZHENG Chuntian^{1,2,3,4,5}

(1. *Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China*; 2. *State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding, Guangzhou 510640, China*; 3. *Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510640, China*; 4. *Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China*; 5. *Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China*)

Abstract: Abstract: The demand for duck meat, duck eggs, and associated products is increasing each year. Classic and modern selection programs have been applied to enhance the economic traits of ducks to satisfy the requirements of consumers and enhance the incomes of producers. The nutritional requirements of unselected ducks may not be adequate, however, to fulfill the potential productivity performance of modern birds, including both meat-type and egg-type ducks. In particular, an imbalanced diet is associated with low productive performance and signs of nutritional deficiency (if insufficient nutrients are supplied), as well as with high feed costs and manure problems that reflect flock health and welfare (if excessive nutrients are supplied). Thus, the main aim of this review is to summarize the results of previous studies that estimated the nutrient requirements of meat-type and egg-type ducks in order to evaluate current knowledge and to identify further issues that need to be addressed. In addition, the results obtained in previous studies are compared in order to understand how to lower commercial feed costs, fulfill the genetic potential of selected ducks, protect the environment from pollution, and satisfy the welfare and health needs of ducks.

Key words: Meat-type ducks; Egg-type ducks; Nutritional requirements

中型鹅营养需要与饲料研究进展

王志跃* 胥 蕾 杨海明 万晓莉

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

近年来随着鹅的规模化养殖水平的提高, 配合饲料技术得到迅速的发展, 鹅对环境依赖大大减小。我们对规模化养殖条件下鹅营养与饲料研究作了一些研究, 毕业硕博士 40 余位, 发表中文期刊文献 100 余篇, SCI 文献 20 余篇。本文综述了中型鹅营养需要研究、饲料原料营养价值评定、粗纤维的作用机理等。

1 中型鹅的营养需要研究

通过饲养试验, 结合养殖场实际, 初步确定了中型鹅(以扬州鹅、江南白鹅、四川鹅为代表)的粗蛋白质(CP)、能量、粗纤维(CF)、氨基酸、微量元素、维生素等的需要建议量。其中, 鹅对 CF 有最低需要量, 饲料不含 CF、CF 过低或过高均显著降低仔鹅的生产性能^[1-4]。对于生长早期的营养考虑了卵黄囊的吸收规律, 建议采用“低能高蛋白模式”, 且开食时间最好为出壳后 24-36 h。生长中后期和种鹅的营养建议量(表 1)和理想氨基酸模式(表 2), 结合了鹅的生长性能、屠宰性能、肉品质、产蛋性能和繁殖性能等指标。

表 1 中型鹅营养需要建议量

周龄	0~4	5~10	11~开产	种鹅
代谢能, MJ/kg	11.0~11.4	10.85	9.5~10.3	10.45
粗蛋白质, %	19.5~21.0	17.0~19.0	10.0~11.0	16.0~17.0
钙, %	0.80	0.80	0.65	2.60
有效磷, %	0.42	0.37	0.35	0.36
粗纤维, %	4.5~5.2	5.5~6.5	-	-
赖氨酸, %	0.95	0.70	0.50	0.66
蛋氨酸, %	0.45	0.35	0.25	0.30
含硫氨基酸, %	0.79	0.56	0.48	0.47
色氨酸, %	0.17	0.13	0.12	0.16
苏氨酸, %	0.80	0.80	0.44	0.45
精氨酸, %	1.00	0.90	0.75	0.85
钠, %	0.30	0.30	0.30	0.30
氯, %	0.25	0.25	0.25	0.25

*基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(项目编号: CARS-42-11)。

*通信作者: 王志跃(1964-), 男, 江苏常州人, 教授, 博士生导师, 主要从事家禽养殖研究。

E-mail: dkwzy@263.net

表 2 扬州鹅理想氨基酸组成模式

氨基酸组成模式	5~10 周龄生长氨基酸组成模式	成年鹅维持氨基酸组成模式	5~10 周龄氨基酸总组成模式
赖氨酸	100	100	100
蛋氨酸	44	46	46
苏氨酸	36	62	43
亮氨酸	90	121	98
异亮氨酸	41	68	48
精氨酸	59	93	70
缬氨酸	45	76	54

2 鹅饲料的营养价值评定方法研究

为了准确评价鹅对饲料营养物质的利用率和饲料营养价值，我们系统研究了无氮日粮法和饥饿法、酸不溶性灰分（AIA）法，并建立了鹅代谢试验规程。

酸不溶灰分（AIA）法因消化道砂砾的动态变化，放养鹅不能直接应用 AIA 指示剂法，隔离砂砾 25 天后才可以使用酸不溶灰分（AIA）指示剂法。当试验料为玉米、豆粕和麸皮时，由于 AIA 含量较低会导致较大的分析误差和较低的回收率。当试验料为苜蓿、稻谷和玉米-豆粕-苜蓿型配合料时，可以使用 AIA 指示剂法。当测定肠道累积消化率时，由于十二指肠、盲肠和直肠中食糜重量达不到分析要求，故而不能直接使用 AIA 指示剂法^[5]。

强饲法 随着强饲量的增大，鹅对饲料干物质和能量的利用率逐渐升高，对饲料的代谢能值也有升高的趋势。强饲量太少导致饥饿应激、强饲量太大会引起呕吐等应激反应，二者均可导致代谢能等测定值的稳定性降低。强饲法测定成年鹅饲料代谢能值时的适宜强饲量为 80~100g^[8]。随着绝食排空时间的增加，排泄物量逐渐减少，鹅对饲料干物质的利用率和 AME、TME 值逐渐增大，随着收集时间的延长，排泄物量增大，鹅对饲料干物质的利用率和代谢能值下降^[9]。

无氮日粮法 vs. 饥饿法 运用无氮日粮法测定内源性氨基酸时影响因素较多，测得的某些内源氨基酸排泄量值标准差较大。绝大多数氨基酸的真利用率无氮日粮法校正值高于饥饿法校正值。在测定鹅蛋白原料氨基酸真利用率时，相对于无氮日粮法，内源氨基酸的测定采用饥饿法为宜^[6]。饥饿法测定的多数内源氨基酸排泄量低于无氮日粮法。综合来看，采用饥饿法测定鹅饲料氨基酸真利用率比较好^[7]。

去盲肠法 因盲肠消化酶和微生物对营养物质消化率有影响，盲肠切除后通过饥饿法测定的大部分氨基酸的内源排泄量增加；使用无氮日粮法时，去盲肠组的大部分内源氨基酸排泄量降低^[6]。鹅盲肠对饲料具有一定的吸收降解作用，部分地通过影响蛋白质消化率、氨基酸表观消化率、真消化率，间接影响了代谢能值^[6-7]。故测定饲料原料氨基酸时，有条件的

应该切除盲肠以减轻后段肠道中微生物对所测值的修饰作用^[7]。在饲料营养价值评定中盲肠的切除与否因据饲料的类型不同而做选择。对于消化率较好的鱼粉而言，盲肠可以不切除；而测定鹅对豆粕或棉籽粕中氨基酸真消化率时应该切除盲肠^[6-7]。

代谢试验技术 通过总结多个试验的结果，得出以下鹅强饲法评定饲料营养价值的方法：选取遗传背景一致的成年公鹅，有效样本数不少于 5 个，试验用鹅不少于 6 只（单笼饲养）。绝食时间 24 h，排泄物收集时间 24 h；强饲量根据饲料粗纤维含量而不同，其中粗纤维较低的饲料 80-100 g，粗纤维较高的饲料 60-80 g；两期试验的间隔时间（过渡期）为 9~11 天，以体重恢复为标准；饲养环境要求：采用控温措施使试验鹅的饲养环境温度保持在 15-25℃，避免强烈光照^[8-12]。强饲法测定鹅和鸡的饲料表观代谢能差异见表 3。

表 3 几种鹅饲料表观代谢能（强饲法）及其比较

饲料名称	玉米	豆粕	稻谷	麦麸	小麦	糙米	苜蓿	棉籽粕
鹅代谢能（MJ/kg）	13.26	9	11.93	8.79	13.07	13.35	4.75	7.08
鸡代谢能（MJ/kg）	13.37	9.08	11.18	7.1	13.43	13.11	3.23	7.55

3 规模化养殖条件下中型鹅的饲料研究进展

a) 饲料原料的应用形式及作用机制

通过研究饲料原料的添加形式显示适宜的原料添加形式可改善鹅的生产性能、消化道发育、肠道组织形态、内脏器官指数、消化生理指标、饲料营养成分消化率、食糜流通速率等参数，结果显示用整粒的或粗粒的谷物及其副产物原料可取得较好的生产性能。饲喂**整粒玉米**日粮对仔鹅消化道的发育有显著的促进作用，但建议仔鹅28日龄前饲非整粒玉米日粮更利于仔鹅小肠绒毛的健康^[13]。**整粒糙米-整粒稻壳**饲喂鹅导致采食量、体重、增重和体尺增大，有助于鹅生产性能的发挥^[14]。粉碎稻壳相比，饲喂**整粒稻壳**可提高粗纤维利用率，但降低了磷的利用率^[15]。与细粒玉米芯相比，饲喂**粗粒玉米芯**可降饲料原料粉碎成本获得较好生产效果，但要注意采用一定的方法弥补钙和磷利用率下降的问题^[15]。

b) 非常规饲料原料的添加技术

通过研究不同比例的非常规原料对中型鹅的生产性能、消化道发育、肠道组织形态、内脏器官指数、消化生理指标、饲料营养成分消化率、食糜流通速率、屠宰性能、肉品质、肠道微生物分布等参数，形成了多种副产物原料的应用技术，摘要见表4。

玉米干酒糟及其可溶物（DDGS） 饲粮中添加 10%~30%的 DDGS，不影响生长、屠宰性能、能量和蛋白质的利用率；随饲粮 DDGS 添加量增加，肌肉脂质的氧化加速；DDGS 在仔鹅饲粮中适宜用量建议不高于 30%，其中，20%可获得较好经济效益^[16]。

木薯渣 22~49 d，饲粮中添加15%以下木薯渣不影响仔鹅生长，18%经济效益较好；50~70 d，饲粮中添加20%以下木薯渣不影响仔鹅生长，22%经济效益较好。当饲粮中木薯渣添加量为17.9%时肉鹅饲养中期经济效益最高，22.3%%时，后期经济效益最高^[17]。

表 4 几种高粗纤维副产物在中型鹅中的应用建议

原料	适宜量	最高量	使用注意事项
苜蓿	≤10%	20%	苜蓿饲粮可能不利于 CP 和粗脂肪代谢
稻壳	≤7%	15%	以大颗粒稻谷和稻壳的形式添加为宜
蚕沙	≤6%	8%	9%以上可能影响肉鹅的体重和体型
木薯渣	≤12%	18%	50~70 日龄添加量可提高至 22%
DDGS	≤20%	30%	较高水平的 DDGS 添加可能降低肉质
啤酒糟	≤22%	30%	最好使用干酒糟粉，注意防止霉变
小麦麸	≤5%	20%	不宜作为单一纤维源饲料使用
玉米淀粉渣	≤10%	20%	超过 30%时会影响粗蛋白质的代谢

蚕沙 蚕沙的能值较低，果胶含量较高。饲粮中蚕沙添加量不超过 6%时，仔鹅生长性能、屠宰性能、脏器指数和体格发育不受影响。当添加量达到 9%以上时，蚕沙降低了仔鹅的生长性能、影响了体格发育。在生产实践中仔鹅饲粮中蚕沙的添加量不宜超过 6%^[18]。

苕麻 在 35-77 日龄阶段，添加量在 3%-12%对生产性能可获得与对照组相同的生产性能而节省成本。当添加量达到 12%时，会降低仔鹅脏器指数、降低饲粮养分利用率，在饲养管理条件等外界环境因素较差时，“三麻”时期苕麻的添加量建议不高于 9%。饲粮中适量添加苕麻 6%~9%对仔鹅肌肉化学成分、物理性状没有不良影响，反而改善了肌肉嫩度、肉色，使蛋白含量增加，提升了肉品质质量^[19]。

稻壳 用高浓度的稻壳配制饲粮时，通过大豆油配平饲料能量，随着稻壳含量和粗纤维比例的增加（CF 可达 8%）生产性能得到提高^[3]。

玉米淀粉渣 在饲粮中添加玉米淀粉渣不超过 20 %时，能提高经济收益、降低造肉成本（每千克增重饲料成本），特别是添加水平 10 %时，经济效益最高^[20]。

苜蓿、黑麦草、小麦麸 将这三种高纤维饲料配合成14%~24%的含量，CF=6.9%，5~10周龄18%组（苜蓿、黑麦草、小麦麸含量分别为2.8%、4.8%、10.3%）生长性能最佳，从纤维组分的不同比例看，NDF/ADF 值在2.39~2.52之间，可获得较好的生长性能^[21]。在 5%~20%苜蓿草粉添加量对比中，适量牧草(10%苜蓿)有利于仔鹅早期生长（前5周），成活率的提高，饲料成本的节约和经济效益的提高^[22]。

c) 鹅补偿生长技术及其机制

采用稻壳稀释饲粮法对 28d 仔鹅进行限制，可以诱发后期的补偿性生长；早期体重、屠宰性能等出现的差异在后期逐渐减小，但早期的营养限制产生的机体变化差异可能延续到生长后期^[23]。仔鹅在饲养前期喂普通日粮，从 29d 限饲 1-2 周不会影响 70 日龄出栏体重、机体状况和肉品质^[23]。而对 160d 成年扬州鹅连续用稻壳稀释日粮 3 周，饲粮更换为正常的之

后 20%~60%稻壳稀释饲料的鹅都实现了补偿生长,并以 20%的最佳^[24]。补偿生长的机理可能是鹅通过增加采食低营养浓度饲料的绝对量和代偿性地增加消化器官的容量和相对重量来弥补配合饲料中降低的有效营养浓度^[24]。

d) 功能性饲料添加剂

本研究室还研究了部分功能性饲料添加剂,结果显示,包膜丁酸钠促进了小肠的发育和营养物质的吸收,扬州鹅仔鹅日粮适宜添加量 500 mg/kg^[25]。巨大芽孢杆菌可改善仔鹅生长性能、屠宰率、营养物质消化率,除臭效果明显,添加量为 60 mg/kg 时效果较好^[26]。壳聚糖可以改善扬州鹅生长性能,降低腹脂率,对其屠宰性能,以 500 mg/kg 效果最佳^[27]。壳聚糖能够通过影响肝脏脂肪代谢酶活性及脂代谢相关基因过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)等的表达,调控试验鹅血脂代谢,提高其生长性能,添加量以 250~500mg/kg 效果最佳^[28]。单独添加甜菜碱对仔鹅体重生长、饲料转化效率及屠体指标等没有显著作用,但蛋氨酸与甜菜碱互作更有利于促进仔鹅的骨骼发育,改善仔鹅的屠宰性能^[29]。

4 粗纤维的消化机制研究

试验表明,鹅对 CF 有最低需求^[3-4]。通过研究单一来源的粗饲料、多种粗纤维来源的饲料原料、单一的粗纤维成分(纤维素、果胶)等对中型鹅不同生长阶段的生产性能、消化道发育、肠道组织形态、内脏器官发育、激素、消化酶、食糜流通速率、微生物培养、高通量测序、代谢组分析等技术研究了粗纤维的作用机制。

粗纤维成分的消化 鹅能够消化利用一定量的 CF,且利用部分主要为半纤维素,对半纤维素、NDF、ADF 的代谢率分别可达79.6%、63.9%和15.6%。成年鹅对 CF 的消化利用率很大程度上受饲料日粮中纤维成分的影响,木质程度越高的牧草,其利用率越低^[22]。CF、NDF、半纤维素的表观利用率有随纤维素添加量的增加而下降的趋势。过高 CF 含量可降低磷的表观利用率^[1]。

不同粗纤维来源的原料 纤维来源可通过影响胃肠道生长发育、消化酶活性、微生物分布对养分利用率和生产性能产生一定的影响^[30]。在 CF 含量一致的情况下,混合纤维来源(苜蓿+黑麦草)的饲料生产性能优于单一纤维原料来源组^[5]。不同日粮组成影响鹅对 CF 等营养物质的消化利用率^[21]和生长激素的分泌,其中 18%牧草组合提高了血浆生长激素的含量达 42.86%^[31]。

粗纤维形态和添加量 整粒稻壳相对粉碎性稻壳可显著增加肌胃重量和十二指肠和空肠前段肠壁厚度,降低空肠重量和长度,故可以整粒稻谷(糙米+稻壳)的形式添加到仔鹅日粮中^[15]。牧草的添加量从 14%~24%对鹅肠粘膜均未造成明显的损伤^[21]。饲料 CF 含量显著影响了仔鹅对粗蛋白质和 CF 的利用率,在一定范围内,随着饲料 CF 含量的增加,鹅对粗蛋白质和 CF 的利用率增加^[3]。胃肠道表型是可逆的,随着饲料转变成稻壳稀释日粮再转换成基础日粮,胃肠道负荷发生对应变化,其表型也发生了可逆性的变化^[24]。

粗纤维的分解酶 在小肠（十二指肠、回肠、空肠）和盲肠中都检测到了半纤维素酶、纤维素酶和总脱氢酶活性，其中半纤维素酶活性十二指肠中最高；盲肠总脱氢酶活性盲肠中最高，但纤维素分解酶的酶活性很小^[21]。可以将半纤维素酶活性作为评判鹅消化 NDF 和 ADS 能力的一个新指标^[5]。

纤维素含量 纤维素为粗纤维的组成成分之一，饲料中含有一定量的纤维素有利于鹅的消化生理功能和生产性能的发挥。在基础饲料中添加适宜量的纤维素（3%或4.5%）可降低食糜 PH 值、提高采食量、体增重、改善饲料转化率、屠宰性能、胃肠道发育、胫骨长度和重量，降低食糜流通速率，有利于动物体的正常生长发育和较好的生产性能^[1]。添加适量的纤维素增加了仔鹅盲肠微生物的多样性^[4, 32]。

果胶含量 果胶为粗纤维的组成成分之一，饲料中果胶对仔鹅来说具有抗营养作用。饲料中添加1.5%和3.0%的果胶导致28~70日龄日增重下降，料比增加，胸肌率和腹脂率降低，3.0%的果胶提高了70日龄仔鹅的脾脏指数和腺胃指数，降低了法氏囊指数和胸腺指数并阻碍其生长发育。生产中，对于一些富含果胶的饲料原料，应当注意其使用量，伴随粗纤维含量和果胶含量增加，过量的果胶可能降低仔鹅的生长性能和健康^[33]。

食糜排空速度、采食量和肠道可塑性 大部分食糜通过消化的时间在 8~10 h。但当纤维素添加量为 3%时糜通过肠道的速度降低，而达到 6%时会加快食糜通过肠道的速度^[1]。饲料中的粗纤维水平一致的情况下，高比例的牧草（22%~24%）提高了前 4h 的食糜排空速度和排空比例。粗饲料在饲料中占比的提高加速了食糜的排空，而该速度的增加也降低了钙磷的利用率^[21]。成年鹅对饲料中的纤维浓度具有很强的适应能力，肠道具有可塑性，可以快速通过增减采食量以及增减肠道的长度、重量来适应饲料中营养物质的变化^[24]。

盲肠对粗纤维的消化 盲肠对 CF 具有一定的消化能力^[7]。切除盲肠后鹅对日粮中半纤维素、NDF、ADF 的代谢率降低^[22]，或对纤维消化率表现为一定的下降趋势^[7]。消化道整体对 NDF、ADF 和 ADS 的消化率不及盲肠对三者的累积消化率高，这可能是由于大部分食糜不进入盲肠而从泄殖腔中排出，虽然盲肠中的食糜虽然通过量少，纤维素分解酶活性低，但食糜在盲肠的留存时间长可能提高了 CF 的消化率^[5]。盲肠随生物发酵发展而影响 pH 值^[21]，后者可能也反过来影响 CF 的消化。盲肠中存在大量的纤维分解菌，可分泌纤维素分解酶对纤维的分解利用起了很重要的作用^[32]。

肠道微生物 通过16S rDNA 的 DGGE 图谱、高通量测序技术、DNA 特异性和共性条带割胶回收、克隆和测序，微生物培养、分离、鉴定和荧光定量 PCR 技术对不同发育阶段、不同饲料纤维水平、不同肠段的食糜内容物和肠道粘膜中的菌群结构进行了研究。研究显示回肠的可培养菌中没有发现与纤维分解相关的菌群，推测鹅的回肠不是鹅消化纤维的主要场所。而在盲肠中分离到15株产纤维素酶的菌，其中3株具有很强的分解纤维能力，说明盲肠对消化分解纤维起重要作用。回肠中没有 *Bacteroidetes* 而该菌属是盲肠微生物的重要组成部分总量位居第二。纤维水平对盲肠微生物有很大影响，纤维水平的增加显著增加了乳酸杆菌的

含量；CF 增加一定量时，可以抑制盲肠中大肠杆菌的数量，但是纤维水平过高，也会使大肠杆菌的含量增加。高水平 CF（约12%和20%）导致盲肠中出现多种分解纤维素和发酵碳水化合物化合物相关的菌，包括梭菌属细菌、密螺旋体、纤维单细胞菌属、拟杆菌属、真细菌属等。纤维水平过高（稻壳达40%，CF 含量约20%）导致梭菌 IV 含量显著提高^[32]。过低的 CF（2%）降低了仔鹅盲肠微生物的丰富度，且降低了有益菌的丰度，增加了有害菌的丰度^[3]。添加适量的纤维素增加了仔鹅盲肠微生物的多样性，增加了盲肠微生物区系中拟杆菌门、厚壁菌门、拟杆菌属、普雷沃菌属的相对丰度，降低了变形菌门的相对丰度^[4]。因鹅的肠道微生物在早期发育中不断变化，2周龄时各肠段微生物的多样性最丰富，到6周龄时相对稳定下来^[32]，不同的微生物种类和占比也将影响粗纤维的消化。

5 总结

营养需要量的研究和非常规饲料原料的营养价值评估，是鹅节约饲料资源和高效生产的重要技术支持。饲料中粗纤维的来源、含量、成分（纤维素、果胶等）、鹅的种类和发育阶段等因素，通过影响鹅激素和消化酶的分泌、食糜排空速度、肠道形态和结构、肠道微生物分布，直接或间接影响鹅对粗纤维本身的消化能力及配合饲料的能量和蛋白等营养成分利用率。但鹅对粗纤维的利用率不显著高于其他家禽，鹅对含高水平粗纤维的饲料的有效利用在于鹅可以通过增加消化道的容积、提高采食量和食糜排空速度来实现。鹅饲料的配制应遵循“低浓度、低容重”的理念，实施精准营养，多阶段精准控制。全封闭饲养条件下配制高水平粗纤维饲料或应用粗粒饲料原料时需要考虑钙磷等矿物元素的利用率。

6 主要参考文献

- [1]张亚俊. 纤维水平对仔鹅生产性能、消化道发育及养分利用的影响[D].扬州大学,2008.
- [2]谢燕娟. 低粗纤维饲料对仔鹅生长发育及盲肠微生物的影响[D].扬州大学,2016.
- [3]刘慧军. 饲料粗纤维含量对仔鹅生长、胃肠道发育及肠道微生物的影响[D].扬州大学,2018.
- [4]李彦品. 饲料粗纤维水平对仔鹅生产性能、养分利用率及盲肠微生物区系的影响[D].扬州大学,2017.
- [5]陈五湖. 扬州鹅对来源不同的日粮纤维消化利用研究[D].扬州大学,2006.
- [6]史永军. 去盲肠及两种内源氨基酸校正方法对鹅饲料氨基酸消化率测定影响的研究[D].扬州大学,2006.
- [7]蒋银屏. 去盲肠对鹅饲料养分利用率的影响[D].扬州大学,2013.
- [8]盛东峰,王志跃,汪张贵,范刚. 鹅代谢试验适宜强饲量的研究[J].中国饲料,2005(02):19-21.
- [9]盛东峰,王志跃,范刚,汪张贵. 鹅真代谢能测定法适宜绝食排空期与排泄物收集期的研究[J]. 中国草食动物,2006(05):7-10.
- [10]盛东峰. 鹅代谢能生物学评定方法的研究[D].扬州大学,2005.
- [11]盛东峰,王志跃. 鹅对几种原料代谢能值的测定[J].中国饲料,2006(10):12-13+16.
- [12]盛东峰,王志跃. 鹅对六种常见原料的代谢能值及部分营养成分利用研究[J]. 中国家

禽,2006(24):112-115.

[13]孔祥玲. 整粒玉米日粮对仔鹅生长性能和消化机能的影响[D].扬州大学,2009.

[14]李文增. 不同稻谷、稻壳形态日粮对仔鹅生长性能和消化道发育的影响[D].扬州大学,2010.

[15]李文增. 不同稻谷、稻壳形态日粮对仔鹅生长性能和消化道发育的影响[D].扬州大学,2010.

[16]李小娟. 饲料不同 DDGS 水平对仔鹅生长性能、屠宰性能和肉品质的影响[D].扬州大学,2012.

[17]张芬芬. 木薯渣的营养价值评定及其在不同阶段仔鹅饲料中适宜添加量的研究[D].扬州大学,2015.

[18]张得才. 蚕沙的营养价值评定及其在仔鹅饲料中的应用研究[D].扬州大学,2015.

[19]靳世磊. 苧麻的营养价值评定及其在仔鹅饲料中的应用[D].扬州大学,2016.

[20]丁文骏. 玉米淀粉渣的营养价值评定及其在仔鹅饲料中的应用研究[D].扬州大学,2016.

[21]周秀丽. 日粮中苜蓿、黑麦草和小麦麸含量对仔鹅生产性能及消化生理影响的研究[D].扬州大学,2004.

[22]王健. 扬州鹅对日粮纤维消化利用的研究[D].扬州大学,2002.

[23]江栋材. 早期饲喂稻壳稀释饲料对仔鹅生长发育的影响[D].扬州大学,2015.

[24]卢建. 稻壳稀释日粮及其转换对鹅胃肠道可塑性的影响[D].扬州大学,2010.

[25]蔡凤仙. 丁酸钠对扬州鹅生长性能和消化道内环境的影响[D].扬州大学,2012.

[26]蔡中梅. 饲料中添加巨大芽孢杆菌制剂对仔鹅生产性能、养分利用及肠道菌群的影响[D].扬州大学,2016.

[27]赵悦. 饲料添加壳聚糖对仔鹅生产性能、肠道微生物组成的影响[D].扬州大学,2018.

[28]盛东峰,赵悦,胥蕾,杨海明,王杏龙,王志跃. 日粮添加壳聚糖对鹅生长性能、血脂及脂代谢相关基因表达的影响[J]. 中国农业大学学报,2018,23(04):60-68.

[29]杨芷,王志跃,杨海明,俞淑清,孔令琳. 饲料添加蛋氨酸与甜菜碱对仔鹅生长性能和屠宰性能交互作用研究[J]. 安徽农业大学学报,2016,43(04):520-528.

[30]朱晓春. 两种纤维源饲料对仔鹅生产性能和消化生理的影响[D].扬州大学,2014.

[31]陈伟亮. 雏鹅卵黄囊营养及 0~3 周龄适宜能量、蛋白质水平的研究[D].扬州大学,2003.

[32]刘蓓一. 扬州鹅肠道微生物多样性及其受饲料纤维水平的调控研究[D].扬州大学,2012.

[33]赵凤至. 饲料中果胶对仔鹅生产性能、养分利用率及肠道微生物区系的影响[D].扬州大学,2018.

辣木作为新型饲料在反刍动物营养和日粮的应用技术

张婷婷 刁其玉¹⁹

(中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081)

摘 要: 辣木是一种未经充分开发的多功能树种, 具有产量高、抗逆性强、适应性广以及营养丰富等特点。辣木富含植物蛋白质、膳食纤维、维生素和矿物质等多种营养元素。辣木粗蛋白水平为 25%-30%, 中性洗涤纤维含量为 48%-63%, 酸性洗涤纤维含量为 28%-46%, 干物质含量为 89%左右, 其常规营养成分和苜蓿接近, 是反刍动物优质的粗饲料来源。本文综述了辣木的生物学特性、瘤胃降解特性以及辣木在反刍动物上的应用效果, 旨在为辣木作为反刍动物饲料的研究与开发提供参考。

关键词: 辣木; 饲料; 反刍动物; 肉品质; 奶品质

辣木 (*Moringaoleifera Lam*) 原产于印度北部, 含有丰富的蛋白质、维生素、氨基酸、矿物质及药物生物活性物质, 被誉为“植物中的钻石”^[1]。目前, 已有 30 多个国家对辣木进行引种栽培, 我国也从印度、缅甸等地引进种子和栽培技术, 在广东、广西、海南、四川和云南等地大规模种植, 已形成了规模化的原料种植基地^[2]。辣木的叶片、嫩荚、嫩芽、花朵、嫩茎和根均可食用, 其富含多种矿物质、维生素和药理活性成分, 是药食同源的植物, 其营养价值和药用价值已被广泛证实并正被开发利用^[3]。辣木叶粗蛋白质 (CP) 含量约为 27%^[4], 高于优质苜蓿 (20%); 辣木嫩枝的 CP 含量为 7.2%^[5], 接近羊草; 辣木茎的 CP 含量为 5.26%^[6], 与秸秆相近。同时, 辣木产量高, 鲜重年产量约为 126t/hm²^[7]; 干重年产量约为 10.4-24.7t/hm²^[8]; 辣木耐干旱, 可在贫瘠地区生存, 是一种不与粮食争土地的资源^[9]。所以可将辣木叶、枝、茎作为粗饲料开发利用, 充分利用辣木叶、枝、茎作为饲料资源, 可一定程度上减缓我国, 特别是干旱地区牧草短缺问题, 为开拓木本植物资源提供参考。为此, 本文就辣木常规营养成分、瘤胃降解特性以及在反刍动物上的应用效果等内容进行综述, 旨在为其作为反刍动物新型饲料的广泛推广与应用提供理论参考, 以促进我国畜牧业的健康可持续发展。

1、辣木的营养成分

辣木富含植物蛋白质、膳食纤维、维生素和矿物质等多种营养元素。国内外相关研究表明, 辣木所含钙和蛋白质含量分别为牛奶的 4 倍和 2 倍、钾是香蕉的 3 倍、铁是菠菜的 3 倍、维生素 C 是柳橙的 7 倍、维生素 A 是胡萝卜的 4 倍, 其营养价值与现代营养学家称为“人类营养的微型宝库”的螺旋藻相当。张婷婷 (2018)^[10]研究了辣木不同部位的常规营养成分、脂肪酸和氨基酸的组成, 研究可得, 辣木叶、辣木枝和辣木茎的粗蛋白、粗脂肪、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维等营养成分均存在较大差异; 其中, 三个部位中粗蛋白含量最高的为辣

基金项目: 中国农业科学院农业创新工程“奶牛绿色提质增效技术集成生产模式研究与示范项目”

作者简介: 张婷婷 (1985-), 女, 山东济南人, 博士, 主要从事反刍动物营养研究。

E-mail: zhangtingting01@caas.cn

通讯作者: 刁其玉, 研究员, 博士生导师, E-mail: diaoqiuyu@caas.cn

木叶, 高达 $253 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$, 其次为枝和茎, 二者粗蛋白含量均低于 $100 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$ 。辣木中粗脂肪含量的趋势和粗蛋白一致, 由大到小依次为辣木叶、辣木枝和辣木茎; 粗灰分含量, 以辣木叶中最高, 辣木枝和辣木茎含量相似; 辣木枝和辣木茎中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的含量远远大于辣木叶, 其中辣木枝和辣木茎分别为 630 和 $820 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$, 辣木叶为 $484 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$; 三个部位中脂肪酸含量最高的为辣木叶, 辣木枝次之, 辣木茎含量最少。辣木叶含量最高的为亚麻酸、软脂酸和亚油酸, 含量分别为: 6.53 、 6.11 和 $2.16 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$; 辣木枝含量最高的为软脂酸、亚油酸和油酸, 含量分别为: 1.38 、 0.76 和 $0.43 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$; 辣木茎含量最高的为软脂酸、亚油酸和油酸, 含量分别为: 0.87 、 0.59 和 $0.30 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$; 三个部位中氨基酸含量最高的为辣木叶, 其次为枝和茎。并且三个部位的氨基酸组成差异较大, 辣木叶含量最高的为谷氨酸、天冬氨酸和蛋氨酸, 含量分别为: 25.7 、 20.1 和 $17.9 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$, 含量最低的为精氨酸、色氨酸和赖氨酸, 含量分别为: 3.34 、 2.88 和 $2.54 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$; 辣木枝含量最高的为谷氨酸、脯氨酸和天冬氨酸, 含量分别为: 7.67 、 6.67 和 $5.54 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$, 含量最低的为半胱氨酸、蛋氨酸和酪氨酸, 含量分别为: 0.67 、 0.56 和 $0.44 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$; 辣木茎含量最高的为谷氨酸、脯氨酸和天冬氨酸, 含量分别为: 7.27 、 6.15 和 $5.03 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$, 含量最低的为半胱氨酸、蛋氨酸、酪氨酸和色氨酸, 含量分别为: 0.56 、 0.56 、 0.34 和 $0.34 \text{ g kg}^{-1}\text{DM}$ 。

2、辣木瘤胃降解率

李媛等^[11]研究了辣木不同部位在奶牛瘤胃中的降解特性, 研究发现辣木干物质、有机物在瘤胃内的降解率和降解参数变化趋势相近, 48h 达到降解平台期, 但不同部位的降解率差异较大; 辣木各部位干物质和有机物的有效降解率差异显著, 叶、枝、茎的有效降解率依次降低。辣木叶粗蛋白的 96h 降解率高达 90.86% , 较辣木茎和枝分别高 22.84% 、 38.92% ; 三者粗蛋白的有效降解率依次降低, 但粗蛋白的有效降解率明显高于干物质和有机物; 辣木叶、枝、茎 NDF 的 96h 瘤胃降解率依次降低, 分别为 50.55% 、 27.11% 、 16.24% ; 辣木叶的 NDF、ADF 的有效降解率均显著高于辣木枝和辣木茎。从瘤胃降解特性来看, 辣木三个部位的营养价值依次为辣木叶>辣木枝>辣木茎。张婷婷等^[12]研究了辣木不同部位在肉牛瘤胃中的降解特性, 研究发现辣木各部位在肉牛瘤胃中降解特性和奶牛基本一致, 各营养成分均瘤胃降解率均为辣木叶>辣木枝>辣木茎。所以, 辣木用于反刍动物饲料时, 建议单独饲喂辣木叶, 辣木枝混合营养含量高的饲料饲喂, 不建议将辣木茎直接作为反刍动物饲料。

3、辣木在奶牛饲料中的应用

辣木叶粉作为低质草料的蛋白质补充料, 不仅可以提高奶牛干物质采食量、养分消化率及牛奶产量, 且不影响牛奶品质, 还可降低饲喂成本。Mendieta-Araica 等^[13]和 Sarwatt 等^[14]均证明了辣木叶粉作为低质草料的蛋白质补充料的可行性。Mendieta-Araica 等^[13]用辣木叶粉替代奶牛混合精料中的豆粕, 发现营养物质的消化率除蛋白质消化吸收率显著降低外, 其余均无显著差异, 牛奶品质也未受到影响, 由此可得, 辣木叶粉在等能量等蛋白质基础上可替代豆粕作为奶牛饲粮中的蛋白质源; Sarwatt 等^[14]报道辣木叶粉可有效部分替代奶牛饲粮

中的棉籽粕，还可提高牛奶产量，两者最佳配比为 40（辣木叶粉）：60（棉籽粕）。Nadir 等^[15]在臂形草基础饲粮中分别加入 2、3kg 辣木叶粉后，干物质采食量由 8.5kg/d 相应增加到 10.2 和 11.0kg/d，干物质、有机物、粗蛋白质、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维的表观消化率及牛奶产量均显著提高。同时，Reyes 等^[16]用辣木饲喂奶牛，研究了辣木对奶牛产奶量、奶品质和对饲料消化吸收率的影响，结果显示，辣木可以提高奶牛的干物质采食量和产奶量，对牛奶品质没有显著影响。辣木叶粉作为低质草料的蛋白质补充料在反刍动物上研究较多，然而辣木枝茎是否可用于反刍动物粗饲料研究较少，张婷婷^[10]在 2018 年研究了在奶牛饲料中添加辣木枝茎的可行性，结果发现，在奶牛饲料中添加辣木枝茎可以提高奶牛的产奶量，对乳脂、乳蛋白以及乳糖均无显著影响，但是显著降低了乳中体细胞数，同时改善了牛奶中脂肪酸的组成，提高了不饱和脂肪酸的比例，降低了饱和脂肪酸的比例，辣木在奶牛饲料中最适添加比例为 6%，由此可见，辣木叶粉和辣木枝茎均可作为饲料用于奶牛生产，辣木枝茎在改善奶牛生产性能的同时，还可以改善奶品质。

4、辣木在肉牛饲料中的应用

辣木应用于肉牛养殖的研究报道较少，张婷婷^[10]在 2018 年研究了在肉牛饲料中添加辣木枝茎的可行性，结果发现，在肉牛饲料中添加辣木枝茎可以提高肉牛的日增重，降低料肉比，对肉牛屠宰率无显著影响，对肉 pH、肉色、滴水损失以及蒸煮损失等肉品质指标也没有显著影响，但是显著影响了肉中的脂肪酸组成，显著提高了不饱和脂肪酸和 n-3 脂肪酸的含量，降低了饱和脂肪酸的含量，对牛肉氨基酸的组成无显著影响；同时，研究得出，辣木在肉牛饲料中最适添加量为 6%。由此可见，辣木枝茎可作为粗饲料用于肉牛生产，辣木枝茎在改善肉牛生产性能的同时，还可以改善肉品质。

5、辣木在羊饲料中的应用

辣木在养羊生产中的研究多集中在辣木鲜叶和辣木叶粉。Aregheore^[17]将不同比例辣木鲜叶与芒鸭嘴草混合饲喂肥育山羊，结果显示，添加 20%和 50%的辣木鲜叶显著提高了山羊的平均日增重、干物质采食量以及粗蛋白质和中性洗涤纤维的消化率。和辣木鲜叶相比，辣木叶粉饲喂山羊同样也取得了较好的效果。Busani 等^[18]在等能量等蛋白质的日粮中，将辣木叶粉部分替代葵花籽粕饲喂山羊，结果发现，辣木叶粉明显改善了山羊的生长性能，同时显著提高了山羊的胴体品质。Sarwatt 等^[14]在此基础上研究了不同比例辣木叶粉替代葵花籽粕的饲喂效果，结果发现干物质、中性洗涤纤维的消化率随辣木叶粉替代比例的增加而升高，且干物质采食量和代谢能在替代比例为 75%时最佳。Akinyemi 等^[19]将辣木叶粉添加到天竺草饲粮中饲喂绵羊，结果发现，辣木叶粉不仅能提高干物质采食量、平均日增重、养分消化率等，还可改善羊的血液生理生化指标，辣木叶粉在此研究中最适添加比例为 25%。除此之外，辣木不仅可作为多种饲粮的蛋白质补充料还可直接作为饲料原料用作动物生产，Akinyemi 等^[19]研究了用 100%辣木叶粉饲喂绵羊，结果显示与对照组相比，辣木组干物质、有机物、粗蛋白质、中性洗涤纤维的消化率均显著升高。Asaolu 等^[20]用辣木叶粉、银合欢

叶和鼠豆叶作对比试验证实了辣木叶粉作为单一饲粮的可行性，试验发现，饲喂 100%辣木叶粉组的山羊氮的消化率和饲料相对营养价值最高。由此可见，辣木叶粉和辣木鲜叶均可作为饲料用于养羊生产。

6、辣木加工利用技术

辣木最初主要以鲜叶形式作为动物饲粮的蛋白质补充料，但是以鲜叶直接饲喂奶牛会影响牛奶风味。为了消除辣木鲜叶对牛奶风味的影响以及方便储存，人们把鲜辣木叶晒干或烘干，制成辣木叶粉饲喂动物。Mendieta-Araica 等^[13]把辣木叶进行青贮，研究了辣木叶青贮的最佳条件以及营养成分的变化，把辣木叶进行青贮，不仅降低了其抗营养因子的含量，同时提高了消化率，是辣木加工利用的有效手段之一。为提高辣木的适口性以及降低抗营养因子的含量，Dongmeza 等^[21]用 80%乙醇萃取辣木叶粉后发现此方法不仅可去除大部分抗营养因子还可大幅度提高粗蛋白质含量，但溶剂萃取法成本较高，且容易对辣木造成化学污染，难以向农户推广。在此基础上由 Nazael^[22]所开发的水提法可降低成本，且与溶剂萃取法的效果相似。具体步骤如下：先将辣木叶与水以 1: 1 的比例在水槽中浸泡一整夜，去除皂苷等抗营养因子，然后将浸泡后的叶片在金属网上将水控干后于阴凉处晾干，以免维生素物质因暴晒流失，晾干后用粉碎机将辣木叶制成辣木叶粉，装入塑料袋贮存于室温。经查阅文献，辣木作为饲料产品的加工报道较少，需做进一步研究以达到更好的利用效果。

7、小结

综上所述，开发新型木本饲料可有效解决我国饲草资源匮乏的问题。辣木因其高产、速生、多功能且符合优质木本饲料标准，在国外已被广泛应用于反刍动物的饲料中，其作为反刍动物饲料均能显著奶牛、肉牛、羊的总增重、平均日增重及饲料转化率，进而提高了畜禽的生长速度，缩短了出栏时间，降低饲喂成本；同时，辣木还有利于改善肌肉脂肪酸的含量，肉品质和奶品质明显改善。因此，辣木饲料开发与应用既可提高畜禽动物产品的产量和品质，又能缓解饲草资源紧缺的现状。现阶段，为了充分利用辣木这一生物资源，应扩大辣木不同地区的生态适应性，大范围推广种植辣木，制定辣木饲料的产品加工标准化加工方案，有针对性地开发辣木专用饲料，以促进辣木作为一种多功能性植物的规模化应用。

参考文献

- [1] 张德，龙会英，郑益兴，等. 不同种植密度和栽培管理对辣木农艺性状的影响[J]. 西南农业学报，2014，27（5）：1870-1873.
- [2] 段琼芬，刘飞，罗金岳，等. 辣木籽油的超临界 CO₂ 萃取及其化学成分分析[J]. 中国油脂，2010，35（2）：76-79.
- [3] 张燕平，段琼芬，苏建荣. 辣木的开发与利用 [J]. 热带农业科学，2004，24(4):42-48.
- [4] LIU C F, Li G H. Nutritional Value of Drumstick Tree Leaves[J]. Tropical Agricultural Science & Technology, 2004, 27(1): 4-7.

- [5] YAN W L, REN A X, LI H M, et al. Study on the Determination of Main Nutritional Components in the Peduncle Powder of *Moringa oleifera* and Its Effects on the Growth of Broilers[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(18): 7644-7645.
- [6] YANG D S, FAN J L, Shao J L, et al. Comparative Analysis of Nutritional Components and Amino Acid Composition of Different Parts of *Moringa oleifera* Lam[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2015, 43(9): 1110-1115.
- [7] ABDULKARIM S M, LONG K, LAI O M, et al. Frying Quality and Stability of High-Oleic *Moringa Oleifera* Seed Oil in Comparison with Other Vegetable Oils[J]. Food Chemistry, 2007, 105(4): 1382-1389.
- [8] SÁNCHEZ N R, LEDIN S, LEDIN I. Biomass Production and Chemical Composition of *Moringa Oleifera* Under Different Management Regimes in Nicaragua[J]. Agroforestry Systems, 2006, 66(3): 231-242.
- [9] 罗云霞, 陆斌, 石卓功. 辣木的特性与价值及其在云南引种发展的景况[J]. 西部林业科学. 2006, 35(4): 137-140.
- [10] 张婷婷. 辣木对牛与猪饲用价值及畜产品品质影响的研究[J]. 中国农业科学院博士后出站报告. 2018.
- [11] 李媛, 刁其玉, 孔路欣, 张婷婷, 张博, 周朝龙, 屠焰. 辣木在奶牛瘤胃中的降解特性研究 [J]. 草业学报. 2017, 26(10): 140-148.
- [12] 张婷婷, 张博, 李媛, 司丙文, 屠焰, 周朝龙, 刁其玉. 辣木在肉牛瘤胃中的降解特性研究 [J]. 粮食与饲料工业. 2017, 11(8): 43-48.
- [13] MENDIETA-ARIICA B, SPÖRNDLY E, REYES-SÁNCHEZ N and SPÖRNDLY R, Feeding *Moringa oleifera* fresh or ensiled to dairy cows-effects on milk yield and milk flavor[J]. Tropical Animal Health and Production, 2011, 43: 1039-1047.
- [14] SARWATT, S., MILANG'HA, M., LEKULE, F., MADALLA, N. *Moringa oleifera* and cottonseed cake as supplements for small holder dairy cows fed Napiergrass[J]. Livestock Research for Rural Development, 2004, 16: 6.
- [15] NADIR, R S, EVA, S, INGER, L. Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition[J]. Livestock Science, 2006, 10 (1): 24-31.
- [16] REYES-SÁNCHEZ, N., SPÖRNDLY, E, LEDIN, I. 2006. Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition [J]. Livestock Science, 101: 24-31.
- [17] AREGHEORE E M, Intake and digestibility of *Moringa oleifera*-batiki grass mixtures by growing goats[J]. Small Ruminant Research, 2001, 46: 23-28.

- [18] BUSANI, M, PATRICK, J, MASIKA, V M. Effect of supplementing crossbred Xhosa lop-eared goatcastrates with *Moringaoleifera* leaves on growth performance, carcass and non-carcass characteristics [J]. Tropical Animal Health and Production, 2012, 44: 801-809.
- [19] AKINYEMI A. F., JULIUS A A, ADEBOWALE N F. Digestibility, nitrogen balance and haematological profile of West African dwarf sheep fed dietary levels of *Moringa oleifera* as supplement to *Panicum maximum*[J]. Journal of American Science, 2010, 6 (10):634-643.
- [20] ASAOLU V O, ODEYINKA S M, AKINBAMIJO O O. Effects of moringa and bamboo leaves on groundnut hay utilization by West African dwarf goats[J]. Livestock Research for Rural Development, 2010, 22, [http://www. Irrd. Cipav. Org, co/Irrd22/I/asao22012.htm](http://www.Irrd.Cipav.Org/co/Irrd22/I/asao22012.htm).
- [21] DONGMEZA E, SIDDHURAJU P, FRANCIS G., Effects of dehydrated methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves and three of its fractions on growth performance and feed nutrient assimilation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Aquaculture, 2006, 261: 407-422.
- [22] NAZAEL M., Novel feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Doctoral thesis. Scotland: University of Stirling Scotlang, 2008.

植物提取物对反刍动物瘤胃发酵的调控作用及其机制

张 华¹ 蒋林树^{20*}

(1.奶牛营养学北京市重点实验室, 北京农学院动物科学技术学院, 北京 1022062)

摘 要: 抗生素作为一种瘤胃发酵调控剂所带来的负面作用已引起了人们的广泛关注。植物提取物不但具有调控反刍动物瘤胃发酵模式、提高氮存留率、减少CH₄排放等功能, 而且因其低毒副作用及其所具有的天然性、营养性和生物活性等特性, 已成为抗生素的理想替代品之一。本文综述了植物提取物对反刍动物瘤胃发酵调控作用及其机制的最新研究进展, 以期对今后该领域的研究及产品研发提供参考依据。

关键词: 植物提取物; 瘤胃发酵; 调控

反刍动物瘤胃是一个复杂的厌氧发酵体系, 瘤胃微生物与其建立了一种共生关系。瘤胃为微生物发酵提供营养和适宜的环境条件, 而微生物降解纤维及合成微生物蛋白又为反刍动物供应能量和蛋白质。与此同时, 发酵过程中也伴随着能量的损失以及二氧化碳(CO₂)和甲烷(CH₄)等有害气体的产生。因此, 合理调控反刍动物的瘤胃发酵已引起了动物营养学家们的日益关注。目前调控瘤胃发酵的主要方式有合理饲喂、改善饲料组成及其加工处理、使用饲料添加剂等。饲料添加剂调控主要以添加抗生素等药物的方式进行, 但使用抗生素所造成的药物残留问题日益严重^[1], 药物残留不仅对环境造成污染, 还会危及人类健康。因此, 寻找合适的抗生素替代品已迫在眉睫^[2]。

植物提取物是以植物为原料, 经过一系列物理化学加工过程, 得到的含有一种或多种有效成分的混合物, 因其低毒副作用及其所具有的天然性、营养性和生物活性等特性已受到从业者的高度重视。近年来的研究表明, 植物提取物对瘤胃发酵具有一定的调控作用。某些植物提取物可以改变瘤胃发酵模式, 从而降低瘤胃蛋白的降解率, 减少CH₄气体的排放^[3]。

目前, 植物提取物对瘤胃发酵调控的研究主要集中在减少CH₄气体的排放、改善瘤胃发酵模式、降低蛋白质的瘤胃降解率等方面^[4-5]。现就植物提取物在瘤胃发酵调控作用及其机制等方面的研究进展作一综述, 为其在反刍动物营养上的应用提供参考。

1 植物提取物对挥发性脂肪酸的影响

挥发性脂肪酸(Volatile fatty acids, VFA)是日粮中碳水化合物在瘤胃中降解的主要产物, 是反刍动物主要的能量来源及合成乳脂肪和体脂的原料。VFA所提供的瘤胃可发酵能量占到日粮可消化能的60%以上, 可见VFA在反刍动物能量代谢中的重要地位。

近年来, 只有少数研究证明了添加植物提取物提高了瘤胃VFA的浓度。吴端钦^[6]利用体外产气法研究发现, 向精粗比为30:70的日粮中添加5%和10%的亚麻籽油, 试验组VFA含量

基金项目: 国家自然科学基金项目(31772629; 31702302); 2015 年大北农青年教师科研基金; 2016 年北京农学院青年教师科研基金; 2017 年北京市教委科技计划项目(SQKM201710020011); “十三五”国家重大科技专项(2016YFD0700201); 北京市农业局北京市现代农业产业技术体系奶牛创新团队。

第一作者简介: 张华(1986-), 男, 山东泰安人, 讲师, 博士; 主要研究方向: 临床兽医学。手机: 18810589234; E-mail: huazhang0914@163.com;

*通讯作者: 蒋林树, 教授, 博士生导师, E-mail: kjxnb@vip.sina.com.

显著增加 ($P<0.01$)，乙酸比例显著降低 ($P<0.01$)，丙酸比例显著升高 ($P<0.01$)，乙丙比显著降低 ($P<0.01$)。Mao等^[7]在断奶山羊日粮中分别添加茶叶皂苷 (0或3 g/d) 和豆油 (0或3%DM)，结果表明，所有处理组的VFA生成量显著升高 ($P<0.05$)。Pilajun^[8]向瘦管水牛的日粮中以30 g/kg (DM) 的水平添加山竹果皮提取物，结果添加组VFA浓度显著提高 ($P<0.05$)。Mateos^[9]研究发现，向精粗比为50:50的日粮中以180 mg/L的水平添加肉桂醛，与对照组相比，处理组VFA的浓度及乙酸比例显著提高。

然而在多数的研究中，添加植物提取物可导致VFA浓度下降或者没有影响。史浩亭等^[10]利用人工瘤胃技术研究发现，向日粮中分别添加1%、2%、3%、4% (DM) 的苏子油，对VFA无显著影响 ($P>0.05$)。梁贤威等^[11]向泌乳水牛中添加精料饲喂量的4%的葵花籽油、茶油及其组合，降低了瘤胃液VFA的浓度，但差异不显著 ($P>0.05$)。Thao等^[12]向自由采食的水牛中以2 mL/d的量添加桉树油，结果表明VFA的浓度没有改变，乙酸的比例降低，丙酸的摩尔比升高。Khorrami等^[13]向荷斯坦奶牛的基础日粮中添加植物提取物活性成分百里酚和肉桂醛，饲养21天后发现对VFA的浓度、乙酸以及丁酸的比例没有影响 ($P>0.05$)。Benhissi等^[14]利用批次培养技术研究发现，向日粮中添加2% (DM) 富含单宁的植物提取物，发酵24 h后对VFA的浓度没有显著影响。

虽然大量的研究表明植物提取物降低了瘤胃VFA的浓度或对其没有影响，但却可改变各VFA的摩尔比。McMurphy等^[15]报道了在16头小公牛的日粮中添加皂苷可提高乙酸和丙酸的浓度。金哲勇等^[16]向延边黄牛的基础日粮中以475 g/d的剂量添加胡麻油，降低了乙酸的比例，提高了丙酸的比例。降低乙酸:丙酸的比例是植物提取物改善瘤胃VFA组成的正效应，但并不是所有的植物提取物都能正向改善瘤胃VFA组成。Castillejos等^[17]报道了日粮中添加丁香酚 (500 mg/L) 减少了丙酸的比例，而没有影响总的VFA浓度。Busquet等^[18]报道大蒜油 (300和3000 mg/L) 和水杨酸苄酯 (300和3000 mg/L) 减少了乙酸的比例，提高了丙酸和丁酸的比例。添加一些植物提取物或其活性成分可导致丁酸浓度的提高，这表明这些成分的作用方式不同于莫能菌素。

然而，体外研究的结果与体内的研究结果并不一致^[19]。在体外应用的植物提取物添加剂量远远大于机体生理上可接受的使用比例。根据 Meta-分析，体外的植物提取物添加剂量范围为0.03~500 g/kg日粮^[5]，而用于体内研究的剂量范围为：小型反刍动物的剂量范围为0.02~0.75 g/kg，肉用牛的剂量为0.04~0.25 g/kg，奶牛的剂量为0.01~0.43 g/kg日粮^[4]。Khiaosa-ard和Zebeli^[4]研究发现，与奶牛相比，植物提取物能更有效地降低小型反刍动物和肉牛的乙酸、氨浓度和甲烷的产生。例如，大蒜油 (500 mg/kg日粮) 可显著降低羊瘤胃中的氨浓度而增加丙酸的含量^[20]，但却对奶牛无影响 (250 mg/kg日粮)^[21]。辣椒素 (13~60 mg/kg日粮) 可降低肉牛瘤胃内乙酸的浓度^[22]，而对奶牛的瘤胃发酵过程中无影响 (9~38 mg/kg日粮)^[23]。

瘤胃微生物对所添加的植物提取物有一个适应性反应,这种反应对发展植物提取物作为添加剂的长效效应是一个挑战,尤其是添加剂量低的植物提取物。Busquet等^[24]利用24 h的批次培养探究了添加大蒜油对体外瘤胃微生物发酵的影响,当添加剂量为300 mg/L时,降低了VFA的浓度。在后续连续培养试验中,大蒜油的添加剂量增至312 mg/L时却对VFA的浓度没有影响。Cardozo等^[25]在连续培养中添加肉桂醛、大蒜和茴香油(7.5 mg/kg DM),试验前六天可改变VFA的比例,之后对VFA的比例没有影响。这些研究是微生物菌群能够适应植物提取物的强有力证据,目前也是商业上开发植物提取物作为饲料添加剂的一个挑战。

2 植物提取物对瘤胃氮代谢的影响

反刍动物和瘤胃微生物区系之间的共生关系使反刍动物能够利用非蛋白氮作为氮源来合成微生物蛋白(Microbial protein, MCP),MCP为宿主提供了极好的氨基酸资源用以合成牛奶和肉中的蛋白质。然而,对于高产反刍动物来说,瘤胃MCP的合成量并不能满足其需求。所以通常需要在日粮中增加饲料蛋白的供给,但这会增加饲料成本。而且反刍动物对氮的低效利用会使丰富的氮源流入环境进而造成一定的环境污染。因此,提高氮的利用率无论是对反刍动物自身还是环境都是非常有利的。

目前有很多研究旨在判断植物提取物及其活性成分对瘤胃氮代谢的影响。张双双^[26]向32头泌乳奶牛日粮中添加葵花籽油、茶油以及混合油,结果表明与对照组相比,所有加油组均显著降低了氨态氮($\text{NH}_3\text{-N}$)浓度($P<0.05$)。Wanapat等^[27]向沼泽型水牛日粮中添加6% (DM)的椰子油和葵花籽油的混合油,与对照组相比,试验组通过抑制瘤胃蛋白的降解降低了 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度($P<0.05$)。但也有一些研究表明植物提取物没有改变瘤胃的氮代谢或者升高了 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的浓度。Kongmun等^[28]研究报道,向水牛日粮中添加7%的椰子油对瘤胃液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度没有影响($P>0.05$)。崔振亮等^[29]利用体外产气法,分别向瘤胃液中添加0.01%、0.1%和1%的植物蜕皮甾酮,结果表明各剂量组均提高了 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度,但差异不显著($P>0.05$)。一般将 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度作为评价瘤胃中氮存留率的一个重要指标, $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的降低意味着瘤胃中蛋白降解率的降低或者瘤胃微生物对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 利用率的提高。植物提取物对瘤胃发酵产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的调控作用受其化学结构和添加剂量的影响。Jahani-Azizabadi等^[30]利用体外产气法,向精粗比为1:1的日粮中添加140和280 $\mu\text{L/L}$ 的肉桂醛、百里酚,结果发现只有百里酚减少了 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度,肉桂醛对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度没有影响。Busquet等^[31]利用体外发酵技术观察到一些植物提取物及其主要成分在高浓度时可降低 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度,并且以300 mg/L为产生影响的临界添加水平,当添加剂量较低时(3 mg/L)则无影响。这些研究表明了植物提取物对瘤胃氮代谢的影响与其化学结构和添加剂量有关。

早期Borchers^[32]向含有酪蛋白的瘤胃液中添加百里酚(1 g/L)发现氨基酸的累积以及 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的下降,表明了氨基酸的去氨基作用受到抑制。McIntosh等^[33]进一步利用体外批次培养技术来发酵酪蛋白和瘤胃液,其中瘤胃液取自每天向其日粮中添加1 g混合植物油的奶牛,结果发现氨基酸的去氨基作用被减少了9%。这些研究表明瘤胃液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的降低可能是添加植物提取物抑制了氨基酸的去氨基作用。Wallace等^[34]报道在羊的日粮中每天

增补100 mg混合植物油可使高产氨菌减少77%。Michael和Flythe等^[35]进一步用富含可溶性的酚类物质的红花苜蓿来探究其对瘤胃蛋白质代谢的影响,结果表明高产氨菌活性受到抑制,这可能是氨基酸去氨基作用受到抑制的原因。

NH₃-N浓度下降的另一种机制可能是植物提取物发挥了趋原虫作用,瘤胃原虫可分泌脱氨酶来降解饲料中的蛋白生成NH₃-N,但其自身并不能利用NH₃-N来合成自身需要的蛋白质,并且原虫可吞噬和消化大量的菌体蛋白,从而使进入十二指肠的微生物蛋白的数量减少,原虫也会影响蛋白质的水解和脱氨基作用,因此去除原虫可以防止氮在微生物和原虫之间循环,从而使进入十二指肠微生物蛋白的数量增加^[36-38]。樊艳华等^[39]选用12只体况良好的山羊日,在其日粮中添加丝兰皂苷探究其对瘤胃氮代谢的影响,结果发现添加丝兰皂苷组原虫的数目显著降低($P<0.01$),瘤胃NH₃-N浓度显著降低($P<0.05$),尿氮的排出减少,沉积氮占总采食氮的比例增加,表明丝兰皂苷可以驱除原虫,提高氮的利用效率。Noorian等^[40]利用体外产气法研究发现, *Echum amoneum*提取物的添加导致了NH₃-N浓度的下降($P<0.01$),并且原虫的数目有下降的趋势。单宁也是一种可提高瘤胃氮代谢的植物提取物,其作用机制是与饲料蛋白形成稳定的复合物,这样可以保证饲料蛋白不被微生物降解,同时单宁还可以抑制瘤胃内一些蛋白水解菌和纤维降解菌的活性,在一定的条件下,可以保护饲料蛋白不被降解^[41-43]。

长期的体外发酵和体内发酵与短期体外发酵相比较对氮代谢影响不显著。Newbold等和Benchaar等^[44-45]研究报道,向以大豆粉为发酵底物的羊或者奶牛的瘤胃液中分别添加110 mg或2 g的混合植物油,结果发现对瘤胃的氮代谢没有影响($P>0.05$)。Cardozo等和Busquet等^[46-47]利用双外流连续培养试验发现植物油及其有效成分对瘤胃氮代谢的影响会在发酵6~7天后消失。此结果表明瘤胃微生物菌群对植物提取物产生了适应性。因此,利用体外24或48 h发酵培养得出的结果需谨慎的解释,由于此结果不涉及到瘤胃微生物菌群可能的改变。

3 植物提取物的抗微生物作用

众所周知,植物提取物对细菌、原生动物、古细菌和真菌具有广泛的抗微生物作用^[48]。植物提取物的抗菌特性主要归因于其活性化合物的疏水性,如萜类化合物和单宁等^[49]。据报道,单宁可以延缓瘤胃蛋白的分解,提高氨基酸在小肠中的利用率,降低瘤胃内氨气的产生和减少尿素氮的排出,减缓瘤胃蛋白质的降解,因此改善动物的营养状况^[50]。

研究发现,植物提取物可改善瘤胃内环境,增强瘤胃微生物活性,促进菌体蛋白的合成,提高粗纤维消化率,从而增强生产性能^[51]。与奶牛相比,肉牛中相对较低的瘤胃 pH 可能会通过增加其疏水性,进而增强植物提取物的活性,从而破坏细菌细胞膜^[52]。在奶牛体外瘤胃液以及体内试验中,添加丝兰提取物,可提高日粮中营养物质的消化率,乳品质,血清中IgG, IgM 和 IgA 的含量,能显著降低甲烷的生成,减少能量损失,降低环境污染^[53]。因此,丝兰植物提取具有强烈的抗原虫类微生物活力的能力,降低原虫类微生物数量,有利于瘤胃氮的利用,增加微生物蛋白流向小肠的数量。

据报道, 饲料中添加茶皂素可显著降低了瘤胃pH值和氨态氮的浓度, 但提高微生物蛋白产量、丙酸和丁酸浓度, 并显著影响了奶牛瘤胃微生物区系。当瘤胃内产甲烷菌的活性被抑制后, 瘤胃内过剩的氢被用作丙酸的合成, 从而提高了丙酸的浓度, 进而改变了奶牛瘤胃发酵模式^[54-56]。因此, 瘤胃微生物在消化中占有重要地位, 通过对其进行调控来改善饲料的消化具有重要意义, 充分发挥瘤胃的消化效率以提高生产性能。目前, 瘤胃发酵调控剂在生产实践中已取得了很好的效果, 今后的研究可从以下方面考虑: (1) 一些瘤胃调控剂的研究还只停留在表观上, 对具体的机理还不清楚, 要注重机理的研究。(2) 要认识掌握瘤胃微生物的活动及代谢规律, 全面实施瘤胃发酵调控, 为开发新的调控剂打下基础。随着环保意识的增强, 开发绿色饲料也将大大促进瘤胃调控剂的研发。

4 植物提取物对反刍动物生产性能的影响

植物提取物因其化学性质不同、剂量以及动物的种属差异, 会产生不同的效果, 进而改善动物的生产性能。Yang 等^[57]等研究发现, 在70日龄的肉牛日粮中, 每天添加400, 800或1600 mg肉桂醛, 每日采食量(DMI)和平均日增重的指标, 在试验时间呈线性增加。在奶牛中, 添加肉桂醛(1 g/d或50 mg/kg日粮), 对DMI、产奶量和乳汁成分的变化无任何影响^[58]。在一系列交叉和随机设计实验中, 肉桂醛和丁香酚(525 mg/d/头)的混合物对奶牛的生产性能无影响^[59]。Wall等^[60]报道, 同样的植物提取物混合物, 在多产奶牛中应用, 日产奶量可降低400和600 mg, 然而, 对初产奶牛的产奶量则以每头200和600 mg/d的速度增加。植物提取物也仅使初产奶牛的DMI有所增加。因此, 植物提取物的生产效应取决于奶牛所处的阶段。在Tager和Krause^[61]的研究中, 日粮中添加辣椒素(250 mg/d/头)对奶牛的产奶量无影响。然而, 最近的研究报道了辣椒素对奶牛的生产性能具有积极的影响。Oh等^[23]的研究发现固体形式的辣椒素(250和500 mg/d/头)可以增加的牛奶和能量校正乳(ECM)产量。Stelwagen等^[62]和Oh等^[63]分别报道, 应用具有瘤胃保护作用的辣椒素(每头100或200 mg/d)可分别提高奶牛的产奶量和饲料转化率。研究发现, 在奶牛日粮中添加低剂量的植物提取物, 可增加产奶量或饲料转化率(即约4至38 mg/kg的日粮); 而在体外实验中, 对瘤胃发酵无显著影响^[64]。Oh等^[23]研究发现, 低剂量的植物提取物对奶牛瘤胃的发酵没有影响。

在奶牛饲草中添加柠檬草, 结果发现, 牛奶风味改善起到一定的积极作用, 而且柠檬草不仅可以提高奶牛的免疫力, 增进奶牛的健康和具有令人愉快的柠檬香味, 还可以改善牛不良气味, 使牛群生存在一个安逸的环境里, 更有利于生产进一步进行^[65]。研究人员还发现, 对奶牛场的奶牛喷洒茴香油后, 能使奶牛相处得更好, 产奶量也因此增加^[66]。

5 植物提取物减少 CH₄ 排放的研究

反刍动物瘤胃发酵所排放的CH₄量大约占全球CH₄排放量的25%, 其所带来的全球气候问题已引起了动物营养学家和环境学家们的日益关注, 同时CH₄的产生也是反刍动物能量损失的主要方式^[67]。植物提取物由于其具有抗菌性, 已被广泛应用于许多领域(例如传统医学、食物防腐剂以及其他方面)^[68]。抗菌特性是由于其含有大量的次级代谢产物, 包括皂苷、萜类、植物油、单宁、酚类化合物等。近年来的研究表明, 植物提取物能够降低反刍动

物瘤胃发酵的CH₄排放量^[68]。

作为一种常见的植物提取物,植物油是通过水或乙醇水溶液蒸馏的方式获得的一种复杂的混合物,以酚类、萜类、酯类、醛类衍生物最为常见,含有很多的抗菌活性分子,在调控瘤胃发酵的同时还可以保护反刍动物免受病原体的侵害^[69]。目前,有很多的研究发现在日粮中添加一定水平的植物油有降低瘤胃CH₄产量的趋势。Sallam等^[70]利用体外产气法,以精粗比为1:1的饲料为发酵底物,探究了添加不同水平的桉树油对瘤胃产CH₄效果的影响,结果表明,分别在25、50、100和150 μL的添加水平下添加桉树油线性减少了26.8、46.8、77.3和85.3%的CH₄产量。Araujo等^[71]利用体外产气法对破布木属马鞭草科提取出的植物油抑制瘤胃CH₄生成的效果进行了进一步研究,结果表明以干草为底物进行发酵时,添加植物油降低了30%的CH₄产量,并且当植物油添加水平大于1mL/mL时,其降低CH₄产量的能力与莫能菌素相同。Chandrasekharaiah等^[72]选用香茅油、白珠树油和丁香油,通过体外法研究了11个添加水平对瘤胃发酵CH₄产量的影响,结果表明,这三种植物油均线性降低了CH₄的产量,且与对照组相比,当香茅油和白珠树油添加量为2.67和0.66 μl/mL时,CH₄的产量分别被降低了39%和4%,且对瘤胃发酵没有负面影响。近几年的大量研究结果表明,日粮中添加一定水平的植物油可降低瘤胃发酵的CH₄产量。因此,植物油用于调控瘤胃发酵,减少CH₄的排放。

皂苷(saponins)也是植物的次级代谢产物之一,它是一种高分子量的糖苷,由三萜或甾体类的糖苷配基(皂苷元)与糖链相连而成,这些皂苷元含有一个或更多的C-C键^[73]。近年来有相关研究表明皂苷对瘤胃发酵的CH₄产量也存在一定的影响。Rodriguez等^[74]以狼尾草为底物,添加一定水平的象耳豆皂苷,体外发酵24 h测定CH₄的产量,结果表明,CH₄产量显著降低($P<0.01$)。Goel等^[75]利用体外产气法探究添加3%、6%和9% (DM)的皂苷对瘤胃发酵CH₄产量的影响,结果表明,当添加水平为6%时,CH₄的产量降低了49.66%。Wang等^[76]利用体外产气法评估添加0、5、10、20、40、60 mg/mL的绞股蓝皂苷对瘤胃发酵CH₄产量的影响,结果表明,发酵8h后CH₄的产量分别减少了30.20%、43.49%、44.67%和75.8%;发酵12h后CH₄的产量分别减少了6.97%、9.63%、18.90%和61.82%;发酵24 h后CH₄的产量分别减少了2.34%、9.39%、6.90%和20.73%,CH₄的减少量与添加剂量成线性关系,说明添加一定水平的绞股蓝皂苷对抑制CH₄产生有一定的积极作用。

添加一定水平的植物提取物可降低瘤胃CH₄产量,其作用机制可能与其抗菌活性及选择性地改变瘤胃微生物区系有关^[38]。植物提取物对瘤胃CH₄产量的影响随其种类、添加剂量、日粮组成等的不同而不同,并且体内和体外的作用效果也不尽相同。

6 小结

植物提取物可调控反刍动物瘤胃发酵过程,提高营养物质的利用率,并减少有害的物质的产生,但其应用推广还存在很多问题。并非所有的植物提取物都可有效调控瘤胃发酵过程,如何快速有效筛选植物提取物是一个亟待解决的问题。目前大多数研究都具有短期效应,不能正确反应植物提取物在实际动物生产中的应用效果,同时如何确定植物提取物的最适添加浓度也是应用植物提取物到实际生产中的一个重要限制因素。虽然还存在众多难题,但是作

为一种全新的瘤胃发酵调控剂，植物提取物具有良好的应用前景。在欧盟委员会的资助下，由欧洲的多个国际组织和研究所共同参与的一项名为“Rumen-up”的国际项目已经展开，该项目的研究目的是筛选出可降低瘤胃生产过程中CH₄气体的排放，提高反刍动物营养物质利用率的植物提取物添加剂。能够从品种多样的、组成成分复杂的、活性成分不一的品种中筛选出对瘤胃发酵有正效益的植物提取物必将有益于瘤胃发酵调控的研究进展。

参考文献:

- [1] 郭开宇,赵谋明.甲壳素/壳聚糖的研究进展及其在食品工业中的应用[J].食品与发酵工业,2000(01):59-64.
- [2] BENCHAAR C,CALSAMIGLIA S,CHAVES A V,et al.A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production[J].ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY,2008,145(1-4):209-228.
- [3] BELANCHE A,PINLOCHE E,PRESKETT D,et al.Effects and mode of action of chitosan and ivy fruit saponins on the microbiome, fermentation and methanogenesis in the rumen simulation technique[J].FEMS MICROBIOLOGY ECOLOGY,2016,92(1).
- [4] KHIAOSAARD R,ZEBELI Q.Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,2013,91(4):1819-1830.
- [5] KLEVENHUSEN F,MURO-REYES A,KHIAOSA-ARD R,et al.A meta-analysis of effects of chemical composition of incubated diet and bioactive compounds on in vitro ruminal fermentation ☆[J].Animal Feed Science & Technology,2012,176(1-4):61-69.
- [6] 吴端钦,贺志雄,汤少勋,等.体外添加不同水平的亚麻籽油对气体产量、瘤胃发酵及脂肪酸组分的影响[J].天然产物研究与开发,2014(02):273-277.
- [7] 添加茶叶皂苷和豆油对青年羊产甲烷量、瘤胃发酵和微生物群落的影响[J].
- [8] PILAJUN R,WANAPAT M.Effect of coconut oil and mangosteen peel supplementation on ruminal fermentation, microbial population, and microbial protein synthesis in swamp buffaloes[J].Livestock Science,2011,141(2-3):148-154.
- [9] MATEOS I,RANILLA M J,TEJIDO M L,et al.The influence of diet type (dairy versus intensive fattening) on the effectiveness of garlic oil and cinnamaldehyde to manipulate in vitro ruminal fermentation and methane production[J].Animal Production Science,2013,53(4):299-307.
- [10] 苏子油对瘤胃体外发酵模式、脂肪酸组成及甲烷生成的影响[J].
- [11] 梁贤威,张双双,韦升菊,等.葵花籽油和茶油对奶水牛瘤胃发酵参数及瘤胃液脂肪酸组成的影响[J].畜牧与兽医,2015(05):50-54.
- [12] THAO N T,WANAPAT M,CHERDTHONG A,et al.Effects of eucalyptus crude oils

- supplementation on rumen fermentation, microorganism and nutrient digestibility in swamp buffaloes[J].Asian-Australas J Anim Sci,2014,27(1):46-54.
- [13] KHORRAMI B,VAKILI A R,MESGARAN M D,et al.Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems[J].ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY,2015,200:8-16.
- [14] BENHISSI H,FRUTOS P,TORAL P G,et al.Use of tannins to modify ruminal biohydrogenation in sheep. 1. Effects on in vitro rumen[J].Options Mediterraneennes. Serie A, Seminaires Mediterraneens,2013(107):17-21.
- [15] MCMURPHY C P,SEXTEN A J,MOURER G L,et al.Effects of including saponins (Micro-Aid (R)) on intake, rumen fermentation and digestibility in steers fed low-quality prairie hay[J].ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY,2014,190:47-58.
- [16] 金哲勇,李香子,刘志刚,等.胡麻油和苹果酸对延边黄牛瘤胃发酵特性的影响[J].饲料研究,2012(01):51-53.
- [17] CASTILLEJOS L,CALSAMIGLIA S,FERRET A.Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2006,89(7):2649-2658.
- [18] BUSQUET M,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2006,89(2):761-771.
- [19] OH J,HARPER M,GIALLONGO F,et al.Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on productivity and responses to a glucose tolerance test in lactating dairy cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2017,100(3):1888.
- [20] ANASSORI E,DALIR-NAGHADEH B,PIRMOHAMMADI R,et al.Garlic: A potential alternative for monensin as a rumen modifier[J].Livestock Science,2011,142(1–3):276-287.
- [21] YANG W Z,BENCHAAR C,AMETAJ B N,et al.Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2007,90(12):5671-5681.
- [22] RODRÍGUEZPRADO M,FERRET A,ZWIETEN J,et al.Effects of dietary addition of capsicum extract on intake, water consumption, and rumen fermentation of fattening heifers fed a high-concentrate diet[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,2012,90(6):1879.
- [23] OH J,GIALLONGO F,FREDERICK T,et al.Effects of dietary Capsicum oleoresin on productivity and immune responses in lactating dairy cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2015,98(9):6327.
- [24] BUSQUET M,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2005,88(12):4393-4404.

- [25] CARDOZO P W,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,2004,82(11):3230-3236.
- [26] 张双双.添加葵花籽油和茶油对奶水牛瘤胃发酵、脂肪酸组成以及相关瘤胃微生物数量的影响[D].广西大学,2014.
- [27] WANAPAT M,MAPATO C,PILAJUN R,et al.Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes[J].Livestock Science,2011,135(1):32-37.
- [28] KONGMUN P,WANAPAT M,PAKDEE P,et al.Manipulation of rumen fermentation and ecology of swamp buffalo by coconut oil and garlic powder supplementation[J].Livestock Science,2011,135(1):84-92.
- [29] 崔振亮,孟庆翔,李德勇,等.植物蜕皮甾酮对体外瘤胃发酵及甲烷产量的影响[J].中国畜牧杂志,2014(19):66-70.
- [30] JAHANI-AZIZABADI H,MESGARAN M D,VAKILI A R,et al.Effect of Some Plant Essential Oils on In vitro Ruminal Methane Production and on Fermentation Characteristics of a Mid-forage Diet[J].Journal of Agricultural Science and Technology,2014,16:1543-1554.
- [31] BUSQUET M,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2006,89(2):761-771.
- [32] BORCHERS R.Proteolytic activity of rumen fluid in vitro[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,1965,24:1033-1038.
- [33] MCINTOSH F M,WILLIAMS P,LOSA R,et al.Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism[J].APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY,2003,69(8):5011-5014.
- [34] WALLACE R J.Antimicrobial properties of plant secondary metabolites[J].PROCEEDINGS OF THE NUTRITION SOCIETY,2004,63(4):621-629.
- [35] FLYTHE M,KAGAN I.Antimicrobial Effect of Red Clover (*Trifolium pratense*) Phenolic Extract on the Ruminal Hyper Ammonia-Producing Bacterium, *Clostridium sticklandii*[J].CURRENT MICROBIOLOGY,2010,61(2):125-131.
- [36] WILLIAMS A G,COLEMAN G S.The rumen protozoa[M].1992.
- [37] IVAN M,NEILL L,FORSTER R,et al.Effects of Isotricha, Dasytricha, Entodinium, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2000,83(4):776-787.
- [38] 林波,陆燕.植物提取物调控反刍动物瘤胃发酵的研究进展[J].饲料工业,2009(19):27-31.
- [39] 樊艳华,孙海洲,李胜利,等.不同蛋白质水平下丝兰皂甙对山羊氮代谢的影响[J].家畜生态学

报,2015(02):21-28.

- [40] NOORIAN E,ROOZBEHAN Y.The influence of Echium amoneum extract on in vitro ruminal fermentation, protozoa population and reduction of methane production[J].Iranian Journal of Animal Science (IJAS),2012,43(2):287-296.
- [41] 吕忠蕾.不同分子量缩合单宁对延边黄牛瘤胃发酵及微生物区系的影响[D].延边大学,2014.
- [42] KOZLOSKI G V,HÄRTER C J,HENTZ F,et al.Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of Acacia mearnsii tannin extract[J].SMALL RUMINANT RESEARCH,2012,106(2-3):125-130.
- [43] JOLAZADEH A R,DEHGHAN-BANADAKY M,REZAYAZDI K.Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls[J].ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY,2015,203:33-40.
- [44] NEWBOLD C J,MCINTOSH F M,WILLIAMS P,et al.Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation[J].ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY,2004,114(1-4):105-112.
- [45] BENCHAAAR C,PETIT H V,BERTHIAUME R,et al.Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2006,89(11):4352-4364.
- [46] BUSQUET M,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture[J].Anim. Feed Sci. Technol,2005,123(124):597-613.
- [47] CARDOZO P W,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,2006,84(10):2801-2808.
- [48] PATRA A K.Dietary phytochemicals and microbes[J].Springer,2012:371-389.
- [49] PATRA A K,SAXENA J.Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition[J].Journal of the Science of Food & Agriculture,2011,91(1):24.
- [50] 邓小闻,郝伟斌,张峻岭.植物提取物对反刍动物生产性能及瘤胃发酵的影响[J].现代畜牧兽医,2010(6):44-47.
- [51] 乐佳清,王佳堃.肠道对共生微生物的免疫耐受机制[J].动物营养学报,2017,29(5):1489-1497.
- [52] CALSAMIGLIA S,BUSQUET M,CARDOZO P W,et al.Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2007,90(6):2580.

- [53] 田丽新.丝兰提取物对奶牛产奶性能、免疫功能和氨气排放的影响[D].内蒙古农业大学,2014.
- [54] 常肖肖,刘续航,赵士萍,等.茶皂素对瘤胃微生物发酵及原虫数量的影响[J].中国农学通报,2016,32(29):17-21.
- [55] 严淑红,蒋林树.茶皂素对反刍动物瘤胃发酵的影响研究进展[J].中国农学通报,2015,31(5):20-24.
- [56] 严淑红,赵士萍,蒋琦晖,等.茶皂素对奶牛瘤胃发酵及瘤胃微生物区系的影响:北京畜牧兽医青年科技工作者“新思想 新观点 新方法”论坛, 2015.
- [57] YANG W Z,AMETAJ B N,BENCHAAAR C,et al.Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites[J].JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE,2010,88(3):1082-1092.
- [58] BENCHAAAR C.Diet supplementation with cinnamon oil, cinnamaldehyde, or monensin does not reduce enteric methane production of dairy cows[J].Animal An International Journal of Animal Bioscience,2016,10(3):418.
- [59] TEKIPPE J A,TACOMA R,HRISTOV A N,et al.Effect of essential oils on ruminal fermentation and lactation performance of dairy cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2013,96(12):7892-7903.
- [60] WALL E H,DOANE P H,DONKIN S S,et al.The effects of supplementation with a blend of cinnamaldehyde and eugenol on feed intake and milk production of dairy cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2014,97(9):5709.
- [61] TAGER L R,KRAUSE K M.Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2011,94(5):2455-2464.
- [62] STELWAGEN K,WALL E H,BRAVO D M.1395 Effect of rumen-protected capsicum on milk production in early lactating cows in a pasture-based system[J].2016,94(supplement5):675.
- [63] OH J,HARPER M,GIALLONGO F,et al.Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on immune responses in dairy cows intravenously challenged with lipopolysaccharide[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2017,100(3):1902-1913.
- [64] HART K J,YÁÑEZRUÍZ D R,DUVAL S M,et al.Plant extracts to manipulate rumen fermentation[J].Animal Feed Science & Technology,2009,147(1):8-35.
- [65] 顾洪如,丁成龙,丁一,等.柠檬草添加料对牛奶品质和奶牛血液抗氧化性的影响[J].江苏农业学报,2007,23(6):656-657.
- [66] 李素蓉.植物源挥发油对反刍动物的营养效应研究进展[J].饲料研究,2016(8):68-70.
- [67] GOEL G,MAKKAR H P.Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins[J].Trop Anim Health Prod,2012,44(4):729-739.

- [68] BUSQUET M,CALSAMIGLIA S,FERRET A,et al.Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation[J].JOURNAL OF DAIRY SCIENCE,2006,89(2):761-771.
- [69] 邓小闻,郗伟斌,张峻岭.植物提取物对反刍动物生产性能及瘤胃发酵的影响[J].现代畜牧兽医,2010(06):44-47.
- [70] SALLAM S M A,BUENO I C S,BRIGIDE P,et al.Efficacy of eucalyptus oil on in vitro ruminal fermentation and methane production[J].Options Mediterraneennes. Serie A, Seminaires Mediterraneens,2009(85):267-272.
- [71] ARAUJO R C,PIRES A V,ABDALLA A L,et al.Effects of essential oil from Cordia verbenacea D.C. on in vitro rumen fermentation[M].2010.
- [72] CHANDRASEKHARAI AH M,THULASI A,JOSE L.Effect of supplementation of different essential oils on in-vitro methanogenesis, fermentation and digestibility of finger millet straw based diet in rumen liquor of crossbred cattle[J].Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences,2015,6(2):480-486.
- [73] FRANCIS G,KEREM Z,MAKKAR H P,et al.The biological action of saponins in animal systems: a review[J].Br J Nutr,2002,88(6):587-605.
- [74] RODRIGUEZ R,FONDEVILA M.Effect of saponins from Enterolobium cyclocarpum on in vitro microbial fermentation of the tropical grass Pennisetum purpureum[J].J Anim Physiol Anim Nutr (Berl),2012,96(5):762-769.
- [75] GOEL N G,SIROHI S K,JAYA D.Estimation of total saponins and evaluate their effect on in vitro methanogenesis and rumen fermentation pattern in wheat straw based diet[J].Journal of Advanced Veterinary Research,2012,2(2):120-126.
- [76] WANG X,MAO S,ZHU W.Effects of gypenoside on in vitro ruminal microbial methane production and fermentation characteristics[J].Acta Prataculturae Sinica,2011,20(2):52-59.

断奶犊牛饲粮纤维和非纤维性碳水化合物组成和来源

屠 焰^{1,2} 李岚捷²¹ 马满鹏^{1,2}

(1.中国农业科学院饲料研究所/农业部饲料生物技术重点实验室, 北京 100081; 2.奶牛营养学北京市重点实验室, 北京 102206)

摘 要: 目前国内外在反刍动物碳水化合物营养方面开展了大量研究, 证实了饲粮碳水化合物含量、组成、来源都对牛羊生长和胃肠道具有重要影响。(简述本文的内容要点) 在断奶犊牛饲粮中, 非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维比例影响了饲粮的适口性, 在一定范围内较高的非纤维性碳水化合物水平可促进犊牛机体的生长发育, 改变瘤胃组织形态和瘤胃微生物区系; 饲粮中性洗涤纤维来源的作用同样不可忽视, 来源于农副产品的中性洗涤纤维因其组成和物理有效中性洗涤纤维含量较低而促进了断奶犊牛瘤胃挥发性脂肪酸的产生, 刺激了复胃发育。本文就近年来中国农业科学院饲料研究所反刍动物生理与营养实验室的研究结果, 并结合国内外部分研究报道进行了综述, 提出对犊牛饲粮营养的研究不能仅仅着眼于短期影响, 更要关注早期营养对机体发育的作用, 及其对未来的延伸作用。

关键词: 断奶犊牛; 碳水化合物组成; 纤维; 非纤维性碳水化合物; 瘤胃发育

碳水化合物在饲料中通常占到 60%~70%, 给动物供给能量。目前人们在反刍动物营养研究和饲料配制中, 关注点已从常规的中性洗涤纤维(NDF)含量逐步深入到碳水化合物组成, 例如非纤维性碳水化合物(NFC)或非结构性碳水化合物(NSC)的比例, 和碳水化合物的形态, 例如有效中性洗涤纤维(eNDF, effective NDF)和物理有效中性洗涤纤维(peNDF)。NFC 主要含糖、淀粉、有机酸、果胶物质、贮存性碳水化合物(如果寡糖)等易发酵物质; NSC 则含有溶于水的糖和不溶于水的糖, 其中溶于水的糖主要是单双糖、低聚糖和一些多糖, 不溶于水的糖主要是淀粉和纤维素等, 不包括果胶物质^[1]。据瘤胃降解的不同程度, 纤维性碳水化合物(FC)被分为不可发酵的非消化性纤维和慢速发酵的可利用纤维; 而构成 SC 的主要成分是纤维素、半纤维素和木质素^[2-4]。

犊牛出生时前胃没有发育完全, 消化方式与单胃动物相似。随着日龄的增加和饲粮中碳水化合物发酵的刺激, 前胃开始发育, 微生物种类也趋于完整, 瘤胃开始具有反刍功能, 所以适宜的饲粮结构对此时幼龄反刍动物的生长发育有重要影响。

1 饲粮碳水化合物组成及其对幼龄反刍动物生长发育的作用

反刍动物饲粮中碳水化合物组成改变其瘤胃功能, 从而对生长发育产生影响。研究发现, 饲喂高 NFC 饲粮可提高公羔的屠宰性能, 对瘤胃微生物菌群的组成和胃肠道发育有显著的影响, 采食高精料饲粮会增加瘤胃中淀粉利用菌的数量, 减少纤维分解菌的数量, 同时丙酸和丁酸浓度增加, 丙酸可通过糖异生作用生成葡萄糖, 丁酸可刺激瘤胃发育^[5], 增强机体瘤

基金项目: 奶牛产业技术体系北京市创新团队(BAIC06-2018)。

作者简介: 屠焰(1969—), 女, 浙江嘉善人, 研究员, 博士生导师, 主要从事幼龄反刍动物生理与营养研究。E-mail: tuyan@caas.cn

胃功能,促进机体生长发育^[6];另外精料中的淀粉、糖等易发酵、释放能量的速度快,对于瘤胃未发育完善、消化功能较差的幼龄反刍动物而言更易于消化吸收,所以在一定程度上可以提高机体生长发育。禹爱兵^[7]以苜蓿、青贮玉米、羊草、精料组成的饲料饲喂3月龄犊牛,其NDF/NFC分别为0.73、0.68、0.87、1.05和1.50(精粗比分别为45:55、65:35、55:45、45:55、35:65,NDF水平(风干物质基础)分别为25.6%、26.2%、30.2%、33.5%、39.5%),发现,与NDF/NFC为0.73的饲料相比,降低饲料NDF/NFC可提高机体对能量和蛋白质的代谢率,有利于提高犊牛体高和体增重。而杨宏波^[8]在饲喂3月龄犊牛苜蓿、小黑麦、精料组成的饲料时,其精粗比为75:25、70:30、65:35、60:40,NDF水平(风干物质基础)分别为28.9%、31.5%、34.7%、37.7%,提出饲料中添加35%~40%的粗饲料更有利于3~6月龄犊牛对饲料中营养物质的利用和机体蛋白质合成,促进瘤胃微生物生长和胃肠道发育。饲料NDF水平会对瘤胃微生物产生影响。随着饲料中粗料水平的降低,瘤胃液中发酵碳水化合物含量增加,VFA含量提高,使瘤胃pH值降低,瘤胃中淀粉分解菌、乳酸杆菌喜在酸性环境中生存,数量显著增加^[9-10],纤维降解菌在低pH环境中活性受到抑制,数量逐渐减少^[11]。但饲料中较低NDF、过高NFC水平使瘤胃壁角质层变厚,降低了养分的消化吸收^[18],所以采食高NFC组饲料的动物生长发育并不是最好的。另外,尽管粗料中的纤维素、半纤维素等不易发酵,释放能量的速度慢^[2],但利于瘤胃微生物的增殖,适量的纤维物质含量可以刺激反刍和唾液分泌,以维持瘤胃pH值的稳定,从而保证瘤胃微生物的正常活动,提高微生物菌体蛋白的含量。所以选择适宜的饲料结构对动物生长发育至关重要,对犊牛瘤胃发育具有明显的影响。碳水化合物经微生物发酵后产生的挥发性脂肪酸可通过化学刺激促进瘤胃乳头发育,瘤胃角质层、颗粒层和基底层厚度随饲料精粗比的增加而增加^[12],可能是精料的发酵产生了大量的挥发性脂肪酸(VFA),为黏膜上皮层的发育提供了更多的化学刺激,增加了基底层细胞分裂的速度^[13]。但有研究发现,高精料饲料大量发酵后产生的乳酸含量增加,又由于采食的粗料不足,唾液分泌减少,瘤胃蠕动减少,最终导致瘤胃黏膜角化不全,影响机体健康。桂林生^[14]发现瘤胃、网胃和瓣胃的乳头高度、宽度、固有膜和角质层厚度高粗料组均高于高精料组,一方面可能是因为粗料刺激了瘤胃发育,另一方面可能是因为对纤维物质的机械消化增加了黏膜角质层厚度。因此仅以精粗比来做为饲料碳水化合物组成的指标太过粗糙,至少应以NFC、NSC以及物理有效NDF等来衡量。

2 断奶犊牛饲料非结构性碳水化合物的影响研究

3~6月龄犊牛瘤胃未完全发育,微生物菌群未完全建立^[15],适宜的饲料结构利于犊牛瘤胃的健康发育,利于后期管理。饲料中非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维(NFC/NDF)水平不仅对饲料所含养分有影响,而且影响饲料的适口性,进而对机体的生长发育、屠宰性能和瘤胃组织形态产生影响。饲料中NFC含量越高,微生物发酵产生的VFA越多,瘤胃乳头高度和密度皆有增大^[16],但也有不同报道^[8]。中国农科院饲料所反刍动物生理与营养实验室李岚捷^[17]研究了饲料NFC/NDF水平对断奶犊牛生长发育的影响,以粗蛋白质(CP)含量

16.4%，NFC/NDF 水平分别为 1.35、1.23、0.94、0.80 的 4 种全混合日粮（TMR）饲喂 3 月龄的断奶夏南杂交牛，其 TMR 中粗饲料为苜蓿和羊草，精粗比分别对应为 80:20、70:30、60:40、50:50。该研究发现，犊牛瘤胃发育出现显著差异，随着饲料中 NFC/NDF 水平的降低，瘤胃上皮乳头高度增加（ $P<0.05$ ）而肌层厚度不受影响（ $P>0.05$ ）（表 1）；瘤胃微生物组间有差异（图 1），微生物多样性指数升高（ $P<0.05$ ），微生物组成在门（拟杆菌门）和属水平上（*Christensenellaceae_R-7* 和 *Prevotellaceae_UCG-003*）部分菌有差异（表 2）；瘤胃丙酸浓度降低（ $P<0.05$ ），乙酸浓度及乙/丙比、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度则升高（ $P<0.05$ ）^[18]；犊牛对干物质（DM）、NDF 和 ADF 的表观消化率显著降低（ $P<0.05$ ），总能代谢能率（ME/GE）、总能消化率（DE/GE）和代谢能/消化能（ME/DE）也显著降低（ $P<0.05$ ），导致犊牛 ADG、体长增长率降低^[19]，空体重和胴体重降低（ $P<0.05$ ），但屠宰率、净肉率、肉品质皆未受影响（ $P>0.05$ ）^[20]。

表 1 不同 NFC/NDF 水平饲料对公犊牛瘤胃组织形态的影响（ μm ）^[17]

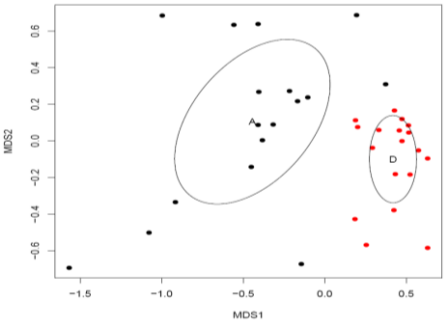
Table 1 Effects of diets with different NFC/NDF levels on structure of rumen of male calves(μm)							
项目		饲料 Dietary NFC/NDF				SEM	P 值
		1.35	1.23	0.94	0.80		
Items		1.35	1.23	0.94	0.80		P-Value
乳头高度	Papillae length	753.10 ^b	924.20 ^{ab}	1320.40 ^a	1104.80 ^{ab}	76.668	0.0228
乳头宽度	Papillae width	379.15 ^a	342.15 ^a	239.70 ^b	239.69 ^b	11.558	<.0001
肌层厚度	Tunica muscularis	1205.60	1233.70	1080.70	1353.80	44.091	0.1436

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。下同。In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

图 1 饲喂不同 NFC/NDF 水平饲料犊牛的瘤胃微生物 NMDS 分析^[18]

Fig 1 The NMDS of rumen microorganism in male calf fed diets with different NFC/NDF level

A,D: 图中黑色点代表 A 组样品，红色点代表 D 组样品。A: 饲喂 NFC/NDF 为 1.35 饲料的犊牛；D: 饲喂 NFC/NDF 为 0.8 饲料的犊牛。The black dots represent the A group samples, and the red dots represent the D samples, while A,D was the calves fed diet with NFC/NDF level as 1.35,0.80,respectively.



有研究显示，采食精料含量高的饲料会增加瘤胃乳头的高度和密度，因为高精料发酵产生的挥发性脂肪酸含量高，可以为瘤胃乳头的发育提供更多的化学刺激；同时高精料饲料加快了基底层细胞的分裂，增加了细胞数量^[13]。但饲料颗粒大小对瘤胃乳头的发育也会有一定的影响，采食较小颗粒饲料使得瘤胃乳头减小^[21]，李岚捷^[17]研究中采用 TMR 饲喂犊牛，精料高的组饲料颗粒相对较小，而瘤胃总挥发性脂肪酸浓度差异并不显著（ $P>0.05$ ），可能

对乳头给予的化学刺激相同，所以低 NFC/NDF 饲料给予瘤胃壁的物理刺激越多，乳头高度越高。

非纤维物质经瘤胃微生物发酵后丙酸产量增加，而纤维类物质经发酵后乙酸浓度增加。NFC/NDF为1.35时犊牛瘤胃拟杆菌门含量显著高于0.80组（ $P<0.05$ ），对有机物、非纤维物质的表观消化率高（ $P<0.05$ ）^[19]。NFC主要由糖和淀粉等易发酵物质组成，糖和淀粉在瘤胃经发酵后产生了较多的丙酸，丙酸可通过糖异生作用转化成葡萄糖为机体提供能量，同时被瘤胃壁吸收后进入血液，通过甘油三酯/脂肪酸循环和葡萄糖/脂肪酸循环提高了肌肉和脂肪的生成，促进了机体的生长发育^[22]。

提高能量利用效率的关键是提高其代谢率^[23]。随饲料 NFC/NDF 水平降低（由 1.35 降至 0.80），机体需要消耗更多的时间对饲料进行反刍和消化^[24]，故本研究中 180 d 犊牛对总能的消化率和代谢率及消化能的代谢率均显著降低（ $P<0.05$ ），分别为 71%、63%和 80%。瘤胃微生物对碳水化合物的发酵主要是“5 葡萄糖→6 乙酸+2 丙酸+丁酸+二氧化碳+3 甲烷+6 水”形式^[25]，因此当饲料中 NDF 含量提高时，乙酸的大量生成增加了其降解过程中 H 离子的产生^[26]，使瘤胃甲烷的产量增加，能量损失增加，从而影响了能量的利用率。

表 2 不同 NFC/NDF 水平饲料对公犊牛瘤胃微生物组成的影响^[18]（%）

Table 2 Effects of diets with NFC/NDF levels on rumen bacterial community of male calves (%)

项目	饲料 NFC/NDF 水平		SEM	固定效应 <i>P</i>		
	Dietary NFC/NDF levels			<i>P</i> -value of fixed effects		
	1.35	0.80		处理	日龄	处理×日龄
Items				Treatment	Day	Treatment ×Day
门水平 At phylum level						
厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	47.25	49.78	2.177	0.6590	0.8651	0.7779
拟杆菌门 <i>Bacteroidetes</i>	51.22 ^a	39.35 ^b	2.005	0.0239	0.4594	0.5396
变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	1.16	2.89	0.523	0.2427	0.8929	0.3172
属水平 At genus level						
普雷沃菌属 <i>Prevotella_1</i>	21.76	17.23	2.093	0.3459	0.7444	0.9162
<i>Prevotellaceae_UCG-003</i>	0.60 ^b	3.28 ^a	0.321	0.0004	0.9252	0.8712
瘤胃球菌属	4.06	2.05	0.455	0.1501	0.2529	0.0709
<i>Ruminococcus_2</i>						

3 断奶犊牛饲料中纤维性碳水化合物来源的影响研究

纤维具有物理和化学的双重特性，饲料中纤维进入动物口腔、胃肠道时，存在着机械摩擦的过程，影响了消化道结构，同时在胃肠道中在各种酶作用下发酵，产生短链脂肪酸，化学刺激消化道内壁。纤维可分为不可发酵的非消化性纤维和慢速发酵的可利用纤维，在饲料检测方法中最接近的指标是 NDF，其中主要包括了果胶、半纤维素、纤维素和木质素等。

纤维在消化道中的滞留时间决定纤维的消化率,调整反刍动物饲料纤维的组成和含量,可以调控瘤胃中碳水化合物的降解速度和降解程度、pH 和 VFA 的产量与比例,调节氮源的利用^[27],并最终影响微生物的活动和犊牛的生产性能^[28]。大量研究证明饲料 NDF 水平会影响反刍动物瘤胃发酵功能。而当饲料 NDF 水平变化较小时,稳定 TMR 中精粗比,通过改变精料配方来调整饲料粗脂肪含量(3.60%、5.17%、8.31%),使得 TMR 产奶净能(NE_l)从 6.24 MJ/kg 提升至 7.04、7.53 MJ/kg,限饲给 4~6 月龄荷斯坦母犊牛。这种情况下,随饲料 NE_l 的升高,犊牛日增重数值上有一定增加,对饲料中 DM、NDF 和 ADF 的表观消化率、消化能和代谢能值提升($P<0.05$),氮沉积量、沉积率升高($P<0.05$);瘤胃液挥发性脂肪酸中丙酸比例提高($P<0.05$)、乙酸比例降低($P<0.05$),乙丙比降低($P<0.01$),但瘤胃液中原虫(Protozoan)、产琥珀丝状杆菌(*Fibrobacter succinogene*)、黄色瘤胃球菌(*Ruminococcus flaeaciens*)、白色瘤胃球菌(*Ruminococcus albus*)、溶纤维丁酸弧菌(*Butyrivibrio fibrisolvens*)、栖瘤胃普雷沃氏菌(*Prevotella ruminicola*)、梭菌(*Clostridium*)、多毛毛螺菌(*Lachospira multipara*)数量皆未出现显著变化($P>0.05$)^[29]。综合上述研究结果可以比较出,在对瘤胃内环境的影响上饲料 NDF 的影响程度要大于脂肪。

有关犊牛饲料纤维问题,近年来是否给犊牛饲喂干草在行业内形成了争议。一方认为可以不饲喂干草,并有实践应用做证明。一方则认为从犊牛的福利和健康发育角度看需要添加干草。这个问题包含着 NDF 来源和组成、纤维粒度(物理有效中性洗涤纤维)几个方面。物理有效中性洗涤纤维(peNDF)在饲料中的作用不可忽视,它可维持瘤胃正常功能,刺激反刍动物的肠黏膜,促进胃肠道的蠕动和粪便的排泄^[30]。研究发现 peNDF 水平对瘤胃液中总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度、乙酸和丁酸含量的影响不显著($P>0.05$),而随 peNDF 水平的增加丙酸含量减少($P<0.05$),产琥珀酸丝状杆菌的相对含量增加($P<0.05$),黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌相对含量呈现先上升后下降的趋势($P<0.10$)^[31]。本团队马满鹏^[32]针对犊牛饲料中 NDF 来源开展了一项研究,在饲料 NDF 水平相近的前提下,以大豆皮(大豆籽实外皮)替代犊牛 TMR 中的苜蓿,观察犊牛的生长发育情况。两组 TMR 的 NDF 含量分别为 25.6%、26.5%,NFC 含量为 49.3%、47.6%,NFC/NDF 比例保持基本一致(1.8 左右),而 TMR 总 NDF 中来自苜蓿或大豆皮的 NDF 各自占 61.6%、58.7%,将苜蓿干草粉碎,配制出的 TMR,其 peNDF_{8.8} 分别达到 4.5%、0,peNDF_{1.18} 分别为 16.0%、17.5%。两组犊牛の日增重虽差异不显著($P>0.05$),但饲喂含大豆皮 TMR 犊牛的饲料转化比更优($P<0.05$)(表 3),瘤胃液发酵参数显示,饲喂含大豆皮 TMR 极显著地提升了 TVFA 和氨态氮浓度($P<0.0$),降低其中乙酸比例($P<0.05$),提高丙酸和丁酸比例($P<0.05$),乙丙比也同时极显著降低($P<0.01$)(表 4)。从复胃形态看,饲喂大豆皮 TMR 后犊牛复胃发育迅速,瘤胃内壁乳头长度和密度提高(图 3),这与其瘤胃液中较高的丙酸和丁酸浓度有关。从以上结果看,在 6 月龄前荷斯坦公犊牛饲料中以大豆皮完全替代苜蓿干草具有一定的优势,但值得注意的是,犊牛瘤胃液 pH 值从饲喂苜蓿的 6.71 降低到了 5.72($P<0.05$),

低 peNDF 含量饲料会导致瘤胃发酵中 VFA 产量激增,同时不需要大量反刍也减少了唾液分泌对瘤胃液的中和作用,这是否会对犊牛产生其他影响尚需要更多的观测。

表 3 不同 NDF 来源饲料对 120-180 日龄荷斯坦公犊牛生长性能的影响

Table 3 Influence of the with diets different NDF sources on the growth performance of Holstein

项目 Items	饲料 Diets		SEM	P-Value of fixed effects		
	含苜蓿 TMR TMR with alfalfa	含大豆皮 TMR TMR with soybean hulls		饲料 Diet Diet	日龄 Day of age	饲料×日龄 Diet×Day of age
日增重 ADG/(kg/d)	1.48	1.51	0.054	0.6332	0.0018	0.1099
干物质采食量						
DMI/(kg/d)	4.97	4.87	0.098	0.4738	0.0018	0.0661
饲料转化比 F/G	3.41 ^a	3.21 ^b	0.059	0.0299	<0.0001	0.4028

male calves aged 120-180 day-old

表 4 不同 NDF 来源饲料对 120-180 日龄荷斯坦公犊牛瘤胃液发酵参数的影响

Table 4 Influence of the diets with different NDF sources on the rumen fluid fermentation parameters of Holstein male calves aged 120-180 day-old

项目 Items	饲料 Diets		SEM	P-Value of fixed effects		
	含苜蓿 TMR TMR with alfalfa	含大豆皮 TMR TMR with soybean hulls		饲料 Diet Diet	日龄 age	饲料×日龄 Diet×Day of age
pH	6.71 ^a	5.72 ^b	0.071	<0.0001	0.0026	0.0015
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	42.97 ^b	111.86 ^a	3.171	<0.0001	<0.0001	0.0023
氨态氮 NH ₃ -N/(mg/dL)	4.05 ^b	15.57 ^a	0.711	<0.0001	0.9604	0.0153
乙酸 Acetate/%	62.4 ^a	44.69 ^b	0.951	<0.0001	<0.0001	0.1575
丙酸 Propionate/%	27.22 ^b	38.54 ^a	1.135	<0.0001	0.0058	0.0067
丁酸 Butyrate/%	7.84 ^b	14.51 ^a	1.165	0.0010	0.9072	0.0061
乙丙比 Acetate:Propionate	2.38 ^a	1.16 ^b	0.131	<0.0001	0.0018	0.0464

4 小结

目前国内外在反刍动物碳水化合物营养方面开展了大量研究,证实了饲料碳水化合物含量、组成、来源都对牛羊生长和胃肠道具有重要影响。在犊牛饲料中,饲料 NFC/NDF 影响了饲料的适口性,较高 NFC 水平可促进犊牛机体的生长发育,改变瘤胃组织形态和瘤胃微生物区系;饲料 NDF 来源的作用同样不可忽视,来源于农副产品的 NDF 因其 NDF 组成和 peNDF 较低而促进了犊牛瘤胃 VFA 产量,刺激了复胃发育。犊牛阶段是机体生长发育迅速

的阶段,这一阶段的营养供给会影响成年后的生产性能和繁殖性能,在牛的一生中都具有重要的地位,因此对犊牛饲粮营养的研究不能仅仅限于短期影响,更要关注早期营养对机体发育的作用,及其对未来的延伸作用。

图 2 不同 NDF 来源饲粮对 180 日龄荷斯坦公犊牛复胃发育的影响

Fig.2 Influence of the diets with different NDF sources on stomachus compositus development of Holstein male calves aged 180 day-old



左:饲喂含苜蓿 TMR; 右:饲喂含大豆皮 TMR。

Left:calf fed TMR with alfalfa; Right: calf fed TMR with soybean hulls.

参考文献

1. 张洁. 不同碳源对山羊瘤胃发酵和微生物氨基酸组成影响的研究[D]. 扬州大学, 2008.
2. 朱宇旌, 张勇. 反刍动物粗饲料利用的营养调控[J]. 草业科学, 2003, (6): 36-39.
3. Sniffen C J, O'Connor J D, Van Soest P J, et al.. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability[J]. Journal of Animal Science, 1992, 70(11): 3562-2577.
4. 李满全. 日粮 SC:NSC 比例对泌乳早期奶牛生产性能和消化代谢的影响[D]. 内蒙古农业大学, 2010.
5. 崔祥, 刁其玉, 张乃锋,等. 日粮能量水平对断奶犊牛生长性能及营养物质消化代谢的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(11): 1815-1823.
6. 吴秋珏. 日粮结构与非结构碳水化合物比例与绵羊消化代谢及瘤胃代谢参数[D]. 甘肃农业大学, 2005.
7. 禹爱兵, 王留香, 庄涛, 等. 不同 NDF/NFC 日粮对 3-6 月龄后备犊牛生长发育及营养物质消化代谢的影响[J]. 饲料工业, 2012, 33(24): 44-48.
8. 杨宏波. 不同精粗比颗粒饲料对 3-6 月龄犊牛生长性能和胃肠道发育的影响[D]. 扬州大学, 2015.
9. 韩昊奇, 刘大程, 高民, 等. 不同 NFC/NDF 比对奶山羊瘤胃微生物及瘤胃 pH 变化的影响[J]. 动物营养学报, 2011, 32(4): 597-603.
10. 魏德泳, 朱伟云, 毛胜勇. 日粮不同 NFC/NDF 比对山羊瘤胃发酵与瘤胃微生物区系结构的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(7): 1392-1398.
11. 孙云章, 毛胜勇, 姚文, 等. 不同精粗比底物下瘤胃真菌和纤维降解细菌共培养发酵特性及菌群变化[J]. 微生物学报, 2006, 46(3): 422-426.
12. 张双奇, 咎林森, 梁大勇,等. 日粮精粗比对荷斯坦公犊瘤胃组织结构的影响[J]. 西北农林科技大学学报自然科学版, 2009, 37(9): 59-64.

13. 郭奇. 不同精/粗比日粮对山羊前胃上皮生长的影响[D]. 南京农业大学, 2011.
14. 桂林生. 日粮精粗比对荷斯坦公牛生长发育、消化道组织形态及血液生化指标影响的研究[D]. 西北农林科技大学, 2009.
15. 刁其玉. 犊牛早期断奶新招[M]. 中国农业科学技术出版社, 2006.
16. Žitňan, Kuhla, Nürnberg, et al.. Influence of the diet on the morphology of ruminal and intestinal mucosa and on intestinal carbohydrate levels in cattle[J]. *Veterinárni Medicína*, 2003, 48(7): 175-180.
17. 李岚捷. 不同 NFC/NDF 水平日粮对公犊牛生产性能、瘤胃发育及微生物区系的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2017.
18. 李岚捷, 成述儒, 刁其玉, 等. 不同 NFC/NDF 水平饲粮对犊牛瘤胃发酵参数和微生物区系多样性的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(12): 2347-2357.
19. 李岚捷, 成述儒, 刁其玉, 等. 饲粮非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维对肉犊牛生长性能和营养物质消化代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(6): 2143-2152.
20. 李岚捷, 王安思, 廉红霞, 等. 不同 NFC/NDF 水平饲粮对肉公犊牛生长性能和屠宰性能的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2017, 22(12): 101-109.
21. Beharka A A, Nagaraja T G, Morrill J L, et al.. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves[J]. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81(7): 1946-1955.
22. Castells L, Bach A, Araujo G, et al.. Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves[J]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95(1): 286-293.
23. 穆阿丽, 吴乃科, 刘法孝, 等. 4-6 月龄杂交犊牛能量需要量及其代谢规律的研究[J]. *家畜生态学报*, 2007, 28(01): 23-26.
24. Mazzenga A, Gianesella M, Brscic M, et al.. Feeding behaviour, diet digestibility, rumen fluid and metabolic parameters of beef cattle fed total mixed rations with a stepped substitution of wheat straw with maize silage[J]. *Livestock Science*, 2009, 122(1): 16-23.
25. 冯仰廉. 反刍动物营养[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
26. 郭嫣秋, 胡伟莲, 刘建新. 瘤胃甲烷菌及甲烷生成的调控[J]. *微生物学报*, 2005(01): 145-148.
27. 刘洁, 刁其玉, 赵一广, 等. 肉用绵羊饲料养分消化率和有效能预测模型的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, (08): 1230-1238.
28. 叶明, 张爱忠, 姜宁, 等. NDF/NFC 对反刍动物瘤胃微生物及发酵参数的调控作用[J]. *饲料研究*, 2015, (22): 4-9.
29. 崔祥. 日粮能量水平对 4~6 月龄犊牛生长、消化代谢及瘤胃内环境的影响[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2014.

30. 栗文钰.TMR 中物理有效中性洗涤纤维对奶牛采食行为、瘤胃发酵、消化率及产奶性能的影响[D].扬州大学,2009.
31. 陈青,王洪荣,葛汝方,等. 饲料物理有效中性洗涤纤维水平对 8~10 月龄奶牛瘤胃发酵参数和纤维降解菌的影响[J]. 动物营养学报,2015,(04):1243-1251.
32. 马满鹏,王炳,屠焰等.不同 NDF 来源对 4-6 月龄荷斯坦公犊牛生长性能、瘤胃发酵参数的影响[J].待发表.

Effects of composition and sources of fiber and non-fiber carbohydrate in weaned calves diets

TU Yan^{1,2} LI Lianjie¹ Ma Manpeng^{1,2}

(1. Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Feed Biotechnology, The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, Beijing 100081; 2. Beijing Key Laboratory for Dairy Cow Nutrition, Beijing 102206)

Abstract: A large number of domestic and overseas studies have been carried out on carbohydrate nutrition for ruminant animals, and have proved that the content, composition and source of carbohydrate in diet play important effects on the growth and gastrointestinal tract of cattles and sheep. In weaned calf diets, the proportion of non-fibrous carbohydrates(NFC)/ neutral detergent fiber(NDF) affects the suitability of the diet. Within a certain range, a higher NFC level diet can promote the growth and development of body, change the morphology of rumen tissues and the rumen microflora of calves. The role of NDF source in the diet should not be ignored either. The NDF derived from agricultural byproduct has promoted the production of volatile fatty acids in the rumen and stimulated the development of the stomachus compositus of weaned calves due to its composition and lower physically effective NDF. In this paper, the recent research results of the Lab of Ruminant Physiology and Nutrition of Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, and others are reviewed. The researches on nutrition of calf diets would not only focus on short-term effects, more attention should be paid to early nutrition regulation on body development and the future performance of cattle.

Key words: carbohydrate composition; fiber; non-fibrous carbohydrates; rumen development; weaned calves.

幼龄反刍动物消化道微生物演替与消化道发育调控

俞少博 杨 斌 王珊珊 王佳莹*

浙江大学奶业科学研究所 杭州 310058

摘 要: 消化道微生物在消化道形态结构和免疫系统发育过程中扮演重要角色。本文在综述消化道微生物演替与消化道功能分化关系的基础上, 阐述了日粮和瘤胃微生物移植对幼龄反刍动物消化道微生物演替和消化道发育的调节作用。微生物通过刺激杯状细胞分泌黏蛋白, 活性树突状细胞, 调节免疫细胞分化, 实现其对宿主免疫系统的调节; 通过介导缺氧, 激活 JAK-STAT 和 JNK 途径或胰岛素/胰岛素样生长因子信号途径调节肠道干细胞分化。固体饲料能够较长时间地停留在瘤胃中, 促进瘤胃微生物的定植和微生物代谢产物的生成, 进而促进瘤胃发育。瘤胃微生物移植可加速幼龄反刍动物消化道微生物演替和功能分化, 但其对瘤胃微生物区系的影响弱于饲料, 是一种潜在的免疫增效方法。

关键词: 消化道微生物; 消化道发育; 幼龄反刍动物

微生物是动物体不可或缺的组成部分。消化道作为动物体接触外界环境中抗原物质最广泛的部位, 也是动物体内最大、最复杂的微生物储蓄场所。经长期的进化, 动物体与消化道微生物形成了一定意义上的互利共生和相互制约。微生物除能辅助动物体消化代谢、抑制病原菌定殖和维持消化道稳态外, 消化道微生物也介导了宿主的发育。为此, 本文在重点综述消化道微生物演替与消化道功能分化关系的基础上, 阐述了日粮和瘤胃微生物移植对幼龄反刍动物消化道微生物演替和消化道发育的调节作用。

1 消化道微生物演替与消化道功能分化的关联

消化道微生物在宿主生理和发育过程中扮演重要角色。消化道微生物及其代谢产物参与宿主消化道形态结构及其免疫系统的发育调节。

1.1 消化道微生物促进宿主免疫系统发育

消化道黏液层和消化道黏膜相关淋巴组织共同组成肠道免疫防线, 而消化道微生物通过刺激杯状细胞分泌黏蛋白, 保证黏液层完整; 通过活性树突状细胞诱导消化道黏膜相关淋巴组织发育; 通过调节免疫细胞分化维持机体免疫平衡, 实现了消化道微生物对宿主免疫系统功能的调节。

1.1.1 消化道微生物刺激杯状细胞分泌黏蛋白

基金项目: 国家重点研发计划重点专项子课题项目(2017YFD0500502), 国家自然科学基金项目(31572431、31622056)

作者简介: 俞少博 (1993—), 男, 浙江宁波人, 博士研究生, 主要从事消化道发育研究。E-mail: 11517019@zju.edu.cn

*通讯作者: 王佳莹, 教授, 博士生导师, E-mail: jiakunwang@zju.edu.cn

消化道黏液层由杯状细胞分泌的黏蛋白组成,覆盖于上皮细胞上。黏液层不仅具有润滑剂功效,有利于消化道蠕动,其网状结构还可有效阻止细菌移位(bacterial translocation, BT),即细菌穿过消化道黏膜上皮,经淋巴管到达肠系膜淋巴结,进入脏器和血液循环,其结果可触发全身性反应和多系统器官功能衰竭^[1]。黏蛋白缺失或黏蛋白糖基化异常时,消化道屏障功能受损、通透性增加,可观察到细菌在黏液层过度增殖,甚至发生BT^[2-4]。消化道微生物的存在可激发杯状细胞分泌黏蛋白,保证黏液层结构的完整,从而发挥屏障作用。很多无菌动物结肠杯状细胞减少,黏液层变薄^[5],而暴露于细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或肽聚糖(peptidoglycan, PGN)后,可刺激杯状细胞分泌黏蛋白,使黏液层厚度恢复^[6]。

1.1.2 消化道微生物诱导消化道黏膜相关淋巴组织发育

集合淋巴小结(又称派伊尔淋巴结, peyer's patches, PP)、孤立淋巴滤泡(isolated lymphoid follicles, ILF)和肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLN)共同组成肠道黏膜相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissues, GALT)^[7]。树突状细胞(dendritic cells, DC)通过其表面的Toll样受体(toll-like receptors, TLR)识别细菌及其代谢产物后,进一步激活MAL-MYD88和TRAM-TRIF信号通路,使DC活化。活化后的DC诱导PP生发中心的T细胞增殖,促使B细胞分泌IgA;通过传入淋巴血管迁移至MLN,诱导效应T细胞增殖,使MLN发育成熟;刺激B细胞和募集T细胞,导致隐窝小结发育成为成熟的ILF^[8]。TLR4能够识别革兰氏阴性菌LPS;TLR2的配体较TLR4的广泛,包括脂蛋白、脂多肽、脂壁酸(LTA)、阿拉伯甘聚糖(LAM)及酵母多糖等;TLR3特异识别病毒复制的中间产物ds-RNA;TLR9识别细菌的CpG-DNA。Hamada等^[9]报道无菌小鼠中的ILF发育不完全,而革兰氏阴性菌的PGN可诱导无菌小鼠ILF的形成^[10]。

1.1.3 消化道微生物调节免疫细胞分化

DC通过TLR识别肠道细菌的过程中,不同类型的细菌被不同家族的TLR识别,激活MAL-MYD88和TRAM-TRIF信号通路,产生不同的细胞因子,进而调节T细胞向不同亚群分化,实现细菌耐受与免疫的平衡。T细胞对肠黏膜免疫屏障的调节主要表现在辅助性T细胞(Helper T cells, T_H)和调节性T细胞(Regulatory cells, Treg)的调节。分节丝状杆菌(segmented filamentous bacteria, SFB)已被证实是T_H17细胞强有力的诱导者^[11]。SFB定殖上调SAA的表达,刺激CD11c⁺DCs产生IL-6和IL-23,促进TH17细胞分化^[12]。而有害菌鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)能诱导T细胞分化为产生IFN- γ 的TH1细胞。脆弱型拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)产生的多糖A(polysaccharide A, PSA)刺激Treg细胞分化,分泌IL-10,对抗T_H17和T_H1细胞反应。此外,梭状芽孢杆菌(*Clostridium*)IV簇和XIVa簇能刺激结肠上皮细胞产生TGF- β ,诱导T细胞分化为Treg细胞^[13],与*B.fragilis*具有相似的调控效应。

除细菌的直接调节外,肠道细菌产生的代谢产物,如短链脂肪酸、胆汁酸、维生素、多胺、脂质等,也可从肠腔转位到黏膜循环系统中,影响宿主免疫相关基因的表达(表1)。

表 1 常见的消化道细菌代谢产物及其免疫调节作用

Table1 Common gut bacteria metabolites and their immunoregulatory functions

代谢产物	相关的细菌 ^[14]	免疫调节作用
Metabolites	Related bacteria	Immunoregulatory functions
短链脂肪酸 SCFA	厚壁菌门的梭菌IV簇和XIV α 簇 Clostridial clusters IV and XIV α of <i>Firmicutes</i>	丁酸可以诱导 CD4 ⁺ T 细胞分化为 Treg 细胞 ^[38-39] ; 乙酸可激活嗜中性粒细胞上的 G 蛋白偶联受体 43 (GPR43), 抑制或减弱机体的炎症应答 ^[15-16]
胆汁酸 Bile acids	乳酸菌、双歧杆菌、肠细菌、拟杆菌和梭菌 <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacteria</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i>	胆汁酸受体 FXR (farnesoid X receptor, FXR) 可调节宿主肠道的天然免疫反应 ^[17]
维生素 Vitamin	双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>	维生素 D 可促进 T _H 细胞分化, 产生特异性抗体 ^[18]
多胺 Polyamine	空肠弯曲杆菌、化糖梭状芽孢杆菌 <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Clostridium saccharolyticum</i>	高浓度多胺可以上调 IgM、IL-1 β 、TLR、MHCII α 和 MHCII α 等免疫相关基因的表达 ^[19]
脂质 Lipid	双歧杆菌、罗氏菌、乳酸菌、克雷伯氏菌、肠细菌、柠檬酸细菌和梭菌 <i>Bifidobacterium</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Clostridium</i>	LPS 可与 LPS 结合蛋白 (lipopolysaccharide-binding protein, LBP)、CD14 分子结合, 形成 LPS-LBP-CD14 三联复合物, 作用于 TLR4 并激活 MYD88 依赖性信号通路, 刺激 T 细胞增生 ^[20] ; 共轭脂肪酸 (conjugated linoleic acid, CLA) 可抑制 DC 的激活和 T _H 17 细胞的促炎反应 ^[21]

1.2 消化道微生物促进宿主消化道结构发育

消化道微生物能辅助动物体消化代谢、抑制病原菌定殖和维持消化道稳态外, 还介导了缺氧诱发宿主发育, 通过激活 JAK-STAT 和 JNK 途径或通过吡咯喹啉酮依赖醇脱氢酶 (PQQ-ADH) 介导胰岛素/胰岛素样生长因子信号途径调节肠道干细胞分化。

1.2.1 细菌介导缺氧诱发宿主发育

Coon 等^[22]研究发现无菌的蚊子幼虫, 即便供应充足的营养, 也仅能存活一龄, 而相反, 在有大肠杆菌等几种细菌存在情况下, 孑孓就可发育为成虫。通过进一步的大肠杆菌基因筛选, 发现大肠杆菌诱发宿主发育与细胞色素 BD 氧化酶有关, 该酶的存在可降低消化道中氧

的水平,从而促进生长和蜕皮激素诱导蜕皮。消化道中细菌的有氧呼吸是蚊子发育过程必不可少的诱因。

1.2.2 细菌激活 JAK-STAT 和 JNK 途径调节肠道干细胞分化

JAK-STAT (Janus kinase -signal transducers and activators of transcription) 信号通路是一条由细胞因子刺激的信号转导通路,参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等许多重要的生物学过程。与其它信号通路相比,这条信号通路的传递过程相对简单,它主要由三个成分组成,即酪氨酸激酶相关受体、酪氨酸激酶 JAK 和转录因子 STAT。JNK(c-Jun NH₂ terminal kinase) 又被称为应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK),它在细胞周期、生殖、凋亡和细胞应激等多种生理和病理过程中起重要作用。Buchon 等^[23]研究发现无菌果蝇有丝分裂的肠道干细胞数量和肠道上皮更新速度均低于正常饲养的果蝇,而且发现消化道里的微生物通过维持 JAK-STAT 和 JNK 信号途径的基本活性,使消化道上皮更新处于正常水平。有病原微生物入侵时 JAK-STAT 和 JNK 信号途径被过度激活,加速上皮更新。

1.2.3 PQQ-ADH 介导细菌调节胰岛素/胰岛素样生长因子信号途径调控肠道干细胞分化

吡咯喹啉醌依赖醇脱氢酶 (pyrroloquinoline quinone-dependent alcohol dehydrogenase, PQQ-ADH) 是醋酸菌乙醇氧化呼吸链中的主要脱氢酶,它参与乙酸生成。Shin 等^[24]通过构建果蝇消化道微生物的突变体,测试了消化道微生物对宿主发育的影响。研究发现对宿主发育构成影响的微生物突变体都会减少或严重抑制乙酸的生成,推测微生物的乙酸生成能力是影响宿主发育的主要因素,且 PQQ-ADH 呼吸链在调节胰岛素/胰岛素样生长因子信号途径调控肠道干细胞分化中扮演重要角色。

2 日粮对消化道微生物与消化道发育的调控

日粮类型是影响瘤胃发育速度的重要因素。瘤胃的发育起始于固体饲料的进食^[25],固体饲料除提供必要的物理刺激外,固体饲料能够较长时间地停留在瘤胃中,促进瘤胃微生物的定植和微生物代谢产物的生成,进而促进瘤胃发育。

2.1 精料对消化道微生物与消化道发育的调控

精料增加瘤胃内 *Prevotella*、*Ruminobacter amylophilus*、*Succinimonas amylolytica* 和 *Succinivibrio dextrinosolvens* 等淀粉和糖类分解菌相对丰度,使碳水化合物在瘤胃中迅速发酵产生挥发性脂肪酸 (volatile fatty acids, VFA)。高精料日粮使瘤胃上皮单羧酸转运载体 1、NHE1、NHE3 的表达量显著上调,单羧酸转运载体 4 的表达量显著下调^[26-27],从而促进瘤胃上皮对 VFA 的吸收。VFA 能够促进瘤胃上皮细胞分化和增殖,其中以丁酸的作用效果最优,丙酸次之^[28-30]。丁酸通过促进胰岛素样生长因子 (IGF-1)、表皮生长因子 (EGF)、生长激素 (GH)、胰岛素 (Insulin) 和胰高血糖素 (Glucagon) 的释放促进瘤胃上皮的发育^[31]。

而 Su árez 等^[32]研究发现,只饲喂精料的牛瘤胃中有很多食糜粘附斑块形成,斑块使瘤胃乳头聚集,降低了瘤胃的吸收面积,不利于瘤胃的健康。

2.2 粗饲料对消化道微生物与消化道发育的调控

富含纤维的粗饲料能增加瘤胃纤维分解菌的丰度^[33]。不同来源的粗饲料对瘤胃微生物的影响不同。Saro 等^[34]报道,和饲喂高质量苜蓿的绵羊相比,饲喂粗质黑麦干草的绵羊瘤胃中 *Fibrobacter succinogenes*、*Ruminococcus flavefaciens* 和真菌等纤维分解菌更多。Zhang 等^[35]在泌乳中期奶牛日粮中分别添加玉米秸秆、羊草和苜蓿,发现和饲喂玉米秸秆的奶牛相比,饲喂苜蓿的奶牛瘤胃中 *Prevotella* 和 *Selenomonas* 的相对丰度更高 ($P<0.05$),而和饲喂苜蓿或羊草的奶牛相比,饲喂玉米秸秆的奶牛瘤胃中 *Anaerotruncus*、*Papillibacter*、*Thermoactinomyces*、*Bacillus* 和 *Streptomyces* 的相对丰度较高 ($P<0.05$)。

在饲喂精料的过程中补饲粗料可以提高幼龄反刍动物日增重、胴体重和瘤胃健康水平^[36-37],补饲粗料的效果受粗料类型、纤维长度以及补饲量的影响^[38-39]。本课题组以湖羊为研究对象,研究了粗饲料的早期补饲对幼龄反刍动物瘤胃发育的影响。饲养试验结果显示,羔羊出生后 10 天补饲苜蓿能够提高断奶前后开食料和粉状精料的采食量和营养物质摄入量,增加幼龄反刍动物的体重、日增重、胴体重,促进前胃和脏器的发育,减少瘤胃壁食糜粘附^[40]。

这一过程中补饲苜蓿能诱导瘤胃微生物区系在断奶前就部分接近断奶后,减少断奶前后细菌属水平的变化,提高微生物区系的稳定性,从而促进羔羊对断奶后高纤维日粮的适应性,减少断奶应激^[41]。补饲苜蓿在断奶前增强细胞代谢过程、细胞定位、生物质量调控等分子功能;瘤胃上皮中细胞色素 P450、类固醇激素的生物合成、脂肪酸代谢等代谢途径,从而在断奶后代谢途径和生物过程相对稳定。而不补饲苜蓿的羔羊在断奶后再接触苜蓿则表现为应激反应、生物质量调控、外源刺激反应、化学反应等分子功能和紧密连接蛋白、唾液分泌等代谢途径的增强^[42]。

3 微生物移植对消化道微生物与消化道发育的调控

“粪菌移植”(Fecal microbiota transplantation, FMT),是指将健康供体的粪便微生物移植到患病受体的胃肠道内重塑受体肠道菌群结构来治疗特定疾病的方法。瘤胃微生物移植可在一定程度上改善饲料利用效率,加速消化道免疫耐受。

3.1 瘤胃微生物移植改善饲料利用效率

反刍动物能有效利用纤维物质,主要依赖于栖息在瘤胃内的大量具有纤维分解能力的微生物。人们企图通过瘤胃微生物移植提高反刍动物生产效率。新生反刍动物的瘤胃在出生后数分钟即有微生物定植,即使未采食固体饲料,一周内也可在瘤胃内检测到纤维降解菌。但这时的瘤胃尚不能承担纤维的降解功能,而是随着日龄增长,多样性更丰富、生态结构更稳定的瘤胃微生物菌群担负起纤维降解的功能。虽然幼龄反刍动物消化道中早期定植的微生物不一定发挥其应有的功能,但是作为瘤胃功能的重要参与者,早期定植的微生物可能在个体适应固体饲料的过程中发挥作用,以减少断奶应激产生的负面作用。Ishaq 等^[43]通过将野生

动物消化道内分离出的具较强纤维降解能力的微生物饲喂给幼龄反刍动物,改善了幼龄反刍动物的瘤胃发酵和饲料利用效率。

作为成熟瘤胃功能的载体,成年瘤胃微生物应该是一种幼龄反刍动物微生物移植的供体来源。相比于特定的微生物制剂,瘤胃微生物移植在提早引入大量新微生物的同时,可能加速消化道微生物的定植过程,甚至影响后肠的消化功能和机体的免疫作用。Zhong 等^[44]给羔羊移植成年瘤胃微生物,增加了羔羊 0-56 日龄的平均日增重,并且提高了饲料效率。Barbieri 等^[45]进一步测试了饲料和供体瘤胃微生物对羔羊瘤胃微生物定植的影响,发现饲料对瘤胃微生物区系的影响要大于微生物移植,产生更长远的影响。

3.2 瘤胃微生物移植加速消化道免疫耐受

相比于瘤胃,肠道在幼龄反刍动物消化功能的作用也越来越受到关注,微生物在后肠中也能进行发酵,产生的 VFA,尤其是丁酸,可以促进肠道上皮发育,改善肠道的屏障功能^[46]。与此同时,移植进入的微生物同时也具有很强免疫原性,其可能通过调节肠道免疫过程对宿主产生影响。早期的研究证明,不管是高压灭菌的瘤胃液、冻干瘤胃液、瘤胃液离心后的上清等,在移植进入幼龄反刍动物消化道内后,能显著降低腹泻发生的概率,这从侧面反映了瘤胃液作为一种免疫制剂,可能影响个体的肠道功能^[47]。在单胃动物的研究中发现,采食粗纤维可以加速肠道纤维素利用菌的定植,并增加挥发性脂肪酸的产生,这一过程加速了肠道上皮维生素 A 转化酶的表达,且这一特定酶与肠道致耐受性的树突状细胞增殖有关^[48]。在反刍动物生长前期,为了抵消不必要的免疫反应产生的能量损耗,反刍动物肠道可能存在对特定瘤胃微生物的耐受机制,提前移植的成年瘤胃微生物也可能加速肠道免疫耐受机制的建立,从而改善动物的肠道健康。

4 小 结

消化道微生物在消化道形态结构和免疫系统发育过程中扮演重要角色,越发受到关注。然而宿主如何识别微生物及其代谢产物,及不同信号途径介导微生物对消化道发育的调节的作用权重仍未可知。日粮和瘤胃微生物移植如何助推幼龄反刍动物消化道微生物演替与消化道发育仍需深入研究。

参考文献:

- [1] ATUMA C, STRUGALA V, ALLEN A, et al. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state *in vivo*[J]. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology,2001,280:G922–G929.
- [2] AN G,WEI B, XIA B, et al. Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans[J]. Journal of Experimental Medicine,2007,204(6):1417–1429.
- [3] FU J, WEI B, WEN T, et al. Loss of intestinal core 1-derived O-glycans causes spontaneous colitis in mice[J]. Journal of Clinical Investigation,2011,121(4):1657–1666.

- [4] HEAZLEWOOD C K, COOK M C, ERI R, et al. Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis[J]. *Plos Medicine*,2008,5(3):e54.
- [5] SHARMA R, SCHUMACHER U, RONAASEN V, et al. Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets[J]. *Gut*,1995,36(2):209–214.
- [6] PETERSSON J, SCHREIBER O, HANSSON G C, et al. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*,2011,300(2):G327–G333.
- [7] KOBOZIEV I, KARLSSON F, GRISHAM M B. Gut-associated lymphoid tissue, T cell trafficking, and chronic intestinal inflammation[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*,2010,1207 (Suppl 1):e86–e93.
- [8] MAYNARD C L, ELSON C O, HATTON R D, et al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system[J]. *Nature*,2012,489:231–241.
- [9] HAMADA H, HIROI T, NISHIYAMA Y, et al. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine[J]. *Journal of Immunology*,2002,168(1):57–64.
- [10] BOUSKRA D, BRÉZILLON C, BÉRARD M, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis[J]. *Nature*,2008,456:507–510.
- [11] GABORIAU-ROUTHIAU V, RAKOTOBÉ S, LÉCUYER E, et al. The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses[J]. *Immunity*,2009,31:677–689.
- [12] IVANOV I I, ATARASHI K, MANEL N, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria[J]. *Cell*,2009,139(3):485–498.
- [13] ATARASHI K, TANOUE T, SHIMA T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species[J]. *Science*,2011,331:337–341.
- [14] NICHOLSON J K, HOLMES E, KINROSS J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions[J]. *Science*,2012,336:1262–1267.
- [15] MASLOWSKI K M, VIEIRA A T, NG A, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43[J]. *Nature*,2009,461:1282–1286.
- [16] INAN M S, RASOULPOUR R J, YIN L, et al. The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF- κ B activity in a human colonic epithelial cell line[J]. *Gastroenterology*,2000,118:724–734.
- [17] VAVASSORI P, MENCARELLI A, RENGA B, et al. The bile acid receptor FXR is a modulator of intestinal innate immunity[J]. *The Journal of Immunology*,2009,183(10):6251–6261.

- [18] MYSZKA M, KLINGER M. The immunomodulatory role of vitamin D[J]. *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online)*,2014,68(0):865–878.
- [19] MARTHA R, FELIPE A, DARIEL T, et al. Effects of polyamines on cellular innate immune response and the expression of immune-relevant genes in gilthead seabream leucocytes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*,2011,30(1):248–254.
- [20] FENG T, WANG L, SCHOEB T R, et al. Microbiota innate stimulation is a prerequisite for T cell spontaneous proliferation and induction of experimental colitis[J]. *The Journal of Experimental Medicine*,2010,207(6):1321–1332.
- [21] DRAPER E, DECOURCEY J, HIGGINS S C, et al. Conjugated linoleic acid suppresses dendritic cell activation and subsequent Th17 responses[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*,2014,25(7):741–749.
- [22] COON K L, VALZANIA L, MCKINNEY D A, et al. Bacteria-mediated hypoxia functions as a signal for mosquito development[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2017,19:E5362–E5369.
- [23] BUCHON N, BRODERICK NA, CHAKRABARTI S, LEMAITRE B. Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila*[J]. *Genes & Development*,2009,23:2333–2344.
- [24] SHIN S C, KIM S, YOU H, et al. *Drosophila* microbiome modulates host developmental and metabolic homeostasis via insulin signaling[J]. *Science*,2011,334:670–674.
- [25] BALDWIN R L, MCLEOD K R, KLOTZ J L, HEITMANN R N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant[J]. *Journal of Dairy Science*,2004,87:E55–E65.
- [26] METZLER-ZEBELI B U, HOLLMANN M, SABITZER S, et al. Epithelial response to high-grain diets involves alteration in nutrient transporters and Na/K-ATPase mRNA expression in rumen and colon of goats[J]. *Journal of Animal Science*,2013,91(9):4256–4266.
- [27] YANG W, SHEN Z, MARTENS H. An energy-rich diet enhances expression of Na/H exchanger isoform 1 and 3 messenger RNA in rumen epithelium of goat[J]. *Journal of Animal Science*, 2012,90(1):307–317.
- [28] SANDER E G, WARNER R G, HARRISON H N, LOOSLI J K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf[J]. *Journal of Dairy Science*,1959,42(9):1600–1605.
- [29] TAMATE H, MCGILLIARD A D, JACOBSON N L, Getty R. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf[J]. *Journal of Dairy Science*, 1962,45(3):408–420.

- [30] KLEEN J L, HOOIJER G A, REHAGE J, NOORDHUIZEN J P T M. Subacute ruminal acidosis (sara): a review. *Journal of Veterinary Medicine A Physiology Pathology Clinical Medicine*, 2003, 50(8): 406.
- [31] PENNER G B, STEELE M A, ASCHENBACH J R, MCBRIDE B W. Ruminant nutrition symposium: molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets[J]. *Journal of Animal Science*, 2011, 89(4): 1108–1119.
- [32] SUÁREZ B J, REENEN C G V, STOCKHOFE N, et al. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves 1[J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(5): 2390–2403.
- [33] DORÉ J, BLOTTIÈRE H. The influence of diet on the gut microbiota and its consequences for health[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, 32: 195–199.
- [34] SARO C, RANILLA M J, TEJIDO M L, CARRO M D. Influence of forage type in the diet of sheep on rumen microbiota and fermentation characteristics[J]. *Livestock Science*, 2014, 160(2): 52–59.
- [35] ZHANG R, ZHU W, ZHU W, et al. Effect of dietary forage sources on rumen microbiota, rumen fermentation and biogenic amines in dairy cows[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2014, 94(9): 1886–1895.
- [36] CASTELLS L, BACH A, ARAUJO G, et al. Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves[J]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95: 286–293.
- [37] TERRE M, PEDRALS E, DALMAU A, et al. What do preweaned and weaned calves need in the diet: A high fiber content or a forage source?[J] *Journal of Dairy Science*, 2013, 96: 5217–5225.
- [38] CASTELLS L, BACH A, ARIS A, et al. Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract[J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96: 5226–5236.
- [39] WEBB L E, BOKKERS E A, HEUTINCK L F, et al. Effects of roughage source, amount, and particle size on behavior and gastrointestinal health of veal calves[J]. *J Dairy Sci*, 2013, 96: 7765–7776.
- [40] YANG B, HE B, WANG S S, et al. Early supplementation of starter pellets with alfalfa improves the performance of pre- and postweaning Hu lambs[J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93: 4984–4994.
- [41] YANG B, LE J Q, WU P, et al. Alfalfa intervention alters rumen microbial community development in Hu lambs during early life[J]. *Frontiers in Microbiology*. 9:574

- [42] 杨斌. 早期补饲苜蓿调节幼龄湖羊生长和瘤胃发育的机制研究[D]. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [43] ISHAQ S L, KIM C J, REIS D, WRIGHT A D. Fibrolytic Bacteria Isolated from the Rumen of North American Moose (*Alces alces*) and Their Use as a Probiotic in Neonatal Lambs[J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0144804.
- [44] ZHONG R Z, SUN H X, LI G D, et al. Effects of inoculation with rumen fluid on nutrient digestibility, growth performance and rumen fermentation of early weaned lambs[J]. Livestock Science, 2014, 162: 154–158.
- [45] DE BARBIERI I, HEGARTY R S, SILVEIRA C, ODDY V H. Positive consequences of maternal diet and post-natal rumen inoculation on rumen function and animal performance of Merino lambs[J]. Small Ruminant Research, 2015, 129: 37–47.
- [46] SONG Y, MALMUTHUGE N M, STEELE A, GUAN L L. Shift of hindgut microbiota and microbial short chain fatty acids profiles in dairy calves from birth to pre-weaning[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2018, 94(3): doi: 10.1093/femsec/fix179.
- [47] MUSCATO T V, TEDESCHI L O, RUSSELL J B. The effect of ruminal fluid preparations on the growth and health of newborn, milk-fed dairy calves[J]. Journal of Dairy Science, 2002, 85(3): 648–656.
- [48] GOVERSE G R, MOLENAAR L, MACIA J, et al. Diet-derived short chain fatty acids stimulate intestinal epithelial cells to induce mucosal tolerogenic dendritic cells[J]. Journal of Immunology, 2017, 198(5): 2172–2181.

Intervention of Microbial Succession and Gastrointestinal Tract Development in Young Ruminants

Yu Shaobo, Yang Bin, Wang Shanshan and Wang Jiakun*

Institute of Dairy Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: The gut microbiome plays an important role in the development of anatomy and immune function of the gastrointestinal tract (GIT). How microbiome masters host development and physiology, the effects of the diet and the rumen microorganism transplantation on the microbial succession and the development of GIT were reviewed. By stimulating the goblet cells to secrete mucin and active dendritic cells, the microorganisms regulate the differentiation of immune cells and regulates the immune system of the host. By mediating hypoxia, activating the JAK-STAT and JNK pathway or insulin / insulin-like growth factor signal pathway, the microorganisms regulate the differentiation of intestinal stem cells. Solid feed can stay in the rumen for a long time, promote the colonization of rumen microorganisms and the production of microbial metabolites, thereby promoting rumen development. Rumen microorganism transplantation can accelerate the microbial succession and functional differentiation of the GIT of the young ruminant, but its influence on the rumen microbial flora is less than the diet, however it is a potential immune synergistic method.

Keywords: gut microbiome; GIT development; young ruminants

*Corresponding author, professor, E-mail: jiakunwang@zju.edu.cn

(编辑 × ×)

反刍动物瘤胃碳水化合物代谢过程中的能量损失

李宗军 姚军虎^{*23}

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 尽管反刍动物可将人类不能消化的纤维性植物资源转化为高品质的肉和奶, 但转化过程中存在大量的能量损失, 导致饲料转化效率较低。本文总结了瘤胃碳水化合物代谢过程中主要的能量损失, 并提出调控方向及措施。

关键词: 反刍动物; 瘤胃; 碳水化合物; 能量损失; 调控措施

植物纤维素是自然界最丰富的可再生资源^[1], 且比石油更清洁便宜, 但人类只利用了其中的 2%^[2]。反刍动物依靠功能强大的前胃系统将人类不能消化的纤维性植物资源转化为高品质的肉和奶, 缓解了人畜争粮的问题。正因为这一特性, 反刍动物(山羊和绵羊)被人类最早驯化, 并伴随人类文明的发展。就肉比而言, 肉牛的饲料转化效率(> 6:1)远低于肉鸡(< 1.8:1)和商品猪(< 3:1)。这除了与物种的基因组背景不同有关外, 还与饲料的消化吸收特点有关。碳水化合物占反刍动物日粮干物质的 60~80%, 是动物主要的能量来源。能量是决定动物生产性能和机体健康的重要因素, 因此理解反刍动物碳水化合物代谢与能量供应之间的关系和缺陷, 明确瘤胃调控的方向对提高反刍动物饲料转化效率具有重要意义。

1 纤维降解与能量释放

与单胃动物消化方式不同, 反刍动物以微生物消化为主。牛科动物的瘤胃占据整个消化道的 80%左右, 山羊和绵羊约占 75%^[3]。瘤胃为微生物的生长繁殖提供了理想环境: 稳定的饲料颗粒供给、厌氧、液态、适宜的温度和 pH。同时, 丰富多样的瘤胃微生物区系有助于反刍动物降解复杂多样的饲料碳水化合物。目前对反刍动物碳水化合物的经典分类是依据溶解特性、存在部位、生理功能和发酵特性, 分成的纤维性(存在于细胞壁的结构性碳水化合物, 属于慢速发酵部分)和非纤维性(存在于细胞内容物的贮能性碳水化合物, 属于快速发酵部分)碳水化合物^[4]。反刍动物非纤维性多糖和寡糖的全消化道消化率可达 90%, 而纤维性多糖的全消化道消化率较低, 大约为 30%~60%; 其中瘤胃的降解量分别占总降解量的 60%~80%和 90%^[5,6]。因此, 日粮纤维的低降解率限制了饲料能量的释放。

随着科学技术的发展, 我们对碳水化合物降解的理解逐渐深入到分子水平甚至化学键水平^[7-9]。了解碳水化合物的化学结构和降解特性对进一步提高其肠道降解率具有重要的指导意义。分解糖苷键的酶被称为碳水化合物活性酶(Carbohydrate-active enzymes, CAZymes)。多糖结构越复杂, 分解所需的 CAZymes 种类越多。根据催化多糖分解的机制, CAZymes

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0500500)、国家自然科学基金(31472122, 31672451)。

作者简介: 李宗军(1990.03-), 男, 山东潍坊人, 博士后, 主要从事反刍动物营养调控研究。E-mail: lizongjun@nwfau.edu.cn.

*通讯作者: 姚军虎(1962-), 教授, 博士生导师, 主要从事反刍动物营养调控研究。E-mail: yaojunhu2004@sohu.com, yaojunhu2008@nwfau.edu.cn.

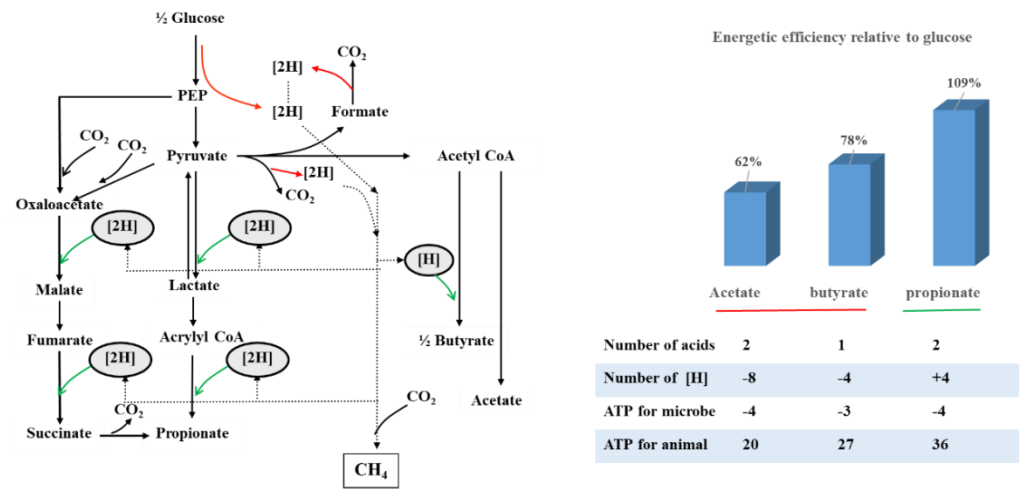
主要分为糖苷水解酶(Glycoside hydrolases, GHs)和多糖裂解酶(Polysaccharide lyases, PLs)。CAZymes 还包括糖基转移酶和碳水化合物酯酶。目前将多糖分解酶主要归为 149 个 GHs 家族和 27 个 PLs 家族。动物消化道仅可分泌 17 种用于消化淀粉、蔗糖和乳糖的 CAZymes^[8], 动物不能消化的多糖主要依靠肠道中的微生物降解。Boutard 等^[9]以 *C. phytofermentans* 为例展示了不同多糖被 CAZymes 分解和代谢的通路(图 1)。

注: GA: D-半乳糖醛酸 D-galacturonic acid; R: L-鼠李糖 L-rhamnose; M: D-甘露糖 D-mannose; Gc: D-葡萄糖, D-glucose; G: D-半乳糖 D-galactose; X: D-木糖 D-xylose; A: L-阿拉伯糖 L-arabinose; F: 果糖 fructose; P: 磷酸 phosphate; PPP: 磷酸戊糖途径 pentose phosphate pathway; DHAP: 二羟丙酮磷酸 dihydroxyacetone-phosphate; G3P: 甘油醛-3-磷酸 glyceraldehyde-3-phosphate。

Fig. 1 The degradation pathways of different polysaccharide by *C. phytofermentans* CAZyme^[9]

2. VFA 模式与能量效率

与单胃动物不同，多糖降解为单糖后，又被瘤胃微生物不完全氧化为乙酸、丙酸和丁酸等挥发性脂肪酸(Volatile fatty acids, VFA)，同时释放出 CO₂ 和 H₂ (图 2)^[15,16]。



注：图中红线代表还原氢的产生，绿线代表还原氢的利用，虚线代表氢的代谢方向。PEP：磷酸烯醇丙酮酸 phosphoenolpyruvate。

图 2 葡萄糖在微生物胞内代谢途径及其能量效率

Fig. 2 Metabolic pathways of hexose in microbe and relative energetic efficiency

成年反刍动物 70%的能量以 VFA 形式供给，远高于单胃动物^[17]。瘤胃微生物将葡萄糖完全代谢为乙酸和丁酸的过程中分别损失 38%和 22%的能值，生成丙酸的过程中反而多获得 9%的能量^[18]。这是因为乙酸发酵过程中不仅微生物消耗部分能量，还有部分能量以还原氢的形式损失，且还原氢浪费的能量是微生物消耗的 4 倍。尽管丙酸生成过程中微生物消耗的能量与乙酸途径一致^[19]，但额外吸收了氢的能量，故能量效率更高。综上，丙酸发酵无论对动物还是微生物，都是能量高效率的体现。Shabat 等^[20]研究 146 头奶牛的发酵特性和产奶性能发现，饲料转化效率高的奶牛比低效奶牛有更高的瘤胃 VFA 浓度，且丙酸和丁酸比例较高。

Hackmann 等^[21]总结了 49 种瘤胃细菌观测到的代谢产物，并利用微生物的基因组学技术对其进行了补充(图 3)。结果表明，绝大部分细菌可产生甲酸和乙酸。甲酸在瘤胃中不稳定，很容易分解产生 CO₂ 和 H₂，或者被甲烷菌直接利用产生 CH₄^[22]。部分细菌没有产生丙酸的途径；还有部分细菌没有完整的丙烯酸途径或琥珀酸途径，而是以乳酸或琥珀酸等中间产物作为它们的代谢终产物，再被其它细菌利用产生 VFA^[12,21]。也有少部分瘤胃微生物不能产生乙酸而是以乙醇作为代谢终产物。仅有少部分细菌可产生丁酸。瘤胃 VFA 的发酵模式与微生物区系有关外，还与发酵碳水化合物种类以及比例有关。日粮精粗比是影响瘤胃发酵模式的重要因素，精料利于丙酸发酵，而粗料利于乙酸发酵。

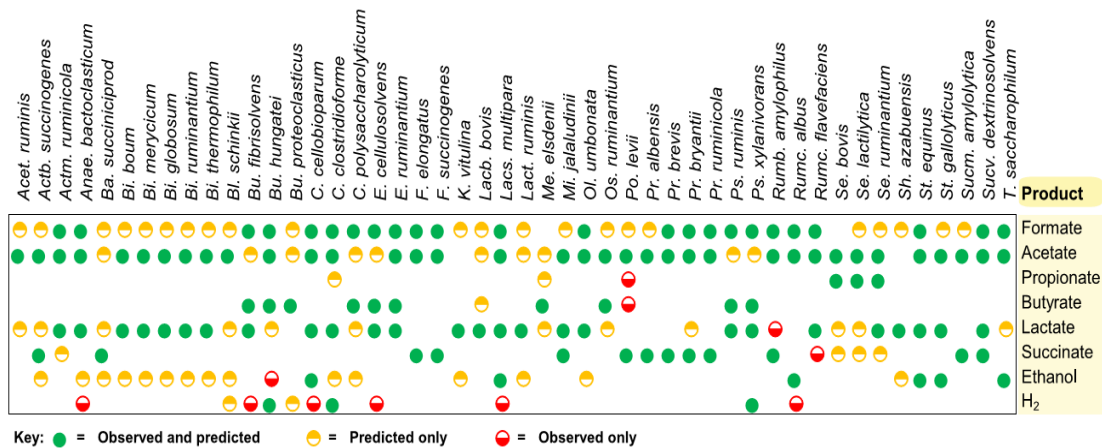


图 3 瘤胃细菌被观测到和预测到的发酵终产物^[21]

Fig. 3 Observed and predicted fermentation products of rumen bacteria^[21]

3. 甲烷排放与能量损失

瘤胃中乙酸丙酸比大约为 3: 1, 这也就意味着大约 80%的氢没有被利用生成丙酸。这部分氢被甲烷菌利用生成 CH_4 。瘤胃 CH_4 的排放使动物损失 2%~12%的饲料总能^[23], 若在消化能和代谢能水平上比较, 损失的比例会更高。提高日粮的精粗比和饲料品质以及添加甲烷抑制剂, 可通过提高动物生产性能和降低 CH_4 排放量两方面降低单位畜产品的 CH_4 排放量。 CH_4 是仅次于 CO_2 的第二大温室气体, 且 CH_4 的温室效能是等量 CO_2 的 25 倍, 在大气中的存留时间长达 10 年^[24]。每年畜牧业排放的 CH_4 占据全球排放量的 16%, 是人类活动中最大的 CH_4 排放源^[25]。反刍动物 CH_4 排放量约占畜牧业排放量的 73%^[26]。因此, 降低反刍动物 CH_4 排放量不仅有助于降低饲料能量的损失和提高动物生产性能, 也有助于缓解全球变暖。

4. 瘤胃碳水化合物代谢调控的营养策略

在保证正常发酵的前提下, 提高日粮纤维降解率、促进丙酸发酵和降低 CH_4 排放是瘤胃碳水化合物代谢的调控方向。本节总结了不改变日粮原料化学特性前提下的瘤胃调控策略。

4.1 提高瘤胃 pH

纤维降解微生物对瘤胃 pH 较为敏感, 其丰度和活力随瘤胃 pH 下降而下降, 特别是瘤胃酸中毒的情况下^[27,28]。

Aschenbach 等^[29]研究表明, 反刍动物口腔唾液分泌的缓冲盐与瘤胃上皮的分泌量基本相当, 在调控瘤胃 pH 方面起着重要作用。日粮物理有效中性洗涤纤维(physically effective NDF, peNDF)可有效地刺激动物的咀嚼和反刍活动, 进而提高唾液分泌量^[30,31]。Zebeli 等^[32]建议为防止高产奶牛发生瘤胃酸中毒和保证正常的瘤胃发酵, 日粮的 peNDF_{1.18} 与瘤胃可降解淀粉比例应高于 1.45。奶山羊调控瘤胃 pH 的能力要强于奶牛^[33], Li 等^[34]推荐奶山羊日粮 peNDF_{1.18} 与瘤胃可降解淀粉比例应高于 1.43。提高日粮 peNDF 含量也可通过延长纤维在瘤胃中的存留时间提高纤维的降解率^[30]。增加饲喂频次或利用全混合日粮也可缓解动物挑食精料引起的瘤胃酸中毒。

常见的缓解瘤胃酸中毒的添加剂和原理包括以下几种：碳酸氢钠等缓冲剂可中和瘤胃中的酸；阿卡波糖可抑制淀粉酶活性而减缓酸的快速积累^[35]；添加酵母可改善瘤胃微生物区系，抑制乳酸产生^[36]。

4.2 选择性抑制产乙酸微生物

日粮碳水化合物在产乙酸微生物的作用下主要发酵生成乙酸，而在产丙酸微生物的作用下发酵生成乙酸和丙酸。产乙酸微生物也属于瘤胃中的产氢微生物，与甲烷菌存在种间氢转移的共生关系。因此选择性抑制瘤胃的产乙酸微生物，会使更多的底物被产丙酸微生物利用生成丙酸，降低氢产量的同时与甲烷菌竞争利用氢^[37]。

原虫是瘤胃中主要的产乙酸和产氢微生物，约占瘤胃生物总量的 50%^[38]，且在瘤胃微生物互作网络中扮演着重要角色，包括捕食、竞争和共生等。原虫的捕食作用降低了瘤胃中细菌和真菌的丰度，被认为不利于饲料的降解，特别是纤维性碳水化合物。原虫虽然可缓解淀粉性饲料快速发酵导致的酸积累，但原虫发酵淀粉主要产生乙酸和丁酸^[38]，而细菌利用淀粉主要产生对机体更高效的丙酸。原虫与甲烷菌存在种间氢转移的共生关系^[39]。因此，驱除瘤胃原虫被认为有利于提高瘤胃纤维降解率和丙酸浓度，同时降低 CH₄ 排放，进而提高动物的生产性能^[40,41]。然而部分研究结果发现驱除瘤胃原虫后，反刍动物的 CH₄ 排放量和瘤胃 A:P 并没有降低^[42-44]。李宗军^[37]利用 Meta 分析发现，驱除瘤胃原虫促进丙酸发酵和抑制 CH₄ 排放的效果并不持续，7 wk 后丙酸比例反而显著降低，11 wk 后 CH₄ 排放量反而显著升高。这可能与瘤胃微生物间存在功能性冗余^[45]，产乙酸的细菌和真菌丰度适应性上升有关^[37]。Li 等^[46]利用莫能菌素同时抑制山羊瘤胃产乙酸的原虫和细菌发现，尽管其甲烷抑制效果有所减弱，但丙酸增强效果相对持久。Duffield 等^[47] Meta 分析结果表明，奶牛日粮中添加莫能菌素可提高 2.3% 的产奶量和 2.5% 的饲料能量转化效率。Duffield 等^[48] Meta 分析显示，肉牛日粮中添加莫能菌素可提高 2.5% 日增重和 6.4% 的饲料能量转化效率。因此，尽管莫能菌素的 CH₄ 减排效果逐渐消弱，但相对持久的丙酸增强效果有利于降低每单位肉或奶的 CH₄ 产量^[49]。莫能菌素也被用于缓解瘤胃酸中毒、围产期能量负平衡和酮病^[50-53]等临床疾病。莫能菌素在各方面均表现出较好的瘤胃调控效果，因此被称为瘤胃素，但有些国家已限制其在奶畜上使用，所以亟需找到合适的莫能菌素替代品。

4.3 甲烷合成抑制剂

利用添加剂直接降低甲烷菌丰度或抑制 CH₄ 合成，可显著降低 CH₄ 排放量。溴氯甲烷、溴乙烷磺酸、三氯甲烷和环糊精等可降低 50% 左右的 CH₄ 排放量^[54,55]。但这些物质具有致癌性和破坏臭氧层等不足，无法应用于生产中。荷兰帝斯曼集团公司研发的 3-硝基酯-1-丙醇(3-nitrooxypropanol, 3-NOP)可抑制 CH₄ 合成过程中的甲基辅酶 M 还原酶，进而抑制 CH₄ 合成^[56,57]。Haisan 等^[58]在泌乳奶牛日粮中每天添加 2.5 g 3-NOP 可降低 60% 的 CH₄ 排放量，并显著提高瘤胃丙酸比例和动物日增重，但对总 VFA 浓度和产奶量无影响。Romero-Perez 等^[59]在肉牛日粮中添加不同浓度的 3-NOP 发现，3-NOP 对 CH₄ 的抑制效果和丙酸的增强效果与添加水平有关，同时发现对饲料降解率无不利影响。Hristov 等^[60]研究表明，在泌乳奶

牛日粮中长期添加 3-NOP 可持续抑制 CH₄ 排放。3-NOP 抑制甲基辅酶 M 还原酶的功能基团是硝基酯基团^[56,61]，Mart ínez-Fern ández 等^[62] 发现含有硝基酯基团的 3-NOP 和 E3NP (ethyl-3-nitrooxy propionate)对瘤胃的调控效果基本一致。Hristov 等^[60]研究发现，3-NOP 抑制 CH₄ 排放的同时，H₂ 的排放量显著上升，H₂ 作为一种高能气体也代表着能量的损失，而且大量的 H₂ 积累容易造成瘤胃胀气。Ungerfeld^[63]预测瘤胃 CH₄ 完全抑制后，H₂ 的排放量将上升近 200 倍，所以如何利用 3-NOP 抑制 CH₄ 剩余的 H₂ 亟待解决。

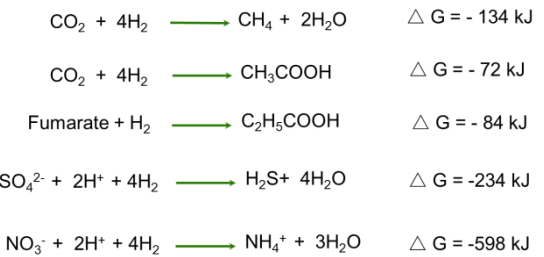
4.4 氢受体

CH₄ 生成是维持瘤胃低氢分压的最主要途径，也存在其它可利用氢的受体，如硫酸盐、硝酸盐和延胡索酸等。日粮中添加氢受体与甲烷菌竞争性利用氢是抑制反刍动物 CH₄ 排放的重要措施之一。

图 4 不同氢受体利用氢的能力和反应式比较^[37]

Fig. 4 Reactions and reaction thermodynamics of

hydrogen utilization by hydrogen sinks^[37]



硝酸盐在反刍动物瘤胃内首先还原为亚硝酸盐，再被还原为氨，整个还原过程都需要消耗氢，同时生成的氨可被瘤胃微生物利用合成微生物蛋白。硝酸盐利用氢的能力要高于二氧化碳(图 4)，可有效的与甲烷菌竞争性利用氢，降低 CH₄ 产量^[64,65]。然而亚硝酸盐在瘤胃中不易转化为氨，容易造成亚硝酸盐积累，抑制瘤胃发酵；同时亚硝酸盐被吸收进入机体，造成红细胞的亚铁离子氧化，危害机体健康^[66,67]。如何提高亚硝酸盐的代谢速度，是硝酸盐应用于生产的瓶颈。

苹果酸和延胡索酸，作为丙酸生成的前体物质，可与甲烷菌竞争氢，同时生成动物可利用的丙酸，因而受到研究者的广泛关注^[68,69]。Yang 等^[68]和 Garc ía-Mart ínez 等^[70]研究结果表明，延胡索酸的丙酸增强效果在高粗料日粮中的表现优于高精料日粮。Yang 等^[68]和李宗军等^[37,71]在山羊日粮中添加延胡索酸发现，CH₄ 的实际降低量远大于其作为氢受体的理论降低量，说明延胡索酸不仅可通过与甲烷菌竞争氢降低甲烷产量。李宗军等^[37,71]通过构建高产氢模型发现，延胡索酸还可增强瘤胃的丙酸发酵通路，促进日粮发酵为丙酸，因此延胡索酸在瘤胃中的代谢时间越长，瘤胃调控效果越好。

5 小结

瘤胃纤维降解率低、发酵过程中能量消耗和损失，是导致反刍动物饲料转化效率较低的原因，因此提高日粮纤维降解率、促进丙酸发酵和降低 CH₄ 排放是瘤胃碳水化合物代谢的调控方向。

参考文献:

- [1] SHEKHAR C.Future fuel: could biomass be the new petroleum[J].Chemistry & Biology,2011,18(10):1199–1200.
- [2] PAULY M,KEEGSTRA K.Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels[J].The Plant Journal,2008,54(4):559–568.
- [3] MEMBRIVE C M B.Anatomy and Physiology of the Rumen[G]//Rumenology. Springer, Cham,2016:1–38.
- [4] VAN SOEST P J,ROBERTSON J B,LEWIS B A.Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J].Journal of Dairy Science,1991,74(10):3583–3597.
- [5] NRC. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th ed. National Academic Press, Washington, D.C.[M],2001.
- [6] 赵向辉.日粮非纤维性碳水化合物对人工瘤胃发酵、微生物合成和纤维分解菌菌群的影响[D].西北农林科技大学,2012.
- [7] CANTAREL B L,COUTINHO P M,RANCUREL C,et al.The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics[J].Nucleic Acids Research,2009,37(Database):D233–D238.
- [8] KAOUTARI A E,ARMOUGOM F,GORDON J I,et al.The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota[J].Nature Reviews Microbiology,2013,11(7):497–504.
- [9] BOUTARD M,CERISY T,NOGUE P-Y,et al.Functional diversity of carbohydrate-active enzymes enabling a bacterium to ferment plant biomass[J].PLoS Genetics,2014,10(11):e1004773.
- [10] HESS M,SCZYRBA A,EGAN R,et al.Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen[J].Science,2011,331(6016):463–467.
- [11] STEWART R D,AUFFRET M D,WARR A,et al.Assembly of 913 microbial genomes from metagenomic sequencing of the cow rumen[J].Nature Communications,2018,9(1):870.
- [12] SESHADRI R,LEAHY S C,ATTWOOD G T,et al.Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection[J].Nature Biotechnology,2018.
- [13] ORMEROD K L,WOOD D L A,LACHNER N,et al.Genomic characterization of the uncultured Bacteroidales family S24-7 inhabiting the guts of homeothermic animals[J].Microbiome,2016,4(1).
- [14] SOLDEN L M,HOYT D W,COLLINS W B,et al.New roles in hemicellulosic sugar fermentation for the uncultivated Bacteroidetes family BS11[J].The ISME Journal,2017,11(3):691–703.
- [15] JANSSEN P H.Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics[J].Animal Feed Science and

Technology,2010,160(1–2):1–22.

[16] WHITE D,DRUMMOND J,FUQUA C.Physiology and Biochemistry of Prokaryotes (4th Edition)[M].Oxford University Press,2012.

[17] BERGMAN E N.Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species[J].Physiological Reviews,1990,70(2):567–590.

[18] RYLE M,ØRSKOV E R.Energy Nutrition in Ruminants[M].Springer Netherlands,1990.

[19] HRISTOV A N,OH J,LEE C,et al. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production: a review of technical options for non-CO₂ emissions[M].Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations,2013.

[20] SHABAT S K B,SASSON G,DORON-FAIGENBOIM A,et al.Specific microbiome-dependent mechanisms underlie the energy harvest efficiency of ruminants[J].The ISME Journal,2016.

[21] HACKMANN T J,NGUGI D K,FIRKINS J L,et al.Genomes of rumen bacteria encode atypical pathways for fermenting hexoses to short-chain fatty acids: atypical fermentation pathways[J].Environmental Microbiology,2017,19(11):4670–4683.

[22] MILLEN D D,ARRIGONI M D B,PACHECO (EDS.) R D L.Rumenology[M].Springer International Publishing,2016.

[23] JOHNSON K A,JOHNSON D E.Methane emissions from cattle.[J]. Journal of Animal Science,1995,73(8):2483–2492.

[24] SHINDELL D T,FALUVEGI G,KOCH D M,et al.Improved attribution of climate forcing to emissions[J].Science,2009,326(5953):716–718.

[25] KARAKURT I,AYDIN G,AYDINER K.Sources and mitigation of methane emissions by sectors:A critical review[J].Renewable Energy,2012,39(1):40–48.

[26] RODRIGUES P H M.Control and manipulation of ruminal fermentation[G]//Rumenology Springer,Cham,2016:157–187.

[27] TAJIMA K,AMINOV R I,NAGAMINE T,et al.Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR[J].Applied and Environmental Microbiology,2001,67(6):2766–2774.

[28] KHAFIPOUR E,KRAUSE D O,PLAIZIER J C.A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation[J].Journal of Dairy Science,2009,92(3):1060–1070.

[29] ASCHENBACH J R,PENNER G B,STUMPF F,et al.Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH[J].Journal of Animal Science,2011,89(4):1092–1107.

[30] ZEBELI Q,ASCHENBACH J R,TAF AJ M,et al.Invited review: role of physically effective fiber

and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle[J].*Journal of Dairy Science*,2012,95(3):1041–1056.

[31] 李飞.奶山羊亚急性瘤胃酸中毒模型构建与奶牛日粮 CBI 的优化[D].西北农林科技大学,2014.

[32] ZEBELI Q,TAJAFI M,WEBER I,et al.Effects of dietary forage particle size and concentrate level on fermentation profile, in vitro degradation characteristics and concentration of liquid- or solid-associated bacterial mass in the rumen of dairy cows[J].*Animal Feed Science and Technology*,2008,140(3–4):307–325.

[33] ZHAO X H,ZHANG T,XU M,et al.Effects of physically effective fiber on chewing activity, ruminal fermentation,and digestibility in goats[J].*Journal of Animal Science*,2011,89(2):501–509.

[34] LI F,YANG X J,CAO Y C,et al.Effects of dietary effective fiber to rumen degradable starch ratios on the risk of sub-acute ruminal acidosis and rumen content fatty acids composition in dairy goat[J].*Animal Feed Science and Technology*,2014,189:54–62.

[35] MCLAUGHLIN C L,THOMPSON A,GREENWOOD K,et al.Effect of acarbose on acute acidosis[J].*Journal of Dairy Science*,2009,92(6):2758–2766.

[36] POPPY G D,RABIEE A R,LEAN I J,et al.A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows[J].*Journal of Dairy Science*,2012,95(10):6027–6041.

[37] 李宗军.瘤胃丙酸发酵的增强策略及其对碳水化合物代谢的动态影响[D].西北农林科技大学,2018.

[38] WILLIAMS A G,COLEMAN G S.The Rumen Protozoa[M].Springer-Verlag New York,1992.

[39] FINLAY B J,ESTEBAN G,CLARKE K J,et al.Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens[J].*FEMS Microbiology Letters*,1994,117(2):157–161.

[40] EUGÈNE M,ARCHIMÈDE H,SAUVANT D.Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth,intake and digestion in ruminants[J].*Livestock Production Science*,2004,85(1):81–97.

[41] NEWBOLD C J,DE LA FUENTE G,BELANCHE A,et al.The role of ciliate protozoa in the rumen[J].*Frontiers in Microbiology*,2015,6:1313.

[42] BIRD S H,HEGARTY R S,WOODGATE R.Persistence of defaunation effects on digestion and methane production in ewes[J].*Australian Journal of Experimental Agriculture*,2008,48(2):152–155.

[43] HEGARTY R S,BIRD S H,VANSELOW B A,et al.Effects of the absence of protozoa from birth or from weaning on the growth and methane production of lambs[J].*British Journal of Nutrition*,2008,100(06):1220–1227.

[44] MORGAVI D P,MARTIN C,JOUANY J-P,et al.Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause–effect relationship[J].*British Journal of Nutrition*,2012,107(03):388–397.

- [45] ROSENFELD J S. Functional redundancy in ecology and conservation[J]. *Oikos*, 2002, 98(1): 156–162.
- [46] LI Z J, REN H, LIU S M, et al. Dynamics of methanogenesis, ruminal fermentation, and alfalfa degradation during adaptation to monensin supplementation in goats[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(2): 1048–1059.
- [47] DUFFIELD T F, RABIEE A R, LEAN I J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. part 2. production effects[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(4): 1347–1360.
- [48] DUFFIELD T F, MERRILL J K, BAGG R N. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake[J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(12): 4583–4592.
- [49] TEDESCHI L O, FOX D G, TYLUTKI T P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32(5): 1591–1602.
- [50] MCGUFFEY R K, RICHARDSON L F, WILKINSON J I D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook[J]. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84: E194–E203.
- [51] DUFFIELD T F, RABIEE A R, LEAN I J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. part 1. metabolic effects[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(4): 1334–1346.
- [52] DUFFIELD T F, RABIEE A R, LEAN I J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. part 3. health and reproduction[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(6): 2328–2341.
- [53] DRONG C, BUHLER S, FRAHM J, et al. Effects of body condition, monensin, and essential oils on ruminal lipopolysaccharide concentration, inflammatory markers, and endoplasmic reticulum stress of transition dairy cows.[J]. *Journal of dairy science*, 2017.
- [54] KNIGHT T, RONIMUS R S, DEY D, et al. Chloroform decreases rumen methanogenesis and methanogen populations without altering rumen function in cattle[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2011, 166–167(7): 101–112.
- [55] MITSUMORI M, SHINKAI T, TAKENAKA A, et al. Responses in digestion, rumen fermentation and microbial populations to inhibition of methane formation by a halogenated methane analogue[J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(03): 482–491.
- [56] RAGSDALE S W. Targeting methanogenesis with a nitrooxypropanol bullet[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(22): 6100–6101.
- [57] 高健, 冯丹, 王梦芝等. 3-硝基酯-1-丙醇抑制反刍动物瘤胃甲烷排放的机理及对动物的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(5): 1353–1360.
- [58] HAISAN J, SUN Y, GUAN L L, et al. The effects of feeding 3-nitrooxypropanol on methane emissions and productivity of Holstein cows in mid lactation[J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(5): 3110–3119.

- [59] ROMERO-PEREZ A, OKINE E K, MCGINN S M, et al. The potential of 3-nitrooxypropanol to lower enteric methane emissions from beef cattle[J]. *Journal of animal science*, 2014, 92(10):4682–4693.
- [60] HRISTOV A N, OH J, GIALLONGO F, et al. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(34):10663–10668.
- [61] DUIN E C, WAGNER T, SHIMA S, et al. Mode of action uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(22):6172–6177.
- [62] MART ÍNEZ-FERNÁNDEZ G, ABECIA L, ARCO A, et al. Effects of ethyl-3-nitrooxy propionate and 3-nitrooxypropanol on ruminal fermentation, microbial abundance, and methane emissions in sheep[J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(6):3790–3799.
- [63] UNGERFELD E M. Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: a meta-analysis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(37).
- [64] VAN ZIJDERVELD S M, GERRITS W J J, APAJALAHTI J A, et al. Nitrate and sulfate: effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep[J]. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93(12):5856–5866.
- [65] OLIJHOEK D W, HELLWING A L F, BRASK M, et al. Effect of dietary nitrate level on enteric methane production, hydrogen emission, rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(8):6191–6205.
- [66] LEE C, ARAUJO R C, KOENIG K M, et al. Effects of encapsulated nitrate on eating behavior, rumen fermentation, and blood profile of beef heifers fed restrictively or ad libitum[J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(5):2405–2418.
- [67] LEE C, ARAUJO R C, KOENIG K M, et al. Effects of feed consumption rate of beef cattle offered a diet supplemented with nitrate ad libitum or restrictively on potential toxicity of nitrate[J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(10):4956–4966.
- [68] YANG C J, MAO S Y, LONG L M, et al. Effect of disodium fumarate on microbial abundance, ruminal fermentation and methane emission in goats under different forage: concentrate ratios[J]. *Animal*, 2012, 6(11):1788–1794.
- [69] PAL K, PATRA A K, SAHOO A, et al. Effect of nitrate and fumarate in prosopis cineraria and Ailanthus excelsa leaves-based diets on methane production and rumen fermentation[J]. *Small Ruminant Research*, 2014, 121(2–3):168–174.
- [70] GARC ÍA-MART ÍNEZ R, RANILLA M J, TEJIDO M L, et al. Effects of disodium fumarate on in vitro rumen microbial growth, methane production and fermentation of diets differing in their forage:concentrate ratio[J]. *British Journal of Nutrition*, 2005, 94(01):71–77.

[71] LI Z,LIU N,CAO Y,et al.Effects of fumaric acid supplementation on methane production and rumen fermentation in goats fed diets varying in forage and concentrate particle size[J].Journal of Animal Science and Biotechnology,2018,9(1).

Energy losses during rumen carbohydrate fermentation in ruminants

Zongjun Li Junhu Yao*

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

Abstract: Ruminants can convert human-indigestible fibrous plant resources into high-quality meat and milk; however, a large amount of energy is lost during the conversion process, resulting in low efficiency of feed conversion. This review summarizes the energy losses during rumen carbohydrate fermentation, and puts forward the direction and strategies of regulation.

Key words: ruminant; rumen; carbohydrate; energy loss; regulation strategy

*Corresponding author, Junhu Yao, E-mail: yaojunhu2004@sohu.com, yaojunhu2008@nwfau.edu.cn.

精氨酸对奶牛乳腺酪蛋白合成的影响及其分子机制

王梦芝 王洪荣* 胡良宇 丁洛阳 周 刚 吴天佑 徐柏林²⁴

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 225009)

摘 要: 酪蛋白是牛奶蛋白的主要组成成分, 研究调控酪蛋白的技术与机制对提升原料乳蛋白有重要意义。精氨酸(Arg)对乳腺酪蛋白的合成以一定的调控作用, 本文即主要综述了 Arg 对奶牛乳腺酪蛋白合成的影响, 以及其影响酪蛋白生物合成的信号转导机制、miRNA 调控, 以及代谢酶等分子机制的研究进展, 以为牛奶蛋白调控技术的提升提供一些参考。

关键词: 精氨酸; 酪蛋白; 调控; 机制

我国奶牛 2015 年存栏量已达到 1369 万头, 奶产量近 3755 万吨, 成为世界第三的产奶大国。尽管如此, 生鲜乳的品质却仍相对较低, 如《中国奶产品质量安全研究报告(2016 年度)》指出我国优质乳乳蛋白含量不得低于 2.95%, 这依然低于发达国家约 10%以上^[1]。乳蛋白是构成牛奶品质的主要物质基础, 涉及乳品质量和奶业的核心竞争力, 研究提高乳蛋白理论与技术对促进奶业的内涵式发展有重要意义。研究发现, 乳腺中精氨酸(Arg)的摄入量超过其乳中 Arg 分泌量的 2-4 倍, 提示了其在乳腺中有一定的调控作用。我们课题组在 12 五期间国家 973 奶业专项等课题的资助下, 深入探讨了乳腺中的 Arg 对乳蛋白合成的调控作用。本文即主要综述 Arg 对奶牛乳腺上皮细胞酪蛋白合成的影响及其机制, 以为提升乳蛋白合成调控的理论和技術提供一些参考。

1 Arg 生物学活性和代谢途径

Arg 具有多种营养生理作用, 比如作为一氧化氮(NO)、尿素、鸟氨酸以及多胺合成的直接前体物, 从而调节机体的泌乳功能、消化功能以及抗氧化和抗应激功能等。Arg 是怀孕哺乳动物的条件性必需氨基酸, 对乳腺酪蛋白的合成也有一定的调控作用, 其对动物繁殖、泌乳性能的影响主要通过这些活性物质实现^[2]。

Arg 的分解代谢主要有 3 个途径(图 1): (1) 经一氧化氮合酶催化生成具有生物活性的 NO, 维持血管的通透性, 改善器官的缺血缺氧功能。(2) 在精氨酸酶催化下水解成鸟氨酸, 然后在鸟氨酸脱羧酶催化下脱去羧基形成腐胺, 腐胺可以生成亚精胺和精胺(统称多胺)。多胺可调节 DNA、蛋白质的合成, 从而调节细胞的增殖和分化。(3) 由甘氨酸转脒基酶分解为鸟氨酸和肌酐酸, 由 Arg 分解酶降解为鸟氨酸和尿素^[3]。

基金项目: 973 奶业专项(2011CB100803); 中国博士后特别资助项目(2013T60203); 动物营养学重点实验室开放课题(2004DA125184F1106); 江苏省自然科学基金(BK20141270)

作者简介: 王梦芝(1973-), 女, 江苏徐州人, 教授, 博士, 从事反刍动物营养与代谢调控。

E-mail: mzwang@yzu.edu.cn

*通讯作者: 王洪荣, 教授, 博士生导师, E-mail: hrwang@yzu.edu.cn or mzwang@yzu.edu.cn

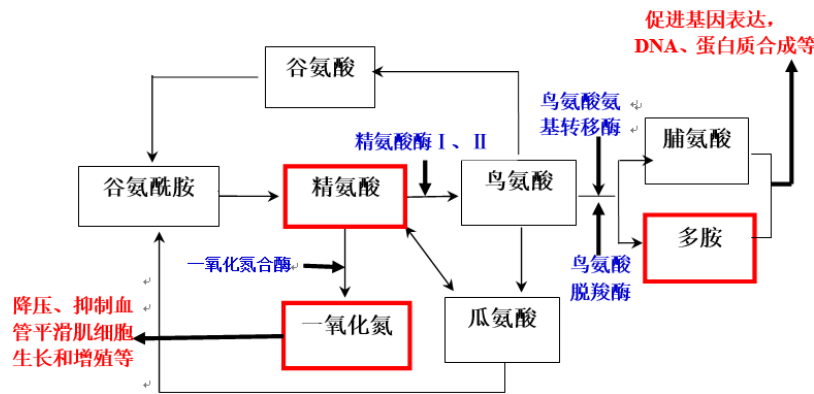


图 1 精氨酸的主要代谢途径

Fig. 1 Main arginine metabolic pathways

2 Arg 对牛奶酪蛋白合成的调控

2.1 细胞水平研究 Arg 对酪蛋白合成的影响

研究表明,随着培养基中 Arg 浓度的提高,原代奶牛乳腺上皮细胞酪蛋白转录及蛋白合成均有所提高;而且 α s、 β -酪蛋白的浓度对培养基中的 Arg 浓度具有剂量依赖性^[4-6]。这与吴慧慧^[7]、李喜艳^[8]报道结果相一致,说明氨基酸确实对酪蛋白的合成存在某一适宜浓度,该浓度下酪蛋白的合成量最大。其可能原因是:(1) Arg 是乳蛋白合成的原料,添加适量的 Arg 能促进酪蛋白的合成;当添加量超过一定限度后,酪蛋白的合成不再增加,这可能与 Arg 过量摄入时其利用效率反而下降有关^[9]。(2) 由于某些氨基酸能够促进乳腺上皮细胞的增殖以及酪蛋白合成相关基因的表达^[10, 8, 4],推测也可能是其促进了乳腺上皮细胞的增殖和酪蛋白合成相关基因的表达,导致酪蛋白的合成量增加。

酪蛋白是由乳腺上皮细胞内编码酪蛋白合成的相关基因通过转录、翻译、翻译后加工最终分泌到细胞外而形成的。乳腺上皮细胞的数量在一定程度上可以影响酪蛋白的合成量,而酪蛋白基因 mRNA 的转录水平则更直接决定了酪蛋白的产量。Wang 等^[6] 体外研究发现,Arg 对 4 种酪蛋白基因的表达具有调节作用,培养基中 Arg 浓度为 556 mg/L 时基因相对表达量达到最大。来金良^[10]研究 Lys、Met、Thr、Phe 对体外培养乳腺组织 CSN1S1 表达水平时也发现,添加水平对 CSN1S1 基因表达有影响,当 Lys、Met、Thr、Phe 分别为 197、57、121、126 mg/L 时,表达量最高。李喜艳^[8]研究也发现,培养液中添加适当水平,赖氨酸 1.2 mmol/L、蛋氨酸 0.5 mmol/L 时 CSN1S1、CSN1S2、CSN2、CSN3、LALBA 表达均上调。以上表明,Arg 通过影响乳腺上皮细胞的增殖和酪蛋白基因的表达从而影响了酪蛋白的合成。

2.2 体内试验研究对 Arg 牛奶酪蛋白合成的影响

在前期体外研究结果基础上,本课题组进行奶牛动物试验发现,灌注 Arg 提高了乳蛋白中 α -酪蛋白和 κ -酪蛋白含量,以及酪蛋白基因 CSN1S1、CSN1S2 的表达量,有利于牛奶中乳蛋白含量和乳品质的提高^[11]。分析其原因,Arg 灌注可能通过对相关代谢途径的调控促进了乳腺的泌乳性能和其泌蛋白的合成。由于 Arg 在体内可生产多胺类物质来调节细胞的生长^[12]。因此,从乳腺组织发育的研究来看,Arg 为乳腺发育所必需,缺乏则可能导致大鼠乳腺

DNA 和 RNA 的含量的降低^[13]。研究也表明, Arg 可通过促进大鼠乳腺组织乳导管树发育^[14]、促进大鼠乳腺组织腺泡的发育^[15]和奶牛乳腺上皮细胞的增殖^[4]等, 为泌乳代谢提供良好的基础从而发挥对泌乳性能的促进作用。另外, 从机体内蛋白质的生物合成角度来看, 牛奶产量的降低伴随着乳腺上皮细胞总 RNA 量的降低^[16]。而 Arg 则可通过 JAK2-STAT5 和 mTOR 信号转导通路调控乳腺上皮细胞酪蛋白基因 mRNA 的转录来调控其蛋白质的生物合成^[6]。除此之外, Arg 还可促进多种内分泌激素的释放, 如: 胰岛素、生长激素、催乳素等^[17]。基于此分析, Arg 还可能通过调控这些激素的分泌, 来直接或间接作用于乳腺的发育、泌乳性能以及其乳蛋白的合成^[18]。

周刚等^[11]报道, Arg 灌注显著提高了牛奶中 α -酪蛋白的含量, 以及 CSN1S1、CSN1S2 基因的表达量, 该结果与 Wang 等^[6]的体外研究的结果相一致。但在周刚等^[11]的研究中, 并没有发现牛奶 β -酪蛋白含量的显著提高, 这与 Wang 等^[6]提高了奶牛乳腺上皮细胞 β -酪蛋白合成量的结果有所不同, 这可能与体内试验和体外试验方法的不同、组织间代谢的影响等有关。另外, κ -酪蛋白的含量也有显著的提高, 其基因 CSN3 的表达量在数值上也明显提高, 与 Arg 提高乳腺上皮细胞 κ -酪蛋白含量和 CSN3 基因表达量的结果相一致^[5]。但胡良宇等^[15]采用 Arg 处理大鼠却只显著提高了其乳腺 β -酪蛋白含量, 与奶牛试验结果的不同可能主要是由于不同物种间所泌乳中酪蛋白的组分有所不同, 其受到调控的反应也有所不同所致^[19-20]。作为牛奶中的重要组分^[21], κ -酪蛋白基因 CSN3 敲除后的大鼠不能泌乳并且所分泌的酪蛋白胶束不稳定^[22], 而且该基因的多态性与凝乳性能和干酪品质相关联^[23]。在周刚等^[11]研究中, Arg 处理组牛奶的 κ -酪蛋白含量及其基因表达量有明显的提高。因此推测, 一方面牛奶蛋白的性能也有可能因为 κ -酪蛋白合成量与其基因表达量的改变而有相应的改变; 另一方面, κ -酪蛋白含量的提高也可能是进一步提高其他种类酪蛋白合成的原因之一^[24]。

3 Arg 调控牛奶酪蛋白合成机制的研究

3.1 通过调控乳腺上皮细胞增殖机制促进酪蛋白合成

Arg 对细胞增殖也有一定的调节作用。董矜等^[12]研究发现, 中等浓度 L-Arg 能抑制 Hela 细胞的增殖, 表现为细胞数明显减少, 而高浓度的 Arg 促进细胞增殖。何晋等^[25]研究发现, 随着培养液中添加 L-Arg 浓度的增加, 对内皮祖细胞的增殖起到了促进作用。张剑等^[26]研究报道, 低浓度的 Arg 可促进肝癌细胞生长, 高浓度 Arg 则抑制肝癌细胞生长和增殖, 并且诱导肝癌细胞凋亡。Arg 促进细胞增殖作用的机制可能是由于: 一方面 Arg 作为一种半必需氨基酸, 是细胞生长所需要; 另一方面 Arg 增加合成 NO, 而低浓度的 NO 具有调节细胞增殖相关基因表达, 从而有促进细胞生长的作用。而 Arg 抑制细胞增殖作用的机制可能是由于产生了高浓度的 NO, 而高浓度的 NO 能抑制细胞的增殖^[27]。徐柏林等^[4]研究发现没有 Arg 的情况下, 奶牛乳腺上皮细胞增殖处于抑制状态, 而 Arg0.25 倍至 4 倍组下明显促进了乳腺上皮细胞的增殖, 说明 Arg 对奶牛乳腺上皮细胞的增殖具有一定程度的调节作用。不仅在正常状态下 Arg 可影响细胞增殖, 本课题组还研究了在免疫应激条件下研究了精氨酸的作用。

Wu 等^[28]采用 LPS 刺激模拟奶牛瘤胃酸中毒所诱发的炎症状态研究发现, Arg 可通过调节 NF-KB、Arg-NO 及 PI3K-AKT-mTOR 通路缓解因 LPS 诱导的奶牛乳腺上皮细胞炎症反应; Wu 等^[29]的体内试验进一步表明, 补充 Arg 可提高炎症状态下奶牛的采食量及乳品质。

3.2 调控酪蛋白合成的信号转导机制研究

乳蛋白基因的转录和翻译受到多个信号通路的调控。转录水平主要有 JAK/STAT 途径^[30], 翻译水平主要有 mTOR 途径^[31-33]。Wang 等^[6]检测发现, Arg 2 倍组下, JAK2、STAT5、mTOR、S6K 基因均显著上调, 表明了 Arg 促进乳蛋白合成是由于 Arg 激活了细胞内 JAK/STAT 与 mTOR 通路, 导致 mRNA 转录与翻译的增强。与文献报道的“乳蛋白的合成是通过 JAK2/STAT5 细胞信号通路得到表达”一致^[34]。4EBP1 基因显著下调, 与其在蛋白质翻译过程中所起的负调控作用相符; 此结果也与李喜艳^[8]报道的“体外培养液中添加赖氨酸 1.2 mmol/L、蛋氨酸 0.5 mmol/L, 乳腺上皮细胞内 JAK2、STAT5、mTOR、S6K 基因的表达均上调, 4EBP1 基因表达显著下调”一致。周刚等^[11]颈静脉 Arg, 检测奶牛乳腺酪蛋白基因中 CSN1S1、CSN1S2 表达提高; 同时 JAK2、STAT5、mTOR、S6K 基因均显著上调, 而 4EBP1 基因显著下调。与前期的体外乳腺细胞培养的结果相一致^[6]。综上推测, Arg 通过激活细胞内的 JAK/STAT 以及 mTOR 信号通路, 从而影响了酪蛋白基因的 mRNA 转录与翻译, 进而影响了酪蛋白的合成, 见下图 2。

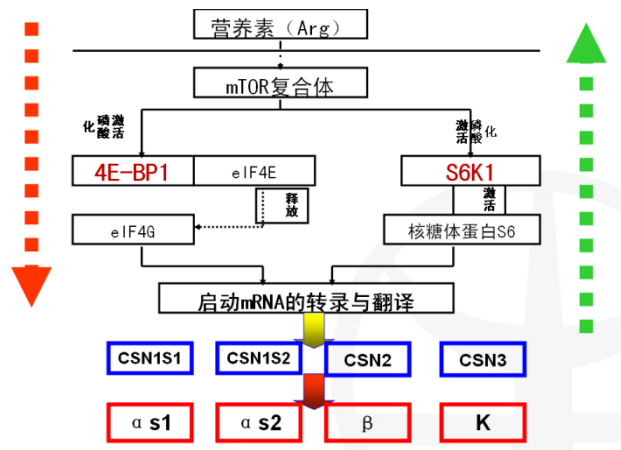


图 2 精氨酸调控酪蛋白表达转录因子机制

Fig. 2 Transcription factor mechanism of arginine regulating casein synthesis

3.3 调控酪蛋白基因表达的 miRNA 机制研究

miRNA 是调控功能基因表达的重要调控方式。Arg 对酪蛋白基因及其转导通路相关基因表达的调控, 也存在 miRNAs 的调控机制。通过体外细胞培养和体内灌注试验结合, 周刚^[35]筛选了 miR-743a、miR-101a、miR-1954、miR-760-3p、miR-712、miR-574-5p、miR-543 等 Arg 调控酪蛋白表达途径相关 miRNAs (图 3), 以上 miRNAs 在体外的 2 倍 Arg 组和奶牛灌注试验的 Arg 组表达量都相对较高。

其中, miR-743a 的高表达可抑制靶基因 MDH 活性, 从而维持乳腺上皮细胞非应激代谢状态^[36]; miR-543 的高表达则伴随着细胞的增殖^[37-38], 从而促进酪蛋白的合成。miR-760-3p

和 miR-1954 的靶基因为脯氨酸脱氢酶（PRODH）和鸟氨酸氨基转移酶（OAT），其高表达表明可能通过抑制 Arg 向谷氨酸和脯氨酸的转化通路、促进精氨酸—一氧化氮及精氨酸—多胺通路来促进细胞增殖和酪蛋白合成。miR-574-5p、miR-712 与细胞的增殖、分化有关，对其的抑制可在一定程度上抑制结直肠癌^[39]和动脉阻塞的发展^[40]，其高表达推测可能与促进了乳腺细胞的增殖有关，从而进一步促进酪蛋白的表达。miR-101a 可通过抑制环氧合酶 2（COX-2）-前列腺素通路，抑制小鼠乳腺上皮细胞系（HC11） β -酪蛋白的表达^[41]，这与上述 Arg 组 miR-101a 表达量较高而酪蛋白合成量也较高的结果不相吻合，至于其是否通过其他途径促进奶牛乳腺酪蛋白表达尚不得而知。另外，miR-468 在体内试验中 Arg 组表达较低，可能与上调靶基因 Arg II 来促进 Arg 代谢的有关的。但体外试验中以 Arg 2 倍组较高，因此其促进酪蛋白表达机制还有待进一步研究。

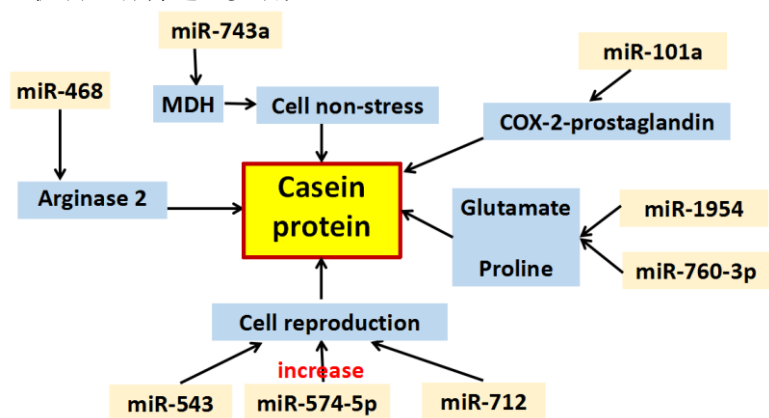


图 3 精氨酸调控酪蛋白表达的 miRNA 机制

Fig. 3 miRNA regulatory mechanism on casein protein

3.4 调控乳腺酪蛋白合成的 Arg 代谢通路研究

本课题组前期采用不同浓度 Arg 培养奶牛乳腺上皮细胞的研究结果表明^[42]，NO 随培养液 Arg 浓度升高而升高，这可能是由于在一定浓度范围内底物浓度增加可促进产物生成所致；NOS 浓度（酶活）与 NO 浓度的变化一致，随 Arg 浓度的升高而升高，表明酶是促成反应重要的因素。eNOS 酶基因表达的结果总体上与 NOS 浓度一致，但在 Arg 8 倍组其表达量与 NOS 活性较低，这可能是由于 Arg 水平进一步的提高刺激了 iNOS 酶的表达，导致总的 NOS 酶的活性增加，而 eNOS 酶活可能保持在相对稳定的水平所致。这一研究结果表明，Arg 提高会产生高于细胞正常水平的 NO，进而刺激 iNOS 基因表达和酶活性的增高，这又将进一步导致 NO 的水平的提高，进而可能抑制细胞的增殖^[4]和其他活性。

精氨酸酶促进 Arg 向鸟氨酸的反应，包括线粒体的酶I和胞质的酶II（图 4）。本课题组研究结果表明，精氨酸酶活与其酶基因表达皆以 Arg 4 倍组最高，Arg 8 倍次之，而其余 5 组间的差异皆不显著，说明了 Arg 浓度在一定范围内增加并没有改变主要的反应通经，但当进一步提高达到 4 倍水平时即促进 Arg 向鸟氨酸方向的代谢，但进一步提高该通经则有所下降，这可能是由于又促进了其他代谢通经所致。如上述 iNOS 途径的激活。但具体是精氨酸酶I还是酶II的变化还需要进一步的研究。OAT 催化鸟氨酸转变为脯氨酸，可促进 Arg 在线

粒体内的进一步代谢。胡良宇等^[42]研究结果表明，该酶酶活和其酶基因表达皆以 Arg 1 倍和 2 倍组较高。这一方面说明，Arg 在一定程度上影响该途径的代谢，如 Arg 1 倍和 2 倍组；另一方面该结果与上述的精氨酸酶途径 Arg 4 倍和 8 倍组产生的鸟氨酸较多并不一致，这可能是由于鸟氨酸通过线粒体膜到达胞质进行其他代谢有关。ODC 催化鸟氨酸进一步转变为多胺的重要反应。我们的研究发现该酶的酶活和其酶基因的表达都以 Arg 2 倍组最高，这可能是导致该组细胞增殖^[4]和酪蛋白合成^[6]提高的原因。综上，Arg 对奶牛乳腺上皮细胞 Arg 代谢相关酶活性和其基因表达有一定的影响。

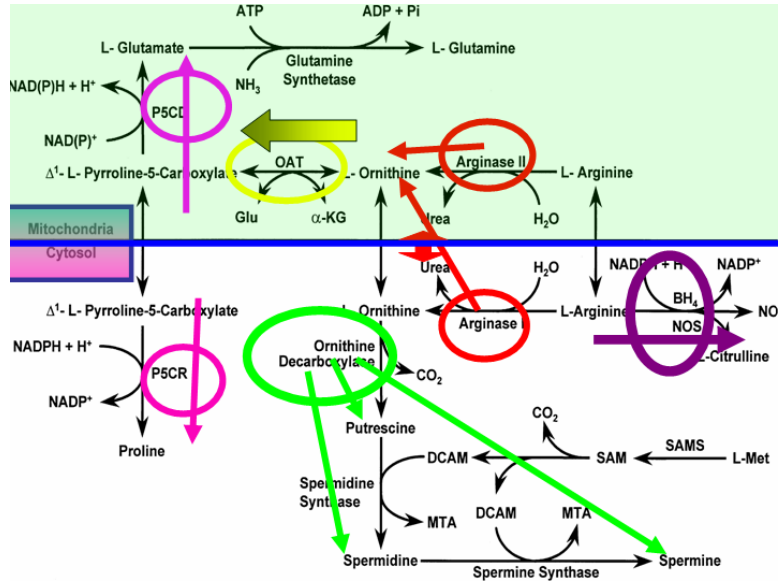


图 4 乳腺精氨酸代谢途径

Fig 4 Metabolic pathway of arginine in mammary gland

3.5 调控乳腺酪蛋白合成的精氨酸酶通路研究

在前期 Arg 代谢通路研究中发现了 Arg 代谢酶变化的基础上，我们课题组又进行了酶抑制剂试验，以深入研究影响酪蛋白表达的关键通路^[43]。Nor-NOHA (Nω-hydroxy-nor-Arginine)是精氨酸酶的竞争性抑制剂，但不会作为 NO 合酶的底物影响 NO 合酶的活力^[44-45]。丁洛阳^[43]发现 2 mmol/L 的 nor-NOHA 对奶牛乳腺上皮细胞的精氨酸酶有抑制作用，与小鼠巨噬细胞、人 T 细胞、人内皮细胞等研究一致^[46-48]；同时也抑制了鸟氨酸脱羧酶的活力，但对 NO 合酶没有产生影响^[42]。DMFO 是鸟氨酸脱羧酶的不可逆抑制剂^[49]，Shon 等^[50]在人乳房癌细胞及 Petros 等^[51]在肺癌细胞的研究中都表明了 DMFO 对鸟氨酸脱羧酶的抑制作用。丁洛阳^[43]发现 0.5 mmol/L DMFO 组鸟氨酸脱羧酶活力仅为对照组的 30.7%，精氨酸酶和 NO 合酶的活力也有所降低。与给小鼠注射 DMFO 后其神经型 NO 合酶活力降低相一致^[52]。进一步采用异硫脲二氢溴酸盐特异性抑制 NO 合酶发现，NO 合酶活性被显著抑制，但精氨酸酶和鸟氨酸脱羧酶活性却没有明显变化。

有趣的是，当奶牛乳腺上皮细胞中精氨酸酶受到抑制时，αs1-、αs2-和 β-酪蛋白浓度也显著降低；鸟氨酸脱羧酶被抑制时，αs1-、αs2-和 β-酪蛋白浓度也显著降低。而 NO 合酶抑制剂对酪蛋白合成却未产生影响^[43]。这主要是由于精氨酸酶通过调控乳腺组织中多胺类物

质的生成,可能促进乳蛋白的合成^[53-54]。综上,当奶牛乳腺上皮细胞中“精氨酸—鸟氨酸—多胺”代谢途径受到抑制后,上皮细胞的增殖活力,及细胞中酪蛋白合成受到显著抑制,而“精氨酸—NO”途径抑制后,细胞中酪蛋白合成并没有显著变化,提示“精氨酸—鸟氨酸—多胺”可能是调控酪蛋白合成的关键代谢通路。

本课题组在体外细胞试验的基础上,进行奶牛精氨酸酶抑制剂试验,发现了与体外细胞试验相近的结果。在奶牛颈静脉灌注 nor-NOHA 后,血清精氨酸酶活力显著降低,牛奶 α s1-, α s2-和 β -酪蛋白显著降低,且乳腺 α s1-, α s2-和 β -酪蛋白的基因表达量也有所降低。而当向含有 nor-NOHA 灌注液中补充 Arg 灌注处理时,牛奶 α s1-, α s2-和 β -酪蛋白及乳腺中的酪蛋白基因表达量并没有恢复。综合体内外试验一致表明,Arg 是通过“Arg-Orn”代谢通路调控乳腺中酪蛋白生成^[43]。

4 小 结

精氨酸作为一种功能性氨基酸,对酪蛋白合成有一定的调节作用,体外细胞试验和体内奶牛试验都表明 Arg 提高了酪蛋白合成量。目前的研究也初步揭示了 Arg 通过激活转录 JAK/STAT、翻译水平 mTOR 信号通路等来调控酪蛋白表达;另外,还可能通过“精氨酸—鸟氨酸—腐胺”代谢调控通路,或通过所筛选的 7 条候选 miRNAs 机制来调控酪蛋白的表达。但是这些候选的 miRNAs 是否及其如何在 Arg 调控酪蛋白合成途径中功能基因表达的,所发现的这一关键代谢通路是通过何种机制实现其调控的尚不明了,有待进一步开展试验予以阐明,以为乳蛋白调控理论与技术的研究提供一些基础资料。

参考文献:

- [1] 王加启.牛奶乳脂肪和乳蛋白的合成与调控机理[J].饲料与畜牧:新饲料,2011,2:8-14.
- [2] HELMBRECHT G D, FARHAT M Y, LOCHBAUM L,et al.L-arginine reverses the adverse pregnancy changes induced by nitric oxide synthase inhibition in the rat[J].American Journal of Obstetrics and Gynecology,1996, 175(4):800-805.
- [3] MATEO R D, WU G, MOON H K,et al.Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous SOWS and nursing piglets[J].Journal of Animal Science,2008,86:827-835.
- [4] 徐柏林,王梦芝,张兴夫,等.精氨酸水平对奶牛乳腺上皮细胞体外生长及 κ -酪蛋白基因表达的影响[J].动物营养学报,2012,24(5):852-858.
- [5] CHEN L, LI Z, WANG M,et al.Preliminary report of arginine on synthesis and gene expression of casein in bovine mammary epithelial cell[J].International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science, 2013,3(1):17-23.
- [6] WANG M, XU B, WANG H,et al.Effects of arginine concentration on the in vitro expression of casein and mTOR pathway related genes in mammary epithelial cells from dairy

- cattle[J].Plos One,2014,9(5): e95985.
- [7] 吴慧慧.必需氨基酸及蛋氨酸二肽供给模式对奶牛乳腺组织_s_酪蛋白合成的影响[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2007.
- [8] 李喜艳.奶牛乳腺上皮细胞中赖氨酸蛋氨酸配比模式对酪蛋白合成的影响及机理研究[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2011.
- [9] RAGGIO G, PACHECO D, BERTHIAUME R,et al.Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2007,(10):3461-3472.
- [10] 来金良.必需氨基酸浓度对奶牛乳腺酪蛋白基因表达的影响[D].硕士学位论文.杭州:浙江大学,2006.
- [11] 周刚,王梦芝,张军,等.颈静脉灌注精氨酸对泌乳中期奶牛泌乳性能和牛乳酪蛋白合成的影响[J].动物营养学报,2016,28:1199-1207.
- [12] 董矜,田亚平,房征宇.L-Arg 对 Hela 细胞增殖的调控作用研究[J].军医进修学院学报,2004,25(2):100-102.
- [13] PAU M Y, MILNER J A.Effect of arginine deficiency on mammary gland development in the rat[J].The Journal of Nutrition,1982,112(10):1827-1833.
- [14] ALKAREEM M A,ALBAYATI M A, WAELKHAMAS.The effect of L-arginine and a ntagonist L-NAME on the mammary gland of pregnant mice[J].Journal of Physics: Conference Series,2013,3(2):1-9.
- [15] 胡良宇,吴佳诚,王梦芝,等.日粮精氨酸对娩后 Wistar 大鼠乳腺组织发育及其酪蛋白合成的影响[J].动物营养学报,2015,27(4):1326-1332.
- [16] CAPUCO A V, WOOD D L, BALDWIN R,et al.Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST[J].Journal of Dairy Science,2001,84(10):2177-2187.
- [17] 侯玉洁,徐俊,赵国琦,等.精氨酸的生理学功能及其在畜禽生产中的应用[J].中国饲料,2013,(5):32-37.
- [18] NEVILLE M C, MCFADDEN T B, FORSYTH I.Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion[J].Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia,2002,7(1):49-66.
- [19] HALLÉN E, WEDHOLM A, ANDRÉN A,et al.Effect of β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants[J].Journal of Animal Breeding and genetics,2008,125(2):119-129.
- [20] YONEDA M, SHIRAISHI J, KURAISHI T,et al.Gastric proteinase digestion of caseins in newborn pups of the mouse[J]. Journal of Dairy Science,2001,84(8):1851-1855.

- [21] GUTIERREZ-ADAN A, MAGA E A, MEADE H,et al.Alterations of the physical characteristics of milk from transgenic mice producing bovine κ -Casein[J].Journal of Dairy Science,1996,79(5):791-799.
- [22] SHEKAR P C, GOEL S, RANI S D S,et al. κ -Casein-deficient mice fail to lactate[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2006,103(21):8000-8005.
- [23] REN D, CHEN B, CHEN Y,et al.The effects of κ -casein polymorphism on the texture and functional properties of mozzarella cheese[J].International Dairy Journal,2013,31(2):65-69.
- [24] ROBITAILLE G, NG-KWAI-HANG K F, MONARDES H G.Association of κ -casein glycosylation with milk production and composition in Holsteins[J].Journal of Dairy Science,1991,4(10):3314-3317.
- [25] 何晋,谢秀梅,方叶青,等.L-Arg 抑制非对称性二甲基 Arg 对内皮祖细胞的增殖作用[J].中国动脉硬化杂志,2007,15(10):751-754.
- [26] 张剑,何生,李茂德.L-Arg 在人肝癌细胞生长增殖中的作用[J].贵阳医学院学报,2003,28(1):5-8.
- [27] 罗海吉,周爱军,吉鸿雁.高温下精氨酸对一氧化氮和细胞增殖的影响[J].中国公共卫生,2005,21(3):304-305.
- [28] WU T, WANG C, DING L,et al.Arginine relieves the inflammatory response and enhances the casein expression in Bovine mammary epithelial cells induced by lipopolysaccharide[J].Mediators of Inflammation,2016,4:1-10.
- [29] 吴天佑.精氨酸对脂多糖诱发泌乳奶牛炎症反应的缓解作用及其分子机制[D].硕士学位论文.扬州:扬州大学,2016.
- [30] BUSER A C,GASS-HANDEL E K,WYSZOMIERSKI S L,et al.Progesterone receptor repression of prolactin/signal transducer and activator of transcription 5-Mediated transcription of the {beta}-casein gene in mammary epithelial Cells[J].Molecular Endocrinology,2007,21(1):106-125.
- [31] LIAO X H, MAJITHIA A, HUANG X L,et al.Growth control via TOR kinase signaling, an intracellular sensor of amino acids and energy availability,with crosstalk poteintial to proline metabolism[J].Amino Acids,2008,37:761-770.
- [32] BURGOS S A, DAI M, CANT J P.Nutrient availability and lactogenic hormones regulate mammary protein synthesis through the mammalian target of rapamycin signaling pathway[J].Journal of Dairy Science,2010,93(1):153-161.
- [33] TOERIEN C A, TROUT D R, CANT J P.Nutritional stimulation of milk protein yield of cows is associated with changes in phosphorylation of mammary eukaryotic initiation factor 2 and ribosomal S6 kinase 1[J].Journal of Nutrition,2010,140(2):285-292.

- [34] WATSON C J, BURDON T G. Prolactin signal transduction mechanisms in the mammary gland: the role of the Jak/Stat pathway[J]. *Reviews of Reproduction*, 1996, 1(1): 1-5.
- [35] 周刚. 精氨酸调控酪蛋白表达途径相关 miRNAs 的筛选与表达分析[D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [36] SHI Q, GIBSON G E. Up-regulation of the mitochondrial malate dehydrogenase by oxidative stress is mediated by miR-743a[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2011, 118(3): 440-448.
- [37] DASGUPTA T, HEBBEL R P, KAUL D K. Protective effect of arginine on oxidative stress in transgenic sickle mouse models[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 41(12): 1771-1780.
- [38] 薛璟. miR-543 对肌肉生长发育的调控及其靶基因 Wnt7a 基因遗传变异的研究[D]. 硕士学位论文. 杨林: 西北农林科技大学, 2013.
- [39] JI S, YE G, ZHANG J, et al. miR-574-5p negatively regulates Qki6/7 to impact β -catenin/Wnt signalling and the development of colorectal cancer[J]. *Gut*, 2013, 62(5): 716-726.
- [40] SON D J, KUMAR S, TAKABE W, et al. The atypical mechanosensitive miRNA-712 derived from pre-ribosomal RNA induces endothelial inflammation and atherosclerosis[J]. *Nature Communications*, 2013, 235(2): e40-e41.
- [41] TANAKA T, HANEDA S, IMAKAWA K, et al. A miRNA, miR-101a, controls mammary gland development by regulating cyclooxygenase-2 expression[J]. *Differentiation*, 2009, 7(2): 181-187.
- [42] HU L, XU B, WANG Y, et al. Effects of arginine on arginine metabolism-related enzymes in bovine mammary epithelial cells in vitro [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, accepted.
- [43] 丁洛阳. 精氨酸酶调控奶牛乳腺中酪蛋白合成的分子机制[D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [44] CUSTOT J, MOALI C, BROLLO M, et al. The new α -amino acid N ω -hydroxy-nor-L-arginine: a high-affinity inhibitor of arginase well adapted to bind to its manganese cluster[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1997, 119(17): 4086-4087.
- [45] MOALI C, BOUCHER J-L, SARI M-A, et al. Substrate specificity of NO synthases: detailed comparison of L-arginine, homo-L-arginine, their N ω -hydroxy derivatives, and N ω -hydroxynor-L-arginine [J]. *Biochemistry*, 1998, 37(29): 10453-10460.
- [46] KROPF P, FUENTES J M, FÄHNRIICH E, et al. Arginase and polyamine synthesis are key factors in the regulation of experimental leishmaniasis in vivo[J]. *The FASEB Journal*, 2005, 19(8): 1000-1002.
- [47] MUNDER M, SCHNEIDER H, LUCKNER C, et al. Suppression of T-cell functions by human granulocyte arginase[J]. *Blood*, 2006, 108(5): 1627-1634.

- [48] TOPAL G, BRUNET A, WALCH L, et al. Mitochondrial arginase II modulates nitric-oxide synthesis through non freely exchangeable L-arginine pools in human endothelial cells[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2006, 318(3):1368-1374.
- [49] 郝秀菊, 刘志辉, 栾文姬, 等. L-鸟氨酸脱羧酶抑制剂筛选模型的建立[J]. *河北医药*, 2014, 36(21):3217-3219.
- [50] SHON Y-H, PARK S-D, NAM K-S. Effective chemopreventive activity of genistein against human breast cancer cells[J]. *BMB Reports*, 2006, 39(4):448-451.
- [51] PETROS L M, GRAMINSKI G F, ROBINSON S, et al. Polyamine analogs with xylene rings induce antizyme frameshifting, reduce ODC activity, and deplete cellular polyamines[J]. *Journal of Biochemistry*, 2006, 140(5):657-666.
- [52] ITOH K, WATANABE M. Paradoxical facilitation of pentylene tetrazole-induced convulsion susceptibility in mice lacking neuronal nitric oxide synthase[J]. *Neuroscience*, 2009, 159(2):735-743.
- [53] OKA T, PERRY J W. Arginase affects lactogenesis through its influence on the biosynthesis of spermidine[J]. *Nature*, 1974, 250:660-661.
- [54] YIP M C, KNOX W E. Function of arginase in lactating mammary gland[J]. *Biochemical Journal*, 1972, 127(5):893-899.

Effects and influence mechanisms of arginine on casein synthesis of mammary gland in dairy cows

WANG Mengzhi WANG Hongrong HU Liangyu DING Luoyang ZHOU Gang WU Tianyou XU Bolin

(College of Animal Science and technology, Yangzhou University, Jiangsu 225009)

Abstract: Casein is main compound of milk protein. It is of significance and importance for improving milk protein, to study the techniques and mechanisms of casein protein control.

Arginine (Arg) has a regulatory function on casein synthesis. This paper mainly review progressions of the effects of arginine on milk casein synthesis and its regulating mechanism, such as transcription factors, miRNAs and metabolic enzymes, in order to provide some information for the improvement of regulatory techniques on milk protein quality.

Keywords: arginine, casein, regulation; mechanism

*Corresponding author, professor, E-mail: hrwang @yzu.edu.cn or mzwang@yzu.edu.cn

Meta 分析研究饲料中性洗涤纤维/淀粉对奶牛生产性能和乳成分合成的影响

牛俊丽^{1,4*} 王典^{5*} 赵勐⁵ 张文举⁴ 卜登攀^{1,2,3} 马露^{25**}

(1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193; 2. 中国农业科学院与世界农林业中心, 农林业与可持续畜牧业联合实验室, 北京 100193; 3. 湖南畜产品质量安全协同创新中心, 长沙 410128; 4. 石河子大学动物科技学院, 石河子 832000; 5. 内蒙古优然牧业有限责任公司, 呼和浩特 010000)

摘要: 本试验旨在采用 Meta 分析方法研究饲料中性洗涤纤维 (NDF) 与淀粉 (starch) 比值对奶牛生产性能和乳成分合成的影响。试验整理了 27 篇有关奶牛碳水化合物营养的研究, 共计 123 个处理, 运用 Meta 分析方法研究饲料 NDF、starch 含量以及 NDF 与 starch 比值与奶牛干物质采食量、产奶量和乳成分的相关性, 并进行相应的回归分析。结果显示: 相较于饲料 NDF 和 starch 含量, 饲料 NDF 与 starch 比值与奶牛的干物质采食量 ($R^2=-0.799$, $P<0.01$)、产奶量 ($R^2=-0.730$, $P<0.01$)、乳脂率 ($R^2=0.664$, $P<0.01$) 和乳蛋白率 ($R^2=-0.788$, $P<0.01$) 的相关性更强; 饲料 NDF 与 starch 比值与奶牛的干物质采食量 ($P=0.02$)、产奶量 ($P<0.01$)、乳脂率 ($P<0.01$)、乳蛋白率 ($P<0.01$)、乳蛋白产量 ($P<0.01$) 和乳糖产量 ($P<0.01$) 存在显著的一元线性回归关系 ($P<0.01$), 饲料 NDF 与 starch 比值每增加 1, 奶牛的干物质采食量、产奶量、乳蛋白产量和乳糖产量分别降低 0.81、1.36、0.06 和 1.50 kg, 乳脂率和乳蛋白率分别增加 0.11% 和 0.07%。Meta 分析结果表明, 饲料 NDF 与 starch 比值可作为反映奶牛饲料碳水化合物组成的营养评价指标, 用于指导奶牛的生产和调控乳成分的组成。

关键词: 碳水化合物组成; 乳成分; Meta 分析

碳水化合物是奶牛饲料的重要组成部分, 占饲料干物质的 60%~80%, 碳水化合物在奶牛瘤胃和后肠道消化后为瘤胃微生物和机体代谢提供能量^[1-2], 碳水化合物奶牛的主要能量来源。瘤胃乙酸是奶牛乳脂从头合成的重要底物, 丙酸是奶牛葡萄糖糖异生的最主要底物^[3], 饲料碳水化合物的组成可以通过改变瘤胃内乙酸与丙酸的比值或影响瘤胃上皮细胞挥发性脂肪酸吸收和代谢相关基因的表达^[4], 改变瘤胃的发酵模式, 进而影响牛奶中乳脂和乳糖的含量。此外, 微生物蛋白和可代谢蛋白质合成能力对于奶牛乳蛋白的合成至关重要, 是饲料蛋白质转化为乳蛋白的枢纽和纽带, 而碳水化合物在瘤胃的降解产物能够为微生物提供能量, 促进瘤胃微生物的增殖和瘤胃可代谢蛋白质向微生物蛋白的转化, 因此, 碳水化合物是影响

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程协同创新任务 (CAAS-XTX2016011-01); 中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-IAS07); 奶牛产业科技北京市创新团队 (BAIC06-2018)

作者简介: 牛俊丽 (1990-), 女, 新疆额敏人, 博士研究生, 研究方向为反刍动物营养与饲料科学。E-mail: niujuliaa@126.com

*共同贡献作者

**通信作者: 马露, 助理研究员, E-mail: malu.nmg@163.com

微生物蛋白与可代谢蛋白质合成能力及乳腺摄取血液游离氨基酸能力的重要因素^[5-6]。饲料碳水化合物在瘤胃中的降解程度和速度会直接影响奶牛瘤胃和机体的健康,谷物类含量较高的饲料在瘤胃中的降解程度和速度较快,易引起奶牛挥发性脂肪酸或乳酸的累积,造成瘤胃 pH 降低,继而发生瘤胃亚急性或急性酸中毒^[7];粗饲料的长度也是影响瘤胃 pH 的重要因素,粗饲料长度过短会降低其对瘤胃的刺激,影响奶牛的反刍和咀嚼行为^[8],减少唾液分泌^[9],进而降低其对瘤胃挥发性脂肪酸的中和能力^[10],造成瘤胃 pH 降低^[11]。因此,如何平衡碳水化合物的组成是维护奶牛瘤胃健康的关键性问题。

饲料的碳水化合物组成与奶牛的产奶量、乳成分、奶牛机体健康和饲料利用率密切相关。碳水化合物主要包括结构性碳水化合物和非结构性碳水化合物^[12]。从化学成分划分,中性洗涤纤维 (neutral detergent fiber,NDF) 和淀粉 (starch) 分别是结构性碳水化合物和非结构性碳水化合物的主要组成部分。Beckman 等^[1]首次用 NDF 与 starch 比值研究了饲料碳水化合物对营养物质降解率的影响,近年来许多学者研究了饲料中 NDF 与 starch 比值对奶牛生产性能和乳成分的影响^[9,13-14],为了进一步探讨饲料中 NDF 与 starch 比值能否作为饲料碳水化合物组成的综合评价指标,本试验采用 Meta 分析方法探究饲料 NDF 与 starch 比值作为评价饲料碳水化合物组成的可行性,并研究其与奶牛生产性能和乳成分的相关性。

表 1 Meta 分析相关文献及数据来源

Table 1 Publications and data used in the Meta analysis

编号	参考文献 (发表年)	处理数	编号	参考文献 (发表年)	处理数
No.	References (published year)	Treatment No.	No.	References (published year)	Treatment No.
1	Abrahamse 等 ^[15] (2008)	7	15	Benchaa等 ^[28] (2014)	4
2	Hristov等 ^[16] (2003)	2	16	San Emeterio等 ^[29] (2000)	6
3	Aguerre等 ^[17] (2011)	4	17	Boivin等 ^[30] (2013)	4
4	Kendall 等 ^[18] (2009)	4	18	Sterk等 ^[31] (2011)	13
5	Alstrup 等 ^[19] (2014)	4	19	Cabrita等 ^[32] (2007)	4
6	Krause 等 ^[20] (2002)	4	20	Whelan等 ^[33] (2014)	2
7	Alzahal 等 ^[21] (2009)	8	21	Eriksson等 ^[34] (2004)	3
8	Krause 等 ^[22] (2003)	4	22	Zhang等 ^[35] (2010)	7
9	Arndt 等 ^[23] (2014)	4	23	Gozho等 ^[36] (2008)	4
10	Miyaji 等 ^[24] (2012)	3	24	Zhao等 ^[37] (2016)	4
11	Beauchemin 等 ^[25] (2003)	4	25	Hall等 ^[38] (2010)	6
12	Mullins 等 ^[26] (2010)	4	26	Le等 ^[39] (1998)	4
13	Beckman 等 ^[1] (2005)	3	27	Hassanat等 ^[40] (2013)	3
14	Ranathunga 等 ^[27] (2010)	4			

1 材料与方法

1.1 文献检索和筛选

文献检索：采用 Web of Science、Science Direct、PubMed 以及 NCBI 等数据库进行相关文献的检索，检索关键词包括 dairy cows、milk production、milk composition、carbohydrate、starch 以及 forage and concentrate ratio 的不同组合。

文献数据筛选标准：1) 试验动物为荷斯坦泌乳奶牛；2) 饲粮信息完整，必须包括粗蛋白质（CP）、NDF 以及 starch 含量；3) 生产性能数据完整，包括采食量、产奶量以及乳成分。通过文献检索和数据筛选，最终获得 27 篇文献的 123 个处理，分析所有纳入文献的试验设计，挑选文献中具体的研究组别，建立总数据库（表 1）。

1.2 数据统计与分析

Meta 分析在多水平试验分析时，利用 SAS 9.1 软件的 Mixed 模型，首先假设研究间存在异质性（饲粮、特殊添加剂使用、动物体况以及统计方法等），利用对研究间效应的校正剔除研究间的差异，从而将所有研究纳入同一个研究中，研究不同饲粮 NDF 与 starch 比值对试验结果的影响。

模型一般式如下：

$$Y_{ij}=B_0+B_i+B_{1i}X_{ij}+e_{ij}。$$

式中： i 为研究个数 ($i=1, 2, 3, \dots, n$)； j 为每个研究中的观察数 ($j=1, 2, 3, \dots, n$)； B_0 为全部研究的总截距（固定效应）； B_i 为第 i 个研究的随机效应； B_{1i} 为第 i 个研究的一次项回归系数； e_{ij} 为残差，服从正态分布 $N(0, \sigma^2)$ （随机效应）。

SAS 混合效应代码如下：

```
PROC MIXED data =temp;
```

```
CLASS Study;
```

```
MODEL Y=X Z/Solution OUTP =Predictionset OUTPM=PredY;
```

```
RANDOM intercept X/TYPE =UN SUBJECT=Study;
```

```
RUN;
```

以经过随机效应校正的自变量（饲粮 NDF 与 starch 比值）为 Y 轴，干物质采食量、产奶量、乳脂率、乳蛋白率、乳糖率、乳脂产量、乳蛋白产量或乳糖产量为 X 轴进行曲线拟合。利用 SAS 9.1 软件计算回归系数 P 值、模型均方根误差（root mean square error, RMSE）、 F 值及相关系数 (R^2)。

RMSE 计算公式：

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{obs,i} - x_{model,i})^2}{n}}$$

式中： x_{obs} 为观测值； x_{model} 为真值； n 为观测次数。

2 结果与分析

2.1 饲粮和奶牛生产信息描述

饲粮营养成分和奶牛信息如表 2 所示。纳入 Meta 分析的饲粮 CP、NDF、starch 含量平均分别为 17.1%、33.2%和 21.7%，最高和最低含量之间分别相差 40.8%、57.8%和 89.4%；

NDF 与 starch 比值平均为 1.92。在奶牛生产参数方面，27 个试验的 123 个处理统计结果发现：奶牛干物质采食量、产奶量、乳脂率、乳脂产量、乳蛋白率、乳蛋白产量平均分别为 23.3 kg/d、35.7 kg/d、3.78%、1.32 kg/d、3.17%、1.14 kg/d；21 个试验的 96 个处理统计结果发现：乳糖率和乳糖产量平均分别为 4.72%和 1.69 kg/d。

表 2 Meta 分析中饲料和奶牛生产相关数据

Table 2 Database of diets and dairy production in Meta analysis						
项目	处理数	试 验 数	平 均 值	标 准 差	最小值	最大值
Items	Treatment No.	Trail No.	Mean	SD	Minimum	Maximum
饲料参数 Diet parameters						
粗蛋白质 CP/(%DM)	123	27	17.10	1.56	11.90	20.1
中 性 洗 涤 纤 维 NDF/(%DM)	123	27	33.20	5.17	23.00	54.5
淀粉 Starch/(%DM)	123	27	21.70	7.72	3.82	35.9
中性洗涤纤维与淀粉比值 NDF:starch	123	27	1.92	1.37	0.68	9.56
生产参数 Production parameters/(kg/d)						
干物质采食量 DMI	123	27	23.30	2.51	17.00	29.7
产奶量 MY	123	27	35.70	5.82	19.10	48.0
乳成分 Milk composition/%						
乳脂率 Milk fat percentage	123	27	3.78	0.40	3.14	4.90
乳 蛋 白 率 Milk protein percentage	123	27	3.17	0.28	2.61	3.94
乳糖率 Lactose percentage	96	21	4.72	0.18	4.33	5.08
乳成分产量 Milk composition production/(kg/d)						
乳脂产量 Milk fat yield	123	27	32	18	0.78	1.70
乳蛋白产量 Milk protein yield	123	27	1.14	0.25	0.68	3.10
乳糖产量 Lactose yield	96	21	1.69	0.33	0.84	2.82

2.2 饲料NDF与starch比值与奶牛干物质采食量、产奶量和乳成分的线性相关性分析

由表 3 可知，饲料 NDF 含量与乳脂率（ $R^2=0.567$ ， $P<0.01$ ）呈显著的线性正相关，与干物质采食量（ $R^2=-0.678,P<0.01$ ）、产奶量（ $R^2=-0.517,P<0.01$ ）、乳蛋白率（ $r^2=-0.704,P<0.01$ ）、乳脂产量（ $R^2=-0.345,P<0.01$ ）、乳蛋白产量（ $R^2=-0.298,P<0.01$ ）以及乳糖产量（ $R^2=-0.429,P<0.01$ ）呈显著的线性负相关；饲料 starch 含量与干物质采食量

($R^2=0.699, P<0.01$)、产奶量 ($R^2=0.650, P<0.01$)、乳蛋白率 ($R^2=0.732, P<0.01$) 和乳糖产量 ($R^2=0.489, P<0.01$) 呈显著的线性正相关, 与乳脂率 ($R^2=-0.658, P<0.01$) 呈显著的线性负相关; 饲料 NDF 与 starch 比值与乳脂率 ($R^2=0.664, P<0.01$) 和乳糖产量 ($R^2=-0.355, P<0.01$) 呈显著线性正相关, 与干物质采食量 ($R^2=-0.799, P<0.01$)、产奶量 ($R^2=-0.730, P<0.01$)、乳蛋白率 ($R^2=-0.788, P<0.01$) 以及乳蛋白产量 ($R^2=-0.567, P<0.01$) 呈显著线性负相关; 奶牛的干物质采食量与奶牛的生产性能相关性最强, 与产奶量 ($R^2=0.820, P<0.01$)、乳蛋白率 ($R^2=0.756, P<0.01$)、乳脂产量 ($R^2=0.394, P<0.01$)、乳蛋白产量 ($R^2=0.923, P<0.01$) 以及乳糖产量 ($R^2=0.730, P<0.01$) 呈显著线性正相关, 与乳脂率 ($R^2=-0.644, P<0.01$) 呈显著线性负相关。

表 3 饲料营养成分与奶牛干物质采食量、产奶量和乳成分的线性相关性分析

Table 3 Linear relationship analysis of diet nutritional composition with DMI, MY and milk composition

项目 Items	干物质采食量 DMI	产奶量 MY	乳脂率 Milk fat percentage	乳蛋白率 Milk protein percentage	乳糖率 Lactose percentage	乳脂产量 Milk fat yield	乳蛋白产量 Milk protein yield	乳糖产量 Lactose yield
中性洗涤纤维 NDF	-0.678 (<0.01)	-0.517(<0.01)	0.567(<0.01)	-0.704(<0.01)	-0.146(=0.17)	-0.345(<0.01)	-0.298(<0.01)	-0.429(<0.01)
淀粉 Starch	0.699(<0.01)	0.650(<0.01)	-0.658(<0.01)	0.732(<0.01)	-0.122(=0.25)	-0.034(=0.72)	0.149(=0.11)	0.489(<0.01)
中性洗涤纤维与淀粉比值 NDF:starch	-0.799(<0.01)	-0.730(<0.01)	0.664(<0.01)	-0.788(<0.01)	0.020(=0.85)	-0.126(=0.18)	-0.567(<0.01)	0.355(<0.01)
干物质采食量 DMI	1.000(<0.01)	0.820(<0.01)	-0.644(<0.01)	0.756(<0.01)	0.064(=0.55)	0.394(<0.01)	0.923(<0.01)	0.730(<0.01)

$P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

$P<0.05$ means significant difference, $P<0.01$ means extremely significant difference.

2.3 饲料NDF与starch比值与奶牛干物质采食量、产奶量和乳成分的一元线性回归关系分析

饲料 NDF 与 starch 比值与奶牛干物质采食量、产奶量和乳成分的一元线性回归分析关系结果如表 4 所示。Meta 分析结果表明,饲料 NDF 与 starch 比值对干物质采食量($P<0.01$)、产奶量 ($P<0.01$)、乳脂率 ($P<0.01$)、乳蛋白率 ($P<0.01$)、乳蛋白产量 ($P<0.01$) 和乳糖产量 ($P<0.01$) 的一元线性回归方程均达到显著水平。饲料 NDF 与 starch 比值每增加 1, 奶牛的干物质采食量和产奶量分别降低 0.81 和 1.36 kg, 一元线性回归曲线如图 1 所示; 饲料 NDF 与 starch 比值每增加 1, 奶牛的乳脂率和乳蛋白率分别增加 0.11%和 0.07%, 一元线性回归曲线如图 2 所示; 饲料 NDF 与 starch 比值每增加 1, 奶牛的乳蛋白产量和乳糖产量

分别降低 0.06 和 1.50 kg，一元线性回归曲线如图 3 所示。

表 4 奶牛干物质采食量、产奶量和乳成分与饲粮 NDF 与 starch 比值的一元线性回归关系分析

项目	处理	截距	一次项	均方根误差	F 值	P 值
Items	Treatments	Intercept	Linear-term (X)	RMSE	F-value	P-value
干物质采食量 DMI	123	24.54	-0.810	0.322	6.37	0.02
产奶量 MY	123	37.40	-1.360	0.419	10.62	<0.01
乳脂率 Milk fat percentage	123	3.58	0.110	0.033	11.50	<0.01
乳蛋白率 Milk protein percentage	123	3.25	0.070	0.022	8.73	<0.01
乳糖率 Lactose percentage	96	4.72	0.001	0.008	0.02	0.89
乳脂产量 Milk fat yield	123	1.31	-0.060	0.007	0.67	0.42
乳蛋白产量 Milk protein yield	123	1.22	-0.060	0.013	17.87	<0.01
乳糖产量 Lactose yield	96	4.53	-1.500	1.150	16.56	<0.01

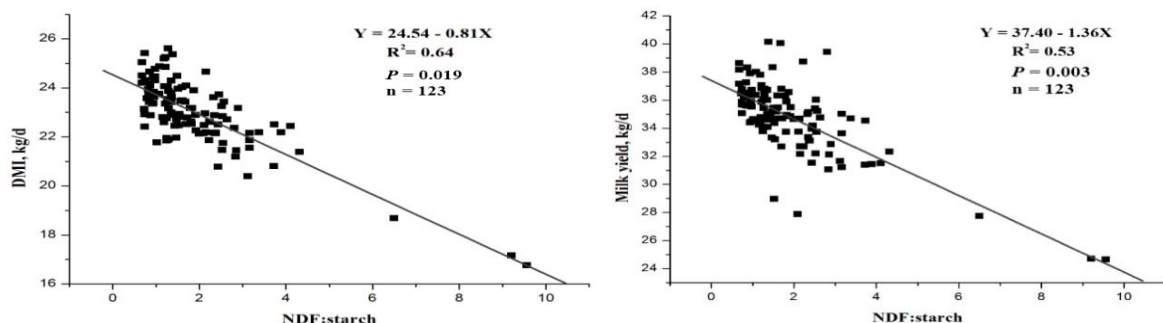


图 1 饲粮 NDF 与 starch 比值与干物质采食量以及产奶量的关系

Fig.1 Relationship between dietary NDF:starch and DMI or MY

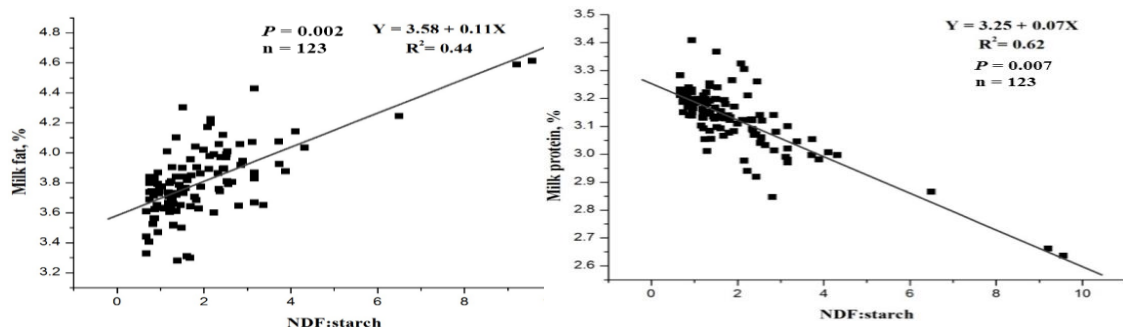


图 2 饲粮 NDF 与 starch 比值与乳脂率以及乳蛋白率的关系

Fig.2 Relationship between dietary NDF:starch and milk fat percentage or milk protein percentage

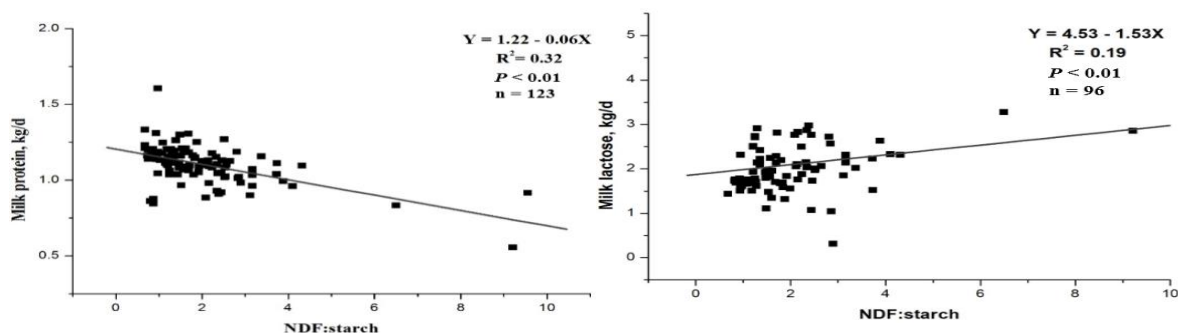


图3 饲料 NDF 与 starch 比值与乳蛋白产量以及乳糖产量的关系

Fig.3 Relationship between dietary NDF:starch and milk protein yield or lactose yield

3 讨论

碳水化合物在反刍动物营养中具有极其重要的作用,其能维持瘤胃正常发酵、保障胃肠道健康及作为瘤胃微生物和动物机体代谢的能量载体等^[12],因此,提出优化奶牛饲料碳水化合物组成的综合营养学评价指标尤为重要。精粗比只是将植物的茎叶和籽实部分加以区分,体现的仅是纤维物质和非纤维物质含量上的差异^[41]。非纤维性碳水化合物与 NDF 比值则更侧重于反映饲料中碳水化合物和纤维物质的比例。NDF 是结构性碳水化合物的主要组成部分,非结构性碳水化合物中 starch 含量超过 80%,因此, NDF 与 starch 比值能更准确地反映饲料碳水化合物组成。

干物质采食量是维持奶牛健康和生产所需养分的重要基础,影响干物质采食量的营养因素主要包括饲料 NDF 含量和精粗比^[9,42]。已有研究表明,饲料 NDF 含量与奶牛干物质采食量之间呈显著的负相关,提高饲料中 NDF 的含量会降低食糜在瘤胃中的流通速率,进而造成奶牛干物质采食量的降低。在本研究中发现,饲料 NDF 含量与干物质采食量之间的具有显著的线性负相关性, R^2 达到 0.678。Meta 分析结果表明饲料 starch 含量与干物质采食量呈现显著的线性正相关 ($R^2=0.699$),这是由于饲料精粗比的改变通常会改变 starch 的含量, starch 类易发酵碳水化合物能够提高奶牛的干物质采食量,其在瘤胃中的降解速度和流通速度明显高于结构性碳水化合物^[43]。而饲料 NDF 与 starch 比值和奶牛干物质采食量之间呈现显著的线性负相关 ($R^2=0.799$),且相关性高于饲料 NDF 和 starch 含量与奶牛干物质采食量之间的相关性。因此,饲料 NDF 与 starch 比值能够更好地预测和评估奶牛的干物质采食量。

已有研究表明,奶牛的产奶量主要受干物质采食量的影响,高干物质采食量能够为奶牛生产和乳成分合成提供更多的营养底物^[44]。在本研究中,Meta 分析结果与此观点一致,奶牛干物质采食量与产奶量之间的 R^2 最大,达到 0.820。而作为衡量饲料碳水化合物组成的营养指标中,与奶牛产奶量的相关性由强到弱依次为饲料 NDF 与 starch 比值 ($R^2=-0.730$)、饲料 starch 含量 ($R^2=-0.650$) 和饲料 NDF 含量 ($R^2=-0.517$)。因此,作为评价饲料碳水化合物组成的指标, NDF 与 starch 比值能够更准确地反映碳水化合物的组成和预测奶牛的产奶量。

饲料的碳水化合物能够影响奶牛乳成分的合成, 饲料中的 NDF 能够为奶牛乳脂合成提供底物^[45], starch 类易发酵碳水化合物能够促进乳糖的合成^[23,46], 瘤胃可发酵碳水化合物能够影响微生物蛋白的合成能力和产量, 为乳蛋白合成提供优质蛋白质来源^[47]。Meta 分析结果发现, 在本试验中反映饲料碳水化合物组成的指标中, 与乳脂率的相关性由强到弱依次为饲料 NDF 与 starch 比值($R^2=0.664$)、饲料 starch 含量($R^2=0.658$)和饲料 NDF 含量($R^2=0.567$), 与乳蛋白率的相关性由强到弱依次为饲料 NDF 与 starch 比值($R^2=-0.788$)、饲料 starch 含量($R^2=0.732$)和饲料 NDF 含量($R^2=-0.704$)。相关性结果表明, 饲料 NDF 与 starch 比值与牛奶的乳脂率和乳蛋白率相关性最强, 能更准确预测和反映乳脂率和乳蛋白率。然而, 饲料 NDF 与 starch 比值以及饲料 starch 和 NDF 含量与牛奶的乳糖率无相关性, 这可能与牛奶中乳糖率比较稳定有关。在反映牛奶乳成分的指标中, 与乳脂率和乳蛋白率相比, 牛奶中的乳糖率比较稳定。

乳成分的产量与奶牛的产奶量和乳成分含量有关, 在本研究中, 乳脂产量与干物质采食量呈线性正相关($R^2=0.394$), 尽管干物质采食量与奶牛的乳脂率呈线性负相关($R^2=-0.644$), 由于干物质采食量与产奶量具有极强的相关性, 因此, 干物质采食量与乳脂产量呈线性正相关。乳脂产量与饲料 NDF 含量呈线性负相关($R^2=-0.345$), 饲料 NDF 含量与乳脂率呈线性正相关, 这可能也是由于饲料 NDF 含量与产奶量呈线性负相关引起的。饲料 NDF 与 starch 比值以及以及饲料 starch 含量与乳脂产量无相关性, 提示饲料 NDF 与 starch 比值可能无法反映乳脂的合成。对于乳蛋白产量, 干物质采食量与乳蛋白产量呈极强的线性正相关($R^2=0.923$)。Hristov 等^[44]通过 Meta 分析方法研究了饲料碳水化合物与乳蛋白产量的关系, 结果表明干物质采食量是乳蛋白产量的决定因素。本研究发现, 饲料 NDF 与 starch 比值与乳蛋白产量呈线性负相关($R^2=-0.567$), 而饲料 NDF 含量与乳蛋白产量呈较弱的相关性, 饲料 starch 含量与乳蛋白产量无相关性, 表明饲料 NDF 与 starch 比值能够在一定程度上反映乳蛋白的合成能力。对于乳糖产量, 奶牛干物质采食量与乳糖产量相关性最强($R^2=0.730$), 这主要是由于干物质采食量能够为机体提供足够的能量和营养素。饲料 starch 含量与乳糖产量存在线性正相关($R^2=0.489$), 这主要是由于乳糖合成的底物主要直接或间接来源于饲料淀粉。

4 结 论

- ① 通过对 27 篇文献中的 123 个处理的数据进行整理, 运用 Meta 分析发现, 饲料 NDF 与 starch 比值与奶牛的干物质采食量、产奶量、乳脂率和乳蛋白率存在显著的线性相关关系和一元线性回归关系。
- ② 与饲料 NDF 和 starch 含量相比, 饲料 NDF 与 starch 比值能够更科学、准确和全面地反应饲料的碳水化合物组成, 能够用于预测奶牛的生产性能和乳成分。

参考文献:

- [1] BECKMAN J L,WEISS W P.Nutrient digestibility of diets with different fiber to starch ratios when fed to lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2005,88(3):1015–1023.
- [2] 杨永新,王加启,卜登攀,等.2010 年国际反刍动物营养研究进展——II.碳水化合物营养[J].中国畜牧兽医,2011,38(3):5–10.
- [3] REYNOLDS C K,AIKMAN P C,LUPOLI B,et al.Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation[J].Journal of Dairy Science,2003,86(4):1201–1217.
- [4] MA L,ZHAO M,ZHAO L S,et al.Effects of dietary neutral detergent fiber and starch ratio on rumen epithelial cell morphological structure and gene expression in dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2017,100(5):3705–3712.
- [5] CANTALAPIEDRA-HIJAR G,LEMOSQUET S,RODRIGUEZ-LOPEZ J M,et al.Diets rich in starch increase the posthepatic availability of amino acids in dairy cows fed diets at low and normal protein levels[J].Journal of Dairy Science,2014,97(8):5151–5166.
- [6] CANTALAPIEDRA-HIJAR G,PEYRAUD J L,LEMOSQUET S,et al.Dietary carbohydrate composition modifies the milk N efficiency in late lactation cows fed low crude protein diets[J].Animal,2014,8(2):275–285.
- [7] PLAIZIER J C,KHAFIPOUR E,LI S,et al.Subacute ruminal acidosis (SARA),endotoxins and health consequences[J].Animal Feed Science and Technology,2012,172(1/2):9–21.
- [8] KONONOFF P J,HEINRICHS A J.The effect of reducing alfalfa haylage particle size on cows in early lactation[J].Journal of Dairy Science,2003,86(4):1445–1457.
- [9] ALLEN M S.Relationship Between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber[J].Journal of Dairy Science,1997,80(7):1447–1462.
- [10] BEAUCHEMIN K A,ERIKSEN L,NØRGAARD P,et al.Short communication:salivary secretion during meals in lactating dairy cattle[J].Journal of Dairy Science,2008,91(5):2077–2081.
- [11] BARGO F,MULLER L D,DELAHOY J E,et al.Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances[J].Journal of Dairy Science,2002,85(7):1777–1792.
- [12] 姚军虎.反刍动物碳水化合物高效利用的综合调控[J].饲料工业,2013,34(17):1–12.
- [13] FIRKINS J L,EASTRIDGE M L,ST-PIERRE N R,et al.Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle[J].Journal of Animal Science,2001,79(Suppl.E):E218–E238.
- [14] HUHTANEN P,HRISTOV A N.A meta-analysis of the effects of dietary protein

- concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows[J].*Journal of Dairy Science*,2009,92(7):3222–3232.
- [15] ABRAHAMSE P A,VLAEMINCK B,TAMMINGA S,et al.The effect of silage and concentrate type on intake behavior,rumen function,and milk production in dairy cows in early and late lactation[J].*Journal of Dairy Science*,2008,91(12):4778–4792.
- [16] HRISTOV A N,ROPP J K.Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for milk protein synthesis in dairy cows[J].*Journal of Dairy Science*,2003,86(7):2416–2427.
- [17] AGUERRE M J,WATTIAUX M A,POWELL J M,et al.Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane,carbon dioxide,and ammonia,lactation performance,and manure excretion[J].*Journal of Dairy Science*,94(6):3081–3093.
- [18] KENDALL C,LEONARDI C,HOFFMAN P C,et al.Intake and milk production of cows fed diets that differed in dietary neutral detergent fiber and neutral detergent fiber digestibility[J].*Journal of Dairy Science*,2009,92(1):313–323.
- [19] ALSTRUP L,WEISBJERG M R,HYMØLLER L,et al.Milk production response to varying protein supply is independent of forage digestibility in dairy cows[J] *Journal of Dairy Science*,2014,97(7):4412–4422.
- [20] KRAUSE K M,COMBS D K,BEAUCHEMIN K A.Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows.I.Milk production and diet digestibility[J].*Journal of Dairy Science*,2002,85(8):1936–1946.
- [21] ALZAHAL O,OR-RASHID M M,GREENWOOD S L,et al.The effect of dietary fiber level on milk fat concentration and fatty acid profile of cows fed diets containing low levels of polyunsaturated fatty acids[J].*Journal of Dairy Science*,2009,92(3):1108–1116.
- [22] KRAUSE K M,COMBS D K,BEAUCHEMIN K A.Effects of increasing levels of refined cornstarch in the diet of lactating dairy cows on performance and ruminal pH[J].*Journal of Dairy Science*,2003,86(4):1314–1353.
- [23] ARNDT C,ARMENTANO L E,HALL M B.Corn bran versus corn grain at 2 levels of forage:Intake,apparent digestibility,and production responses by lactating dairy cows[J].*Journal of Dairy Science*,2014,97(9):5676–5687.
- [24] MIYAJI M,MATSUYAMA H,HOSODA K,et al.Effect of replacing corn with brown grain rice in a total mixed ration silage on milk production,ruminal fermentation and nitrogen balance in lactating dairy cows[J].*Animal Science Journal*,2012,83(8):585–593.
- [25] BEAUCHEMIN K A,YANG W Z,RODE L M.Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity,ruminal fermentation,and milk production[J].*Journal of Dairy*

Science,2003,86(2):630–643.

[26] MULLINS C R,GRIGSBY K N,ANDERSON D E,et al.Effects of feeding increasing levels of wet corn gluten feed on production and ruminal fermentation in lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2010,93(11):5329–5377.

[27] RANATHUNGA S D,KALSCHEUR K F,HIPPEN A R,et al.Replacement of starch from corn with nonforage fiber from distillers grains and soyhulls in diets of lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2010,93(3):1086–1097.

[28] BENCHAAAR C,HASSANAT F,GERVAIS R,et al.Methane production,digestion,ruminal fermentation,nitrogen balance,and milk production of cows fed corn silage-or barley silage-based diets[J].Journal of Dairy Science,2014,97(2):961–974.

[29] SAN EMETERIO F,REIS R B,CAMPOS W E,et al.Effect of coarse or fine grinding on utilization of dry or ensiled corn by lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2000,83(12):2839–2848.

[30] BOIVIN M,GERVAIS R,CHOUINARD P Y.Effect of grain and forage fractions of corn silage on milk production and composition in dairy cows[J].Animal,2013,7(2):245–254.

[31] STERK A,JOHANSSON B E O,Taweel H Z H,et al.Effects of forage type,forage to concentrate ratio,and crushed linseed supplementation on milk fatty acid profile in lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2011,94(12):6078–6091.

[32] CABRITA A R J,BESSA R J B,ALVES S P,et al.Effects of dietary protein and starch on intake,milk production,and milk fatty acid profiles of dairy cows fed corn silage-based diets[J].Journal of Dairy Science,2007,90(3):1429–1439.

[33] WHELAN S J,MULLIGAN F J,GATH V,et al.Short communication:effect of dietary manipulation of crude protein content and nonfibrous-to-fibrous-carbohydrate ratio on energy balance in early-lactation dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2014,97(11):7220–7224.

[34] ERIKSSON T,MURPHY M,CISZUK P,et al.Nitrogen balance,microbial protein production,and milk production in dairy cows fed fodder beets and potatoes,or barley[J].Journal of Dairy Science,2004,87(4):1057–1070.

[35] ZHANG S Z,PENNER G B,YANG W Z,et al.Effects of partially replacing barley silage or barley grain with dried distillers grains with solubles on rumen fermentation and milk production of lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2010,93(7):3231–3242.

[36] GOZHO G N,MUTSVANGWA T.Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics,performance,and microbial protein synthesis in dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2008,91(7):2726–2735.

[37] ZHAO M,BU D P,WANG J Q,et al.Milk production and composition responds to dietary

neutral detergent fiber and starch ratio in dairy cows[J].Animal Science Journal,2016,87(6):756–766.

[38] HALL M B,LARSON C C,WILCOX C J.Carbohydrate source and protein degradability alter lactation,ruminal,and blood measures[J].Journal of Dairy Science,2010,93(1):311–322.

[39] LE LIBOUX S,PEYRAUD J L.Effect of forage particle size and intake level on fermentation patterns and sites and extent of digestion in dairy cows fed mixed diets[J].Animal Feed Science and Technology,1998,73(1/2):131–150.

[40] HASSANAT F,GERVAIS R,JULIEN C,et al.Replacing alfalfa silage with corn silage in dairy cow diets:Effects on enteric methane production,ruminal fermentation,digestion,N balance,and milk production[J].Journal of Dairy Science,2013,96(7):4553–4567.

[41] 朱丹,张佩华,赵勐,等.不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料对体外瘤胃发酵的影响[J].动物营养学报,2015,27(8):2580–2588.

[42] ALLEN M S.Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle[J].Journal of Dairy Science,2000,83(7):1598–1624.

[43] DADO R G,ALLEN M S.Intake limitations,feeding behavior,and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk[J].Journal of Dairy Science,1995,78(1):118–133.

[44] HRISTOV A N,PRICE W J,SHAFII B.A meta-analysis examining the relationship among dietary factors,dry matter intake,and milk and milk protein yield in dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2004,87(7):2184–2196.

[45] MAXIN G,RULQUIN H,GLASSER F.Response of milk fat concentration and yield to nutrient supply in dairy cows[J].Animal,2011,5(8):1299–1310.

[46] LIU H Y,ZHAO K,LIU J X.Effects of glucose availability on expression of the key genes involved in synthesis of milk fat,lactose and glucose metabolism in bovine mammary epithelial cells[J].PLoS One,2013,8(6):e66092.

[47] NRC.Nutrient requirements of dairy cattle[S].7th ed.Washington,D.C.:National Academic Press,2001.

Effects of Dietary Neutral Detergent Fiber and Starch Ratio on Performance and Milk

Composition Synthesis in Dairy Cows: a Meta-analysis

NIU Jun-li^{1,4*} WANG Dian^{5*} ZHAO Meng⁵ ZHANG Wen-ju⁴ BU Deng-pan^{1,2,3} Ma Lu^{1**}

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. CAAS-ICRAF Joint Lab on Agroforestry and Sustainable Animal Husbandry, Beijing 100193, China; 3. Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha 410128, China; 4. College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 5. Inner Mongolia Youran Farming Co., Ltd., Huhehaote 010000, China)

Abstract: (Objective) Meta-analysis was conducted to investigate the effect of dietary NDF and starch content on milk production and component synthesis in dairy cows in this study. (Method) Twenty-seven published papers were collected including 123 experimental treatments. Correlation and meta regression analysis were performed comparing dietary NDF, starch and NDF:starch ratio on milk production and composition of milk component. (Result) Compared with dietary NDF and starch content, NDF:starch ratio was found to be highly correlated with DMI ($r^2=-0.799$, $P<0.01$), milk production ($r^2=-0.730$, $P<0.01$), milk fat content ($r^2=0.664$, $P<0.01$) and milk protein content ($r^2=-0.788$, $P<0.01$). Significant meta regression relevance were observed between dietary NDF:starch ratio and DMI, milk yield, milk fat content, milk protein content, and milk protein and lactose yields. When NDF:starch ratio increased by one, DMI, milk yield, milk protein and lactose yields were reduced by 0.81 kg ($P=0.019$), 1.36 kg ($P<0.01$), 0.06 kg ($P<0.01$) and 1.5 kg ($P<0.01$), respectively, while milk fat content and milk protein content were increased by 0.11 % ($P<0.01$) and 0.07% ($P<0.01$), respectively. (Conclusion) Therefore, Meta-analysis results indicated that NDF:starch ratio could be applied to reflect the dietary carbohydrate composition, which should be paid more attention when formulating diets.

Key word: carbohydrate composition, milk composition, Meta-analysis

维生素 A 对奶牛乳腺氧化应激的减缓作用机制

闫素梅²⁶ 石惠宇

(内蒙古农业大学动物科学学院, 呼和浩特 010018)

摘要: 花生四烯酸 (ARA) 和自由基一氧化氮 (NO) 的过量产生可以引起乳腺上皮细胞的氧化损伤。维生素 A (VA) 可以有效地调控 ARA 和 NO 的生成, 在减缓奶牛氧化应激方面发挥着重要作用。本文主要从硒蛋白 GPx 与 TrxR 的表达活性、结合 TrxR/MAPK 途径和 Nrf2/GPx1/NF-κB 途径对 ARA 和 NO 过量生成的调节作用角度综述了 VA 对奶牛乳腺氧化应激的减缓作用机制, 为深入研究 VA 对乳腺氧化应激的调节机理提供了理论依据。

关键字: 维生素 A; 氧化应激; 奶牛; 乳腺; 调节机理

奶牛的乳腺健康状况是决定产奶量高低和乳品质优劣的重要因素^[1]。乳腺组织作为奶牛体内新陈代谢最为旺盛的功能性部位, 在泌乳期间由于合成和分泌大量乳汁, 需氧代谢活动明显加剧, 存在生成过量活性氧 (ROS)、过氧化氢 (H₂O₂)、一氧化氮 (NO) 等自由基以及花生四烯酸 (ARA) 的风险; 尤其是围产后期和泌乳前期的高产奶牛。在正常生理状态下, 自由基的产生与清除保持动态平衡。当自由基的生成速率大于被清除的速率, 就会累积大量自由基。过量的自由基超氧化物、NO、羟基等由于其化学性质活泼容易与细胞 DNA、蛋白质、类脂膜发生氧化反应^[2-3], 造成乳腺上皮细胞的氧化损伤和抗氧化机能、免疫功能及炎症应答能力下降, 使奶牛对疾病的易感性增强, 进而影响乳腺细胞的正常泌乳功能, 导致产奶量和乳品质下降^[4]。奶牛乳腺氧化应激水平的进程性提高会导致奶牛其先天性和获得性免疫防御机能降低, 使乳腺免疫功能受到障碍, 进而导致乳房炎发病率和严重程度提高^[5]。因此, 减缓乳腺细胞的氧化应激、保证细胞内的氧化还原平衡对于维持奶牛的健康与持续高产具有非常重要的意义^[6]。研究表明, 维生素 A (VA) 可以有效地调控 ARA 和 NO 的生成, 提高机体抗氧化水平和清除自由基, 预防细胞炎症及氧化应激的发生。本综述主要阐述了 VA 对奶牛乳腺抗氧化功能的调节作用及其机理的研究进展, 对今后深入研究其调节机理、科学补充 VA 及提高奶牛乳腺的抗氧化功能具有重要的理论与实际意义。

1 VA 对奶牛氧化应激的减缓作用

动物机体抗氧化系统中的酶促体系主要包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、总抗氧化能力 (T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 和硫氧还蛋白还原酶 (TrxR) 等, 这些抗氧化酶活性和丙二醛 (MDA) 含量均可反映机体的抗氧化水平。课题组前期的体内研究结果得出, VA 可以增强奶牛血清中 SOD 和 GPx 的活性, 降低 MDA 浓度, 减缓氧化应激, 促进抗氧化功能^[7, 8-9], 而且研究^[10]指出, 为获得奶牛最佳抗氧化与免疫功能所需要的 VA 要高于为保证最佳生产性能所需要的 VA, 即在 NRC 推荐量的基础上增加 VA 水平到

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31160466)

²⁶通讯作者: 闫素梅, 教授, 博士生导师, E-mail: yansmimau@163.com

220 IU/kg BW, 可以显著提高奶牛的抗氧化功能^[7]。LeBlanc 等人 (2004)^[11]的研究显示, 血清视黄醇每增加 100 ng/mL, 临床性乳腺炎风险相对降低 60%。以奶牛乳腺上皮细胞 (BMEC) 为模型的研究结果也表明, VA 可以减缓因 H₂O₂、NO、LPS 诱导的氧化应激损伤^[12-14]。许多以肉牛、大鼠、羊为试验动物的研究也得出了类似的结果^[15-18,8]。这些结果均表明, VA 可以减缓动物的氧化应激, 提高机体的抗氧化能力, 但其确切机理尚不十分清楚。

2 VA 减缓奶牛乳腺氧化应激的作用机制

2.1 VA 可促进硒蛋白的表达和活性

硒蛋白是一类以硒代半胱氨酸 (Sec) 形式参与到多肽链的蛋白质, 大多数硒蛋白是一类具有抗氧化功能的酶类^[19]。因此, 硒蛋白是反映机体抗氧化能力的主要指标。目前功能研究比较明确的硒蛋白主要有 GPx、TrxR、硒蛋白 P、硒蛋白 W、脱碘酶、精子线粒体膜硒蛋白等^[20]。GPx 是最早发现的硒蛋白, 其中 GPx1 即是含硒半胱氨酸 GPx 蛋白家族数量最多的亚型, 广泛存在于各种细胞中, 亦是哺乳动物体内含量最为丰富的硒蛋白^[21-22]。GPx 的主要作用是清除脂类氢过氧化物, 并在 CAT 含量很低或产量很低的组织中, 代替 CAT 清除 H₂O₂, 进而保护 DNA、脂质和蛋白免受氧化损伤^[23-24]。GPx1 过表达可以保护细胞免受由 H₂O₂、脂肪过氧化物、氧化还原药物等引起的细胞凋亡, 佐证了上述 GPx1 的功能^[25]。TrxR 是一种含硒的二聚体硒蛋白, 可以通过尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 还原氧化型的硫氧还蛋白 (Trx) 及其类似物, 减少过度的氧化还原反应^[26]。奶牛的体内试验和 BMEC 的研究结果证实, 添加 VA 可以提高 GPx1 和 TrxR1 的基因与蛋白表达^[7, 27-28]; 很多以大鼠和人乳腺癌细胞 MCF-7 为研究对象的研究表明也得出了类似的结果^[29-31]。

2.2 VA 调节 ARA 的过量生成

ARA 是一种广泛分布于机体的 n-6 系列多不饱和脂肪酸, 是类花生酸类物质的前体, 以磷脂形式存在于细胞膜中。通常情况下, 大部分的 ARA 以酯化形式存在于机体胞膜磷脂 sn-2 上, 且多数没有生理活性, 只有一小部分具有正常生理活性的 ARA 存在于胞质和体液中^[32], 决定着细胞膜的一些重要生物活性。当细胞受到各种炎症介质, 如脂多糖 (LPS)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白介素 1 (IL-1)、NO 刺激时, 细胞就会在磷脂酶 A2 (PLA2) 的催化下释放出大量的 ARA^[33]。过多的 ARA 会诱导产生大量的 ROS, 导致氧化应激, 损害细胞正常形态和生理功能^[34]。即一定浓度的 ARA 正常生理功能必不可少的, 但过多的 ARA 则对细胞产生毒性作用。机体存在有效的调节机制保持细胞内一定浓度的 ARA, 这是细胞执行正常生理功能的前提。VA 有三种活性形式, 即视黄醇 (Retinol)、视黄酸 (Retinoic acid, RA)、视黄醛 (Retinal)。据报道, RA 可以抑制人关节滑液中和大鼠腹膜巨噬细胞由 Ca²⁺ 激活的 PLA2 活性和 ARA 含量的过度升高^[35]。研究发现, VA 对 H₂O₂ 诱导的 BMEC 中 ARA 的大量释放具有抑制作用, 减轻 ARA 及其代谢产生的脂质过氧化物对细胞膜结构和功能的损伤, 实现了 VA 对 BMEC 在氧化应激状态下的保护作用, 提高了细胞的抗氧化能力^[12]。

2.2.1 VA 通过 TrxR 活性调节 ARA 的释放

Kurosawa 等^[36]研究了硫氧还蛋白 (Trx) 对小鼠的纤维肉瘤细胞中 ARA 的释放、细胞内信号传导途径和细胞毒性的作用, 其结果显示, TrxR 对细胞中胞浆型 PLA2 (cPLA2) 的活性有抑制作用, 可以降低 ARA 的释放, 进而减少其对细胞的毒性作用。Bruzeliuss 等^[33]研究发现, RA 可以上调 MAC-T 的 TrxR1 表达量。提示 VA 可能是通过 TrxR 调节 cPLA2 的活性, 维持细胞内 ARA 浓度的平衡状态, 进而保障乳腺细胞内的抗氧化机能。课题组在 BMEC 中的研究指出, ARA 的浓度增加会抑制 TrxR 活性, 而添加 VA 可以抑制 ARA 在 BMEC 中的蓄积, 且 TrxR 的活性也呈相反的变化^[12]; 因此 A 可能通过提高 TrxR 的活性来减轻 ARA 对细胞的损伤, 发挥 VA 的抗氧化作用。这在 Jin (2014) 的拮抗 TrxR 的研究中得到了进一步佐证^[37]。

2.2.2 VA 通过 MAPK 信号通路调节 ARA 的释放

MAPK 信号通路主要由 p38 MAPK、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 和胞外信号调节激酶 (ERK) 1/2 构成。MAPK 的 3 个主要成员可分别被上游位点相应的 MAPK 激酶 (MAP2K 或 MEKs) 活化, 而 MEKs 又可被其上游丝裂原激活蛋白激酶激酶激酶 (MAP3K) 活化, 其中, 细胞凋亡信号激酶-1 (ASK-1) 是 MAP3K 家族的重要成员, Trx 结合在 ASK-1 的 N 端区域, 抑制其活性, TrxR 活性降低促进 Trx 转变为氧化形式, ASK-1 被激活, 从而激活 MAPK 信号通路中 JNK 和 p38 MAPK^[34]。此外, ROS、LPS、细胞因子等刺激原也可激活 MAPK 信号通路^[38]。MAPK 被磷酸化后, 会增强 cPLA2 酶的活性, 导致 ARA 的大量合成和释放^[39]。Jin 等 (2017) 的研究结果发现, 添加 VA 显著提高 TrxR 的活性, 并且降低了 p38 MAPK 和 JNK 的磷酸化水平以及 ARA 的含量即 VA 通过提高 TrxR 的活性抑制 ASK-1 活性, 进而抑制 MAPK 信号通路的激活, 最终减少 ARA 的释放, 缓解 BMEC 的氧化应激水平^[12]。

2.3 VA 调节 NO 的过量生成

NO 是一种自由基性质的气体分子。研究证实很多细胞内左旋-精氨酸可由一氧化氮合酶 (NOS) 催化与氧分子经多步氧化还原反应不断产生低浓度的内源性 NO 分子^[40]。NO 具有双重量效作用。正常生理情况下, 少量 NO 有直接杀菌作用, 抑制病毒、细菌、真菌、原生动物、蠕虫、肿瘤细胞^[41], 并能加快血液循环。但是, 过量的 NO 会损伤机体健康的细胞, 引起组织的氧化应激^[42]; 当受到炎症细胞因子或内毒素等诱导时, 诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 被激活, 导致产生大量 NO, 致使组织损伤, 加速炎症进程^[43]。同时, NO 本身容易与氧自由基相互发生反应, 生成毒性更强的强氧化剂过氧化亚硝基阴离子 (ONOO^-) 进而介导细胞毒反应。因此, 过高浓度的 NO 对氧自由基的损伤效应起放大作用, 可促进炎症反应和组织损伤, 加剧机体的氧化应激水平^[44], 是引起氧化应激的主要因素之一。

2.3.1 VA 抑制了 IL-1 介导的 NO 生成

目前, 关于 VA 对 NO 生成的调节作用研究主要集中在人和小鼠等领域。Hung 等 (2008)^[45]的研究指出, IL-1 可以诱导人软骨细胞产生 iNOS、环氧酶 2 (COX-2) 和细胞因子, iNOS

被激活进而产生大量的 NO；但是，RA 可以下调 iNOS 的基因表达，减少 NO 的过量生成。Ertesvag 等（2009）^[46]的研究发现，RA 可下调鼠体内 T 细胞白介素 2（IL-2）的基因表达进而抑制 NO 的大量产生。以 BMEC 为对象的研究发现，添加 VA 可以有效地下调 iNOS 的基因与蛋白质表达，缓解 NO 诱导的细胞氧化损伤，并且其减缓作用呈剂量依赖效应^[13,47]。石惠宇（2018）通过（白介素 1 受体拮抗剂）IL-1ra 抑制 IL-1 的生物活性，探究了 VA 减缓 LPS 诱导的 BMEC 的氧化损伤机制是否是由于 VA 降低了 IL-1 的生成实现的；结果发现，添加 VA 或者 IL-1ra 均能发挥保护细胞免受 LPS 氧化损伤的功能，说明 IL-1 诱发的 NO 过量生成是造成细胞氧化应激损伤的重要因素，VA 通过增加视黄酸受体（RAR α ）的蛋白表达抑制了核转录因子 κ B（NF- κ B）信号通路的磷酸化水平；降低了 IL-1 β 和 iNOS 的基因与蛋白质表达和 NO 的浓度，发挥其减缓氧化应激的功能。即 VA 抑制了 IL-1 介导的 NO 生成，减缓了细胞的氧化应激^[48]。

2.3.2 VA 通过 Nrf2/GPx1/NF- κ B 途径减缓细胞的氧化损伤

核因子相关因子（Nrf2）属于 CNC-bZIP（cap'n'collar subfamily of basic leucine zipper），即 CNC 亮氨酸拉链转录激活因子家族，在各种细胞内均有表达^[49]。Nrf2 能够与 DNA 中位于目的基因序列的抗氧化反应原件 ARE 序列相结合，上调 II 型解毒酶的基因表达，如 SOD、CAT、GPx、氧合酶（HO-1）等^[50]，加速超氧化物和过氧化物的分解代谢，减少 ROS 和活性氮（RNS）的氧化损伤，维持细胞内稳态。即 GPx 等抗氧化酶是 Nrf2 的下游靶向基因，Nrf2 信号通路作为调控机体抗氧化系统的主要信号通路之一，可以增加 GPx1 的基因表达^[51]。越来越多的研究表明，VA 可以促进 GPx 的活性，增强抗氧化能力，抑制 NF- κ B 炎症信号通路的活化^[52]。正常细胞中的 NF- κ B 主要以二聚体形式及其抑制蛋白(I κ B)结合，以无活性的状态存在于胞浆中。当细胞受到刺激，可诱导 I κ B 磷酸化并与其二聚体解离活化，转位于细胞核内促进胞内 iNOS 的基因转录与表达^[53]，促进 NO 的合成。一些以人乳腺癌细胞系 MCF-7 和鼠的研究指出，GPx1 对 NF- κ B 的上游激酶 IKK 以及下游 NF- κ Bp65 的磷酸化有抑制作用^[54-55]。极其有限的研究表明，添加 VA 可以通过激活 Nrf2，启动下游包括 GPx1 在内的抗氧化酶基因的表达^[56]。Shi 等（2018）在 BMEC 中的研究发现，VA 可激活 Nrf2 信号通路，上调硒蛋白 GPx1 的活性及其基因与蛋白质的表达；最终减少 NO 的生成^[47]。顾蓓蓓（2010）^[57]的研究也有类似的发现，结果得出大鼠乳腺上皮细胞用 LPS 处理后 iNOS mRNA 表达显著增强，并且显著上调了大鼠乳腺上皮细胞 Toll 样受体 4（TLR-4）蛋白水平及 NF- κ B 与 DNA 的结合活性；添加视黄醇后则显著降低了由 LPS 引起的 TLR-4 蛋白水平的升高和极显著降低了 NF- κ B 与 DNA 的结合活性；即 LPS 通过 TLR-4/NF- κ B 信号途径促进原代大鼠乳腺上皮细胞炎性相关因子的表达，而添加视黄醇能抑制相关炎性因子的过度表达，进而抑制 NF- κ B 与 DNA 的结合活性，并反馈性的下调 TLR-4 的表达。在人乳腺癌细胞 MCF-7 的研究也指出，作为最具代表性的硒蛋白，GPx 过量时可以下调 NF- κ B 的 DNA 结合活性以及被它激活的转录活性^[54]。也有研究发现，沉默了 GPx1 的原代小鼠大动脉上皮细胞中，抑制蛋白（I κ B）的磷酸化水平加剧，激活了 NF- κ B 的活性^[24]。可见，VA 可能主要是通过 VA

可能通过上调 GPx 的活性抑制 NF- κ B 信号通路,降低 NO 的过量生成,以减缓氧化应激,相关的研究报道在 BMEC 上也有^[14]。石惠宇(2018)^[48]通过沉默和过表达 GPx1,从 Nrf2-GPx-NF- κ B-NO 途径诠释了 VA 的抗氧化防御机理,结果得出,GPx1 沉默后,添加 VA 对减缓 LPS 诱导的 BMEC 氧化损伤的作用显著减弱,而 GPx1 过表达处理后的 BMEC,添加 VA 对 LPS 诱导的氧化损伤有显著的增强作用。VA 主要是通过激活 Nrf2 通路增强 GPx 的活性,减弱 NF- κ B 信号通路的磷酸化水平,进而降低 IL-1 β 的生成,减少 iNOS 的基因表达,减少 NO 的释放,最终实现对细胞的抗氧化防御保护。

综上所述,本文从 NO、ARA 释放及其信号通路 MAPK、Nrf2 及 NF- κ B 的综述了 VA 对奶牛乳腺上皮细胞氧化应激的减缓作用机制,如图 1 所示。

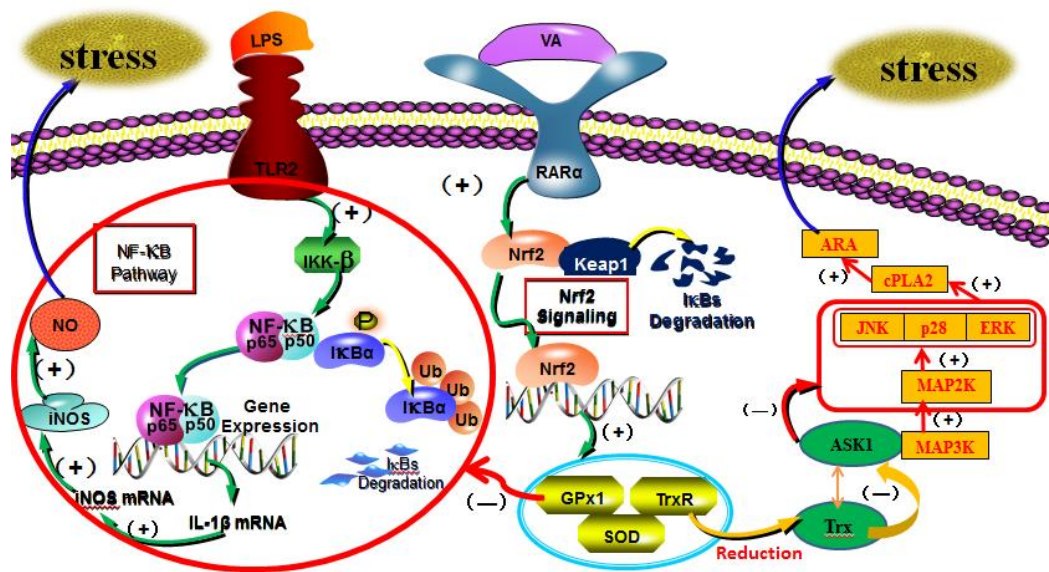


图 1 VA 通过减少 ARA 和 NO 生成缓解乳腺氧化应激的调控机理

3 结论与展望

VA 可减缓奶牛乳腺的氧化应激产生。VA 主要通过 TrxR 和 MAPK 途径减少 ARA 的过量生成,通过 IL-1 和 Nrf2/GPx1/NF- κ B 途径对 NO 的过量生成进行调节,进而减缓乳腺的氧化应激。然而,关于 VA 对奶牛乳腺氧化应激的调节机制非常复杂,仍然需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 崔祥,刁其玉,屠焰,等. 奶用后备牛不同生理阶段乳腺发育特点及营养调控作用[J]. 中国奶牛, 2014, z1:5-9
- [2] RYMAN V E, NANDAKUMAR P, SORDILLO L M. Role of endothelial cells in bovine mammary gland health and disease[J]. Animal Health Research Reviews, 2015, 16(2):135-149.
- [3] FANG YZ, YANG S, WU G. Free radicals, antioxidants, and nutrition[J]. Nutrition, 2002, 18(10):872-879.
- [4] JOZWIK A, KRZYZEWSKI J, STRZALKOWSKA N, et al. Relations between the oxidative

- status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairy cows - a review[J]. *Animal Science Papers & Reports*, 2012, 30(4):297-307.
- [5] SORDILLO L M. Selenium-Dependent Regulation of Oxidative Stress and Immunity in Periparturient Dairy Cattle[J]. *Veterinary Medicine International*, 2013, 2013:1-8.
- [6] MILLER J K, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen F C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function[J]. *Journal of Dairy Science*, 1993, 76(9):2812-2823.
- [7] JIN L, YAN S, SHI B, et al. Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2014, 192(6):15-23.
- [8] 乔良. 奶牛维生素A瘤胃降解规律及过瘤胃保护维生素A效果评价的研究[D]. 博士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008
- [9] 马露. 维生素A、E对奶牛产奶性能、免疫功能及瘤胃发酵的影响[D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011
- [10] WEISS W P. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: a review[J]. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81(9):2493-2501.
- [11] LEBLANC S J, HERDT T H, Seymour W M, et al. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease[J]. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87(3):609-619.
- [12] JIN L, YAN S, SHI B, et al. Retinoic acid attenuates oxidative injury in bovine mammary epithelial cells induced by hydrogen peroxide[J]. *Czech Journal of Animal Science*, 2017, 62(No. 12):539-548.
- [13] SHI H, YAN S, JIN L, et al. Vitamin A affects the expression of antioxidant genes in bovine mammary epithelial cells with oxidative stress induced by diethylenetriamine-nitric oxide polymer[J]. *Czech Journal of Animal Science*, 2016, 61(3):117-126.
- [14] SHI H Y, YAN S M, GUO Y M, et al. The pre-protective effect of vitamin A on LPS induced oxidative stress of bovine mammary epithelial cells[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2018. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1453757>.
- [15] 马向明, 杨在宾, 杨维仁, 等. 不同水平维生素A对肉牛机体抗氧化能力的影响[J]. *畜牧兽医杂志*, 2005, 24(5):4-9.
- [16] 韩磊, 马爱国, 张燕. 维生素A干预对大鼠抗氧化能力及细胞膜流动性影响的研究[J]. *卫生研究*, 2004, 33(4):450-452.
- [17] 黄鸿眉, 魏华, 江伟, 等. 不同维生素A营养状态下血清视黄醇水平与机体抗氧化能力的相关分析[J]. *医学争鸣*, 2008, 29(10):893-895.
- [18] 王平. 维生素A对不同生理阶段济宁青山羊生产性能和血液指标影响的研究[D]. 硕士

学位论文. 泰安: 山东农业大学, 2011.

- [19] 刘琼, 姜亮, 田静,等. 硒蛋白的分子生物学及与疾病的关系[J]. 化学进展, 2009, 21(5):819-830.
- [20] 高建忠, 黄克和. 动物硒蛋白研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2004, 36(7):39-42.
- [21] BRIGELIUS-FLOHE R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors[J]. Biological Chemistry, 2006, 387(10-11):1329-1335.
- [22] LU J, HOLMGREN A. Selenoproteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(2):723-727.
- [23] 马森. 谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(10):53-56.
- [24] SHARMA A, YUEN D, HUET O, et al. Lack of glutathione peroxidase-1 facilitates a pro-inflammatory and activated vascular endothelium[J] Vascular Pharmacology,2016,79: 32-42.
- [25] ARTHUR J R, BECKETT G J, MITCHELL J H. The interactions between selenium and iodine deficiencies in man and animals[J]. Nutrition Research Reviews,1999, 12(1):55-73.
- [26] HAWKES W C, ALKAN Z. Regulation of redox signaling by selenoproteins[J]. Biological Trace Element Research, 2010,134(3):235-251.
- [27] BRUZELIUS K, SUNDLER R, PAGMANTIDIS V, et al. Regulation of selenoprotein mRNA expression by hormones and retinoic acid in bovine mammary cells[J]. Journal of Trace Elements in Medicine & Biology, 2010,24(4):251-256.
- [28] JIN L, YAN S, SHI B, et al. Effects of retinoic acid on the synthesis of selenoprotein and the antioxidative indices of bovine mammary epithelial cells in vitro.[J]. Czech Journal of Animal Science, 2016, 61(4):194-202.
- [29] KHAFAGA A F, ELSAYED Y S. All-trans-retinoic acid ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity: in vivo potential involvement of oxidative stress, inflammation, and apoptosis via caspase-3 and p53 down-expression[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2017,391(1):1-12.
- [30] SILVIS A M, MCCORMICK M L, SPITZ D R, et al. Redox balance influences differentiation status of neuroblastoma in the presence of all-trans retinoic acid[J]. Redox Biology, 2016,7(C):88-96.
- [31] CHU F F, ESWORTHY R S, LEE L, et al. Retinoic acid induces Gpx2 gene expression in MCF-7 human breast cancer cells[J]. Journal of Nutrition, 1999, 129(10):1846-1854.
- [32] KUROSAWA T, NAKAMURA H, YAMAURA E, et al. Cytotoxicity induced by inhibition

- of thioredoxin reductases via multiple signaling pathways: role of cytosolic phospholipase A(2) α -dependent and -independent release of arachidonic acid[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2009, 219(3):606–616.
- [33] BRUZELIUS K, PURUP S, JAMES P, et al. Biosynthesis of selenoproteins in cultured bovine mammary cells[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine & Biology*, 2008, 22(3):224-233.
- [34] LIU Y, MIN W. Thioredoxin promotes ASK1 ubiquitination and degradation to Inhibit ASK1-mediated apoptosis in a redox activity-independent manner[J]. *Circulation Research*, 2002, 90(12):1259-1266.
- [35] WILLIAM C H, BHAVNA J P, CHRISTA F N, et al. Retinoids inhibit phospholipase A2 in human synovial fluid and arachidonic acid release from rat peritoneal macrophages. *Inflammation*, 1990, 14(5):543-559.
- [36] KUROSAWA T, NAKAMURA H, YAMAURA E, et al. Cytotoxicity induced by inhibition of thioredoxin reductases via multiple signaling pathways: Role of cytosolic phospholipase A2 α - dependent and - independent release of arachidonic acid[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2009, 219(3):606-616.
- [37] 金鹿. 维生素A对奶牛乳腺乳蛋白合成及抗氧化功能影响机理的研究[D]. 内蒙古农业大学, 2014.
- [38] TAKEDA K, NAGURO I, NISHITO H, et al. Apoptosis signaling kinases: from stress response to health outcomes.[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2011, 15(3):719-61.
- [39] LIN L L, WARTMANN M, LIN A Y, et al. cPLA2 is phosphorylated and activated by MAP kinase.[J]. *Cell*, 1993, 72(2):269-278.
- [40] SCHMIDT H H W, WALTER U. NO at work[J]. *Cell*, 1994, 78(6): 919-925.
- [41] BOGDAN C, ROLLINGHOFF M, DIEFENBACH A. Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2000, 12(1):64-76.
- [42] BANAN A, FIELDS J.Z, DECKER H, et al. Nitric oxide and its metabolites mediate ethanol-induced microtubule disruption and intestinal barrier dysfunction[J]. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, 294(3):997-1008.
- [43] 潘会君, 唐宁, 华晓东等. 中药调控一氧化氮合酶—一氧化氮系统的研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(12):201-205.
- [44] 张浩, 咎金行, 刘培勋. 诱导型一氧化氮合酶抑制剂的研究进展[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2013, 22(6):665-669.
- [45] HUNG L F, LAI J H, LIN L C, et al. Retinoid acid inhibits IL-1-induced iNOS, COX-2 and

- chemokine production in human chondrocytes[J]. *Immunological Investigations*, 2008, 37(7): 675-693.
- [46] ERTESVAG A, AUSTENAA L M, CARLSEN H, et al. Retinoic acid inhibits in vivo interleukin - 2 gene expression and T - cell activation in mice[J]. *Immunology*, 2009, 126(4): 514-522.
- [47] SHI H Y, YAN S M, GUO Y M, et al. Vitamin A pretreatment protects NO-induced bovine mammary epithelial cells from oxidative stress by modulating Nrf2 and NF- κ B signaling pathways[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(4):1305-1316.
- [48] 石惠宇. 维生素 A 通过 Nrf2/谷胱甘肽过氧化物酶 1/NF- κ B 信号通路缓解奶牛乳腺上皮细胞氧化应激的机理研究[D]. 内蒙古农业大学, 2018.
- [49] KENSLER T W, WAKABAYASHI N. Nrf2: friend or foe for chemoprevention? [J].*Carcinogenesis*,2010,31(1):90-99.
- [50] CHEN X L, KUNSCH C. Induction of cytoprotective genes through Nrf2/antioxidant response element pathway: a new therapeutic approach for the treatment of inflammatory diseases[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2004, 10(8):879-891.
- [51] WEI Y, SHEN Y, JING W, et al. MicroRNA-153/Nrf-2/GPx1 pathway regulates radiosensitivity and stemness of glioma stem cells via reactive oxygen species[J]. *Oncotarget*, 2015,6(26):22006-22027.
- [52] ABDELHAMID L, HUSSEIN H, GHANEM M, et al. Retinoic acid-mediated anti-inflammatory responses in equine immune cells stimulated by LPS and allogeneic mesenchymal stem cells[J]. *Research in Veterinary Science*,2017,114:225-232.
- [53] MC G C, PRINZ M, BEYAERT R, et al. Nuclear factor kappa B (NF- κ B) in multiple sclerosis pathology[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2013, 19(10):604-613.
- [54] LI Q, SANLIOGLU S, LI S, et al. GPx-1 gene delivery modulates NF-kappaB activation following diverse environmental injuries through a specific subunit of the IKK complex[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*,2001,3(3):415-432.
- [55] TRAN T V, SHIN E J, JEONG J H, et al. Protective potential of the glutathione peroxidase-1 gene in abnormal behaviors induced by phencyclidine in Mice[J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 54(9):1-21.
- [56] TAN K P, KOSUGE K, YANG M, et al. NRF2 as a determinant of cellular resistance in retinoic acid cytotoxicity[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2008,45(12):1663-1673.
- [57] 顾蓓蓓. 视黄醇对脂多糖诱导的大鼠乳腺炎症反应的调节及机制研究[D]. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2010.

奶牛营养与饲料研究进展

姚琨^{1,2,3,4} 王斐然^{2,3,4} 王二旦^{2,3,4} 李胜利^{2,3,4}

(1. 新疆农业大学动物科学学院, 乌鲁木齐 83005; 2. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193; 3 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193; 4 北京市生鲜乳质量安全工程技术研究中心, 北京 100193)

摘要: 奶牛养殖中饲料成本占到总成本的 70%, 饲料中蛋白质、能量(碳水化合物、脂肪)、维生素以及矿物质的营养对于奶牛生产性能调控具有重要影响。本文综述了以上营养物质在奶牛体系消化、吸收、代谢和转化规律、奶牛营养与环境、以及粗饲料开发等方面在 2015-2018 年的研究进展。

关键词: 奶牛; 营养; 饲料; 进展

奶牛因其具有特殊的消化生理结构, 营养物质的消化、吸收、代谢和转化有别于单胃动物, 对其营养代谢的调控需要考量营养物质在前段消化道(微生物需要)以及后段消化道(反刍动物本身需要)的消化、吸收和代谢平衡。本文主要从蛋白质、能量(碳水化合物、脂肪)、维生素和矿物质等营养物质在奶牛体内的消化、吸收、代谢和转化规律, 以及奶牛营养与环境、以及粗饲料开发等方面在 2015-2018 年的研究进展进行归纳, 以飨读者。

一、能量研究进展

碳水化合物和脂肪是奶牛的主要能量来源。奶牛日粮提供适宜的能量才能避免奶牛特别是围产期发生能量负平衡, 减少产后营养代谢病的发生。

1. 碳水化合物研究进展

1.1 淀粉饲喂水平对奶牛生产性能的影响

日粮中的淀粉能使瘤胃的微生物蛋白产量最大化, 且是反刍动物在泌乳期的最主要能量来源。然而高降解水平的淀粉会产生大量丙酸降低瘤胃 pH, 使纤维分解和采食量受到抑制, 带来瘤胃酸中毒的风险。研究证明高淀粉日粮(29% vs. 23%干物质)有降低牛奶乳脂率、增加乳蛋白含量的趋势^[1]。有学者对比高淀粉日粮与高纤维日粮, 研究发现前者甲烷排放量低于后者, 这可能是高淀粉日粮中瘤胃原虫数目少且发酵产生的乙酸: 丙酸比例降低造成的^[2]。在肉牛上, 饲喂高淀粉日粮可降低肉中饱和脂肪酸含量, 增加不饱和脂肪酸含量^[3]。

1.2 提高淀粉消化率的措施研究

提高淀粉消化率是增加淀粉利用率的关键之一。谷物的加工方法对奶牛淀粉消化率的影响很大。孔庆斌等发现控制玉米粉碎粒度在 800~1300 μm , 超过 2000 μm 的比例低于 5%~10%, 能够有效改善淀粉消化率^[4]。Gallo 等通过体外试验模拟了多种谷物(玉米、大麦、小麦、燕麦、黑麦、高粱、豌豆和蚕豆)的平均粉碎粒度对体外淀粉消化率的影响及不同淀粉来源的谷物的产气效应, 孵育 7 小时后, 随着大麦、小麦、黑麦和豌豆粉的平均粒度增加, 淀粉降解率呈线性下降, 而我们注意到其他谷物中淀粉降解率呈二次降低^[5]。

为增加淀粉消化率, 日粮中添加外源性淀粉酶成为一种可行方案。Andreazzi 等发现淀粉酶的添加在干物质采食量降低的情况下升高了产奶量, 增加了饲料利用效率, 同时增加

了乳糖产量和血糖含量；而淀粉的总消化道表观消化率、NDF（中性洗涤纤维）消化率和瘤胃发酵指标及微生物产量没有变化^[6]。另有研究发现，淀粉酶的作用有可能受到不同泌乳阶段的限制，一个 421 头泌乳牛的长期饲喂试验发现，口服补充淀粉酶带来的能量效应只对处于泌乳高峰期的头胎牛有效^[7]。Westreicher-Kristen 等研究了青年牛真胃灌注 2% 的外源淀粉酶对淀粉消化的影响，微生物的氮排泄及粪便中的总 VFA（总挥发性脂肪酸）排出随淀粉的灌注而增加，但不受淀粉酶的影响^[8]。在采食行为方面，日粮中添加淀粉酶的牛更偏爱较长纤维饲料，咀嚼时间更短，且每天采食的次数更少^[6]。

1.3 低淀粉日粮研究进展

尽管淀粉作为奶牛重要能量来源的作用无法忽视，但近年来玉米等常规饲料价格的上涨使得养殖成本升高及世界粮食短缺的难题，使得人们不得不考虑使用其他加工副产品取代日粮中的淀粉。近几年来国内外学者发表了大量关于低淀粉型日粮的研究。低淀粉型的日粮一般可使用富含糖的优质牧草、富含中性洗涤可溶性纤维源的饲料原料及可溶性糖替代部分谷物^[9]。Rezende 等发现，在 5 头有瘤胃瘘管的内洛尔阉牛中使用颗粒化大豆皮分别替代 0%、25%、50% 及 75% 的玉米粉，其中 NDF 消化率随着替代水平的上升而升高，且增加了反刍时间^[10]。郭勇庆等研究表明，奶牛日粮中可用适当比例的粉碎小麦替代玉米，替代比例不宜超过日粮 DM 的 19.2%^[11]；高比例小麦日粮饲喂奶牛可引起瘤胃 pH 值和乳脂率下降，进一步引起乳脂组成发生变化。

使用一些人类不可食用的加工副产品，如热处理后的菜籽粕、酒糟等与优质青贮配合饲喂，尽管淀粉摄入量低于正常谷物饲喂，但产奶量并无降低^[12]。Steyn 等研究发现，在放牧条件下，使用干苹果渣完全替代玉米补饲给娟姗牛（0% 玉米、100% 干苹果渣）的 4% 乳脂校正乳产量低于 25% 及 50% 的苹果渣替代；随着苹果渣替代水平的上升，乳脂含量也上升；但此水平并未影响瘤胃的代谢参数^[13]。Naderi 等用甜菜粕替代奶牛日粮中玉米青贮，结果表明随着甜菜粕比例的增加，瘤胃 pH 有降低趋势，并降低瘤胃液中乙酸和丙酸浓度；试验结果表明在热应激条件下用甜菜粕替代奶牛日粮中 12% 玉米青贮对生产是有益的^[14]。

1.4 过瘤胃葡萄糖和寡糖研究进展

过瘤胃葡萄糖也叫瘤胃保护葡萄糖，是将葡萄糖以某种方式保护起来，使其在反刍家畜瘤胃内不易被降解，而直接进入瘤胃后消化系统（主要是小肠）进行消化、吸收和利用的一类葡萄糖。过瘤胃葡萄糖使动物保持较高的采食量，让小肠吸收葡萄糖的量增加，机体摄能增多，从而能有效改善围产期奶牛能量的负平衡。李妍等研究表明，围产后期奶牛日粮中添加瘤胃保护葡萄糖有利于奶牛产后体况的维持，降低产后能量负平衡的发生^[15]。

寡糖是由 2-10 个单糖通过糖苷键链接而成的直链或者支链的一类糖，可作为免疫增强剂使用，对奶产量和品质亦有影响。郭婷婷等研究发现，在日粮中添加甘露寡糖或果寡糖可提高牛奶乳脂率，功能性低聚糖有助于提高微生物蛋白合成^[16-17]。

1.5 碳水化合物与微生物

瘤胃对反刍动物来说最重要的功能之一是能够降解单胃动物不能大量消化的纤维,并将其转化为微生物蛋白被后消化道消化利用。作为近年来的研究热点之一,微生物在纤维分解中的作用受到业内学者的广泛关注。Shabat 等发现奶牛瘤胃对碳水化合物的消化能力受瘤胃微生物群落的影响,并且消化率与微生物的丰度呈负相关^[18]。Comtet-Marre 等则使用元转录组揭示了编码泌乳牛瘤胃微生物的碳水化合物活性酶(CAZymes)和形成纤维降解群落的微生物的基因的表达,该研究发现真核生物,尤其是原虫对 CAZyme 家族 GH9、GH10、GH48、GH5 和 GH11 的表达有显著贡献^[19]。Zhang 等研究表明,高海拔地区奶牛瘤胃微生物可以更有效地利用碳水化合物,提示可通过调节瘤胃微生态状态调节奶牛碳水化合物的消化^[20]。

2. 脂肪研究进展

2.1 脂肪的营养作用

(1) 脂肪对奶牛生产性能的影响

脂肪是奶牛的重要功能物质,日粮中的脂肪酸会影响乳脂产量和乳脂肪酸组成,同时可调控瘤胃微生物组成。每头每天给中国荷斯坦奶牛日粮配方中补充 250~500 g 过瘤胃脂肪粉,可提高泌乳早期奶牛 3.5%标准乳产量达 8.5%~14.0%,并能显著提高乳脂率 0.13%~0.23%^[21-22]。袁雪等比较了不同种类的过瘤胃脂肪(脂肪酸钙、氢化脂肪和分馏脂肪)对泌乳早期奶牛的影响,发现早期产奶量有提高的趋势,且产后 60 天和 90 天的体况均好于对照组;这 3 种过瘤胃脂肪能分别提高泌乳前期的平均经济效益 15.75、15.70 和 16.62 元/头/天^[23]。日粮中添加玉米油和高亚油酸红花油、高油酸葵花籽油和棕榈油,对比发现高亚油酸红花油处理组的乳成分中 *trans*-10 C18: 1 和 *cis*-10, *trans*-12 C18: 2 的含量上升^[24]。Elis 等研究表明,奶牛饲喂富含长链 *n*-3 多不饱和脂肪酸日粮,可通过影响脂肪因子的表达而调控脂肪组织的分泌功能^[25]。

(2) 脂肪与瘤胃微生物

日粮中的脂肪与瘤胃微生物的关系是双向的。Enjalbert 在 2017 年综述了脂肪与瘤胃微生物的相互塑造关系,脂肪可影响微生物的定植^[26]。围产期奶牛添加大豆油或氢化棕榈油能够提高瘤胃普雷沃菌属的定植量,且定植取决于日粮油脂的饱和度^[27]。奶牛日粮中添加巴西棕榈油降低了瘤胃微生物的丰度和多样性;在 1%的添加浓度下, *Fibrobacter* 和 *Rikenellaceae* RC9 肠道组的丰度降低, *Pyramidobacter*、*Megasphaera*、*Anaerovibrio* 和 *Selenomonas* 丰度上升,并导致发酵产物从乙酸盐向丙酸盐转变^[28]。Pitta 等在 10 头矮管奶牛上使用日粮诱导乳脂抑制观察其瘤胃微生物的响应与恢复,试验通过饲喂低纤维、高淀粉和高多不饱和脂肪酸饮食,在每个试验期的前 10 天诱导乳脂抑制,导致乳脂肪产率降低 30%;之后将日粮改为高纤维、低淀粉和低多不饱和和低脂肪酸饮食进行恢复;结果发现,乳脂抑制的典型特征是拟杆菌的相对序列丰度的降低以及两个部分中厚壁菌门和放线菌的相对序列丰度的增加^[29]。在肉牛日粮中补充亚麻油或蓝蓟油,发现亚麻油引起了瘤胃中某些特定微

生物的 16S rDNA 序列丰度提高, 包括 *Butyrivibrio*、*Howardella*、*Oribacterium*、*Pseudobutyrvibrio* 和 *Roseburia*; 而蓝蓟油提高了 *Succinovibrio* 和 *Roseburia* 的丰度^[30]。

2.2 共轭亚油酸的营养作用

共轭亚油酸 (CLA) 可以改善奶牛的能量代谢, 提高产奶量^[31], 改善初产母牛的妊娠率, 降低低产奶牛和非泌乳期奶牛脂肪组织合成能力^[32], 被广泛应用到畜禽养殖。Schäfers 等研究发现, CLA 和 VE 及其二者互作提高了围产期奶牛乳脂 CLA 的比例和血清 VE 的浓度, 对牛奶品质具有协同效应, 但对能量平衡和脂肪组织动员没有影响^[33-34]。在低蛋白日粮中添加包被 CLA 可明显降低多种脂肪酸的产量, 尤其影响短链脂肪酸的从头合成^[35]。CLA 有利于围产期奶牛肝脏脂肪的输出, 提高重要代谢物的循环效率^[36]。Qin 探究了乳脂抑制下奶牛脂肪组织的代谢变化, 发现 CLA 通过调节脂质分解相关基因的表达诱导了泌乳期的能量分配过程^[37]。在饲喂硬脂酸饲料的基础上, 添加液体包被 CLA 对产后泌乳奶牛的脂质过氧化具有很好的抗氧化效果^[38]。

二、蛋白质和氨基酸营养

无论是单胃动物还是反刍动物, 最大限度地优化日粮蛋白质组成, 以最小的成本获得优质的产品, 同时又减少氮的排放, 是蛋白质营养研究的主要目标。

1. 蛋白质饲料研究进展

近年来, 由于豆粕、苜蓿等奶牛常见蛋白饲料原料价格上涨, 衍生出很多替代产品。Chen 等用玉米青贮替代苜蓿青贮, 结果显示在奶牛日粮中以适量的代谢蛋白质 (MP) 和平衡的代谢 Lys (赖氨酸) 和 Met (蛋氨酸) 取代苜蓿青贮饲料, 可以提高氮素饲料的效率, 而不会影响早期泌乳的产奶量^[39]。Gaillard 等检测了 9 种海藻的氨基酸含量, 研究海藻作为替代奶牛日粮中蛋白质来源的潜力, 发现帕尔玛利亚 (*Palmaria*) 海藻和绿色海藻可以作为反刍动物蛋白质饲料使用^[40]。Pereira 等研究发现以青贮玉米和青贮黑麦草为基础的低蛋白日粮中, 玉米酒精糟及其可溶物 (DGS) 以及瘤胃保护型 Lys 和 Met 可以替代豆粕^[41]。段鹏杰等发现日粮中添加 Glu (谷氨酸) 渣可以促进肉牛生长, 提高饲料利用率和养殖效益, 并对肉牛的健康、产肉量及牛肉品质没有不良影响, 以 3% 的添加水平为宜^[42]。

2. 氨基酸营养研究进展

2.1 氨基酸平衡

在奶牛体内, 大量研究证实 Lys 和 Met 是奶牛的第一和第二限制性必需氨基酸, 除此之外, 也要保证其他氨基酸的平衡。奶牛使用氨基酸平衡日粮可降低日粮中的蛋白水平, 提高氮的利用率。Dong 等在保证 Lys: Met 的理想比例 (2.9: 1) 的前提下, 发现 Lys: Val (缬氨酸) 的升高可以促进乳蛋白质合成, 增加 mTORC1 和关键信号蛋白的磷酸化状态^[43]; 进一步研究发现, 在保证 Thr (苏氨酸): Phe (苯丙氨酸) 为 1.05: 1、Lys: Thr 为 1.8: 1、Lys: His (组氨酸) 为 2.38: 1、Lys: Val 为 1.23: 1 的前提下, 提高 Met 的水平, 可以提高细胞内必需氨基酸的浓度和利用率^[44]。而 Gao 等研究发现 His、Lys、Met、Leu (亮氨酸) 4 种必需氨基酸及不同配比都能通过 mTOR-S6K1-4EBP1 的信号通路显著影响乳腺 β -酪蛋白的表达, 最佳配比模式为 His: Lys: Met: Leu=5: 6: 1: 7^[45]。供给平衡的氨基酸模式可提高奶牛乳蛋白效率, 当 Leu 和 Arg (精氨酸) 的供给量占代谢蛋白的百分比分别降至 8.4% 和 4.6% 时,

奶牛乳蛋白合成受到抑制^[46]。

2.2 氨基酸对乳腺上皮细胞增殖的影响

氨基酸对乳腺乳蛋白合成具有直接的影响。孙振稳以培养的奶牛乳腺上皮细胞系为模型,研究氨基酸、葡萄糖和胰岛素对奶牛乳腺上皮细胞增殖、酪蛋白基因表达和信号蛋白质磷酸化的调控作用,结果表明添加氨基酸、葡萄糖和胰岛素对奶牛乳腺细胞增殖、酪蛋白基因 mRNA 表达及蛋白质磷酸化水平有显著的影响 ($P<0.05$),且各养分之间存在一定的加性效应^[47]。代文婷等研究添加不同水平 Leu 对乳腺上皮细胞体外增殖及 κ -酪蛋白(CSN3)合成相关基因表达的影响,发现添加 Leu 能够促进奶牛乳腺上皮细胞增殖和 CSN3 合成相关基因(除 4EBP1)的表达,Leu 水平为 0.9 mmol/L 时,其促进作用均达到最大^[48]。

2.3 氨基酸对奶牛生产性能和健康的影响

不同阶段奶牛补充氨基酸对奶牛生产性能和瘤胃健康均产生影响。Giallongo 等在代谢蛋白不足的奶牛日粮中分别或组合添加瘤胃保护型 Met、Lys、His,发现 His 可以提高奶牛干物质采食量, Met、Lys、His 的组合可提高奶产量和奶成分^[49];后续研究发现,His 的缺失会对奶牛的生产性能带来负面影响^[50]。Fagundes 等发现泌乳期奶牛补充 RPMet 可以显著提高奶牛瘤胃 MCP(微生物蛋白)产量,减少氮排泄,提高奶牛生产性能^[51]。Zhou 等给围产期的奶牛每天补给 0.08%的 RPMet 或 60 g/头牛/天的胆碱后,干物质摄入量、乳产量、乳脂量和乳蛋白量都显著提高^[52]。有学者发现 His 的缺乏对奶牛的泌乳性能有不良影响,试验分为 2 组:HAD 组(按照 NRC2001 的需求,增加 166 g/d 的可代谢蛋白)与 HDD 组(按照 NRC2001 的需求,增加 37 g/d 的可代谢蛋白,His 含量为 49 g/天/头,属于 His 缺乏组),结果发现缺乏 His 会导致采食量下降、产奶量下降等负面影响,影响十分显著^[53]。

张伟等将 SRU(尿素含量为 41.00 $\pm$ 1.00%)、RPMet(Met 含量为 60.00 $\pm$ 1.00%)和大蒜素(三硫二丙烯含量 $\geq$ 95.00%)按 100:100:27 比例均匀混合而成复合型饲料添加剂,发现添加量为 227 g/d 复合型饲料添加剂可提高泌乳中后期奶牛饲料利用率,减少排泄物中营养成分含量,提高血清中总蛋白含量,提高产奶量和乳品质的作用^[54]。Osorio 等在围产期奶牛日粮中添加过瘤胃甲硫氨酸,发现 PPARA 信号通路被激活,脂代谢和免疫功能均提高,进而改善了奶牛围产期的健康状况^[55]。Jacometo 等给妊娠期奶牛补充 RPMet,能显著影响初生犊牛的基因表达谱^[56]。

三、维生素、矿物元素营养

矿物质和微量元素是反刍动物机体所必需的营养物质,它们对反刍动物的生命活动都有着非常重要的作用。

1. 维生素维持奶牛健康和繁殖性能的作用

维生素对于维持奶牛正常机能具有重要作用。Sadri 等研究发现产前 21 天到产后 21 天,奶牛血清中 VE 同系物的浓度升高,日粮添加共轭亚油酸对其不产生影响,产前注射 α -生育酚,产后饲喂 VE 或产前添加 β -胡萝卜素,降低奶牛胎衣不下发病率^[57]。李雪等发现维生素 ADE 注射液对奶牛同期发情有很好的诱导作用^[58]。Corwin 等发现,新生犊牛和只喝常乳但

未补饲维生素 D₃ 的犊牛都会缺乏维生素 D^[59]。Pan 等发现硫胺素可以缓解高谷物日粮所诱导的奶牛炎症反应^[60]。孙先枝等发现, 给奶牛补饲 8 g/d 烟酰胺可以显著降低奶牛血清中 NEFA (游离脂肪酸)、BHBA (β -羟丁酸) 等的含量, 有利于调节奶牛脂类代谢过程^[61]。

2. 矿物质营养

2.1 常量元素营养

动物体内含量超过体重 0.01% 的元素称为常量元素, 包含 Ca (钙)、P (磷)、Mg (镁)、Na (钠)、K (钾)、Cl (氯) 和 S (硫) 7 种元素, 对于维持奶牛正常机体代谢具有重要的作用。张玉诚等发现, 热应激条件下, 低 P 饲粮显著降低奶牛生产性能, 影响 Ca、P 代谢, 最适宜 P 需要量为 0.35%^[62]。段素云等发现, 灌服钙磷镁+口服补液盐提高牛奶的乳脂率、乳蛋白率及干物质含量, 治疗和预防奶牛乳房炎的效果基本等同于丙二醇^[63]。Grünberg 等发现饲喂低 P 日粮 5 周, 泌乳奶牛血 P 水平快速下降, 而肌肉中 P 含量变化不明显^[64]。Krsmanović 等发现西门塔尔牛围产期血 Mg 水平下降, 产后血 Ca、血 P 降低^[65]。

2.2 阴阳离子平衡 (DCAB)

DCAD (日粮阴阳离子差) 可影响奶牛体液酸碱平衡, 对有效降低围产期奶牛产乳热 (低血钙)、胎衣不下、真胃移位和子宫内膜炎等代谢性疾病具有积极的效果。现在普遍认为当日粮中 DCAD 达到每千克日粮干物质 -100~-150 mmol/kg DM 时, 能够有效降低奶牛的产后瘫痪的发生率。常誉等研究表明, 给产前 21 d~产前 3 d 母牛日粮中添加 DCAD 为 -85.7 mmol/kg DM 阴离子盐时, 试验组尿液 pH 显著低于对照组 ($P<0.05$)^[66]。胡晓菲等研究表明, 当 DCAB 水平在 31.32~501.69 mmol/kg DM 时, 对热应激条件下的泌乳中期奶牛的产奶量影响显著^[67]。

2.3 微量元素营养

微量元素对奶牛繁殖、疾病发生、肢蹄健康关系密切, 同时对奶牛生产性能具有影响。王丹等发现日粮添加有机硒可提高奶牛的抗氧化、免疫和消化功能, 提高奶牛产奶量, 降低乳中体细胞数, 提高奶牛繁殖性能等^[68]。张彩霞等发现奶牛泌乳期补饲矿物质微量元素舔砖能够显著提高乳蛋白、乳脂肪含量, 缩短患病奶牛的治愈时间, 减少奶牛的配种次数^[69]。王建等发现亚硒酸钠和蛋氨酸硒羟基类似物可以提高泌乳奶牛的抗氧化性能和营养物质表观消化率^[70]。

四、奶牛营养与环境

在当前我国巨大的环保压力下, 粪污处理已成为困扰养殖业发展的重大难题, 也是当前急需解决的实际问题。2016 年 10 月, 国家颁布了《新环保法》, 将环境保护提高到国家战略的高度。目前对于粪污处理主要采用源头减排、无害化处理、粪肥还田、达标排放等。从营养角度, 源头减排和营养调控是减少环境污染的重要途径。

1. 氮磷源头减排研究

氮磷减排的研究主要集中在控制氮磷的摄入量。赵若含等研究发现, 在满足正常营养需

求的情况下,适当控制奶牛氮磷摄入量和使用复合添加剂均能降低氮磷的排放量^[71],研究显示,添加牛至油^[72]、小肽^[73]、肉桂醛^[74]等均可以减少粪氮和尿氮产生,也加速瘤胃微生物对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的利用速度,提高了氮表观消化率,从而减少氮排放。廖云琼等发现,饲喂 EM 发酵饲料及垫料中添加海泡石和膨润土能有效降低牛粪中氮磷含量及牛舍中有害气体的质量浓度^[75]。

2. 甲烷减排研究

反刍动物甲烷气体的排放对环境造成的影响已经日趋严重,解决这一问题无论在环境保护还是改善饲料利用率方面都具有积极意义。植物提取物中含有皂苷、生物碱、植物精油、单宁以及多糖等活性成分,在反刍动物饲养中具有抑制甲烷排放功能^[76]。Guyader 等发现,亚麻籽和硝酸盐可长期减少奶牛排放甲烷量。在不影响瘤胃中原虫数量的前提下,减少总挥发性脂肪酸和丙酸盐浓度,而且在牛奶和相关产品中未检测到硝酸盐或亚硝酸盐残留物^[77]。Huyen 等发现,添加红豆草青贮饲料可降低每千克干物质采食量的甲烷产生量和提高养分消化率,并且可以改善产奶量^[78]。

五、非常规粗饲料开发利用

粗饲料对于反刍动物来说必不可少,在资源日益短缺的今天,寻找新型的可利用粗饲料对反刍动物的生产有极大意义。有学者研究发现,用新鲜甘蔗和甘蔗青贮替代玉米青贮^[79],用氧化钙处理后的玉米秸秆替代玉米^[80],用甜高粱青贮代替玉米青贮^[81],饲喂奶牛后对产奶量均没有影响,可以作为奶牛粗饲料使用。马健等研究发现,禾王草无论干草还是青贮,其瘤胃消化性能均与青贮玉米相当而高于羊草;合理的调配巨菌草青贮在日粮中所占比例(50%),可满足奶牛全年对优质青贮的需要^[82]。吴端钦等发现,苕麻青贮可以替代奶牛饲料粮中苜蓿干草(33%~67%)不影响生产性能、乳成分及血清指标^[83]。Ribeiro 等发现,甘蔗和甘蔗渣作为玉米青贮的替代,对内洛尔公牛的采食量、生产性能和甲烷排放量无显著影响^[84]。

参考文献

- [1] Dias A. L. G., *et al.* Effects of supplementing yeast culture to diets differing in starch content on performance and feeding behavior of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(1): 186-200.
- [2] Bougouin A., *et al.* Effects of carbohydrate type or bicarbonate addition to grass silage-based diets on enteric methane emissions and milk fatty acid composition in dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(7): 6085-6097.
- [3] Rossi L.G., *et al.* Impact of ground soybean and starch levels on the quality of meat from feedlot young Nellore bulls[J]. *Meat Science*, 2016, 122: 1-6.
- [4] 孔庆斌, 张晓明. 玉米粉碎粒度对奶牛生产性能的影响[J]. *中国乳业*, 2017(04): 40-44.
- [5] Gallo, A., *et al.* Short communication: In vitro rumen gas production and starch degradation of

- starch-based feeds depend on mean particle size[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(7): 6142-6149.
- [6] Andreazzi A.S.R., *et al.*. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(8): 7199-7207.
- [7] Bachmann M., *et al.*. Impact of alpha-amylase supplementation on energy balance and performance of high-yielding dairy cows on moderate starch feeding[J]. *Animal Science Journal*, 2018, 89(2): 367-376.
- [8] Westreicher-Kristen E., *et al.*. Postruminal digestion of starch infused into the abomasum of heifers with or without exogenous amylase administration[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(5): 1939-1951.
- [9] 王志兰, 李发弟, 李飞. 奶牛低淀粉型日粮研究进展[J]. *草业科学*, 2018, 35(02): 449-455.
- [10] Rezend, P.L.D., *et al.*. Digestibility and feeding behavior of cattle fed soybean hulls to replace corn in high concentrate diets[J]. *Semina-Ciencias Agrarias*, 2018, 39(1): 363-371.
- [11] 郭勇庆, 等. 日粮中不同比例小麦替代玉米对奶牛乳脂合成和乳脂脂肪酸组成的影响[J]. *中国粮油学报*, 2016, 31(05): 110-116.
- [12] Karlsson J., *et al.*. Replacing human-edible feed ingredients with by-products increases net food production efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(8): p. 7146-7155.
- [13] Steyn L., Meeske R., Cruywagen C.W.. The effect of dried apple pomace as a replacer for maize in the concentrate for Jersey cows grazing ryegrass pasture on production and rumen metabolism[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017, 234: 264-273.
- [14] Naderi N., *et al.*. Shredded beet pulp substituted for corn silage in diets fed to dairy cows under ambient heat stress: Feed intake, total-tract digestibility, plasma metabolites, and milk production[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(11): 8847-8857.
- [15] 李妍, 薛倩, 高艳霞, 等. 瘤胃保护葡萄糖对围产后期荷斯坦奶牛生产性能及血清生化指标的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(1): 113-119.
- [16] 郭婷婷, 胡丹丹, 金亚东, 等. 甘露寡糖对泌乳早期奶牛瘤胃发酵及生产性能影响的研究[J]. *饲料工业*. 2017, 38: 56-60.
- [17] 胡丹丹, 郭婷婷, 金亚东, 等. 体外法研究不同功能性低聚糖对瘤胃发酵与微生物蛋白合成的影响[J]. *饲料工业*. 2017, 38(19): 44-49.
- [18] Shabat S K, Sasson G, Doron-Faigenboim A, *et al.* Specific microbiome-dependent mechanisms underlie the energy harvest efficiency of ruminants[J]. *Isme Journal*. 2016, 10(12):2958-2972.
- [19] Comtet-Marre, S., *et al.*. Metatranscriptomics reveals the active bacterial and eukaryotic fibrolytic communities in the rumen of dairy cow fed a mixed Diet[J]. *Frontiers in Microbiology*,

2017, 8: 13.

[20] Zhang Z, Xu D, Wang L, *et al.* Convergent evolution of rumen microbiomes in high-altitude mammals[J]. *Current Biology* Cb, 2016, 26(14): 1873-1879.

[21] 王建平, 王加启, 卜登攀. 精料和饱和脂肪酸对奶牛生产性能和乳中脂肪酸组成的影响[J]. *中国粮油学报*, 2015, 30(1): 92-96.

[22] 朱胜杰. 补充脂肪粉对奶牛产奶性能和乳成分的影响[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2015, 7: 53-55.

[23] 袁雪, 等. 不同类型过瘤胃脂肪对泌乳前期奶牛体况及生产性能的影响. *中国畜牧杂志*, 2016. 52(07): p. 40-45.

[24] Stoffel C.M., Crump P.M., Armentano L.E.. Effect of dietary fatty acid supplements, varying in fatty acid composition, on milk fat secretion in dairy cattle fed diets supplemented to less than 3% total fatty acids[J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(1): 431-442.

[25] Elis, S., *et al.* Effect of a long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid enriched diet on adipose tissue lipid profiles and gene expression in Holstein dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(12): 10109-10127.

[26] Enjalbert, F., *et al.* Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 123(4): 782-797.

[27] Vargas-Bello-Perez E., *et al.* Quantitative analysis of ruminal bacterial populations involved in lipid metabolism in dairy cows fed different vegetable oils[J]. *Animal*, 2016, 10(11): 1821-1828.

[28] Ramos, A.F.O., *et al.* Tucuma Oil shifted ruminal fermentation, reducing methane production and altering the microbiome but decreased substrate digestibility within a RUSITEC fed a mixed hay-concentrate diet[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018. 9: p. 11.

[29] Pitta, D.W., *et al.* Alterations in ruminal bacterial populations at induction and recovery from diet-induced milk fat depression in dairy cow[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(1): 295-309.

[30] Huws S.A., *et al.* Characterization of the rumen lipidome and microbiome of steers fed a diet supplemented with flax and echium oil[J]. *Microbial Biotechnology*, 2015, 8(2): 331-341.

[31] Chandler T.L., *et al.* Conjugated linoleic acid supplementation during the transition period increased milk production in primiparous and multiparous dairy cows[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017, 224: 90-103.

[32] Schafers S., *et al.* Influence of conjugated linoleic acid and vitamin E on performance, energy metabolism, and change of fat depot mass in transitional dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(4): 3193-3208.

[33] Schafers S., *et al.* Influence of conjugated linoleic acid and vitamin E on performance,

- energy metabolism, and change of fat depot mass in transitional dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(4): 3193-3208.
- [34] Schafers S., *et al.*. Influence of conjugated linoleic acids and vitamin E on milk fatty acid composition and concentrations of vitamin A and alpha-tocopherol in blood and milk of dairy cows[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(1): E431-E441.
- [35] Schiavon S., *et al.*. Fatty acid composition of lamb liver, muscle, and adipose tissues in response to rumen-protected conjugated linoleic acid (CLA) supplementation is tissue dependent[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(48): 10604-10614.
- [36] Grossen-Rosti L., *et al.*. Hyperglycaemia in transition dairy cows: Effects of lactational stage and conjugated linoleic acid supplementation on glucose metabolism and turnover[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(2): 483-494.
- [37] Qin N., *et al.*. Dietary supplement of conjugated linoleic acids or polyunsaturated fatty acids suppressed the mobilization of body fat reserves in dairy cows at early lactation through different pathways[J]. *Journal of dairy science*, 2018.
- [38] Hanschke N., *et al.*. The effect of conjugated linoleic acid supplements on oxidative and antioxidative status of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(10): 8090-8102.
- [39] Chen YT, Harrison J H, Bunting L D. Effects of replacement of alfalfa silage with corn silage and supplementation of methionine analog and lysine-HCl on milk production and nitrogen feed efficiency in early lactating cows[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 2018, 242: 120-126.
- [40] Gaillard C, Bhatti H S, Novoa-Garrido M, *et al.*. Amino acid profiles of nine seaweed species and their in situ degradability in dairy cows[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 2018, 241: 210-222.
- [41] Pereira A. B., Zeringue L. K., Leonardi C., *et al.*. Short communication: Substituting dry distillers grains with solubles and rumen-protected amino acids for soybean meal in late-lactation cows' diets based on corn silage or ryegrass silage[J]. *Journal of dairy science* 2015, 98(11): 8121-8127.
- [42] 段鹏杰. 日粮添加谷氨酸渣对秦川肉牛生长发育、肉质性状及养殖效益的影响[D]. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学. 2017.
- [43] Dong X., Zhou Z., *et al.*. Increasing the availability of threonine, isoleucine, valine, and leucine relative to lysine while maintaining an ideal ratio of lysine:methionine alters mammary cellular metabolites, mammalian target of rapamycin signaling, and gene transcription[J]. *J Dairy Sci*, 2017, 101 (6): 5502-5514.
- [44] Dong X., Zhou Z., *et al.*. Varying the ratio of Lys:Met while maintaining the ratios of Thr:Phe, Lys:Thr, Lys:His, and Lys:Val alters mammary cellular metabolites, mammalian target of rapamycin signaling, and gene transcription[J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101 (2): 1708-1718.

- [45] Gao H N, Zhao S G, Zheng N, *et al.*. Combination of histidine, lysine, methionine, and leucine promotes β -casein synthesis via the mechanistic target of rapamycin signaling pathway in bovine mammary epithelial cells[J]. *J Dairy Sci*, 2017,100(9): 7696-7709.
- [46] 田雯. 功能性氨基酸（亮氨酸和精氨酸）对奶牛乳蛋白合成调控作用及机制的研究[D]. 博士学位论文. 扬州: 扬州大学. 2017.
- [47] 孙振稳. 氨基酸、葡萄糖和胰岛素对奶牛乳腺上皮细胞增殖及乳蛋白合成的影响[D]. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学. 2018.
- [48] 代文婷, 李爱军, 郑楠, 等. 亮氨酸水平对奶牛乳腺上皮细胞增殖及 κ -酪蛋白合成相关基因表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(5): 1559-1566.
- [49] Giallongo F., Harper M.T., *et al.*. Effects of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2016, 99 (6):4437-4452.
- [50] Giallongo F., Harper M.T., *et al.*. Histidine deficiency has a negative effect on lactational performance of dairy cows [J]. *J Dairy Sci*, 2017,100 (4):2784-2800.
- [51] Fagundes M. A., Yang S. Y., *et al.*. Influence of supplementing a methionine derivative, N-acetyl-l-methionine, in dairy diets on production and ruminal fermentation by lactating cows during early to mid lactation[J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101 (8): 7082-7094.
- [52] Zhou Z., Trevisi E. *et al.*. Differences in liver functionality indexes in periparturient dairy cows fed rumen-protected methionine or choline are associated with performance, oxidative stress status, and plasma amino acid profiles[J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100 (8): 6720-6732.
- [53] Giallongo F, Harper M T, Oh J, *et al.* Histidine deficiency has a negative effect on lactational performance of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*. 2017, 100(4): 2784-2800.
- [54] 张伟. 复合型饲料添加剂对奶牛养分消化、血液生化指标和产奶性能的影响[D]. 硕士学位论文. 大庆: 黑龙江八一农垦大学. 2018.
- [55] Osorio J. S., Jacometo C. B., *et al.* Hepatic global DNA and peroxisome proliferator-activated receptor alpha promoter methylation are altered in periparturient dairy cows fed rumen-protected methionine[J]. *J Dairy Sci*, 2016, 99 (1): 234-44.
- [56] Jacometo C. B., Zhou Z., *et al.* Maternal supplementation with rumen-protected methionine increases preparturient plasma methionine concentration and alters hepatic mRNA abundance of 1-carbon, methionine, and transsulfuration pathways in neonatal Holstein calves[J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100 (4): 3209-3219.
- [57] Sadri H., Danicke S., Meyer U., *et al.* Tocopherols and tocotrienols in serum and liver of dairy cows receiving conjugated linoleic acids or a control fat supplement during early lactation[J]. *Journal of dairy science*, 2015, 98(10):7034-7043.
- [58] 李雪, 扈登强, 周学章. 维生素 ADE 注射液联合 GnRH 和 PGF_{2a} 诱导奶牛同期发情的

研究[J]. 中国奶牛, 2016, 1: 23-25.

[59] Corwin D. Nelson, John D. Lippolis, Timothy A. Reinhardt, *et al.*. Vitamin D status of dairy cattle: Outcomes of current practices in the dairy industry[J]. Journal of Dairy Science, 2016, 99(12): 10150-10160.

[60] Pan X H, Yang L, Beckers Y, *et al.* Thiamine supplementation facilitates thiamine transporter expression in the rumen epithelium and attenuates high-grain-induced inflammation in low-yielding dairy cows[J]. J Dairy Sci, 2017.

[61] 孙先枝, 郑楠, 卜登攀, 等. 烟酰胺对热应激奶牛血液中代谢产物的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2015, 42(2): 218-222.

[62] 张玉诚, 薛白, 肖俊, 等. 饲料磷水平对热应激奶牛生产性能和血液指标的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 03: 749-755.

[63] 段素云, 侯引绪, 杨新健. 奶牛产后灌服丙二醇与钙镁磷合剂对乳质及 SCC 的影响[A]. 中国奶业协会. 第五届中国奶业大会论文集[C]. 中国奶业协会, 2014: 3.

[64] Grunberg W., Scherpenisse P., Dobbelaar P., *et al.*. The effect of transient, moderate dietary phosphorus deprivation on phosphorus metabolism, muscle content of different phosphorus-containing compounds, and muscle function in dairy cows[J]. Journal of dairy science, 2015, 98(8): 5385-5400.

[65] Krsmanovic M., Djokovi R., Giadinis N. D., *et al.*. Determination of Macroelement Parameters in Different Productive Stages of Simmental Cows[J]. Israel Journal of Veterinary Medicine, 2015, 70: 12-15.

[66] 常誉, 焦阳, 黄文明, 等. 阴离子盐对围产期奶牛健康和生产性能的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44 (1) : 80-86.

[67] 胡晓菲. 日粮阴阳离子平衡对热应激奶牛生产性能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2015.

[68] 王丹, 王恒昌, 杨晓波. 日粮添加有机硒对奶牛影响的研究进展[J]. 中国乳业, 2016, 175: 39-41.

[69] 张彩霞, 张帆, 宋丽华, 等. 矿物质微量元素营养舔砖对奶牛生产性能及健康的影响[J]. 中国畜牧杂志. 2017(10): 75-79.

[70] 王建, 孙鹏, 刘威, 等. 不同硒源对泌乳中期荷斯坦奶牛生产性能、抗氧化性能及营养物质表观消化率的影响[J]. 动物营养学报. 2017, 29(4): 1175-1182.

[71] 赵若含, 李莲, 等. 不同饲料组成对泌乳荷斯坦奶牛产奶性能、血液生化指标及氮磷排放量的影响[J]. 动物营养学报, 2018(06): 2155-2163.

[72] 张凯祥, 邢德芳, 等. 牛至油对奶牛瘤胃微生物蛋白产量、产奶性能和氮排泄的影响[J]. 动物营养学报, 2018(05): 1902-1910.

- [73] 吴丹丹, 滕乐邦, 等. 小肽对奶牛瘤胃微生物蛋白产量、产奶性能和氮排泄的影响[J]. 动物营养学报, 2016(04): 1090-1098.
- [74] 张成喜, 刘开东, 等. 肉桂醛对奶牛尿中嘌呤衍生物排出量、产奶性能和氮排泄的影响[J]. 动物营养学报, 2017(06): 2010-2017.
- [75] 廖云琼, 朱广琴. EM 发酵饲料对奶牛舍有害气体及粪中氮磷含量的影响[J]. 饲料研究, 2016(01): 36-38.
- [76] 张然, 郑琛, 等. 植物提取物对反刍动物瘤胃发酵和甲烷排放影响的研究进展[J]. 东北农业科学, 2017 (05): 43-47.
- [77] Guyader J., Doreau M., *et al.* Long-term effect of linseed plus nitrate fed to dairy cows on enteric methane emission and nitrate and nitrite residuals in milk[J]. *Animal*, 2016, 10 (07): 1173-1181.
- [78] Huyen N. T, Desrues O., *et al.*. Inclusion of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy cow rations affects nutrient digestibility, nitrogen utilization, energy balance, and methane emissions[J]. *J Dairy Sci*, 2016, 99 (5): 3566-3577.
- [79] Andrade E., *et al.*. A novel feedstuff: ensiling of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) stover and apple (*Malus domestica* Borkh.) mixtures. Evaluation of the nutritive value, fermentation quality and aerobic stability[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(13): 4306-4313.
- [80] Cook D.E., *et al.*. The effects on digestibility and ruminal measures of chemically treated corn stover as a partial replacement for grain in dairy diets[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(8): 6342-6351.
- [81] 何周瑞, 等. 饲用甜高粱青贮替代玉米青贮对泌乳中后期奶牛产奶性能的影响[J]. 家畜生态学报, 2017, 38(06): 13-17.
- [82] 马健, 等. 禾王草与奶牛常用粗饲料瘤胃降解特性的对比研究[J]. 动物营养学报, 2016, 28(03): 816-825.
- [83] 吴端钦, 等. 苧麻青贮替代苜蓿干草对奶牛生产性能、乳成分及血清指标的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(05): 1645-1651.
- [84] Ribeiro A. F., *et al.*. Enteric methane emissions, intake, and performance of young Nellore bulls fed different sources of forage in concentrate-rich diets containing crude glycerine[J]. *Animal Production Science*, 2018, 58(3): 517-522.

Development on dairycattle nutrition and feed

Yao Kun^{1,2,3,4} Wang Feiran^{2,3,4} Wang Erdan^{2,3,4} Li Shengli^{2,3,4}

- (1. College of Animal Science and Technology, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;
2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;. State
Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing 100193, China; 4. Beijing Engineering Technology Research
Center of Raw Milk Quality and Safety Control, Beijing 100193, China; 5. Anhui Dongfang Xinxin
Biotechnology Co., Ltd., Bozhou 236800, China)

Feed cost accounts for 70% of the total cost of dairy farming. The nutrition of protein, energy (carbohydrate, fat), vitamin and mineral in feed has important effects on the production performance of dairycattle. The paper reviews the research progress of the above nutrients in dairy system digestion, absorption, metabolism and transformation, dairy nutrition and environment, and utilization and development of forage in 2015-2018.

Key Words: Dairy cow; Nutrition; Feed; Development

反刍家畜瘤胃氢代谢和甲烷减排调控策略

曾艳琴 马志远 王 荣 张秀敏 谭支良 王 敏²⁷

中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125

摘 要: 反刍动物排放甲烷是重要温室气体来源, 降低反刍动物甲烷排放对缓解温室效应和提高动物能量利用率有着重要的意义。瘤胃中甲烷的产生主要是通过二氧化碳/氢通路, 氢是最重要的甲烷生成前体物质。研究氢代谢可以揭示瘤胃发酵的内在调节机理, 也有利于理解甲烷抑制过程中瘤胃内的生理变化。本文对反刍动物瘤胃内氢的代谢和甲烷减排进行综述, 着重阐述氢这种联结甲烷生成和瘤胃发酵的关键物质的最新研究进展, 以期为实现减少温室气体排放、增加动物对饲料的能量利用率提供科学依据。

关键词: 反刍家畜; 氢代谢; 甲烷减排

甲烷 (methane, CH_4) 是一种重要的温室气体, 其全球增温潜势是等量 CO_2 的 25 倍^[1]。有报道显示全球反刍家畜肠道甲烷排放量约 8400×10^4 吨, 占人为排放甲烷总量 21.13%^[2]。反刍动物瘤胃内甲烷的生成是能量的浪费, 约 2%-14% 的饲料能量以甲烷能的形式损失^[3], 而约 94% 的甲烷源自瘤胃与肠道发酵, 并未被家畜利用^[4]。近年来, 奶牛、肉役牛、羊等反刍家畜数量平均每年增长 2.2%^[5], 导致反刍家畜瘤胃内甲烷的排放量持续增加。

基于由畜牧业反刍家畜排放甲烷引起的温室效应和能量浪费等重大问题, 反刍家畜瘤胃生物机理的研究显得尤为重要。反刍家畜采食后经初级发酵和次级发酵, 产生 CO_2 、 H_2 、挥发性脂肪酸 (VFA) 和甲基化合物等可被瘤胃内微生物-产甲烷菌利用。产甲烷菌可利用三种途径合成甲烷: ① $\text{CO}_2\text{-H}_2$ 还原途径; ② 以甲酸、丙酸、丁酸等挥发性脂肪酸为底物合成甲烷; ③ 以甲酸、乙醇等甲基化合物为底物生成甲烷。瘤胃内产甲烷菌主要利用 $\text{CO}_2\text{-H}_2$ 还原途径生成甲烷^[6-7], 故可通过调控氢代谢抑制甲烷生成。因此, 反刍家畜瘤胃内氢代谢进行调控是实现甲烷减排的有效途径, 能够为相关领域更深入的研究提供参考依据。

1 底物氢

1.1 底物氢的生成途径

反刍家畜采食后, 瘤胃内碳水化合物首先被微生物分泌的酶水解为短链的低聚糖, 部分糖会继续水解为单糖。二糖和单糖被瘤胃微生物摄取, 在细胞内酶的作用下转化为中间产物丙酮酸, 该过程中释放出质子 (H^+) 和电子^[8-9]。丙酮酸经过不同的代谢途径最终主要生成乙酸、丙酸、丁酸三种挥发性脂肪酸。另外, 丙酮酸还可转化为甲酸, 甲酸在甲酸脱氢酶的作用下形成少量的 H_2 和 CO_2 。

1.2 底物氢的消耗途径

在单糖转化为丙酮酸的过程中, 释放出的 H^+ 和电子被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD)

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31561143009, 31472133); 国家科技计划项目 (2016YFD050054); 湖南省科技计划项目 (2015WK3043); 中国科学院青年促进会项目

*通讯作者: 王敏, 副研究员, E-mail: mang@isa.ac.cn; 谭支良, 研究员, 博士生导师, E-mail: zltan@isa.ac.cn

捕获，生成还原型辅酶 I (NADH)，NADH 携带 H^+ 和电子参与甲烷菌内的还原反应，生成甲烷（主要途径）。Czerkawski 的模拟试验结果验证了这条氢消耗途径并表明山羊瘤胃中约 48% 的氢被 CO_2 利用，33% 用于 VFA，12% 用于微生物的合成，约 1~2 应用于脂肪酸生物氢化作用^[10]。总 VFA 中乙酸所占比例最大，占瘤胃发酵 VFA 总量的 70%~75%，乙酸、丙酸、丁酸约占 VFA 总产量的 95 右^[11]。另外，可能由甲酸产生的 H_2 会与 CO_2 反应生成甲烷。

2 底物氢与甲烷的关系

反刍家畜瘤胃内 H_2 是合成甲烷的底物。瘤胃内 H_2 浓度越高有利于甲烷的生成^[8,12]。瘤胃内 H_2 浓度的变化主要影响葡萄糖发酵产生能量的变化，即不同发酵模式产生的能量因 H_2 浓度变化而变化。同时，有研究表明，在瘤胃内发酵中，非产氢途径所产生的能量不受 H_2 浓度的影响^[12]。瘤胃发酵途径也受 H_2 浓度的影响较大，而甲烷的生成是消耗瘤胃发酵过程中所产生的 H_2 的重要途径^[13]。

当反刍家畜瘤胃内生成的氢气增多时，有更多的能量被释放出来，即有更多的甲烷排放。低 H_2 浓度下最有利于“丁酸+ H_2 ”和“乙酸+丁酸+ H_2 ”等氢生成途径，从而导致更多的能量损失，及更多的甲烷生成。随着利用氢浓度的增加，甲烷的生成量越多（如 Fig1 所示）。当反刍家畜瘤胃内生成的氢气减少时，产生的能量较低，甲烷的生成减少。瘤胃中 H_2 浓度较高的条件下，有利于“乙酸+丙酸盐”等氢消耗途径，不利于 H_2 的产生，并且促进丙酸盐的形成，从而使每单位葡萄糖在发酵过程中形成较少的甲烷。因此可知，丁酸盐的形成以醋酸盐为代价，导致甲烷的产量降低，而随着丙酸盐或丁酸盐的增多， H_2 的产量降低，导致甲烷的形成减少^[14]。故可通过减少生成甲烷的底物— H_2 生成量或通过替代性 H_2 受体争夺 H_2 而减少反刍动物瘤胃内甲烷的生成。甲烷的产生是能量的损失，通过探讨改变瘤胃内溶解氢、抑制产甲烷菌生成、及通过增强乙酸菌的发酵来改变氢流向，降低甲烷排放以减少能量的损失，是在本文 3.3 节中探讨的主要内容。

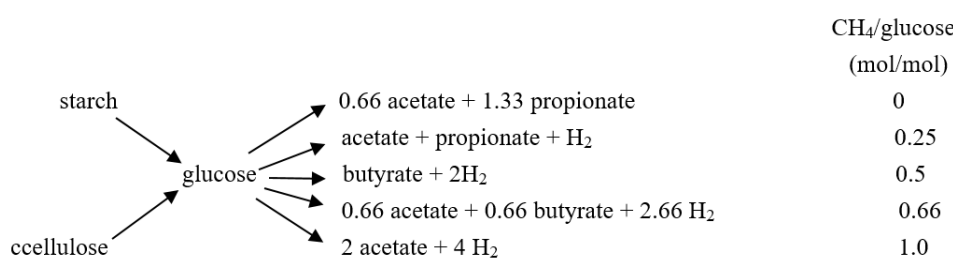


图 1 纤维素和淀粉通过葡萄糖降解为乙酸、丙酸、丁酸和 H_2 的可能路径。由于简化需要， CO_2 , H^+ , 和 H_2O 未在图中显示 (Janssen, 2010)。

Fig.1 Possible pathways of cellulose and starch fermentation via glucose, to acetate, propionate, butyrate, and H_2 . For simplicity, CO_2 , H^+ , and H_2O are not showing (Janssen, 2010).

综上，可推测，进料后，易于降解的饲料被快速消化，反刍动物瘤胃内 H_2 浓度在短时间内升高；当增加瘤胃中乙酸菌生长所需的 H_2 浓度时，在瘤胃适宜的 pH 范围内，同时存在产甲烷菌抑制剂及高 H_2 浓度瘤胃环境，利用较少 H_2 的途径将受到青睐，产生较少的甲烷。

3 甲烷减排调控策略

虽然已有许多关于反刍家畜瘤胃内甲烷减排调控的策略研究,但通过调节底物氢的代谢来调控甲烷生成的研究甚少。在瘤胃中确定且适宜的 pH 条件下,可通过控制产甲烷菌的活性,以及改变瘤胃内代谢氢的流向,使能量损失尽可能的减少。因此,可在不损害动物健康的条件下,通过调控反刍家畜瘤胃内代谢氢的消耗途径,实现甲烷减排的目的。

3.1 pH 对甲烷减排的调控

瘤胃内容物的 pH 值是食糜中的 VFA 与唾液中的缓冲盐相互作用以及瘤胃上皮对 VFA 吸收及随食糜流出等因素综合作用的结果,正常范围一般为 6-7,维持胃肠道内的 pH 环境能够抑制产甲烷菌和其它细菌的生长。饲料中的碳水化合物在瘤胃中被发酵以后可以产生大量的挥发性脂肪酸(VFA),从而降低瘤胃 pH 值。低 pH 能减小乙酸与丙酸的比值,而高 pH 提高乙酸与丙酸的比值。大多数甲烷菌的最适 pH 范围约在 6.8-7.2 之间。当反刍动物的瘤胃内 pH 降低时对瘤胃微生物的抑制作用明显,甲烷产量显著下降^[15],故可通过适当调节瘤胃液 pH 减少反刍家畜甲烷的排放。瘤胃内的 pH 能够改变瘤胃发酵类型,Bhatta 实验证明当瘤胃内 pH 值从 7 降到 6 时,会使瘤胃中乙酸的含量下降,丙酸的含量增加,从而使乙酸丙酸的比率从 2.0 降到 1.5,同时降低甲烷的生成量^[16]。Erfle 也曾对此有过报道^[17]。Kim 等^[18]研究发现在猪饲料中添加磷酸与硫酸钙可以使回肠内 pH 降低一个单位,从而减少 14%的甲烷产量。但是,随着 pH 值的降低,饲料的消化率也随之下降,当使日粮消化率维持在 65%以上时,甲烷的产量达到最小^[16]。因此可通过适当调节瘤胃内 pH 以减少反刍家畜的甲烷排放。

3.2 产甲烷菌的抑制

自然界中产甲烷菌生成甲烷的途径主要有三种。许多文献指出瘤胃内甲烷的产生主要受饲料组成^[9,19]、瘤胃内微生物区系^[12]、甲烷抑制剂等方面的影响。离子载体^[20]、有机酸如延胡索酸^[21,22]、卤代化合物如溴氯甲烷等化学物质都能够减少甲烷的排放^[23],但因为其存在耐受性和残留问题,使它们的实际应用受到限制。有些植物油可通过不饱和脂肪酸的生物氢化作用和自由脂肪酸对产甲烷菌和原虫的毒害作用调控甲烷生成,但其作用效果受多种因素影响,并且添加油脂通常会抑制结构性碳水化合物的消化^[24-26]。有文献证实蒽醌类物质^[27]、茶皂素^[28]、单宁^[29,30]等植物提取物仅可短期抑制甲烷生成。另外,产乙酸菌也可利用少量的 H_2 、 CO_2 ,并将其转化为乙酸。因此可通过增加产乙酸菌的氢竞争能力抑制产甲烷菌生成甲烷的主要途径即产甲烷菌利用 H_2 和 CO_2 生成甲烷途径来减少甲烷的排放。使用混合瘤胃微生物的连续培养的研究也支持了这一共识。已公布的数据还表明,对产甲烷菌的部分抑制会导致更高的 H_2 浓度,产生更少的甲烷和更多的丙酸盐。

3.3 改变代谢氢的流向

成年反刍家畜瘤胃内,代谢氢主要被产甲烷菌利用与 CO_2 反应生成甲烷,也有少量的代谢氢由乙酸的形式被产甲烷菌利用生成甲烷。甲烷的生成是能量的损失,因此,降低产甲

烷菌利用代谢氢的能力,并将代谢氢由产乙酸菌利用并转化为生产所需的能量,是提高牛奶产量及品质的重要途径,也可减少甲烷排放。草食动物消化道内存在大量的产乙酸菌,经过体外富集培养后可高效利用 H_2 和 CO_2 合成能量性物质,如乙酸、丙酸和丁酸^[31],且相对于产甲烷菌具备氢竞争优势。增加乙酸菌对氢的利用效率将使每单位消化饲料产生的甲烷量减少,乙酸盐作为发酵最终产品的比例更高。

产乙酸菌将 H_2 和 CO_2 合成乙酸,可为动物机体提供能量,能否通过强化瘤胃内产乙酸菌的代谢活动来提高反刍动物能量利用率和降低甲烷生成值得探讨。产甲烷菌代谢所需氢分压大大低于产乙酸菌。目前为止,关于强化瘤胃产乙酸菌代谢来调控瘤胃发酵的主要研究进展有以下几个方面:1 抑制或去掉产甲烷菌。在低氢分压条件下,产乙酸菌不能同产甲烷菌竞争氢。因此,使反刍家畜瘤胃内产乙酸菌发挥氢竞争作用的首要条件是提高瘤胃内产乙酸菌的数量。如达到 $1 \times 10^7 CFU/mL$ 时,产乙酸菌才能发挥其氢利用能力^[32],并通过进一步抑制产甲烷菌的数量及其氢利用能力,促进产乙酸菌有效利用氢及 CO_2 ,最终转化为乙酸等物质作为机体的能量物质被利用。2 通过改变终端电子受体辅助产乙酸菌:在以 H_2 和 CO_2 、 H_2 和乳酸分别为营养源时,使产乙酸菌达到最大生长速度的氢分压分别为 94Pa 和 42Pa^[33],故通过改变终端电子受体来辅助产乙酸菌高效利用氢,以最大化减少瘤胃内甲烷的生成。3 通过适当的饲料底物以添加酵母辅助产乙酸菌:酵母菌是一种单细胞真菌,一定的饲料底物中添加酵母菌,同产甲烷菌及产乳酸菌共同培养时能够促进产乙酸菌的氢利用能力。产乙酸菌是袋鼠肠道内的优势菌群,有数据显示,同为前胃发酵的澳大利亚袋鼠甲烷排放量很低,甲烷能量损失仅占饲料消化能的 1%-2%^[34]。故外源产乙酸菌或酵母的添加可能通过影响瘤胃产乙酸菌的群落组成来对瘤胃发酵产生影响,进而抑制瘤胃甲烷生成。

4 小结

底物氢与甲烷的生成密不可分,本综述探讨了反刍家畜瘤胃内底物氢的代谢途径及甲烷减排的主要措施,为实现反刍家畜温室气体减排提供了科学途径。反刍家畜甲烷减排调控有助于畜牧经济和环境保护的共同发展,借此建立生态环境保护模式。

参考文献:

- [1] MARTIN R M, 戴晓苏. IPCC 第四次评估报告中对不确定性的处理方法[J]. 气候变化研究进展, 2006(05):233-237.
- [2] CHEN G Q, ZHANG B. Greenhouse gas emissions in China 2007: inventory and input-output analysis [J]. Energy Policy, 2010, 38(10):6180-6193.
- [3] JOHNSON K A, Johnson D E. Methane emissions from cattle [J]. Journal of animal science, 1995, 73(8):2 438-2 492.
- [4] DENMEAD O, LEUNING R, GRIFFITH D, et al. Verifying inventory predictions of animal methane emissions with meteorological measurements [J]. Boundary-Layer Meteorology, 2000,

96(1-2):187-209.

- [5] ZHOU J, JIANG M, CHEN G. Estimation of methane and nitrous oxide emission from livestock and poultry in China during 1949-2003 [J]. *Energy Policy*, 2007, 35(7):3759-3767.
- [6] 安娟,赵晓川.反刍动物甲烷排放机制及其调控[J].*饲料工业*, 2006, 27(13):57-59.
- [7] REINER H, WILLIAM B W, Physiology and biochemistry of the methane producing archaea [J]. *Prokaryotes*, 2006, 2:1050–1079.
- [8] IANNOTTI E L, KAFKEWITZ D, WOLIN M J, et al. Glucose fermentation products of *Ruminococcus albus* grown in continuous culture with *Vibrio succinogenes*: changes caused by interspecies transfer of H₂ [J]. *Journal of Bacteriology*, 1973, 114(3): 1231–1240.
- [9] 郭嫣秋,胡伟莲,刘建新.瘤胃甲烷菌及甲烷生成的调控[J].*微生物学报*, 2005(01):145-148.
- [10] CZERKAWSKI J W, CHENG K J. *Compartment in the Rumen*. New York: Springer, 1988.
- [11] 赵健亚.不同 SC/NSC 日粮对湖羊胃肠道及血液营养生化指标的影响 [D]. 扬州: 扬州大学, 2005.
- [12] Janssen P H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2010, 160(1).
- [13] 赵作钧.反刍动物甲烷测定技术研究进展[J].*中国畜牧兽医文摘*, 2014, 30(10):71-72.
- [14] NAGARAJA T G, NEWBOLD C J, VAN NEVEL C J, et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*, second ed [M]. Blackie Academic and Professional, London, UK, 1997:523–632.
- [15] J B, Russell, D B, Dombrowski. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. [J]. *Applied and environmental microbiology*, 1980, 39(3):604-10.
- [16] BHATTA R, TAJIMA K, KURIHARA M. Influence of temperature and pH on fermentation pattern and methane production in the rumen simulating fermenter (RUSITEC) [J] *Journal of Animal Science*, 2006, 19:376 -380.
- [17] ERFLE J P , BOILA R J, TEATHER R M, et al. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms *in vitro*. [J] *Journal of Dairy Science*, 1982, 65 :1457-1464.
- [18] KIM I B, FERKET P R, POWERS W J, et al. Effects of different dietary acidifier sources of calcium and phosphorus on ammonia, methane and odorant emission from growing-finishing pigs [J]. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2004, 17(8):1131-1138.
- [19] BEAUCHEMIN K A, MCGINN S M. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil [J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(6).

- [20] BUENO I C, BRANDI R A, FRANZOLIN R, et al. *In vitro* methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2015, 205: 1-9.
- [21] GUAN H, WITTENBERG K M, OMINSKI K H, et al. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane.[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(7): 1896-1906.
- [22] 毛胜勇, 王新峰, 朱伟云. 体外法研究延胡索酸二钠对瘤胃微生物发酵活力及甲烷产量的影响[J]. *草业学报*, 2010, 19(02): 69-75.
- [23] MARTINEZ-FERNANDEZ G, DENMAN S E, CHEUNG J, et al. Phloroglucinol degradation in the rumen promotes the capture of excess hydrogen generated from methanogenesis inhibition [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8.
- [24] JORDAB E, KENNY D, HAWKINS M, et al. Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of young bulls[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(1): 162-170.
- [25] JORDAB E, KENNY D, HAWKINS M, et al. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(9): 2418-2425.
- [26] ZHANG C M, GUO Y Q, YUAN Z P, et al. Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora *in vitro*[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 146(3-4): 259-269.
- [27] GARCIA-LOPEZ P M, KUNG L, ODOM J M. *In vitro* inhibition of microbial methane production by 9, 10-anthraquinone[J]. *Journal of Animal Science*, 1996, 74(9): 2276-2284.
- [28] 谭翠. 茶皂素调控肉牛瘤胃微生物菌群结构及甲烷生成的研究[D]. 四川农业大学, 2016.
- [29] BEAUCHEMIN K A, MCGINN S M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets[J]. *Journal of Animal Science*, 2005, 83(3): 653-661.
- [30] PATRA A, Park T, Kim M, et al. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(02): 271-288.
- [31] 杨春蕾. 产乙酸菌在草食动物消化道内的分布及其对甲烷排放的调节作用[D]. 浙江大学, 2016.
- [32] LE VAN T D, ROBINSON J A, RALPH J, et al. Assessment of reductive acetogenesis with indigenous ruminal bacterium populations and *Acetivibrio ruminis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(9): 3429-3436.
- [33] PETERS V, JANSSEN P, CONRAD R. Efficiency of hydrogen utilization during

unitrophic and mixotrophic growth of *Acetobacterium woodii* on hydrogen and lactate in the chemostat. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998,26(4):317-324.

[34] OUWERKERK D, MAGUIRE A, MCMILLEN L, et al. Hydrogen utilizing bacteria from the forestomach of eastern grey (*Macropus giganteus*) and red (*Macropus rufus*) kangaroos. *Animal Production Science*,2009,49(11):1043-1051.

The Rumen Hydrogen Metabolism and Strategies for Methane Emissions mitigation

YanQin zeng , ZhiYuan ma, RongWang, XiuMin zhang, ZhiLiang Tan, Min Wang

Institute of Subtropical Agriculture, the Chinese Academy of Sciences, Hunan, China

Abstract: The release of methane from ruminants is an important source of anthropogenic greenhouse gases (GHG). Reducing methane emissions from ruminants is important for reducing the Greenhouse gas effect and increasing animal energy efficiency. Methane in the rumen is mainly produced through the carbon dioxide/hydrogen pathway, and hydrogen is the most important precursor for methane production. Studying hydrogen metabolism can reveal the intrinsic regulation mechanism of rumen fermentation, and also help to understand the physiological changes in the rumen during methane inhibition. This paper reviewed the researches of the metabolism of hydrogen in the rumen and the regulation of methane emissions, especially focusing on the latest research progress on hydrogen, the substance for methane production and rumen fermentation. This review aims at providing scientific basis for reducing greenhouse gas emissions and increasing animal energy utilization efficiency.

Keywords: ruminants; hydrogen metabolism; methane emissions reduction, rumen fermentation

乙酸盐对家兔脂肪代谢的调控机制

李福昌¹ 伏春燕^{1,2} 刘 磊^{1,2}

(1、山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018; 2、山东省农业科学院家禽研究所。济南, 250023)

摘 要: 乙酸是家兔盲肠微生物发酵的重要产物, 不仅为机体提供能量, 还在脂类代谢及细胞增殖、分化中发挥重要的作用, 已成为肥胖症治疗研究的一大热点。研究表明, 乙酸参与了小鼠、山羊、大鼠等的脂肪代谢过程, 并通过激活 G 蛋白偶联受体 41 和 43 (GPR41、GPR43) 而调控脂肪细胞成脂分化。此外, AMPK、MAPK 信号、mTOR 等多种信号通路的活性受到乙酸盐处理的影响。本文总结了乙酸盐对脂肪代谢的调控作用, 综合了不同动物、细胞模型中乙酸盐调控脂肪代谢的相关机制, 并阐述了乙酸盐调控家兔脂肪代谢的分子机制。

关键词: 乙酸盐; 脂肪代谢; 信号通路; 分子机制

短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 是肠道微生物发酵主要产物, 除作为机体重要的能量来源外, SCFAs 还参与对糖脂代谢、胃肠蠕动和血液流动、细胞增殖、凋亡和分化等过程的调控^[1]。而乙酸是家兔肠道中最主要的 SCFAs。肠道中乙酸产量增加, 会引起贪食、肥胖及一系列相关疾病^[2]。研究乙酸在家兔脂肪代谢中的作用机制, 不仅对于提高家兔生产性能有着十分重要的意义, 也可评估其在肥胖的治疗和预防中的潜力。

1 短链脂肪酸和短链脂肪酸受体

1.1 短链脂肪酸

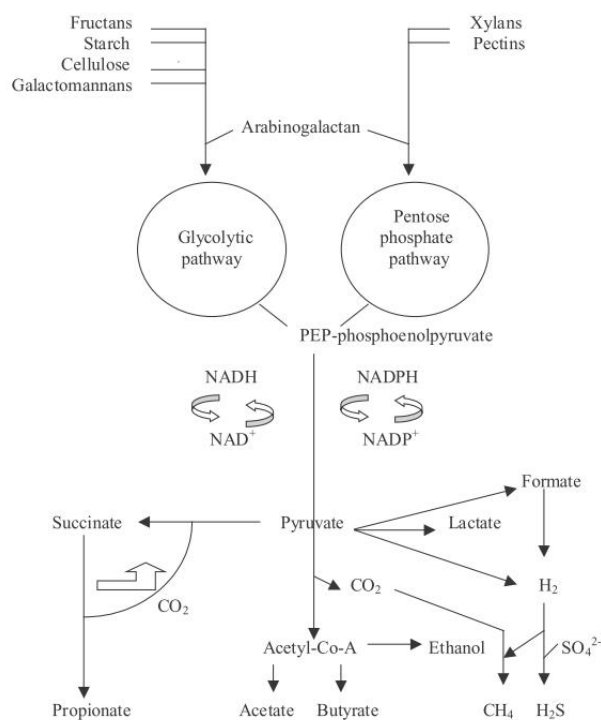
短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 是含有 2-5 个碳原子的有机酸, 主要包括乙酸、丙酸和丁酸, 是由肠道微生物发酵未消化的碳水化合物而产生的^[3]。受发酵底物、细菌种类等因素的影响, 所产生 SCFAs 的种类、数量不同 (图 1)。家兔盲肠内 SCFAs 的浓度平均为 57.4 mmol/L, 范围为 18.1~99.8 mmol/L, 随饲料中糖醛酸和中性洗涤纤维 (neutral detergent fiber, NDF) 含量的增加而上升, 随木质素含量的增加而下降^[4]。家兔盲肠内 SCFAs 中, 占绝对优势的是乙酸 (65~87 mmol/100mL), 其次是丁酸 (6~28 mmol/100mL), 丙酸最少 (3~11 mmol/100mL)。

SCFAs 在盲肠和结肠中产生, 后被肠壁快速吸收, 据测定, 家兔维持需要的能量中的 40%是由后肠发酵所产生的 SCFAs 提供的^[6]。SCFAs 不仅是肠上皮细胞的营养素, 而且参与对细胞增殖及分化的调控^[7]。在肝脏、门静脉及外周血中发现了结肠和盲肠中经微生物发酵产生的 SCFAs^[8], 可见肠道中产生的 SCFAs 可以底物或信号分子的形式被多种组织代谢^[9]。

越来越多的研究证实 SCFAs 与机体的能量平衡之间存在着很强的联系。膳食纤维和抗性淀粉可降低人血浆中胆固醇水平^[10-12], 且增加了肠道和外周循环中 SCFAs 的浓度^[3, 13]。

作者简介: 李福昌 (1965-), 男, 山东菏泽人, 教授, 博士生导师, 主要从事家兔饲养管理、营养及营养生理研究。E-mail: chlff@sdaa.edu.cn

动物研究也表明补充低聚果糖可改善葡萄糖耐受和葡萄糖刺激的胰岛素分泌,减少肠道内毒素水平和循环的促炎性细胞因子,改善高脂饮食诱导的小鼠糖尿病^[14]。



Fructans: 果糖; Starch: 淀粉; Cellulose: 纤维素; Galactomannans: 半乳甘露聚糖; Xylans: 木聚糖; Pectins: 明胶; Arabinogalactan: 阿拉伯半乳聚糖; Glycolytic pathway: 糖酵解途径; Pentose phosphate pathway: 磷酸戊糖途径; PEP-phosphoenolpyruvate: 磷酸烯醇丙酮酸; NADH: 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; NADPH: 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸; Succinate: 琥珀酸; Propionate: 丙酸; Pyruvate: 丙酮酸; CO₂: 二氧化碳; Formate: 甲酸; Lactate: 乳汁分泌; Acetyl-Co-A: 乙酰辅酶 A; Acetate: 乙酸; Butyrate: 丁酸; Ethanol: 乙醇; H₂: 氢气; SO₄²⁻: 硫酸盐; CH₄: 甲烷; H₂S: 硫化氢。

图 1 短链脂肪酸的产生

Figure 1 The production of short-chain fatty acids^[5]

1.2 短链脂肪酸受体 GPR41 和 GPR43 研究进展

G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs) 是位于细胞表面、由单条多肽链通过 7 次跨膜而成的受体^[15]。其中, GPR41 和 GPR43 为两个孤儿型 GPCRs^[16-17], 其配体为 SCFAs, 又名短链脂肪酸受体 (free fatty acids receptor, FFAR) 3 和 FFAR2^[18]。但不同 SCFAs 对 GPR41 和 GPR43 所产生的效力不同。SCFAs 对 GPR41 的效力顺序为丙酸=丁酸>乙酸, 而 GPR43 的活性顺序为乙酸=丙酸>丁酸^[19]。研究显示, GPR41 和 GPR43 基因序列在人、鼠、牛等物种间高度保守。而本课题组前期的研究结果显示, 家兔的 GPR41 和 GPR43 基因与人、大鼠、小鼠和牛的相似率均在 80% 以上^[20]。

不同动物 GPR41 和 GPR43 的组织表达模式各有不同。GPR41 在人的脾脏、胰腺、骨髓以及外周血单核细胞中表达量都很高, 且脂肪组织中表达量最高^[17]。GPR41 基因在奶山羊各组织中均有表达, 且小肠中表达量最高, 其次是乳腺组织^[21]。GPR43 在人、牛、鼠、奶山羊等物种的各种组织中均有表达^[17,22-24]。家兔的 GPR41 和 GPR43 基因在脂肪组织、胰腺、胸腺、脾脏、肺及肠道各段中均有表达, 分别在胰腺和脂肪组织中表达量最高^[20]。

作为 SCFAs 受体, GPR41 和 GPR43 在被激活后发挥对机体代谢及免疫过程的调控作用。研究显示, SCFAs 通过激活 GPR41 和 GPR43 而提高血浆中酪酪肽的浓度^[25]。GPR43 基因

可降低高脂日粮饲喂小鼠体重的增加和血浆胆固醇水平^[26]。在 3T3-L1 细胞中, 乙酸和丙酸通过激活 GPR43 而促进了细胞成脂分化和瘦素分泌, 抑制了脂肪分解^[27]。GPR41 激活后还可引起交感神经的兴奋, 提高心率, 并在采食后增加能量的消耗^[28]。另外, GPR41 和 GPR43 还可与 SCFAs 相互作用, 在体内发挥免疫、抗炎症作用^[29-30]。

2 脂肪代谢

脂肪组织, 作为一种代谢和内分泌器官, 在机体能量平衡中发挥重要作用, 其功能的紊乱与代谢综合征有关。机体的成脂能力决定了脂肪细胞的数量, 包括前脂肪细胞的增殖以及向成熟脂肪细胞的分化。细胞成脂分化过程受到抑制, 脂肪细胞中脂质沉积的减少以及脂肪细胞凋亡的增加都会使得机体脂肪组织的含量降低^[31], 进而影响脂肪组织中相关“脂肪因子”的分泌及很多受体的表达, 最终干扰机体的脂质代谢、能量平衡等一系列的生物过程。研究脂肪组织的发育及代谢调控通路意义深远。

2.1 脂肪的沉积

脂肪沉积是成脂、脂解和脂肪酸转运动态平衡的结果^[32], 受多种代谢酶和功能性基因的调控, 其活性和基因表达的改变将影响脂质的合成速率^[33]。脂肪的沉积是通过以下两种机制实现的: 1) 脂肪细胞数目的增多; 2) 脂肪细胞体积的增大^[34], 而这个复杂的过程即成脂过程, 并受到一系列因子的调控。

2.2 细胞成脂分化的关键调控因子

过氧化物酶体增殖活化受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPAR γ), 属于配体激活转录因子的核受体超家族成员, 主要在脂肪细胞中表达, 是脂肪细胞成脂分化的关键转录调控因子之一, 控制着能量代谢、脂肪生成, 并维持脂肪细胞的分化状态^[35-36]。体内、体外试验均表明, PPAR γ 的表达对于白色脂肪组织和棕色脂肪组织的形成均必需^[37]。在 3T3-L1 细胞中, 敲除 PPAR γ 后, 细胞成脂分化能力将丧失^[38], 而敲除 PPAR γ 基因的小鼠不能形成脂肪组织^[39]。在 C2C12 细胞中, 过表达猪 PPAR γ 基因可诱导细胞的成脂分化^[40]。PPAR γ 可以调控许多脂代谢相关基因的表达进而调控脂肪细胞成脂分化以及脂肪沉积^[41]。

CCAAT 增强子结合蛋白 (CCAAT enhancer binding protein, C/EBP α), 属于碱性亮氨酸拉链转录因子家族的成员^[42], 主要通过辅助性的调控成脂相关基因的表达而影响脂肪细胞的葡萄糖摄取, 进而调节脂肪的生成, 在细胞成脂分化不同阶段均发挥重要的调节作用^[43]。研究显示, 小鼠的 C/EBP α 基因被敲除后, 脂肪组织不能蓄积脂质, 出生不久变死于低血糖。阻断成年小鼠 C/EBP α 的表达后, 其脂肪组织的含量会显著减少^[44]。

脂肪细胞决定和分化因子 1 (adipocyte determination and differentiation factor-1, ADD1), 是一类位于内质网上的膜连接蛋白, 属于核转录因子家族, 是脂肪合成基因重要的转录调节因子^[45]。ADD1 在脂肪组织和肝脏中表达量较高, 通过调节脂肪代谢相关酶的基因表达来调控动物脂肪合成过程。研究显示, ADD1 可通过促进 LPL、FAS、ACC 等基因表达促进甘油三酯合成^[46]。小鼠进食后, 脂肪组织中 ADD1 表达量显著增加, 启动成脂过程^[47], 而当小

鼠 ADD1 基因被敲除后, 脂肪的生成显著减慢^[48]。此外, ADD1 可转录激活 PPAR γ 的表达而促进细胞成脂分化^[49]。

脂肪细胞脂肪酸结合蛋白 2 (adipocyte fatty acid binding protein, aP2), 广泛存在于动物脂肪细胞中, 在细胞成脂分化过程中活性很高, 调控脂肪合成、转运过程。aP2 是成脂分化后期的重要标志因子, 具有保持细胞成脂分化状态、维持脂肪代谢平衡的作用^[50]。

2.3 脂肪沉积的关键调控因子

脂肪酸合成酶 (fatty acid synthetase, FAS), 由许多酶结合而成的大分子的蛋白质复合体系, 是脂肪酸从头合成的关键限速酶^[51], 动物脂肪沉积需要的脂肪酸多来自 FAS 的催化产物。猪胴体脂肪量、脂肪率与脂肪组织中 FAS 活性显著正相关, FAS 表达可显著促进脂质的沉积, 导致肥胖^[52]。

乙酰-CoA 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 是脂肪酸合成的限速酶, 催化脂肪酸合成的第一步反应, ACC 分为 ACC1 和 ACC2 两种同型物, 分别在细胞液和线粒体外膜表达^[53]。ACC1 主要存在于乳腺、肝脏、脂肪组织中, 用以产生丙二酰 CoA, 作为脂肪酸合成的二碳单位。大鼠白色脂肪组织中, ACC 的活性随 Leptin 浓度的升高而降低^[54]。作为 AMPK 的下游靶点, ACC 被 AMPK 磷酸化后活性受到抑制, 进而抑制脂肪酸合成, 促进脂肪酸氧化, 减少脂质沉积。

肉毒碱棕榈酰基转移酶 1 (carnitine palmitoyl transferase 1, CPT1), 是线粒体中脂肪酸 β -氧化的关键限速酶^[55], 位于线粒体外膜, 主要负责催化肉毒碱和乙酰辅酶 A 合成乙酰基肉碱。在心脏、肌肉、肝脏等脂肪酸利用率较高的组织中, CPT1 活性受日粮和激素等的调控。

激素敏感脂肪酶 (hormone-sensitive lipase, HSL) 是脂肪组织中最初启动甘油三酯分解的关键限速酶, 用以分解甘油三酯而产生脂肪酸并释放, 是调控脂质分解的最关键因素, 在调控机体的能量平衡中发挥重要作用^[56]。

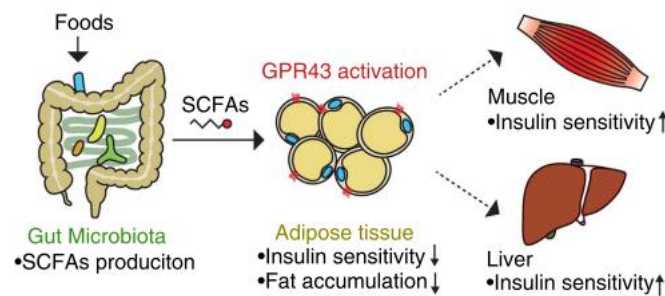
3 乙酸对家兔脂肪代谢的调控机理研究

在家兔盲肠中, 微生物通过发酵未消化的纤维、抗性淀粉等而产生了大量的 SCFAs, 其中乙酸的浓度最大。乙酸吸收后经外周循环运输至机体各组织而参与代谢。前期结果显示, 家兔的脂肪组织中, GPR43 的表达量最多^[20], 表明乙酸可能参与了家兔脂肪代谢过程。研究显示, 乙酸经循环进入小鼠脂肪或者乳腺后, 能促进乙酰辅酶 A 合成酶利用乙酸而合成脂肪, 是脂肪生成和脂肪细胞分化的一种原料^[57]。乙酸盐处理显著促进了山羊、大鼠皮下脂肪中脂肪酸合成基因 (如 ACC 和 FAS) 的表达^[58]; 促进了 3T3-L1 细胞中 PPAR γ 的表达, 增加了细胞中脂滴的沉积^[59-60]。在猪脂肪细胞中, 乙酸盐处理显著促进了 PPAR γ 和 C/EBP α 因子的表达, 细胞成脂分化加强^[61]。然而目前, 乙酸盐对脂肪沉积的调控作用并不一致。研究显示, 乙酸盐处理抑制了自发性糖尿病大鼠肝脏中脂肪酸合成和脂肪组织的脂质沉积^[62], 促进了白色脂肪组织中脂肪酸氧化酶的表达^[63], 在骨骼肌和脂肪组织中均具有抗肥胖和抗糖尿病的功效。高脂日粮饲喂小鼠口服乙酸盐后, 促进了肝脏及脂肪组织中的能量消耗,

经 AMPK 通路抑制了脂质合成而促进了脂肪氧化^[57]。肉兔皮下注射乙酸盐后，脂肪沉积量显著降低^[64]。进一步证明了乙酸盐对家兔的脂肪代谢过程具有调控作用。

3.1 乙酸-GPR41/43-脂肪代谢

研究显示，乙酸通过激活其受体 GPR41、GPR43 而发挥对脂肪代谢的调控。小鼠前脂肪细胞中，乙酸盐处理激活了 GPR43，促进了成脂分化因子 PPAR γ 和 C/EBP α 的表达^[65]。Hong 等^[60]发现，干扰了 GPR43 的表达后，乙酸盐介导的 3T3-L1 细胞的成脂分化能力显著降低。棕色脂肪细胞中，人工合成的 GPR43 拮抗剂处理后，显著抑制了乙酸盐介导的成脂作用和线粒体内的生物合成^[66]。Zaibi 等^[67]发现，GPR43 基因调控了 SCFAs 介导的脂肪组织瘦素的分泌，而该途径并不经过 GPR41。而有研究显示，乙酸盐处理分化期的牛脂肪细胞后，细胞瘦素受体的表达水平显著升高，百日咳毒素处理后，乙酸刺激瘦素表达的效应消失，表明牛血浆瘦素水平受乙酸和 GPR41 的调控^[68]。本课题组前期结果显示，注射乙酸盐后，肉兔皮下脂肪中 GPR41、GPR43 及成脂分化关键调控因子（PPAR γ 、C/EBP α 、ADD1）表达量均显著增加，而血浆中瘦素水平没有显著变化^[64]，表明乙酸盐或可通过激活 GPR41 和 GPR43 的表达调控肉兔脂肪代谢过程。



Foods: 食物；Gut Microbiota: 肠道微生物；SCFAs: 短链脂肪酸；SCFAs production: SCFAs 生产；GPR43 activation: G 蛋白偶联受体 43 活化；Adipose tissue: 脂肪组织；Insulin sensitivity: 胰岛素敏感性；Fat accumulation: 脂肪沉积；Muscle: 骨骼肌；Liver: 肝脏。

图 2 GPR43 抑制脂肪沉积模型

Figure 2 Schematic model of suppression of fat accumulation via GPR43^[69]

3.2 乙酸-AMPK 通路-脂肪代谢

腺苷酸活化蛋白激酶（adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK），可通过机体的需能状况来调节产能和耗能，故而被称为真核细胞的“代谢感受器”。活化的 AMPK 可以抑制胆固醇、甘油二酯、甘油三酯以及脂肪酸的合成，使 ACC 的活性显著下降或丧失，提高脂肪酸的氧化速度。在牛乳腺上皮细胞中激活 AMPK 可抑制脂肪酸合成^[70]，在 3T3-L1 细胞中，激活 AMPK 抑制了 PPAR γ 、C/EBP α 的表达^[71-72]。丁酸盐通过活化 AMPK 而介导了猪前脂肪细胞的成脂过程和脂滴沉积^[73]。本课题组前期研究结果显示，乙酸盐处理促进了肉兔脂肪组织中磷酸化 AMPK 的^[64]，离体试验显示，阻断 AMPK 表达后，乙酸盐对脂肪细胞的脂质代谢调控作用受到干扰，表明乙酸通过 AMPK 途径调控家兔脂肪

代谢过程。

3.3 乙酸-MAPKs-脂肪代谢

促分裂原活化蛋白激酶 (Mitogen Activated Protein Kinase, MAPKs) 是真核细胞的重要信号转导路径,主要有细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、c-Jun N 端激酶 (Jun N-terminal kinase, JNK) 和 p38 MAPK 三条经典路径,分别介导三条并行的 MAPK 信号通路。外界刺激通过激活 ERK、JNK 和 p38 MAPK 信号通路调节细胞内相关基因的转录,参与细胞的增殖、分化、凋亡及细胞间功能同步等一系列生理过程,与脂肪细胞分化和脂质代谢也存在密切的联系^[74]。

3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化的过程受 p38 MAPK 和 ERK 信号的调控^[75-77]。Hu 等^[66]发现,乙酸盐激活了 ERK,促进了棕色脂肪组织成脂分化。小鼠骨髓间充质干细胞成脂分化过程中,ERK 活性显著增强,而 ERK 信号通路被阻断后,脂肪细胞数量显著减少,PPAR γ 、C/EBP α 、aP2 等基因的表达量显著降低^[78]。小鼠脂肪细胞中,抑制 p38 MAPK 后,乙酸盐介导的细胞成脂分化能力显著降低^[65]。Jung 等发现丁酸处理结肠可抑制 ERK 的表达,而丙酸盐通过激活 ERK 信号通路促进了小鼠肠上皮细胞的脂肪酸氧化,抑制脂质积累^[79-80]。乙酸盐处理促进了家兔脂肪组织中磷酸化 p38 MAPK 和 ERK 的表达^[71],表明 MAPK 通路参与乙酸调控的家兔脂肪代谢过程。

3.4 mTOR 信号通路

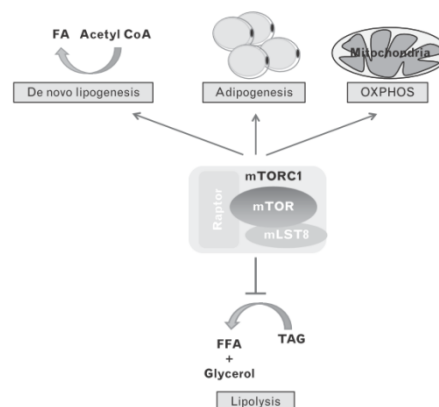
哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 可对细胞外的多种刺激产生应答,调节细胞代谢、凋亡及动态平衡等生理过程^[81-82],被认为是细胞生长代谢的中心协调器。研究报道显示, mTOR 从脂肪从头合成、脂解、成脂分化、线粒体代谢等多个角度参与了脂质代谢^[83]。

mTOR 信号通路对脂肪酸合成过程中的相关酶起正向调控作用^[84]。提高 mTOR 活性可抑制脂肪分解、促进脂肪合成^[85],抑制 mTOR 通路可促进脂肪分解、抑制脂肪合成^[86]。此外, mTOR 通过促进 PPAR γ 、C/EBP α 的表达而调控细胞成脂过程^[87]。研究显示, SCFAs 激活了小鼠肠上皮细胞中 mTOR 的表达,本课题组前期研究发现乙酸盐促进了家兔脂肪组织中磷酸化 mTOR 的表达^[64],在家兔前脂肪细胞中,乙酸对脂肪沉积的调控作用受到 mTOR 活性的影响,表明 mTOR 信号参与乙酸对家兔脂肪代谢的调控。

FA:脂肪酸; De novo lipogenesis:脂肪从头合成; Adipogenesis:脂肪生成; Mitochondria: 线粒体; mTOR:哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; Raptor:mTOR 结合蛋白; FFA:游离脂肪酸; Glycerol:甘油; TAG:甘油三酯; Lipolysis:脂解。

图 3 mTOR 从多个方面调控机体脂质代谢

Figure 3 mTOR regulates many aspects of lipid metabolism of body^[83]



4 小结

AMPK、MAPK、mTOR 及其相关信号途径广泛存在于多种组织中，其活性均受到乙酸的影响，而激活后又参与多种脂肪因子、成脂分化调控因子的转录调控及细胞状态的调节，参与细胞成脂分化及脂肪代谢过程。家兔肠道 SCFAs 中，乙酸的浓度最高，且随外周循环运输至各组织中发挥对宿主的调控作用，加之短链脂肪酸受体 GPR41 和 GPR43 在家兔各组织中的丰富表达，深入探究乙酸盐对家兔脂肪代谢的调控机理，验证 AMPK、mTOR 及 MAPK 通路在其中所扮演的角色，便可通过调节肠道中乙酸盐的产生来进一步改善家兔肉品质，极具研究前景。

参考文献：

- [1] CANFORA E E, BLAAK E E. Acetate: a diet-derived key metabolite in energy metabolism: good or bad in context of obesity and glucose homeostasis? [J]. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 2017, 20(6): 477-483.
- [2] PERRY R J, PENG L, BARRY N A, et al. Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome [J]. *Nature*, 2016, 534(7606): 213-217.
- [3] NICHOLSON J K, HOLMES E, KINROSS J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions [J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1262-1267.
- [4] GARCÍA J, GIDENNE T, FALCAO-E-CUNHA L, et al. Identification of the main factors that influence caecal fermentation traits in growing rabbits [J]. *Animal Research*, 2002, 51(2): 165-173.
- [5] HIJOVA E, CHMELAROVA A. Short chain fatty acids and colonic health [J]. *Bratislavské lekárske listy*, 2007, 108(8): 354-358.
- [6] MARTY J, VERNAY M. Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hind-gut of the rabbit [J]. *British Journal of Nutrition*, 1984, 51(02): 265-277.
- [7] COOK S I, SELLIN J H. Review article: short chain fatty acids in health and disease [J]. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 1998, 12(6): 499-507.
- [8] CUMMINGS J H, POMARE E W, BRANCH W J, et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood [J]. *Gut*, 1987, 28(10): 1221-1227.
- [9] DEN BESTEN G, VAN EUNEN K, GROEN A K, et al. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism [J]. *Journal of lipid research*, 2013, 54(9): 2325-2340.
- [10] BROWN L, ROSNER B, WILLETT W W, et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis [J]. *The American journal of clinical nutrition*, 1999, 69(1): 30-42.
- [11] CAUSEY J L, FEIRTAG J M, GALLAHER D D, et al. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic

- men[J].Nutrition Research,2000,20(2):191-201.
- [12] BOERS H M,MACAULAY K,MURRAY P,et al.Efficacy of different fibres and flour mixes in South-Asian flatbreads for reducing post-prandial glucose responses in healthy adults[J].European journal of nutrition,2017,56(6):2049-2060.
- [13] TARINI J,WOLEVER T M.The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects[J].Applied physiology,nutrition,and metabolism,2010,35(1):9-16.
- [14] CANI P D,NEYRINCK A M,FAVA F,et al.Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia[J].Diabetologia,2007,50(11):2374-2383.
- [15] 王永安,张春雷,王艳红,等.短链脂肪酸受体 GPR41,GPR43 的信号通路及生理功能[J].中国牛业科学,2013,39(6):49-53.
- [16] LE POUL E,LOISON C,STRUYF S,et al.Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation[J].Journal of Biological Chemistry,2003,278(28):25481-25489.
- [17] BROWN A J,GOLDSWORTHY S M,BARNES A A,et al.The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids[J].Journal of Biological Chemistry,2003,278(13):11312-11319.
- [18] 张志岐,束刚,方心灵,等.G 蛋白偶联受体介导游离脂肪酸的信号通路及生理功能[J].中国生物化学与分子生物学报,2009,25(9):789-795.
- [19] SALEHI A,FLODGRÉN E,NILSSON N E,et al.Free fatty acid receptor 1(FFA1R/GPR40)and its involvement in fatty-acid-stimulated insulin secretion[J].Cell and tissue research,2005,322(2):207-215.
- [20] FU C Y,LIU L,GAO Q,et al.Cloning, molecular characterization, and spatial and developmental expression analysis of GPR41 and GPR43 genes in New Zealand rabbits[J].Animal,2017,11(10):1798-1806.
- [21] 孙雨婷.奶山羊短链脂肪酸受体 GPR41 基因的克隆分析与腺病毒 RNA 干扰载体构建[D].硕士学位论文,杨凌:西北农林科技大学,2011:18-21.
- [22] KARAKI S,MITSUI R,HAYASHI H,et al.Short-chain fatty acid receptor,GPR43,is expressed by enteroendocrine cells and mucosal mast cells in rat intestine[J].Cell and tissue research,2006,324(3):353-360.
- [23] KARAKI S,TAZOE H,HAYASHI H,et al.Expression of the short-chain fatty acid receptor,GPR43,in the human colon[J].Journal of molecular histology,2008,39(2):135-142.
- [24] WANG A,GU Z,HEID B,et al.Identification and characterization of the bovine G

- protein-coupled receptor GPR41 and GPR43 genes[J].*Journal of Dairy Science*,2009,92(6):2696-2705.
- [25] FREELAND K R,WOLEVER T M S.Acute effects of intravenous and rectal acetate on glucagon-like peptide-1,peptide YY,ghrelin,adiponectin and tumour necrosis factor- α [J].*British Journal of Nutrition*,2010,103(3):460-466.
- [26] BJURSELL M,ADMYRE T,GÖRANSSON M,et al.Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet[J].*American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*,2010,300(1):E211-E220.
- [27] GE H,LI X,WEISZMANN J,et al.Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids[J].*Endocrinology*,2008,149(9):4519-4526.
- [28] KIMURA I,INOUE D,MAEDA T,et al.Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41)[J].*Proceedings of the national academy of sciences*,2011,108(19):8030-8035.
- [29] MASLOWSKI K M,VIEIRA A T, NG A,et al.Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43[J].*Nature*,2009,461(7268):1282-1286.
- [30] VINOLO M A R, RODRIGUES H G, HATANAKA E,et al.Suppressive effect of short-chain fatty acids on production of proinflammatory mediators by neutrophils[J].*The Journal of nutritional biochemistry*,2011,22(9):849-855.
- [31] DONG X,TANG S,ZHANG W,et al.GPR39 activates proliferation and differentiation of porcine intramuscular preadipocytes through targeting the PI3K/AKT cell signaling pathway[J].*Journal of Receptors and Signal Transduction*,2016,36(2):130-138.
- [32] JURIE C,CASSAR-MALEK I,BONNET M,et al.Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle[J].*Journal of Animal Science*,2007,85(10):2660-2669.
- [33] ZHANG H,ZHANG X,WANG Z,et al.Effects of dietary energy level on lipid metabolism-related gene expression in subcutaneous adipose tissue of Yellow breed×Simmental cattle[J].*Animal Science Journal*,2015,86(4):392-400.
- [34] SPALDING K L, ARNER E, WESTERMARK P O,et al.Dynamics of fat cell turnover in humans[J]. *Nature*,2008,453(7196):783-787.
- [35] ROSEN E D,MACDOUGALD O A.Adipocyte differentiation from the inside out[J].*Nature reviews Molecular cell biology*,2006,7(12):885-896.
- [36] SEVANE N,ARMSTRONG E,CORTÉS O,et al.Association of bovine meat quality traits with genes included in the PPARG and PPARGC1A networks[J].*Meat*

science,2013,94(3):328-335.

- [37] 鞠大鹏,詹丽杏.脂肪细胞分化及其调控的研究进展[J].中国细胞生物学学报,2010,5:690-695.
- [38] BRUN R P,TONTONNOZ P,FORMAN B M,et al.Differential activation of adipogenesis by multiple PPAR isoforms[J].Genes & development,1996,10(8):974-984.
- [39] ROSEN R D,SARRAF P,TROY A E,et al.PPAR γ is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro[J].Molecular cell,1999,4(4):611-617.
- [40] YU Y H,WU S C,CHENG W T,et al.Ectopic expression of porcine peroxisome-proliferator-activated receptor delta regulates adipogenesis in mouse myoblasts[J].Journal of Animal Science,2007,86(1):64-72.
- [41] LEFTEROVA M I,HAAKONSSON A K,LAZAR M A,et al.PPAR γ and the global map of adipogenesis and beyond[J].Trends in Endocrinology & Metabolism,2014,25(6):293-302.
- [42] LANDSCHULZ W H,JOHNSON P F,ADASHI E Y,et al.Isolation of a recombinant copy of the gene encoding C/EBP[J].Genes & development,1988,2(7):786-800.
- [43] YEH W C,CAO Z,CLASSON M,et al.Cascade regulation of terminal adipocyte differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper proteins[J].Genes & development,1995,9(2):168-181.
- [44] LINHART H G,ISHIMURA-OKA K,DEMAYO F,et al.C/EBP alpha is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2001,98(22):12532-12537.
- [45] CHEN H,YUAN R,ZHANG Y,et al.ATF4 regulates SREBP1c expression to control fatty acids synthesis in 3T3-L1 adipocytes differentiation[J].Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms,2016,1859(11):1459-1469.
- [46] KIM J B,SPIEGELMAN B M.ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism.Genes & development,1996,10(9):1096-107.
- [47] KIM J B,SARRAF P,WRIGHT M,et al.Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1[J].The Journal of clinical investigation,1998,101(1):1-9.
- [48] KIM J B,WRIGHT H M,WRIGHT M,et al.ADD1/SREBP1 activates PPAR gamma through the production of endogenous ligand[J].Proceedings of the national academy of sciences,1998,95(8):4333-4337.
- [49] WARNKE I,GORALCZYK R,FUHRER E,et al.Dietary constituents reduce lipid accumulation in murine C3H10 T1/2 adipocytes: a novel fluorescent method to quantify fat droplets[J].Nutrition & metabolism,2011,8(1):30.

- [50] SMITH A J,SANDERS M A,THOMPSON B R,et al.Physical association between the adipocyte fatty acid-binding protein and hormone-sensitive lipase:a fluorescence resonance energy transfer analysis[J].Journal of Biological Chemistry,2004,279(50):52399-52405.
- [51] WITKOWSKI A,JOSHI A K,SMITH S.Coupling of the de novo fatty acid biosynthesis and lipoylation pathways in mammalian mitochondria[J].Journal of Biological Chemistry,2007,282(19):14178-14185.
- [52] SMITH S,WITKOWSKI A,JOSHI A K.Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase[J].Progress in lipid research,2003,42(4):289-317.
- [53] ABU-ELHEIGA L,MATZUK M M,KORDARI P,et al.Mutant mice lacking acetyl-CoA carboxylase 1 are embryonically lethal[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2005,102(34):12011-12016.
- [54] NOGALSKA A,SUCAJTYS-SZULC E,SWIERCZYNSKI J.Leptin decreases lipogenic enzyme gene expression through modification of SREBP-1c gene expression in white adipose tissue of aging rats[J].Metabolism,2005,54(8):1041-1047.
- [55] POSTIC C,GIRARD J.Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice[J].The Journal of clinical investigation,2008,118(3):829-838.
- [56] YEAMAN S J,SMITH G M,JEPSON C A,et al.The multifunctional role of hormone-sensitive lipase in lipid metabolism[J].Advances in enzyme regulation,1994,34:355-370.
- [57] DEN BESTEN G,BLEEKER A,GERDING A,et al.Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a PPAR γ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation[J].Diabetes,2015,64(7):2398-2408.
- [58] LEE S H,HOSSNER K L.Coordinate regulation of ovine adipose tissue gene expression by propionate[J].Journal of animal science,2002,80(11):2840-2849.
- [59] NAKAO S,FUJII A,NIEDERMAN R.Alteration of cytoplasmic Ca²⁺ in resting and stimulated human neutrophils by short-chain carboxylic acids at neutral pH[J].Infection and immunity,1992,60(12):5307-5311.
- [60] HONG Y H,NISHIMURA Y,HISHIKAWA D,et al.Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43[J].Endocrinology,2005,146(12):5092-9.
- [61] LI G,YAO W,JIANG H.Short-chain fatty acids enhance adipocyte differentiation in the stromal vascular fraction of porcine adipose tissue[J].The Journal of nutrition,2014,144(12):1887-1895.
- [62] YAMASHITA H,FUJISAWA K,ITO E,et al.Improvement of obesity and glucose tolerance

- by acetate in type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats[J].Bioscience,biotechnology,and biochemistry,2007,71(15):1236-1243.
- [63] YAMASHITA H,MARUTA H,JOZUKA M,et al.Effects of acetate on lipid metabolism in muscles and adipose tissues of type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats[J].Bioscience,biotechnology,and biochemistry,2009,73(3):570-576.
- [64] FU C,LIU L,LI F.Acetate alters the process of lipid metabolism in rabbits[J].Animal,2017:1-8.
- [65] 侯增淼.猪 GPR43 基因 cDNA 克隆,组织表达及脂肪酸对小鼠该基因表达的作用研究[D].硕士学位论文,杨凌:西北农林科技大学,2008:36-38.
- [66] HU J,KYROU I,TAN B K,et al.Short-chain fatty acid acetate stimulates adipogenesis and mitochondrial biogenesis via GPR43 in brown adipocytes[J].Endocrinology,2016,157(5):1881-1894.
- [67] ZAIBI M S,STOCKER C J,O'DOWD J,et al.Roles of GPR41 and GPR43 in leptin secretory responses of murine adipocytes to short chain fatty acids[J].FEBS letters,2010,584(11):2381-2386.
- [68] SOLIMAN M,KIMURA K,AHMED M,et al.Inverse regulation of leptin mRNA expression by short-and long-chain fatty acids in cultured bovine adipocytes[J].Domestic animal endocrinology,2007,33(4):400-409.
- [69] KIMURA I,OZAWA K,INOUE D,et al.The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43[J].Nature communications,2013,4:1829.
- [70] MCFADDEN J W,CORL B A.Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) inhibits fatty acid synthesis in bovine mammary epithelial cells[J].Biochemical and biophysical research communications,2009,390(3):388-393.
- [71] DAGON Y,AVRAHAM Y,BERRY E M.AMPK activation regulates apoptosis, adipogenesis, and lipolysis by eIF2 α in adipocytes[J].Biochemical and biophysical research communications,2006,340(1):43-47.
- [72] HUANG B,YUAN H D,KIM D Y,et al.Cinnamaldehyde prevents adipocyte differentiation and adipogenesis via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ)and AMP-activated protein kinase(AMPK)pathways[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2011,59(8):3666-3673.
- [73] YAN H,AJUWON K M.Mechanism of butyrate stimulation of triglyceride storage and adipokine expression during adipogenic differentiation of porcine stromovascular cells[J].PloS one,2015,10(12):e0145940.
- [74] ZHANG T,SAWADA K,YAMAMOTO N,et al.4-Hydroxyderricin and xanthoangelol from

- Ashitaba(Angelica keiskei)suppresses differentiation of preadipocytes to adipocytes via AMPK and MAPK pathways[J].Molecular nutrition & food research,2013,57(10):1729-1740.
- [75] SALE E M,ATKINSON P G,SALE G J.Requirement of MAP kinase for differentiation of fibroblasts to adipocytes, for insulin activation of p90 S6 kinase and for insulin or serum stimulation of DNA synthesis[J].The EMBO Journal,1995,14(4):674-684.
- [76] BOST F,AOUADI M,CARON L,et al.The role of MAPKs in adipocyte differentiation and obesity[J].Biochimie,2005,87(1):51-56.
- [77] HE Q,HUANG C,ZHAO L,et al.Alpha-Naphthoflavone inhibits 3T3-L1 pre-adipocytes differentiation via modulating p38MAPK signaling[J].International journal of clinical and experimental pathology,2013,6(2):168-178.
- [78] LIAO Q C,LI Y L,QIN Y F,et al.Inhibition of adipocyte differentiation by phytoestrogen genistein through a potential downregulation of extracellular signal-regulated kinases 1/2 activity[J].Journal of cellular biochemistry,2008,104(5):1853-1864.
- [79] JUNG J W,CHO S D,AHN N S,et al.Ras/MAP kinase pathways are involved in Ras specific apoptosis induced by sodium butyrate[J].Cancer letters,2005,225(2):199-206.
- [80] HIGASHIMURA Y,NAITO Y,TAKAGI T,et al.Propionate promotes fatty acid oxidation through the up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in intestinal epithelial cells[J].Journal of nutritional science and vitaminology,2015,61(6):511-515.
- [81] LAPLANTE M,SABATINI D M.mTOR signaling in growth control and disease[J].Cell,2012,149(2):274-293.
- [82] ABRAHAM R T,ENG C H.Mammalian target of rapamycin as a therapeutic target in oncology[J].Expert opinion on therapeutic targets,2008,12(2):209-222.
- [83] CHAKRABARTI P,KANDROR K V.The role of mTOR in lipid homeostasis and diabetes progression[J].Current Opinion in Endocrinology&Diabetes and Obesity,2015,22(5):340-346.
- [84] PORSTMANN T,SANTOS C R,GRIFFITHS B,et al.SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth[J].Cell metabolism,2008,8(3):224-236.
- [85] CHUNG S,BROWN J M,SANDBERG M B,et al.Trans-10, cis-12 CLA increases adipocyte lipolysis and alters lipid droplet-associated proteins: role of mTOR and ERK signaling[J].Journal of lipid research,2005,46(5):885-895.
- [86] LE BACQUER O,PETROULAKIS E,PAGLIALUNGA S,et al.Elevated sensitivity to diet-induced obesity and insulin resistance in mice lacking 4E-BP1 and 4E-BP2[J].The Journal of clinical investigation,2007,117(2):387-396.
- [87] JOSHI S K,LIU X,SAMAGH S P,et al.mTOR regulates fatty infiltration through SREBP-1 and PPAR γ after a combined massive rotator cuff tear and suprascapular nerve injury in rats[J].Journal of Orthopaedic Research,2013,31(5):724-730.

Mechanism of Acetate on Lipid Metabolism in Rabbits

LI Fuchang, FU Chunyan

*(Department of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an
271018, China)*

Abstract: Acetate, as the the most abundant short-chain fatty acid in rabbit gut, enables the host to gain extra energy and plays an important role in lipid metabolism, cell proliferation and differentiation. Thereby, it has become a hot topic about acetate preparation on obesity treatment in humans. It has been suggested that acetate is involved in the lipid metabolism in mice, goats and rats, and it can regulate adipocyte adipogenesis via activating G protein-coupled receptor 41 (GPR41) and GPR43. In addition, acetate treatment mediates the activation of AMPK, MAPKs and mTOR signaling pathways. This review summarizes the effect, regulatory role and related mediation mechanism of acetate on lipid metabolism in different animal and cell models. The mechanism of acetate on lipid metabolism in rabbits is recommended.

Key words: acetate; lipid metabolism; signaling pathways; molecular mechanism

鱼类蛋白质高效利用技术研究进展

周小秋

(四川农业大学动物营养研究所, 成都 611130)

摘要: 蛋白质是鱼类维持生命活动的主要供能物质, 鱼类对蛋白质需要量高。但鱼粉资源短缺、价格昂贵, 而植物蛋白含有大量抗营养因子、氨基酸不平衡、可利用率差, 造成资源浪费、水质污染、鱼抗病力下降。因此, 提高鱼类蛋白质高效利用是解决上述问题的关键, 而降低饲料蛋白水平、有效替代鱼粉和提高植物蛋白利用是提高鱼类蛋白质高效利用的重要途径。已有研究表明, 鱼类饲料中一定水平脂肪和碳水化合物能节约部分蛋白, 而其他动物性蛋白和部分植物蛋白能替代部分鱼粉, 在植物蛋白饲料中添加诱食剂等功能性物质能提高植物蛋白利用率, 促进鱼类生长。因此, 本文就鱼类低蛋白饲料技术、鱼粉替代技术和植物蛋白高效利用技术的研究进展进行综述。

关键词: 鱼类; 蛋白高效利用; 低蛋白; 鱼粉替代; 植物蛋白高效利用

蛋白质是鱼类主要的供能物质, 是饲料中成本最高的组成部分^[1]。鱼类饲料中蛋白含量通常较高, 且鱼粉和植物蛋白是鱼类饲料中常用的蛋白源^[2]。然而, 鱼粉资源短缺且价格昂贵^[3], 植物蛋白中抗营养因子会降低鱼类饲料蛋白质消化利用率^[4]。研究发现, 饲料中蛋白质消化不完全不但造成饲料浪费, 还可导致养殖水体污染, 影响水产养殖可持续发展^[5]。因此, 研究鱼类蛋白质高效利用非常必要。近年来, 鱼类蛋白质高效利用技术已成为研究热点, 本文就有关研究进展进行综述。

1. 鱼类低蛋白饲料技术

酶解植物蛋白是蛋白原料经酶或酸等降解后, 由各种肽和少量游离氨基酸组成的混合物, 消化利用率更高^[6]。研究发现: 饲料中需要量蛋白水平降低 2 个百分点, 添加 1%或 1.13% 酶解豆粕 (ETSP) 分别提高了建鲤 (*Cyprinus carpio* var. Jian)^[7] 和草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[8] 采食量 (FI)、饲料效率 (FE) 和增重 (WG), 达到并超过了需要量蛋白水平组。这可能与适宜水平 ETSP 促进建鲤消化器官发育、上调肠道消化酶和刷状缘酶 mRNA 水平和活力, 增强消化吸收能力有关^[7]。此外, 饲料需要量蛋白水平降低 2 个百分点后添加 1.13% ETSP 提高了草鱼肌肉蛋白质、脂肪、风味氨基酸和多不饱和脂肪酸含量, 降低了肌肉剪切力和蒸煮损失 (CL), 改善草鱼肌肉品质达到并超过需要量蛋白水平组^[8]。以上结果说明, 饲料中添加适宜水平酶解植物蛋白能提高鱼类蛋白利用效率, 节约部分蛋白质。以 SGR 和 CL 为标识, 确定建鲤和草鱼饲料中需要量蛋白水平降低 2 个百分点后, ETSP 最适添加水

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2014CB138600); 国家现代农业产业技术体系(CARS-45); 国家自然科学基金面上项目(31772866); 四川省青年科技创新研究团队(2017TD0002);

作者简介: 周小秋(1966—), 男, 重庆垫江人, 教授, 博士生导师, 主要从事水产动物消化能力、肠道健康、机体健康和肉质营养调控及其机制的研究。

E-mail: zhouxq@sicau.edu.cn

平分别为 1%和 1.13%（表 1）。

鱼类能利用脂肪提供部分能量，因此提高饲料中脂肪水平可能节约部分蛋白质，降低鱼饲料蛋白水平^[9]。研究发现：饲料需要量蛋白水平降低 2 个百分点，增加 1 个百分点脂肪水平能上调草鱼肠道消化酶和刷状缘酶 mRNA 水平和活力，增强消化吸收能力，提高饲料利用率促进生长^[10]；同时提高了肠道免疫物质含量或活性，并揭示了其通过 NF-κB 信号途径缓解炎症反应增强肠道免疫功能的作用机制^[10]。在南亚野鲮（*Labeo rohita*）^[11]、丝尾鲮（*Hemibagrus wyckiioides*）^[12]和鞍带石斑鱼（*Epinephelus lanceolatus*）^[13]上也发现饲料中需要量蛋白水平降低 4-10 个百分点，提高 1-7 个百分点脂肪水平促进了鱼类生长。综上，当饲料中需要量蛋白水平降低 2-10 个百分点，提高 1-7 个百分点脂肪水平，分别对草鱼等 4 种鱼类生长无负面影响（表 1），说明提高鱼类饲料脂肪水平能节约部分蛋白质。

除脂肪外，部分鱼类能利用少量碳水化合物，因此提高饲料碳水化合物水平也可能节约部分蛋白质^[14]。研究发现：饲料需要量蛋白水平降低 2-8 个百分点，提高 3-19.5 个百分点碳水化合物水平对草鱼^[15]、鲤鱼（*Cyprinus carpio*）^[16]和塞内加尔鲷（*Solea senegalensis*）^[17]FE 和 WG 无影响，但能提高草鱼饲料蛋白效率比^[15]和比目鱼（*Scophthalmus maximus*）特异性生长率（SGR）^[18]。鱼类的生长与机体营养物质沉积密切相关。研究发现，饲料需要量蛋白水平降低 2 个百分点，提高 3 个百分点碳水化合物水平对草鱼肌肉蛋白质和脂肪含量无影响^[15]，但能提高塞内加尔鲷肌肉中亚油酸和二十碳五烯酸（EPA）含量^[17]。综上，当饲料中需要量蛋白水平降低 2-8 个百分点，提高 3-19.5 个百分点碳水化合物分别对鲤鱼等 4 种鱼类生长无负面影响（表 1），说明提高鱼类饲料碳水化合物水平能节约部分蛋白质。

表 1 鱼类低蛋白饲料技术
Table 1 Fish dietary low protein technology

鱼种类	体重 (g)	确 定 标识	蛋白水平↓ (百分点)	酶解植物蛋 白添加量	脂肪水平↑ (百分点)	碳水化合物水 平↑(百分点)	参考 文献
建鲤	12.0~625.0	SGR	2	1%	—	—	Xiao 等 ^[7]
草鱼	325.0~868.0	CL	2	1.13%	—	—	Song 等 ^[8]
草鱼	255.0~770.0	SGR	2	—	1	—	Liu 等 ^[10]
南亚野鲮	5.5-12.2	SGR	4	—	1	—	Kumar 等 ^[11]
丝尾鲮	2.0~24.0	WG	5	—	6	—	Huang 等 ^[12]
鞍带石斑鱼	2.5~63.0	SGR	10	—	7	—	Rahimnejad ^[13]
草鱼	400.0~1386.0	WG	2	—	—	3	胡毅等 ^[15]
鲤鱼	36.0~257.0	SGR	6.3	—	—	19.5	Cheng 等 ^[16]
塞内加尔鲷	22.0~54.0	EPA	8	—	—	8	Salas-Leiton 等 ^[17]
比目鱼	7.0~19.0	SGR	6	—	—	10	Zeng 等 ^[18]

注：直接法确定模型

2. 鱼类饲料中鱼粉替代技术

鱼粉氨基酸平衡、适口性好且消化率高,是鱼类优质的蛋白来源^[2]。然而鱼粉资源短缺,价格昂贵,寻求新的蛋白源替代鱼粉是实现水产养殖健康可持续发展的重要途径^[3]。

2.1 鱼类饲料中动物性蛋白源替代鱼粉技术

肉骨粉是畜禽肉类加工副产物经干燥(脱脂)而成,其氨基酸组成较均衡^[19]。研究发现:当饲料中肉骨粉替代鱼粉比例达34%-50%时,分别对乌苏里拟鲿(*Pseudobagrus ussuriensis*)^[20]、金头鲷(*Sparus aurata*)^[21]和墨西哥笛鲷(*Lutjanus guttatus*)^[22]等鱼类WG、FE和体蛋白沉积无负面影响,这可能与其对乌苏里拟鲿^[20]和金头鲷^[21]消化能力无影响有关。综上,肉骨粉可替代乌苏里拟鲿^[20]、金头鲷^[21]和墨西哥笛鲷^[22]等鱼类饲料中部分鱼粉,适宜替代比例分别为34.3%、50%和34%。

血粉是动物屠宰后的废弃血液经干燥而成,蛋白含量高且富含Lys;羽毛粉也是一种潜在的可用于替代鱼粉的蛋白源^[19]。研究发现:当饲料中血粉或水解羽毛粉替代鱼粉比例为5%或55%时,分别对金头鲷^[23]和舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[24]WG、FE、体蛋白和体脂肪沉积无负面影响,同时对舌齿鲈血浆免疫物质和抗氧化酶活力^[24],以及金头鲷肌肉颜色无负面影响^[23]。以上结果说明,血粉或水解羽毛粉能替代金头鲷和舌齿鲈饲料中部分鱼粉,适宜替代比例分别为5%和55%^[23, 24]。

昆虫粉蛋白含量高、氨基酸平衡且饲料转化率高,是优质的动物性蛋白源^[25]。研究发现:黑水虻粉替代鱼粉比例分别为50%和45%时,对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[26]和舌齿鲈^[27]FE、WG、肠道发育和肠道消化酶活力无影响。综上,黑水虻粉能替代花鲈^[26]和舌齿鲈^[27]饲料中部分鱼粉,适宜替代比例分别为50%和45%。

2.2 鱼类饲料中植物蛋白源替代鱼粉技术

豆粕蛋白含量高,必需氨基酸组成较合理,是鱼类优质的植物蛋白源^[19]。研究发现:当饲料中豆粕替代鱼粉比例达27.3%~60%时,对花鲈^[28]、六须鲈(*Silurus glanis*)^[29]和棘鲷(*Sparidentex hasta*)^[30]生长性能无负面影响,这可能与其对花鲈等鱼类肠道生长发育、消化能力和肠道免疫力无影响有关^[28, 30]。因此,豆粕能替代花鲈^[28]、六须鲈^[29]和棘鲷^[30]饲料中部分鱼粉,适宜替代比例分别为50%、60%和27.3%。

菜粕是油菜籽榨油后的副产物,蛋白含量高且含硫氨基酸含量较丰富^[19]。研究发现:菜粕或发酵菜粕替代17%或56.25%鱼粉对乌苏里拟鲿^[31]和真鲷^[32]生长性能、体蛋白和体脂肪沉积无负面影响,这可能与其对乌苏里拟鲿^[31]消化能力、真鲷^[32]血浆抗氧化酶和溶菌酶活力无影响有关。以上结果说明,菜粕能替代乌苏里拟鲿^[31]和真鲷^[32]饲料中部分鱼粉,适宜替代比例分别为17%和56.25%。

除豆粕、菜粕外,棉粕也是鱼类饲料中常用的蛋白源,其蛋白含量高,营养组成较均衡且价格便宜^[19]。研究发现:饲料中棉粕替代25.3%-50%鱼粉对团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[33]、乌苏里拟鲿^[34]和比目鱼^[35]生长性能、消化器官生长发育、肝脏和血浆

中抗氧化酶活力、血浆免疫物质含量无负面影响。因此，棉粕能替代团头鲂^[33]、乌苏里拟鲮^[34]和比目鱼^[35]饲料中部分鱼粉，适宜替代比例分别为25.3%、35%和50%。

表2 草鱼植物蛋白饲料中诱食剂适宜添加水平

Table 2 The optimal supplemented level of phagostimulant in plant protein diet for grass carp					
体重（g）	添加物质	确定标识	确定模型	添加剂量	参考文献
255.0~744.0	牛磺酸	PWG	二次回归	1.05 g/kg	晏良超 ^[39]
		FI		1.04 g/kg	
		肠炎抵抗力		1.08 g/kg	
		赤皮抵抗力		1.12 g/kg	
		烂鳃抵抗力		1.09 g/kg	
		肌肉羟脯氨酸含量		1.02 g/kg	
216.0~685.0	DMPT	PWG	二次回归	282.78 mg/kg	Liu 等 ^[40]
		FI		278.30 mg/kg	
		赤皮抵抗力		279.28 mg/kg	

3. 鱼类饲料植物蛋白高效利用技术

3.1 提高鱼类摄食能力技术

由于植物蛋白缺乏诱食物质，适口性差，过量使用导致鱼类采食量降低，生长受阻^[36]。牛磺酸和DMPT具有很好的诱食作用，能促进鱼类摄食^[37, 38]。研究发现：植物蛋白饲料中添加适宜水平牛磺酸^[39]和DMPT^[40]提高了草鱼FI、FE和增重百分比（PWG），促进了草鱼生长。进一步研究揭示了牛磺酸通过调控NF-κB和TOR信号途径上调肠道、头肾、脾脏、鳃和皮肤等器官组织IL-10等抗炎细胞因子mRNA水平，提高溶菌酶等抗菌物质活力和含量，增强草鱼免疫功能，以及通过Nrf2信号途径提高肠道、头肾、脾脏、鳃和皮肤等器官组织抗氧化损伤能力，抑制细胞凋亡，下调MLCK信号分子提高紧密连接蛋白基因表达，增强组织器官结构完整性的作用机制^[39]。此外，植物蛋白饲料中添加适宜水平牛磺酸^[39]通过Nrf2信号途径上调了草鱼肌肉抗氧化酶基因表达和活力，改善了肌肉系水力等物化特性；提高了肌肉蛋白质、脂肪、风味氨基酸和多不饱和脂肪酸含量，改善了鱼肉品质。

根据不同标识确定植物蛋白饲料中诱食剂适宜添加水平见表2。以提高采食量确定的草鱼饲料中牛磺酸和DMPT最适添加水平分别为1.04 g/kg和278.3 mg/kg。

3.2 鱼类植物蛋白饲料中合成氨基酸替代利用技术

植物蛋白中通常赖氨酸和蛋氨酸不足，添加晶体赖氨酸和蛋氨酸利用效率低^[36]。蛋氨酸羟基类似物（MHA）、Met-Met和80赖氨酸分别比晶体蛋氨酸和赖氨酸稳定，能在鱼体分别发挥蛋氨酸和赖氨酸作用。研究发现：植物蛋白饲料中添加适宜水平MHA能提高建鲤^[41]和草鱼^[42]WG和FE，促进鱼类生长；同时能改善肌肉pH、剪切力、系水力等物化特性，提

高肌肉营养物质、风味氨基酸和多不饱和脂肪酸含量，改善鱼肉品质，且作用效果优于DL-Met。进一步研究揭示了适宜水平MHA通过Nrf2信号途径上调草鱼^[42-44]和建鲤^[45, 46]肠道等组织器官抗氧化酶mRNA水平和活力降低氧化损伤，抑制细胞凋亡^[42-44]，提高肠道等器官组织紧密连接蛋白基因表达^[42-44]，维持肠道等组织器官结构完整性的作用机制；同时也揭示了适宜水平MHA通过NF- κ B和TOR信号途径缓解肠道等组织器官炎症反应，提高抗菌物质含量或活性增强免疫功能的作用机制。蛋氨酸二肽^[47, 48]和80-Lys^[49]在草鱼上也有类似作用，且作用效果分别优于DL-Met和98-Lys。

以PWG或SGR为标识，确定草鱼饲料中MHA、Met-Met和80-Lys适宜添加水平分别为5.21 g/kg、1.61 g/kg和1.31%；以PWG为标识确定建鲤饲料中MHA适宜添加水平为8.2 g/kg（表3）。

表3 鱼类植物蛋白饲料中合成氨基酸或氨基酸衍生物添加量

Table 3 The optimal supplemented level of amino acid in plant protein diet for fish						
物种	体重（g）	添加物	确定标识	确定模型	添加剂量	参考文献
草鱼	255.0 ~744.0	MHA	PWG	二次回归	5.21 g/kg	Pan 等 ^[42]
			赤皮抵抗力		5.76 g/kg	
			肠炎抵抗力		5.83 g/kg	Pan 等 ^[44]
			烂鳃抵抗力		5.49 g/kg	潘飞雨 ^[43]
			肌肉剪切力		5.67 g/kg	
建鲤	8.4 ~55.0	MHA	PWG		8.2 g/kg	Xiao 等 ^[41]
			肠道蛋白羰基含量		8.5 g/kg	Xiao 等 ^[46]
			血浆 IgM 含量		8.8 g/kg	Kuang 等 ^[45]
草鱼	10.1 ~126.4 g	Met-Met	PWG		1.61 g/kg	Su 等 ^[47]
			肠炎抵抗力		1.64 g/kg	
			赤皮抵抗力		1.65 g/kg	苏玥宁 ^[48]
			烂鳃抵抗力		1.65 g/kg	
草鱼	276.0 ~667.0	80-Lys	SGR		1.31%	胡凯等 ^[49]
			FE		1.27%	

3.3 鱼类植物蛋白饲料中抗营养因子控制技术

植物蛋白中大豆球蛋白（11S）、 β -伴大豆球蛋白（7S）、棉酚等抗营养因子是影响植物蛋白高效利用的重要因素，同时也是破坏鱼体功能器官健康，导致鱼类生产成绩下降的主要因素^[50]。研究发现：植物蛋白饲料中8% 11S通过诱导幼建鲤肠道氧化损伤和炎症反应破坏了肠道结构完整性，降低了消化吸收能力，导致生产性能下降；而添加1.2% Gln能改善11S带来的负面效应^[51]。机体健康也是影响鱼类生长的重要因素。研究表明：植物蛋白饲料中8% 11S造成幼建鲤免疫器官头肾和脾脏氧化损伤，破坏了器官结构完整性导致免疫功能受

损，而添加1.2% Gln能改善11S带来的负面效应^[51]。7S^[52]、棉酚^[53]和单宁^[54]在草鱼上也有类似的研究结果，一定水平7S^[52]、棉酚^[53]和单宁^[54]破坏了鱼体组织器官结构完整性，导致鱼体健康下降生长受阻，但作用机制存在部分差异。

以SGR和PWG为标识，确定建鲤饲料中7S安全限量为8%，草鱼饲料中单宁和棉酚安全限量分别为20.51 g/kg和182 mg/kg。

表4 鱼类植物蛋白饲料中功能性添加剂添加水平

Table 4 The supplement of functional additive in plant protein diet for fish					
鱼种类	体重（g）	添加物	确定标识	添加剂量	参考文献
草鱼	255.0~744.0	丁酸钠	PWG	273.1 mg/kg	Tian 等 ^[56]
			肠炎抵抗力	339.9 mg/kg	
			赤皮抵抗力	339.9 mg/kg	田莉 ^[58]
			烂鳃抵抗力	278.9 mg/kg	
			肌肉剪切力	300.3 mg/kg	
草鱼	232.0~823.4 g	木聚糖酶	PWG	1527.7 U/kg	Jin 等 ^[59]
			肠炎抵抗力	1607.7 U/kg	
建鲤	8.0~99.0 g	木聚糖酶	PWG	1259.0 U/kg	Jiang 等 ^[60]
草鱼	215.0~854.0	甘露寡糖	PWG	425.8 mg/kg	卢致远 ^[61]
			肠炎抵抗力	499.1 mg/kg	
			赤皮抵抗力	509.6 mg/kg	
			烂鳃抵抗力	532.6 mg/kg	
			肌肉剪切力	444.4 mg/kg	
建鲤	8.0~37.0	甘露寡糖	WG	378.0 mg/kg	李云兰 ^[62]
草鱼	200.0~733.0	核苷酸	PWG	518.0 mg/kg	铁槐茂 ^[63]
			肠炎抵抗力	602.8 mg/kg	
			赤皮抵抗力	645.0 mg/kg	
			烂鳃抵抗力	553.6 mg/kg	
			肌肉剪切力	540.6 mg/kg	

注：模型均为二次回归

3.4 鱼类植物蛋白饲料中功能性物质利用技术

鱼类是低等动物，组织器官多不饱和脂肪酸含量高，易遭受氧化损伤，造成组织器官结构功能破坏，导致饲料利用率下降生长受阻^[55]。因此，在饲料中添加功能性物质增强鱼类组织器官结构与功能是提高鱼类健康促进生长的重要方式。研究发现：植物蛋白饲料中添加适宜水平丁酸钠提高了草鱼肠炎、赤皮和烂鳃病抵抗能力，提高了FE，促进了生长^[56-58]。同时揭示了丁酸钠通过NF-κB信号途径上调草鱼肠道、头肾、脾脏、鳃和皮肤等器官组织抗炎细胞因子基因表达缓解炎症反应，提高抗菌物质含量或活力增强免疫功能，以及通过Nrf2/Keap1信号途径提高草鱼肠道等组织器官抗氧化酶基因表达和活力降低氧化损伤，抑制

细胞凋亡和通过抑制MLCK信号途径上调紧密连接蛋白基因表达,增强组织器官结构完整性的作用机制^[56-58]。此外,植物蛋白饲料中添加丁酸钠通过Nrf2信号途径上调了草鱼肌肉中抗氧化酶mRNA水平和活力,改善了肌肉物化特性;同时提高了肌肉蛋白、脂肪、风味氨基酸和多不饱和脂肪酸含量,改善了肌肉品质^[58]。植物蛋白饲料中添加木聚糖酶^[59, 60]、甘露寡糖^[61, 62]和核苷酸^[63]对鱼类也有类似作用。

根据部分标识确定鱼类饲料中各功能性物质适宜添加水平见表4。以PWG标识,确定草鱼饲料中丁酸钠^[56]、木聚糖酶^[59]、甘露寡糖^[61]和核苷酸^[63]适宜添加水平分别为273.1 mg/kg、1527.7 U/kg、425.8 mg/kg和518.0 mg/kg;以PWG和WG为标识,确定建鲤饲料中木聚糖酶^[60]和甘露寡糖^[62]适宜添加水平分别为1259 U/kg和378 mg/kg。

4. 小结

综上,关于鱼类蛋白质高效利用技术研究已表明:(1)在鱼类植物蛋白饲料中添加适宜水平的酶解植物蛋白、提高脂肪或碳水化合物水平能降低鱼饲料中需要量蛋白水平,节约部分蛋白;(2)部分动植物蛋白源能替代鱼饲料中部分鱼粉,但在不同鱼上替代比例存在差异;(3)控制植物蛋白抗营养因子含量、在植物蛋白饲料中添加适宜水平诱食剂、合成氨基酸和功能性物质能通过保证或提高鱼类组织器官健康,增强鱼类疾病抵抗能力,提高饲料利用率,促进鱼类生长。但目前仍有较多非常规蛋白源有待进一步开发,同时仍有较多植物蛋白高效利用技术有待研究。

参考文献:

- [1] JIN Y, TIAN L X, XIE S W, et al. Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture*, 2015, 437: 75-83.
- [2] WATANABE T. Strategies for further development of aquatic feeds [J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(2): 242-252.
- [3] GATLIN III D M, BARROWS F T, BROWN P, et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review [J]. *Aquaculture research*, 2007, 38(6): 551-579.
- [4] DAN S K, BANERJEE G, NANDI A, et al. Nutritional evaluation of soybean meal after fermentation with two fish gut bacterial strains, *Bacillus cereus* LRF5 and *Staphylococcus caprae* CCF2 in formulated diets for *Labeo rohita* fingerlings [J]. *Journal of Fisheries*, 2017, 5(1).
- [5] ABDEL-TAWWAB M, AHMAD M H, KHATTAB Y A E, et al. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. *Aquaculture*, 2010, 298(3-4): 267-274.

- [6] SONG Z,LI H,WANG J,et al.Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance,blood biochemistry,gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)[J].Aquaculture,2014,426-427: 96-104.
- [7] XIAO W W,JIANG W D,FENG L,et al.Supplementation of enzyme-treated soy protein saves dietary protein and promotes digestive and absorptive ability referring to TOR signaling in juvenile fish[J].Fish Physiology and Biochemistry,2017,43(6):1657-1675.
- [8] SONG Y,FENG L,JIANG W D,et al.Enzyme-treated soy protein supplementation in low protein diet improved flesh sensory quality and healthiness referring to up-regulating antioxidant ability associated with Nrf2 and TOR signaling in fish[J].Fish Physiology and Biochemistry,2018:Under Review.
- [9] KAUSHIK S J,MÉDALE F.Energy requirements,utilization and dietary supply to salmonids[J].Aquaculture, 1994,124(1):81-97.
- [10] LIU S,FENG L,JIANG W D,et al.Impact of exogenous lipase supplementation on growth, intestinal function,mucosal immune and physical barrier,and related signaling molecules mRNA expression of young grass carp(*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology,2016,55:88-105.
- [11] KUMAR S,SAHU N P,RANJAN A.Feeding de-oiled rice bran(DORB)to Rohu,*Labeo rohita*:Effect of varying dietary protein and lipid level on growth,body composition,and insulin like growth factor(IGF)expression[J].Aquaculture,2018,492:59-66.
- [12] HUNG L T,BINH V T T,THANH TRUC N T,et al.Effects of dietary protein and lipid levels on growth,feed utilization and body composition in red tailed catfish juveniles(*Hemibagrus wyckioides*,Chaux&Fang 1949)[J].Aquaculture Nutrition,2017,23(2):367-374.
- [13] RAHIMNEJAD S,BANG I C,PARK J,et al.Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance,feed utilization and body composition of juvenile hybrid grouper,*Epinephelus fuscoguttatus*×*E. lanceolatus*[J].Aquaculture,2015,446:283-289.
- [14] REN M,AI Q,MAI K,et al.Effect of dietary carbohydrate level on growth performance,body composition,apparent digestibility coefficient and digestive enzyme activities of juvenile cobia,*Rachycentron canadum* L[J].Aquaculture Research,2011,42(10):1467-1475.
- [15] 胡毅,陈云飞,张德洪,等.不同碳水化合物和蛋白质水平膨化饲料对大规格草鱼生长,肠道消化酶及血清指标的影响[J].水产学报,2018(5):777-786.
- [16] CHENG Z Y,LI J H,ZHANG B L,et al.Verification of protein sparing by feeding carbohydrate to common carp *Cyprinus carpio*[J].Chinese Journal of Oceanology and Limnology,2017,35(2): 251-257.

- [17] SALAS-LEITON E, CONDE-SIEIRA M, PELUSIO N, et al. Dietary protein/carbohydrate ratio in low-lipid diets for Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) juveniles. Influence on growth performance, nutrient utilization and flesh quality[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(1):131-142.
- [18] ZENG L, LEI J, AI C, et al. Protein-sparing effect of carbohydrate in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different salinities[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2015, 33(1):57-69.
- [19] 付闰吉. 利用廉价动物蛋白原料替代饲料中鱼粉对点带石斑鱼摄食, 生长, 食物利用和氮, 磷排放的影响[D]. 浙江: 浙江大学, 2010.
- [20] TANG B, BU X, LIAN X, et al. Effect of replacing fish meal with meat and bone meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion for juvenile *Pseudobagrus ussuriensis*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(2):894-902.
- [21] MOUTINHO S, MARTÍNEZ-LLORENS S, TOMÁS-VIDAL A, et al. Meat and bone meal as partial replacement for fish meal in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles: Growth, feed efficiency, amino acid utilization, and economic efficiency[J]. *Aquaculture*, 2017, 468:271-277.
- [22] HERNANDEZ C, GONZALEZ SANTOS A, VALVERDE ROMERO M, et al. Partial replacement of fishmeal with meat and bone meal and tuna byproducts meal in practical diets for juvenile spot ted rose snapper *Lutjanus guttatus*[J]. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 2016, 44(1):56-64.
- [23] MARTÍNEZ-LLORENS S, VIDAL A T, MOÑINO A V, et al. Blood and haemoglobin meal as protein sources in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): effects on growth, nutritive efficiency and fillet sensory differences[J]. *Aquaculture Research*, 2008, 39(10):1028-1037.
- [24] CAMPOS I, MATOS E, A M, et al. Hydrolyzed feather meal as a partial fishmeal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2017, 476:152-159.
- [25] SÁNCHEZ-MUROS M, BARROSO F G, MANZANO-AGUGLIARO F. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2014, 65:16-27.
- [26] 胡俊茹, 王国霞, 莫文艳, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对鲈鱼幼鱼生长性能, 体组成, 血浆生化指标和组织结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2018(02):613-623.
- [27] RUI MAGALHÃES, ANTONIO SÁNCHEZ-LÓPEZ, RENATO SILVA LEAL, et al. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture*, 2017, 476:79-85.

- [28] ZHANG C, RAHIMNEJAD S, WANG Y, et al. Substituting fish meal with soybean meal in diets for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*): Effects on growth, digestive enzymes activity, gut histology, and expression of gut inflammatory and transporter genes[J]. *Aquaculture*, 2018, 483: 173-182.
- [29] KUMAR S, SÁNDOR Z J, NAGY Z, et al. Potential of processed animal protein versus soybean meal to replace fish meal in practical diets for European catfish (*Silurus glanis*): growth response and liver gene expression[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(5): 1179-1189.
- [30] YAGHOUBI M, MOZANZADEH M T, MARAMMAZI J G, et al. Dietary replacement of fish meal by soy products (soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*) [J]. *Aquaculture*, 2016, 464: 50-59.
- [31] BU X, WANG Y, CHEN F, et al. An evaluation of replacing fishmeal with rapeseed meal in the diet of *Pseudobagrus ussuriensis*: growth, feed utilization, nonspecific immunity, and growth related Gene Expression[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2017.
- [32] DOSSOU S, KOSHIO S, ISHIKAWA M, et al. Effect of partial replacement of fish meal by fermented rapeseed meal on growth, immune response and oxidative condition of red sea bream juvenile, *Pagrus major* [J]. *Aquaculture*, 2018, 490: 228-235.
- [33] ZHOU Q, HABTE-TSION H, GE X, et al. Growth performance and TOR pathway gene expression of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*, fed with diets replacing fish meal with cottonseed meal [J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(7): 3693-3704.
- [34] BU X, CHEN A, LIAN X, et al. An evaluation of replacing fish meal with cottonseed meal in the diet of juvenile Ussuri catfish *Pseudobagrus ussuriensis*: Growth, antioxidant capacity, nonspecific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* [J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 829-837.
- [35] BIAN F, ZHOU H, HE G, et al. Effects of replacing fishmeal with different cottonseed meals on growth, feed utilization, haematological indexes, intestinal and liver morphology of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(6): 1429-1439.
- [36] OLIVA-TELES A, ENES P, H P. Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish: Feed and Feeding Practices in Aquaculture[Z]. Oxford: Woodhead Publishing, 2015, 203-233.
- [37] 刘兴旺, 麦康森, 艾庆辉. 动植物蛋白源及牛磺酸对大菱鲆摄食、生长及体组成的影响[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2018, 48(5): 25-31.
- [38] 赵红霞, 曹俊明, 周萌, 等. 二甲基- β -丙酸噻亭对凡纳滨对虾幼虾生长、蜕壳和渗透调节的影响[J]. *水产学报*, 2006(03): 404-409.

- [39] 晏良超.牛磺酸对草鱼生产性能,肠道,鳃和机体健康及肉质的作用及其机制[D].成都:四川农业大学,2017.
- [40] LIU X W,FENG L,JIANG W D,et al.DMPT enhanced fish immunity via modulation of NF- κ B, TOR, MLCK, MAPKs and Nrf2 signaling in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology, 2018:Under Review.
- [41] XIAO W W,FENG L,LIU Y,et al.Effects of dietary methionine hydroxy analogue supplement on growth,protein deposition and intestinal enzymes activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J].Aquaculture Nutrition,2011,17(4):408-417.
- [42] PAN F Y,FENG L,JIANG W D,et al.Methionine hydroxy analogue enhanced fish immunity via modulation of NF- κ B, TOR, MLCK, MAPKs and Nrf2 signaling in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Fish&Shellfish Immunology,2016,56:208-228.
- [43] 潘飞雨.蛋氨酸羟基类似物对生长中期草鱼生长,肠道,机体和鳃健康以及肌肉品质的影响及其作用机制[D].成都:四川农业大学,2016.
- [44] PAN F Y,WU P,FENG L,et al.Methionine hydroxy analogue improves intestinal immunological and physical barrier function in young grass carp(*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology,2017,64: 122-136.
- [45] KUANG S Y,XIAO W W,FENG L,et al.Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J].Fish&Shellfish Immunology,2012,32(5):629-636.
- [46] FENG L,XIAO W W,LIU Y,et al.Methionine hydroxy analogue prevents oxidative damage and improves antioxidant status of intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp(*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. Aquaculture Nutrition,2011,17(6):595-604.
- [47] SU Y N,WU P,FENG L,et al.The improved growth performance and enhanced immune function by DL-methionyl-DL-methionine are associated with NF- κ B and TOR signalling in intestine of juvenile grass carp(*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology, 2018,74:101-118.
- [48] 苏玥宁.蛋氨酸二肽对幼草鱼生产性能,肠道,鳃和机体健康的作用及其机制[D].成都:四川农业大学,2017.
- [49] 胡凯,苏玥宁,冯琳,等.80% 赖氨酸硫酸盐与 98% 赖氨酸盐酸盐对生长中期草鱼生长性能,消化吸收能力和消化器官生长发育影响的比较研究[J].动物营养学报,2017, 29(12):4372-4385.
- [50] PRABU E,RAJAGOPALSAMY C B T,AHILAN B,et al.An overview of anti-nutritional factors in fish feed ingredients and their effects in fish[J].Journal of Aquaculture in the Tropics,2017,32(1/2):149.

- [51] JIANG W D,HU K,ZHANG J,et al.Soyabean glycinin depresses intestinal growth and function in juvenile Jian carp(*Cyprinus carpio* var Jian);protective effects of glutamine[J]. British Journal of Nutrition,2015, 114(10):1569-1583.
- [52] ZHANG J X,GUO L Y,FENG L,et al.Soybean β -conglycinin induces inflammation and oxidation and causes dysfunction of intestinal digestion and absorption in fish[J].PloS one,2013,8(3):e58115.
- [53] WANG K Z,JIANG W D,WU P,et al.Gossypol reduced the intestinal amino acid absorption capacity of young grass carp(*Ctenopharyngodon idella*)[J].Aquaculture,2018,492:46-58.
- [54] LI M,FENG L,JIANG W D,et al.Tannin impaired immune function of the immune organs in young grass carp(*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology,2018:Under Review.
- [55] JIANG W D,FENG L,LIU Y,et al.Myo-inositol prevents oxidative damage,inhibits oxygen radical generation and increases antioxidant enzyme activities of juvenile Jian carp(*Cyprinus carpio* var. Jian)[J].Aquaculture Research,2009,40(15):1770-1776.
- [56] TIAN L,ZHOU X Q,JIANG W D,et al.Sodium butyrate improved intestinal immune function associated with NF- κ B and p38MAPK signalling pathways in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology,2017,66:548-563.
- [57] WU P,TIAN L,ZHOU X Q,et al.Sodium butyrate enhanced physical barrier function referring to Nrf2,JNK and MLCK signaling pathways in the intestine of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Fish&Shellfish Immunology,2018,73:121-132.
- [58] 田莉.丁酸钠对草鱼肠道,鳃和机体健康及肌肉品质的作用及其机制[D].成都:四川农业大学,2017.
- [59] JIN Y L,ZHOU X Q,JIANG W D,et al.Xylanase supplementation in plant protein-enriched diets improves intestinal immune function related to NF- κ B and TOR signaling pathway in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J].Fish&Shellfish Immunology,2018:Under Review.
- [60] JIANG T T,FENG L,LIU Y,et al.Effects of exogenous xylanase supplementation in plant protein-enriched diets on growth performance,intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp(*Cyprinus carpio* var. Jian)[J].Aquaculture Nutrition,2014,20(6):632-645.
- [61] 卢致远.甘露寡糖对草鱼生产性能,头肾和脾脏免疫功能的作用及其机制[D].成都:四川农业大学,2018.
- [62] 李云兰.甘露寡糖对幼建鲤(*Cyprinus carpio* Var. Jian)肠道菌群和免疫功能的影响[D].雅安:四川农业大学,2004.
- [63] 铁槐茂.核苷酸对生长中期草鱼生产性能,功能器官健康及肌肉品质的作用及机制[D].成都:四川农业大学,2018.

Advanced Research in Protein Efficient Utilization of Fish

Xiaoqiu Zhou

(Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Dietary protein is the major energy provider for fish normal growth, and fish generally have a higher protein requirement. However, stagnant supply as well as increasing demand has resulted in higher prices for fish meal. The imbalanced amino acid profile and anti-nutritional factors in plant feedstuffs lead to a poor digestibility and absorptivity, causing resource waste and water environmental pollution, finally depressing fish disease resistance. Decreasing dietary protein level, replacement of fish meal and increasing plant protein utilization is important way to improving protein efficient utilization of fish. Many studies have shown that increasing lipid or carbohydrate may contribute to spare protein; Fish meal could be partially substituted by other animal and plant protein; Exogenous adding functional ingredients like phagostimulant could improve plant protein utilization. Therefore, this article reviewed the advanced research on fish protein utilization technology (e.g. dietary low protein technology, fishmeal replacement technology and plant protein efficient utilization technology).

Key words: fish; protein efficient utilization; low protein; fishmeal replacement; plant protein efficient utilization

Use of probiotics in aquaculture of China-a review of the past decade

Anran Wang^{1,2*} Chao Ran^{2*} Yanbo Wang³ Zhen Zhang² Qianwen Ding² Yalin Yang² Rolf Erik Olsen⁴ Einar Ringø⁵
Jérôme Bindelle¹ and Zhigang Zhou²

¹Liege University, Gembloux Agro-Bio Tech, AgroBioChem/TERRA, Precision livestock and nutrition unit/AgricultureIsLife, Passage des Deportes, 2, 5030, Gembloux, Belgium

²Sino-Norway Fish Gastrointestinal Microbiota Joint Lab, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, P. R. China

³Marine Resource & Nutritional Biology, Food Quality and Safety Department, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, China

⁴Norway-China Fish Gastrointestinal Microbiota Joint Lab, Institute of Biology, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway

⁵Norway-China Fish Gastrointestinal Microbiota Joint Lab, Faculty of Biosciences, Fisheries and Economics, UiT The Arctic University of Norway, Tromsø, Norway

Correspondence: Zhi G. Zhou, Key Laboratory for Feed Biotechnology of the Ministry of Agriculture, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China. Email: zhouzhigang03@caas.cn

*These authors contributed equally to this study.

Abstract

Previously, chemical additives and veterinary medicines especially antibiotics were extensively used to ensure the development of the intensive and large-scale aquaculture industry; however, the use of antibiotics causes safety- and environment-associated problems. As an alternative strategy to antibiotics, probiotics have attracted attention in aquaculture. The use of probiotics emerged in Chinese aquaculture in 1980`s and since then a wide range of bacteria have been reported as potential probiotic candidates. However, use of probiotics in Chinese aquaculture is still at an initial stage, and there are potential risks for some probiotic applications in aquaculture. This review discusses species, effects, and mode of actions of probiotics in Chinese aquaculture since 2008. Challenges and future directions for research are also discussed.

Key words: probiotics; Chinese aquaculture; feed additive; *Bacillus*; antibiotics

Introduction

Aquaculture has a long history and started in China more than 2000 years ago [1]. It is a fast-growing and rapidly expanding industry, and it is reported that food fish provides an average of one-fifth of the total animal protein intake of the world population [2]. Aquaculture in China accounts for nearly 70% of world aquaculture production, and the total production rose from 2.33 million tons in 1978 to 51.42 million tons in 2016, making China the only country in the world where aquaculture production exceeds the wild catch (FAO 2015). A major threat to intensive aquaculture is viral and bacterial disease outbreaks, leading to massive mortalities and economic loss. For many Chinese fish species and other invertebrate species like shrimps and sea cucumber, vaccines are not available, and will hardly be in the near future. For these species the only treatment of diseases has been through extensive use of chemical additives and veterinary medicines, especially antibiotics [3]. However, the abuse of antibiotics is linked to many secondary complications like modulation of the “normal” microbiota in the culture environment, antibiotic accumulation in edible products, and the continuously rising cost for disease treatment [4-6]. In addition, there is a general concern over the increased numbers of antibiotic resistant strains of bacteria in our environment. To reduce the abuse of antibiotics in aquaculture, many alternative solutions have been suggested particularly when vaccines are not available. These include antimicrobial peptide, herb extracts, pro-, pre- and synbiotics, and among them, probiotics have received particular attention due to the high abundance, low cost and convenience in application.

The Food and Agricultural Organization (FAO) and World Health Organization (WHO) define probiotics as “live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host” [7]. However, the probiotics for aquatic usage are different from probiotics for terrestrial animals and human. The key factor that contributes to this difference is the intricate relationship aquatic animals have with the ambient environment when compared with that of terrestrial animals. Taking this into account, Verschuere et al. suggested the definition of probiotics for aquatic animals as “a live microbial adjunct which has a beneficial effect on the host by modifying the host-associated or ambient microbial community, by ensuring improved use of the feed or enhancing its nutritional value, by enhancing the host response towards disease, or by improving the quality of its ambient environment” [8]. We would adhere to this definition, and will summarize live microbial adjuncts applied by dietary supplementation or as water additives in this review. Notably, some scientists define aquatic probiotics as an entire or component(s) of a microorganism [9, 10]. While the functional components of probiotics are very important, it is more appropriate to define them as “probiotic effectors”, which cannot be considered as probiotics.

During the last decade, several reviews have suggested that probiotics are promising alternatives to antibiotics in aquaculture, by improving growth performance, immune responses, disease resistance, or water quality [11-14]. Qi et al. summarized probiotic studies in Chinese aquaculture from 1988 to 2008

[12]. However, as numerous studies have been published on probiotics in Chinese aquaculture since 2008, an update is needed. Therefore, the current paper addressed the use of probiotics in Chinese aquaculture from 2008 and until today. Furthermore, issues associated with probiotics in Chinese aquaculture that merit further investigations are also discussed.

The microorganisms applied as probiotics in aquaculture of China

Probiotics used in Chinese aquaculture have a diverse origin. Most of them are either derived from the intestines of the host animals [15-18], or isolated from the environments [19-23]. When discussing probiotics, it is of interest to notice that some of the probiotic bacteria have been developed into commercial products [24-27] (Table 1). The microbial organisms used as probiotics or tested as potential probiotics in Chinese aquaculture belong to various taxonomic divisions, including Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria and yeast.

Actinobacteria *Arthrobacter*

Arthrobacter is a genus of Gram-negative, obligate aerobe rods or cocci, and they have been identified successfully from the gastrointestinal (GI) tract of several finfish species [28-30]. However, less information is available on probiotic *Arthrobacter*. In an early study with Chinese white shrimp (*Penaeus chinensis*) by Li et al. [31], an *Arthrobacter* XE-7 isolated from Chinese white shrimp showing antagonisms towards *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio nereis* was added to the rearing water. As this treatment revealed protection of shrimp post larvae against pathogenic vibrios, the authors suggested that *Arthrobacter* XE-7 could be probiotic in shrimp larvae culture. Furthermore, *Arthrobacter* sp. CW9 isolated from the gut of white shrimp (*Penaeus vannamei*) improved survival and growth rates, phenoloxidase activity, phagocytic activity and clearance efficiency of haemocytes of white shrimp when added to the rearing water during a breeding experiment [32].

Bacteroidetes *Flaviramulus*

Flaviramulus ichthyoenteri Th78^T, a novel species in family Flavobacteriaceae, was isolated from flounder (*Paralichthys olivaceus*) and showed strong quorum quenching (QQ) ability [33, 34]. The genome of strain Th78^T has been sequenced and genome information suggests production of QQ enzyme, utilization of various nutrients available in the intestine, as well as production of digestive enzymes and vitamins, which suggests the prospect of Th78^T to be used as a probiotic in aquaculture [33, 34].

Flavobacterium

Genus *Flavobacterium* is Gram-negative, rod-shaped, non-motile and motile bacteria, and they have been reported in the GI tract of several fish species [28, 29, 35-37], but several species are known to cause disease in fish [38, 39]. *Flavobacterium sasangense* BA-3, an autochthonous intestinal strain isolated from common carp (*Cyprinus carpio*), has been suggested as probiotics [15]. In this study, dietary supplementation of bacterial cells or extracellular products of BA-3 positively influenced the innate

immune parameters of carp (lysozyme, complement C3, total serum protein, albumin and globulin levels, respiratory burst activity, phagocytic activity by blood leucocytes and the expression of IL-1 β , lysozyme-C, and TNF- α in blood). Moreover, both bacterial cells and extracellular products of *F. sasangense* BA-3 improved resistance of carp against *Aeromonas hydrophila* infection.

Firmicutes *Bacillus*

Bacillus species are one of the most widely used probiotics in aquaculture [9, 40]. According to Gatesoupe's study, *Bacillus* strains were introduced as probiotics in aquaculture in the 90ties [40]. They can exert *in vitro* antagonistic or inhibitory activities against a variety of bacterial and fungal pathogens, provide digestive enzymes, activate growth factors, and regulate the immunity of aquatic animals [41-45].

Numerous studies, have revealed that supplementation of *Bacillus* to the diet improved growth performance, digestive enzyme activities, antioxidant function, immune responses, and disease resistance of fish [22, 46-52]. The *Bacillus* species used include *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* [21, 22, 26, 50, 53-56], *B. pumilus* [46, 57], *B. clausii* [46], *B. cereus* [45], *B. coagulans* [19, 23, 52], and *B. velezensis* [56].

Bacillus strains have also been used as probiotics for invertebrate aquatic species [20, 58, 59]. Four studies on sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) revealed that *B. subtilis* T13, *Bacillus baekryungensis* YD13, *Bacillus cereus* G19, *B. cereus* BC-01, and *B. cereus* EN25 significantly enhanced growth performance, immunity and disease resistance of sea cucumber against *Vibrio splendidus* [60-63]. The commercial probiotic product BZT[®], containing *B. subtilis* YB-1 (50%) and *B. cereus* YB-2 (50%), stimulated non-specific immune responses and enhanced growth performance of sea cucumbers, and was effective in controlling infection caused by *V. alginolyticus* [24]. Some studies using *B. subtilis* S12 and *Bacillus* PC465 revealed improved growth performance, non-specific immunity and disease-resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [64, 65]. Two strains, *B. subtilis* DCU and *B. pumilus* BP, were reported to have potential application by controlling pathogenic vibriosis in mud crab (*Scylla paramamosain*) aquaculture [16].

Use of heat-inactivated bacilli has been investigated in two recent studies. Yan et al. demonstrated that heat-inactivated *B. pumilus* SE5 could effectively improve growth performance and remarkably up-regulated expression of TLR2 and pro-inflammatory cytokines (IL-8 and IL-1 β) in head kidney of grouper (*Epinephelus coioides*) [57]. More recently, Wang et al. revealed that heat-inactivated *Bacillus clausii* DE5 improved feed utilization and the expression of TLR5, pro-inflammatory cytokines (IL-8 and IL-1) and TGF-1 in the head kidney and intestine of grouper [66].

Some *Bacillus* strains applied as water additives showed similar beneficial effects to the aquatic animals as those supplemented in the diet. Zhou et al. (2009) reported that probiotic, *B. coagulans* SC8168, supplemented as water additive at a certain concentration, could significantly increase survival rate and the

activity of some digestive enzymes of shrimp larvae. Zhou et al. demonstrated that the superoxide dismutase (SOD) activity of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) was increased significantly after treatment with *B. subtilis* B10 and *B. coagulans* B16 as water additives [67]. Furthermore, *Bacillus* has also been frequently reported to improve the water quality when applied as water additives. The *Bacillus* genus has nitrification and de-nitrification functions [68-70]. Liang et al. reported that supplementation of *B. licheniformis* BSK-4 removed nitrogen and modulated the microbial community in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) pond water [21]. Wu et al. showed that *B. subtilis* FY99-01 improved the water quality by reducing the levels of pH, nitrite and soluble reactive phosphorus when added to the culture water of Pacific white shrimp. In addition, weekly addition of FY99-01 showed influence on the bacterial community of culture water. It increased the abundance of beneficial microalgae (Bacillariophyta and Chlorophyta), and decreased the abundance of Vibrionaceae on day 84 post initial addition [26].

Clostridium butyricum

Clostridium butyricum is Gram-positive, obligate anaerobic and endospore-forming probiotic, which can provide short-chain fatty acids (SCFA) especially butyric acid for the regeneration and repair of the intestinal epithelium, and regulation of intestine micro-ecological environment [71, 72]. Besides, *C. butyricum* can also adapt to lower pH and higher temperatures and is resistant to many antibiotics [73, 74]. *C. butyricum* has been used as probiotic for the prevention of human and veterinary intestinal diseases [75], as well as in some aquaculture studies [27, 76, 77]. *C. butyricum* and its culture supernatants inhibited growth and adherence of *Salmonella enteritidis* and *V. parahaemolyticus* to fish intestinal epithelial cells (FIECs) [76]. Furthermore, diets supplemented with *C. butyricum* improved growth performance, immune response, and digestive enzyme activity in silver pomfret (*Pampus argenteus*) [77]. Later, Duan et al. reported that *C. butyricum* improved growth performance and body crude protein content, increased intestinal SCFA, and enhanced intestine immune function against ammonia stress in Pacific white shrimp [27].

Enterococcus

Enterococcus faecium strain has been proposed as probiotics for human use due to the antagonistic effect on enteroaggregative *Escherichia coli* [78]. Sun et al. isolated an *Enterococcus faecium* MM4 from the whole intestinal tract of healthy juvenile grouper [79]. This strain exhibited *in vitro* antagonism against *Vibrio metschnikovi*, *Vibrio harveyi* and *Staphylococcus aureus*, and improved the feed efficiency and immune response of groupers when added in feed [80-82]. Cui et al. identified two strains, *E. faecalis* LS1-2 and *E. faecium* Z1-2, which showed significant antimicrobial activities against shrimp pathogens and were suggested to be good candidates of shrimp probiotics [83]. Recently, the probiotic strain *E. faecalis* LC3 isolated from marine fish significantly improved the alkaline phosphatase (AKP) activity and up-regulated gene expression levels of Rel, CASP2, HSP 90, HSP70 of sea cucumber [84].

Lactic acid bacteria (LAB)

Bacteria belonging to LAB are classified in phylum Firmicutes, class Bacilli and order Latobacillales. They can be isolated from intestine of numerous fish species, and their potential as probiotics was recently discussed in the comprehensive review of Ringø et al. [85].

Lactobacillus

Lactobacillus supplementation was shown to improve growth and disease resistance of tilapia, and was recommended for commercial aquaculture production systems [86]. Wang et al. indicated that adding *Lactobacillus* into basal diet promoted growth performance, increased digestive enzyme activities, and enhanced non-specific immunity in shrimp [87]. Huang et al. reported that dietary supplementation of *Lactobacillus* improve antioxidant activity, immune capacity (serum acid phosphatase and lysozyme activity) and resistance of tilapia against *A. hydrophila* in a challenge trial [88]. Qin et al. demonstrated that *L. casei* BL23 significantly increased fecundity in zebrafish (*Danio rerio*) [89]. The administration of cell-free extract of *Lactobacillus plantarum* could effectively improve the growth performance and anti-stress capacity of Pacific white shrimp [90, 91]. Dietary supplementation of heat-killed *L. plantarum* L-137 (HK L-137) and *L. plantarum* LL11 improved growth, digestive enzyme activities and non-specific immune parameters of sea cucumber [84, 92]. Yu et al. reported that *L. plantarum* CCFM639 significantly enhanced feed utilization and growth performance, while alleviated aluminum toxicity in tilapia [93]. Moreover, Zhai et al. reported that dietary *L. plantarum* CCFM8661 alleviated Pb-induced toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [94]. Gao et al. showed that *Lactobacillus pentosus* supplemented to diets enhanced food intake and growth of abalones (*Haliotis discus hannai*), and improved the non-specific immunity (total number of blood lymphocytes, lysozyme activity, acid phosphatase (ACP), superoxide dismutase and expression levels of Mn-superoxide dismutase (*Mn-SOD*) and thioredoxin peroxidase (*TPx*) and resistance of abalones against *V. parahaemolyticus* infection [95]. Furthermore, Xie et al. reported that a *L. plantarum* screened from the aquaculture environment has high nitrite removal ability, and suggested that *L. plantarum* could be promising microorganism for water purification in aquaculture [96].

Lactococcus lactis

In a study with tilapia, Zhou et al. revealed that *Lactococcus lactis* RQ516 enhanced growth and protected the fish against *A. hydrophila* infection [97]. *Lactococcus lactis* MM1 exhibited *in vitro* antagonistic activity against fish pathogens, such as *Staphylococcus aureus*, *V. parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, and *Vibrio metschnikovi* [80, 98], and improved the feed utilization and immune responses (serum complement component 3 (C3) levels and serum lysozyme activity) of juvenile grouper [82]. *L. lactis* LH8, isolated from marine fish, showed positive effects on immune response in sea cucumber [84].

Leuconostoc lactis

Leuconostoc lactis, isolated from the intestinal tract of black porgy (*Sparus microcephalus*), was evaluated

as a potential probiotic strain for aquaculture [99]. The results showed that *Leu. lactis* had high tolerance to bile, low pH, trypsinase and pepsin conditions. Moreover, *in vitro* studies revealed that it co-aggregates with some pathogens, such as *V. parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* and *Proteus bacillus vulgaris*. Although the strain was not tested *in vivo*, the author speculated that *Leu. lactis* might be a putative probiotic strain in marine aquaculture.

Weissella confusa

Weissella confusa strain LS13 isolated from marine animals (no specification given) by Li et al. showed inhibitory effects against some fish pathogens (*Vibrio splendius*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus*), but dietary *W. confusa* (WC group) showed no effect on growth performance, AKP, lysozyme and SOD activities in sea cucumber [84]. However, ACP activity was significantly higher in the WC group vs. control. In WC group, heat shock protein 60 (HSP60) was the most up-regulated gene at day 30, but first it was down regulated at day 15. Similar expression pattern was noticed for NF-kappa-B transcription factor p65 (Rel), in contrast to heat shock protein 90 (HSP90) and nitric oxide synthase (NOS), which were down regulated at all-time points.

Proteobacteria

Aeromonas

Although *Aeromonas* species have typically been considered as opportunistic pathogens in the aquatic environment, several *Aeromonas* species are also commensal members in fish intestinal microbiota [100], and some of *Aeromonas* strains have been tested as potential probiotics in aquaculture. Dietary supplemented *Aeromonas veronii* BA-1 enhanced cellular (respiratory burst activity, phagocytic capacity) and humoral immune responses (serum protein, albumin, globulin values and lysozyme activity) and disease resistance of common carp against *A. hydrophila* infection [15]. Part of the immunostimulatory activity of *Aeromonas* spp. seems to reside in their extracellular products [17, 59].

Bdellovibrio

Bdellovibrio and like organisms (BALOs) are a group of motile and parasitic proteobacteria that prey on other Gram-negative bacteria for growth, reproduction, and survival [101]. *Bdellovibrio* was approved for animal use by the Chinese Ministry of Agriculture in 1994, and BALOs have been tested as probiotic/biocontrol agents in aquaculture for many years [102]. BALOs are known to (i) reduce the total bacterial number and/or *Vibrio* population in the rearing water [103-108], (ii) improve water quality, (iii) reduce bacterial infection in fish [108, 109], and (iv) promote survival and growth [102, 106-108].

Ectothiorhodospira

Ectothiorhodospira shaposhnikovii WF, a photosynthetic purple sulphur bacterium, was isolated from a marine shrimp pond and act both as bioremediation agent and nutrient source and can benefit white shrimp larvae at an appropriate dose [110].

Halomonas

Halomonas species demonstrated to play an important ecological role because of their abundance in hypersaline environments [111] and they are also very interesting for biotechnological purposes for producing exoenzymes and other substances of commercial interest [111, 112]. Zhang et al. isolated a *Halomonas* sp. B12 from the intestine of shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). Dietary inclusion of the strain improved the resistance of shrimp to white spot syndrome virus (WSSV) in a challenge trial [113].

Paracoccus

Paracoccus marcusii DB11 was isolated from healthy sea cucumber intestines and culture ponds [114]. It has been shown to effectively reduce the concentrations of COD, ammonia, and nitrite in sea cucumber feed leachate [114] and inhibit the growth of *Vibrio splendidus*, which causes skin ulceration syndrome in sea cucumbers. *P. marcusii* DB11 stimulated the immune system of juvenile sea cucumber and enhanced their resistance against *V. splendidus* [115]. Moreover, *P. marcusii* DB11 supplementation showed a positive effect on the growth performance and immune response in coelomocytes and the intestine of sea cucumbers [62].

Pseudomonas

Pseudomonas stutzeri is distributed widely in the environment, occupying diverse ecological niches, and has been proposed as a model organism for denitrification studies [116] *P. stutzeri* strain SC221-M improved both water quality and microbial community structure in farmed carp system [117]. Fu et al. showed that the addition of *P. stutzeri* F11 to an experimental grass carp aquaculture system decreased nitrogen levels and modulated water microbial community [118].

Pseudoalteromonas

Pseudoalteromonas is a genus of marine bacteria. In a study with sea cucumber, 224 bacterial strains were isolated from the intestine [119]. One of the strains, *Pseudoalteromonas elyakovii* HS1, improved total coelomocytes counts, respiratory burst activity, lysozyme activity, ACP activity, and phagocytic activity of sea cucumber when supplemented to the basal diet. Ma et al. revealed that marine *Pseudoalteromonas* sp. BC228 improved the digestive enzyme activities (trypsin and lipase activities), immune response (phagocytic and lysozyme activities) and disease resistance of juvenile sea cucumber against *V. splendidus* infection in a challenge trial [120]. Furthermore, *P. piscicida* SW-1, isolated from seawater in a clam farm, was proved to protect clams from the infection of *V. alginolyticus* (V.-MP-1), indicating that SW-1 could be used as a probiotic to protect farmed clams [121].

Psychrobacter

Genus *Psychrobacter* belongs to the family Moraxellaceae and has been reported as commensal members in the GI tract of several fish species [30, 79, 122], and can inhibit *in vitro* growth of *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas salmonicida* [122]. In an *in vitro* study, *Psychrobacter* sp. SE6, isolated from the gut of fast-growing grouper showed antagonistic activity against *V. harveyi*, *V. metschnikovi* and *V. alginolyticus* [79]. In a subsequent 60-day feeding trial, dietary supplementation of *Psychrobacter* sp. SE6 significantly improved feed conversion ratio and complement 4 (C4) of juvenile grouper [123]. Further, Yang et al. evaluated the effect of dietary *Psychrobacter* sp. SE6 on the autochthonous (adherent) microbial diversity in fore-, mid- and hindgut of grouper, and revealed that samples from the probiotic group displayed different DGGE patterns compared with control group. Total number of bands and Shannon index of the fore-, mid- and hindgut samples in the probiotic group were significantly higher than those in the control group. Some potentially beneficial bacteria were stimulated, while some potentially harmful species, such as *Staphylococcus saprophyticus*, were suppressed [124]. Furthermore, Xia et al. showed that both the viable and heat-inactivated *Psychrobacter* sp. SE6 revealed positive effects on feed utilization and immunity in grouper [125].

Rhodopseudomonas

A photosynthetic purple non-sulfur bacterial strain, *Rhodopseudomonas palustris* G06, improved the growth performance of juvenile white shrimp when administered as a water additive [126]. *R. palustris* G06 furthermore increased growth and immune function of tilapia when added to the water [19]. Wang also reported that dietary supplemented *R. palustris* improved growth performance of grass carp fingerlings [127]. Moreover, Zhang et al. reported that adding *R. palustris* to grass carp water significantly reduced the nitrogen levels as it modulates the microbial community [128].

Shewanella

Shewanella species are facultatively anaerobic Gram-negative rods, most of which are found in extreme aquatic habitats [129]. *Shewanella* bacteria are a normal component of the surface and intestinal microbiota of fish, and are implicated in fish spoilage [130]. The use of *Shewanella* as probiotics has been reported in various aquatic species. Jiang *et al.* isolated *Shewanella colwelliana* WA64 and *Shewanella olleyana* WA65 from the gut of abalone [131]. Dietary supplementation of WA64 and WA65 promoted growth, enhanced cellular and humoral immune responses of abalone, and decreased mortality of juvenile abalone after challenge with *Vibrio harveyi* [132]. Similarly, *S. japonica* HS7 isolated from the intestine of healthy sea cucumber enhanced growth, survival, and cellular and humoral immune responses of sea cucumber when added in diet at 10^9 cell g⁻¹ [119]. Hao et al. showed that *Shewanella haliotis* D4 improved growth, innate immunity (respiratory burst, SOD and ACP activities; expression of prophenoloxidase and beta-1, 3-glucan-binding protein) and disease resistance of Pacific white shrimp [59]. The same authors further showed that dietary administration of *S. xiamenensis* A-1 and *S. xiamenensis* A-2 improved the

composition of intestinal microbial community and enhanced the immunity in grass carp [17, 133].

Vibrio

Although isolates of *Vibrio* spp. are commonly believed to be pathogenic for aquatic animals [134], some avirulent strains have been suggested to have probiotic properties [135, 136]. It has been reported that *Vibrio* sp. V33 isolated from healthy sepia has strong antagonistic activity against pathogenic *V. splendidus* Vs [137]. Chi et al. isolated a *V. tasmaniensis* strain HS10 from the intestine of sea cucumber, and dietary supplementation of the strain improved the humoral and cellular immune response of sea cucumber [119].

Non-bacterial candidates

Yeast

Saccharomyces

Saccharomyces cerevisiae is the most commonly used yeast probiotic in aquaculture. Ran et al. proved that live yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, significantly increased gut microvilli length and trypsin activity, decreased intestinal *hsp70* expression, and enhanced resistance of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) against *A. hydrophila* infection in a challenge trial. Apart from live yeast, the fermentation product of *S. cerevisiae* has also been widely used, and some have been developed as commercial products [138]. He et al. showed that supplementation of the *S. cerevisiae* fermentation product DVAQUA® improved the immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [139]. In a study with common carp, Huang et al. reported that dietary supplementation of 1g kg⁻¹ *Saccharoculture* (a Korean-made *S. cerevisiae* culture product containing 10⁷ CFU g⁻¹ *B. amyloliquefaciens* spores) improved the posterior intestinal microvillus length and general welfare of the fish [140].

Marine yeasts

A series of studies have used marine yeasts as probiotics in sea cucumber. Li et al. isolated *Hanseniaspora opuntiae* C21 from the intestine of healthy sea cucumber. The strain showed *in vitro* antagonism against the growth of the pathogen *Shewanella marisflavi* AP629 [141]. Diet supplementation with *H. opuntiae* C21 at 10⁴ and 10⁵ CFU g⁻¹ improved growth, immunity, and resistance against *V. splendidus* in juvenile sea cucumber [142]. The marine yeast *Metschnikowia* sp. C14, isolated from the intestine of sea cucumber, stimulated the immune system of juvenile sea cucumber and enhanced resistance against *V. splendidus* infection [143]. Furthermore, *Metschnikowia* sp. C14 was also reported to improve the growth and activity of intestinal digestive enzymes (trypsin and lipase) of juvenile sea cucumber [144]. The marine yeast *Rhodotorula* sp. C11, isolated from the intestine of the sea cucumber, inhibited growth of the pathogen *V. splendidus* NB13 *in vitro* [145], and further use revealed that *Rhodotorula* sp. C11 effectively colonized the intestine of Japanese spiky sea cucumbers and improved growth and disease resistance against *V. splendidus* in a challenge trial. Similarly, Wang et al. used a *Rhodotorula benthica* D30 isolated from sea mud, and supplemented the strain in feed at 10⁶ CFU g⁻¹ and 10⁷ CFU g⁻¹. Results

showed that *R. benthica* D30 can increase growth, digestive enzymes activity, immunity, and disease resistance of sea cucumber against *V. splendidus* infection [146].

Yang et al. (2010) isolated the marine red yeast *Rhodospiridium paludigenum* from coastal water in Zhejiang, China. Dietary inclusion of *R. paludigenum* at 10^8 CFU g⁻¹ enhanced growth and antioxidant capacity (SOD, catalase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity) of Pacific white shrimp [147]. Later, the same authors studied the expression of genes related with antioxidant function in Pacific white shrimp fed dry or live *R. paludigenum*, and the results showed a significant up-regulation of genes coding for manganese superoxide dismutase (SODMn), catalase, glutathione peroxidase, and ferritin, which are all important elements of the antioxidant defense system [148].

Mixture of probiotic strains

In his review “Probiotics in man and animals”, Fuller stated; “Probiotic preparations may consist of single strains or may contain any number up to eight strains” [149]. Most probiotic studies have used single administration in Chinese aquaculture, but inclusion of multiple probiotics have gained interest during the last decade [24, 59, 117, 133, 150-152]. The advantage by using multiple-strain preparations is that they may further improve the overall beneficial effect of the probiotic formulation and are active against wider range of conditions and species.

A dietary commercial probiotic product (Qingdao Master Biotechnology Co. Ltd., Qingdao, China) containing *B. subtilis* 7.0×10^9 CFU g⁻¹, *B. licheniformis* 3.0×10^9 CFU g⁻¹, *Lactobacillus* spp. 5.0×10^8 CFU g⁻¹ and *Arthrobacter* spp. 1.0×10^8 CFU g⁻¹ significantly increased the SGR, innate immunity, and resistance against *V. harveyi* in cobia (*Rachycentron canadum*) [150]. A mixed preparation of *B. cereus* BSC24 and *P. stutzeri* SC221-M was more efficient in removing nitrogen from grass carp culture water than supplementation of SC221-M or BSC24 alone, i.e., 53.9% for the mixture versus 24.5% and 26.6% for SC221-M and BSC24, respectively [117]. Hao et al. revealed that shrimps fed *S. haliotis* D4, *B. cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15 at a ratio of 2:1:1, dosed at 10^7 cell g⁻¹, showed better growth performance and disease resistance compared with those fed single probiotics [59]. Wu et al. demonstrated that dietary supplementation of a mixture of *S. xiamenensis* A-1, *S. xiamenensis* A-2, and *A. veronii* A-7 at 10^8 cell g⁻¹, at a ratio of 4:2:1, resulted in more improved innate immunity and disease resistance compared to single fed probiotics [133]. Li et al. reported that a dietary probiotics mixture of *B. subtilis* YB-1 and *B. cereus* YB-2 stimulated non-specific immune responses and enhanced the growth performance and resistance against *V. alginolyticus* infection vs. the control group [24]. Dietary combination of *B. cereus*, *L. acidophilus* and *C. butyricum* at 3.0×10^9 CFU kg⁻¹ significantly improved final weight, specific growth rate (SGR), food consumption, food conversion efficiency and apparent digestibility coefficient, and enhanced the activity of digestive enzymes (pepsin, trypsin, amylase and lipase), anti-oxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase), and lysozyme of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*

♂ × *fuscoguttatus* ♀) compared to control [152]. Liu et al. proved that dietary supplementation with 3% complex-probiotics-preparation (BSCP, including *Bacillus amyloliquefaciens* V4CGMCC 10149 and *Rhodotorula mucilaginosa* CGMCC 1013) improved the growth performance, enhanced the activities of some digestive enzymes, and promoted the nonspecific immunity of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [153].

Synbiotics

Synbiotic refers to nutritional supplements combining a mixture of probiotics and prebiotics in a form of synergism. Gibson and Roberfroid defined synbiotics to ‘characterize some colonic foods with interesting nutritional properties that make these compounds candidates for classification as health-enhancing functional ingredients’ [154]. In aquaculture the first finfish study on synbiotics was published by Rodriguez-Estrada et al. [155] (2009), and since then several studies have emerged [156-160].

In Chinese aquaculture several studies have used synbiotics. Zhang et al. (2010) revealed that dietary supplementation of *B. subtilis* (10^7 CFU g⁻¹) and 0.25% fructooligosaccharide (FOS) significantly increased SGR, total coelomocytes counts (TCC), phagocytosis, and disease resistance of sea cucumbers against *V. splendidus* infection [161]. Moreover, the counts of total viable bacteria were increased by supplementation of *B. subtilis* (10^7 CFU g⁻¹) and 0.25% FOS, whereas *Vibrio* counts were decreased. Dietary *B. licheniformis* (10^7 CFU g⁻¹) and 0.3% FOS significantly enhanced the innate immunity and antioxidant capability of triangular bream (*Megalobrama terminalis*), and improved its resistance against *A. hydrophila* in a challenge trial [162]. In a study with juvenile ovate pompano, Zhang et al. showed that dietary administration of *B. subtilis* (10^7 CFU g⁻¹) and FOS (0.2% and 0.4%) had significant interaction on enhancing SGR, respiratory burst activity, lysozyme activity and disease resistance against *V. vulnificus* compared to control. Supplementation with *B. licheniformis* and xylo-oligosaccharide at 0.1% of diet increased weight gain by 20.9% with a 8.9% lower food conversion ratio in grass carp juveniles compared to controls [163]. The synbiotics fed fish also revealed higher intestinal activity of trypsin (18.8%), amylase (36.8%) and lipase (19.8%) activities. Zhang et al. showed significant improvement of final weight, WG, SGR, survival rate as well as protease and Na⁺, K⁺-ATPase activities of triangular bream (*Megalobrama terminalis*) fed *B. licheniformis* and FOS vs. control fed fish [164].

Zhang et al. revealed that a mixture of 10^8 CFU g⁻¹ *B. licheniformis*, *B. subtilis* and 0.2% isomaltooligosaccharide (IMO) improved immune activities (phenoloxidase, lysozyme, NOS activity, superoxide dismutase activities) and disease resistance against *V. alginolyticus* infection of shrimp (*Penaeus japonicus*) compared to the control group [165]. Hu et al. showed that combined use of *Bacillus* and molasses increased the diversity of the microbial community, and promoted the formation and development of a beneficial microbial community structure and inhibited pathogens in Pacific white shrimp [166]. Dietary *B. coagulans* (10^9 CFU g⁻¹) and chitosan oligosaccharides (COS) (0.2%) had a synergistic effect in enhancing

immunity (total leukocyte count (WBC), respiratory burst activity, phagocytic activity, lysozyme, SOD) and disease resistance against *A. veronii* infection of common carp (*Cyprinus carpio koi*) [167]. Feeding sea cucumber *B. lincheniformis* WS-2 (10^9 CFU g⁻¹) and alginate oligosaccharides (AOS) improved growth, activity of digestive enzymes (amylase, protease and alginate lyase), non-specific immune response, intestinal *Bacillus* and *Lactococcus* levels, and resistance against *V. splendidus* infection [168]. Ye et al. revealed that diets supplemented with FOS, Maltooligosaccharide (MOS) and *B. clausii* (10^7 cell g⁻¹) improved growth performance and health benefits of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) compared to the control [169]. Geng et al. demonstrated that combination of 1.0 g *B. subtilis* kg⁻¹ and 6.0 g chitosan kg⁻¹ is the optimal inclusion level of cobia (*Rachycentron canadum*) for growth, innate immunity (lysozyme, ACP, phagocytosis and respiratory burst), and resistance against *Vibrio harveyi* infection [170].

Mode of action

Production of digestive enzymes

Higher enzyme activities in the digestive tract enhance digestive capabilities and growth performance of the host. It is widely accepted that the activity of digestive enzymes is a useful comparative indicator for food utilization, digestive capacity, and growth performance of the host [156]. Gao et al. demonstrated a likely correlation between higher growth rate and higher intestinal digestive enzyme activity in probiotic fed silver pomfret (*Pampus argenteus*). They suggested the main cause was better utilization and digestion of the diets [25]. Previous studies have shown that many *Bacillus* spp. with exo-enzyme activities can significantly improve the host's growth performance [53, 171-173], which may be attributed to the production of digestive enzymes.

Production of antibacterial substances

In vitro antagonism against aquatic pathogens has been an important selection criterion for candidate probiotics for aquaculture use. The nature of antimicrobial compounds that are responsible for the antagonistic activity of probiotics have been investigated in several studies in the past decade. Yang et al. reported that two strains of LAB (*Lactococcus lactis* MM1 and MM4) can secrete hydrogen peroxide and bacteriocin-like substances, which have strongly inhibitory activities against pathogens, i.e., *Vibrio metschnikovi*, *V. harveyi* and *Staphylococcus aureus* that infects orange-spotted grouper [98]. Xu et al. purified lipopeptides N3 produced by *B. amyloliquefaciens* M1, which displayed strong anti-*Vibrio* action on the whole cells and cell membrane. Further, this antibacterial actions of lipopeptide N3 could be a consequence of its ability to form ion-conducting channels in bacterial cell membranes by exploiting its detergent-like action on cell membranes, also called membrane active properties [174]. In recent study, Gao et al. revealed that *B. pumilus* H2 had considerable anti-*Vibrio* activity and the major mechanism appeared to involve disruption of cell membranes and consequent cell lysis relating to an anti-*Vibrio* substance named amicoumacin A [175]. Gao et al. also identified several anti-*A. salmonicida* compounds belonging to

the iturin, macrolactin, and difficidin groups from cell-free supernatant of *B. velezensis* V4. These compounds contributed collaboratively to *in vitro* growth inhibition of *A. salmonicida*. The diversity of the compounds was related to the versatility of their mode of action, especially the membrane disruptive effect of iturin group members [176]. *C. butyricum* and its spent culture supernatants inhibited growth and adherence to fish intestine epithelial cells (FIECs) of *Salmonella enteritidis* and *V. parahaemolyticus*. It was hypothesized that these antibacterial functions were related to the organic acids produced by *C. butyricum* which lowered the pH in the intestine [76].

Immune stimulation

Numerous publications have shown that probiotics stimulate the immune system [85]. However, the mechanisms underlying the immune stimulation effect of probiotics have been less investigated. Sun et al. showed that feeding viable and heat-inactivated *Psychrobacter* sp. SE6 to grouper had interesting effects on the intestinal immune responses. The expression of TLR2 and TLR5, adaptor MyD88 and cytokines (IL-1 β , IL-8 and TGF- β 1) was upregulated when fed the viable SE6. In fish fed heat-inactivated SE6, only TLR2 was upregulated but not MyD88 and cytokines. This suggested that a MyD88-independent TLR2 signaling pathway may be involved in the probiotic recognition in grouper [177]. In a recent study, Qin et al. (2017) revealed that *L. casei* BL23 protected zebrafish larvae from *A. veronii* infection. Further data indicated that *L. casei* BL23 enhanced host immune responses, which may be attributable to exopolysaccharide-protein complex (EPSP) from BL23 via TLR1/TLR2 pathways [89].

Interference of quorum sensing

Quorum sensing (QS) is a cell density dependent process that enables bacteria to communicate with each other based on the production, secretion and sensing of the auto-inducer molecules and then subsequently regulate virulence associated gene expression [178]. Interrupting quorum sensing may represent a novel alternative approach to combat bacterial pathogens. Some bacteria can produce quorum quenching (QQ) enzymes. The approach has been recommended as a promising non-antibiotic strategy for bacterial disease therapy [178-180]. N-Acyl-homoserine lactones (AHLs) are the main signal molecules produced by many Gram-negative bacteria, such as the aquatic pathogens *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. [181]. The probiotic strain *Bacillus* sp. QSI-1, isolated from the gut of a healthy crucian (*Carassius auratus gibelio*), has been reported to protect fish from *Aeromonas hydrophila* infection [182]. Zhou et al. demonstrated that quorum quenching probiotics *Bacillus* sp. QSI-1 can modulate the gut microbiota community by degrading AHLs [44]. The authors also revealed a reduction in the abundance of the fish pathogen *A. hydrophila* in the GI tract. These results indicated that QSI-1 protect fish from *A. hydrophila* infection by quorum quenching. These results provide new insight into the mechanisms of probiotics, and suggest that quorum quenching probiotics can be used as an alternative strategy to combat bacterial infection in aquaculture instead of antibiotics.

Competition for adhesion sites

Competition of adhesion sites has been reported in several studies. Zhou et al. evaluated the GI tract adhesion property of ten *Lactobacillus* strains [183]. They observed that while having similar antibacterial activity *in vitro*, the highly-adhesive strain *L. plantarum* JCM 1149^T conferred stronger resistance against *A. hydrophila* infection in zebrafish compared with the less-adhesive strain *L. acidophilus* JCM 1132^T. Further, an *ex vivo* intestinal sac experiment showed that *L. plantarum* JCM 1149^T can compete for intestinal adhesion sites with *A. hydrophila* and alleviated gut mucosa damage caused by *A. hydrophila* [184]. These results highlight GI tract adhesion (adhesion to mucosa) as the favorable criterion in the selection of dietary probiotics in aquaculture, which may confer the probiotics disease resistance property through competition for adhesion sites with the pathogens.

Regulation and safety issues

According to the catalogue of feed additives authorized by Chinese Ministry of Agriculture (2013), probiotics permitted to be supplemented in animal feed include bacteria, yeast, and fungi. Bacterial probiotics mainly include species of *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, etc., while yeast and fungi used as probiotics mainly include *Saccharomyces cerevisiae*. However, there is no specific regulation in China for probiotics used to improve pond water and sediments, and the commercial probiotic products for this purpose are not well managed in the current stage, which deserves attention.

Although probiotics are used as alternatives of antibiotics, much attention has been directed to the production of inhibitory substances in the selection and study of aquaculture probiotics. It has been indicated that the antagonistic effects of *Bacillus* strains against aquatic pathogens were attributed to the production of antibiotics difficidin and surfactin [185], implying that the use of some *Bacillus* strains as probiotics in aquaculture might induce the same problems as antibiotics usage. As proposed by Gatesoupe, the risk to select probiotic-resistant pathogens should not be underestimated [40]. Moreover, the risk of transferring antibiotic resistance from probiotics to pathogenic bacteria should not be neglected, as some probiotic *Lactobacillus* strains have been reported to transfer antibiotic resistance genes *in vitro* and in rodent models [186, 187]. In addition, previous studies have revealed that administration suspension (including cessation) of *Lactobacillus* strains may lead to gut dysbiosis and increase pathogen susceptibility of hybrid tilapia [188]. Furthermore, He et al. showed that *L. rhamnosus* GG, a well-known probiotic for humans, induced injury to the mucosa of zebrafish when applied as a probiotic strain for disease protection [189]. Similarly, a *Lactobacillus plantarum* strain originally isolated from Sabalan cheese induced damaged epithelial cells and disorganized microvilli in the intestine of beluga (*Huso huso*) [190](Salma et al., 2012). Both of the studies indicated that a probiotic that is safe for human and terrestrial animals may not be safe for aquatic animals. Consequently, the safety of potential aquaculture probiotics should be carefully evaluated in aquatic animal models.

Selection criteria and perspectives

The probiotics for aquatic usage is different from probiotics for terrestrial animals, as certain influencing factors are fundamentally different from terrestrial probiotics. Therefore, a selection criteria list specific for aquatic probiotics is highly important. Previous reviews have proposed selection criteria for aquatic probiotics [191-195]. Following on from these papers we propose the basic criteria for aquatic probiotics: 1) Safety. The strain must be safe for both the aquatic host and human, with no plasmids encoded antibiotic resistance genes. 2) Adaptability. The strain should survive the intestinal tract of aquatic host. Colonization and persistence in the intestine are preferred quality but are not required. For water additive, the strain should survive in the aquatic environment. 3) Function. The strain should benefit the aquatic host. The beneficial effect can be on growth, digestion, immunity, disease resistance, or general welfare. For water additive, the strain should be able to improve water quality or sediments. 4) Convenience. The strain should be convenient for storage and administration. Based on these criteria, an authorized catalogue for probiotics permitted for aquatic animal use will promote the regulation of this field.

Although many studies about probiotics in aquaculture have emerged in China, the approach has been generally empirical. Moreover, the mechanisms underlying the beneficial effects of probiotics in aquatic systems are rarely studied, and the potential harmful effects of some probiotics have been generally neglected. Further studies are warranted to elucidate the mechanism of the beneficial effects and potential harmful effects of the probiotics, which may guide the selection and function-oriented manipulation/design of more efficacious and safe aquaculture probiotics. In addition, given the potential drawbacks of probiotics, administration of the probiotic effector ingredients might be a better way to obtain the health benefits associated with probiotic consumption [196]. The probiotic effectors include the structural components of the probiotic cells and secretory components such as metabolites, enzymes and functional proteins. In-depth study of well-accepted probiotic strains will promote the finding of probiotic effectors, and further topics involving the probiotic effectors may include structure-activity relationship (SAR) as well as synergy among different effectors.

Acknowledgments

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31702354, 31602169, 31672294, 31572633), and the Beijing earmarked fund for Modern Agro-industry Technology Research System (SCGWZJ 20181104-4).

References

- [1] C.E. Boyd, C.S. Tucker, Pond aquaculture water quality management, Springer Science & Business Media 2012.
- [2] C.M. Moffitt, L. Cajas-Cano, Blue growth: the 2014 FAO state of world fisheries and

- aquaculture, *Fisheries* 39(11) (2014) 552-553.
- [3] Y. Huang, L. Zhang, L. Tiu, H.H. Wang, Characterization of antibiotic resistance in commensal bacteria from an aquaculture ecosystem, *Front. Microbiol.* 6 (2015) 914.
- [4] J. Romero, C.G. Feijo ó P. Navarrete, Antibiotics in aquaculture–use, abuse and alternatives, Health and environment in aquaculture, InTech2012.
- [5] H. Chen, S. Liu, X. Xu, S. Liu, G. Zhou, K. Sun, J. Zhao, G. Ying, Antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China: occurrence, bioaccumulation and human dietary exposure, *Mar. Pollut. Bull.* 90(1-2) (2015) 181-187.
- [6] W. Xiong, Y. Sun, T. Zhang, X. Ding, Y. Li, M. Wang, Z. Zeng, Antibiotics, antibiotic resistance genes, and bacterial community composition in fresh water aquaculture environment in China, *Microb. Ecol.* 70(2) (2015) 425-432.
- [7] W.h. organization, Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, a joint FAO/WHO expert consultation. Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001, http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/probiotics/en/index.html (2002).
- [8] L. Verschuere, G. Rombaut, P. Sorgeloos, W. Verstraete, Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture, *Microbiol. Mol. Biol. R.* 64(4) (2000) 655-671.
- [9] A. Irianto, B. Austin, Probiotics in aquaculture, *J. Fish dis.* 25(11) (2002) 633-642.
- [10] S. Salminen, A. Ouwehand, Y. Benno, Y. Lee, Probiotics: how should they be defined ?, *Trends Food Sci. Tech.* 10(3) (1999) 107-110.
- [11] Y. Wang, J. Li, J. Lin, Probiotics in aquaculture: challenges and outlook, *Aquaculture* 281(1-4) (2008) 1-4.
- [12] Z. Qi, X. Zhang, N. Boon, P. Bossier, Probiotics in aquaculture of China - Current state, problems and prospect, *Aquaculture* 290(1-2) (2009) 15-21.
- [13] A. Newaj-Fyzul, A.H. Al-Harbi, B. Austin, Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture, *Aquaculture* 431 (2014) 1-11.
- [14] N.V. Hai, The use of probiotics in aquaculture, *J. Appl. Microbiol.* 119(4) (2015) 917-935.
- [15] C. Chi, B. Jiang, X. Yu, T. Liu, L. Xia, G. Wang, Effects of three strains of intestinal autochthonous bacteria and their extracellular products on the immune response and disease resistance of common carp, *Cyprinus carpio*, *Fish Shellfish Immunol.* 36(1) (2014) 9-18.
- [16] H. Wu, L. Sun, C. Li, Z.. Li, Z. Zhang, X. Wen, Z. Hu, Y. Zhang, S. Li, Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*), *Fish Shellfish Immunol.* 41(2) (2014) 156-162.
- [17] K. Hao, Z. Wu, D. Li, X. Yu, G. Wang, F. Ling, Effects of dietary administration of

- Shewanella xiamenensis* A-1, *Aeromonas veronii* A-7, and *Bacillus subtilis*, single or combined, on the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) intestinal microbiota, *Probiotics Antimicro.* 9(4) (2017) 386-396.
- [18] M. Wang, G. Liu, M. Lu, X. Ke, Z. Liu, F. Gao, J. Cao, H. Zhu, M. Yi, D. Yu, Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia, *Aquac. Res.* 48(6) (2017) 3163-3173.
- [19] X. Zhou, Z. Tian, Y. Wang, W. Li, Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response, *Fish Physiol. Biochem.* 36(3) (2010) 501-509.
- [20] Y. Wang, L. Fu, J. Lin, Probiotic (*Bacillus coagulans*) cells in the diet benefit the white shrimp *Litopenaeus vannamei*, *J. Shellfish Res.* 31(3) (2012) 855-860.
- [21] Q. Liang, X. Zhang, K.H. Lee, Y. Wang, K. Yu, W. Shen, L. Fu, M. Shu, W. Li, Nitrogen removal and water microbiota in grass carp culture following supplementation with *Bacillus licheniformis* BSK-4, *World J. Microb. Biot.* 31(11) (2015) 1711-1718.
- [22] W. Li, X. Zhang, W. Song, B. Deng, Q. Liang, L. Fu, J. Zheng, Y. Wang, D. Yu, Effects of *Bacillus* preparations on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), *Fish Physiol. Biochem.* 38(6) (2012) 1585-1592.
- [23] Y. Xu, Y. Wang, J. Lin, Use of *Bacillus coagulans* as a dietary probiotic for the common carp, *Cyprinus carpio*, *J. World Aquacult. Soc.* 45(4) (2014) 403-411.
- [24] J. Li, Y. Xu, L. Jin, X. Li, Effects of a probiotic mixture (*Bacillus subtilis* YB-1 and *Bacillus cereus* YB-2) on disease resistance and non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka), *Aquac. Res.* 46(12) (2015) 3008-3019.
- [25] Q. Gao, C. Xiao, M. Min, C. Zhang, S. Peng, Z. Shi, Effects of probiotics dietary supplementation on growth performance; innate immunity and digestive enzymes of silver pomfret, *Pampus argenteus*, *Indian J. Anim. Res.* 50(6) (2016) 936-941.
- [26] D. Wu, S. Zhao, N. Peng, C. Xu, J. Wang, Y. Liang, Effects of a probiotic (*Bacillus subtilis* FY99-01) on the bacterial community structure and composition of shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone) culture water assessed by denaturing gradient gel electrophoresis and high-throughput sequencing, *Aquac. Res.* 47(3) (2016) 857-869.
- [27] Y. Duan, Y. Zhang, H. Dong, Y. Wang, X. Zheng, J. Zhang, Effect of dietary *Clostridium butyricum* on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, *Fish Shellfish Immunol.* 65 (2017) 25-33.
- [28] E. Ring ø, S. Sperstad, R. Myklebust, S. Refstie, Å. Krogdahl, Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): the effect of fish meal,

- standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal, *Aquaculture* 261(3) (2006) 829-841.
- [29] S.K. Nayak, Role of gastrointestinal microbiota in fish, *Aquac. Res.* 41(11) (2010) 1553-1573.
- [30] C. Ramírez, J. Romero, Fine flounder (*Paralichthys adspersus*) microbiome showed important differences between wild and reared specimens, *Front Microbiol.* 8 (2017) 271.
- [31] J. Li, B. Tan, K. Mai, Q. Ai, W. Zhang, W. Xu, Z. Liufu, H. Ma, Comparative study between probiotic bacterium *Arthrobacter* XE-7 and chloramphenicol on protection of *Penaeus chinensis* post-larvae from pathogenic vibrios, *Aquaculture* 253(1-4) (2006) 140-147.
- [32] Z. Xia, M. Zhu, Y. Zhang, Effects of the probiotic *Arthrobacter* sp. CW9 on the survival and immune status of white shrimp (*Penaeus vannamei*), *Lett. Appl. Microbiol.* 58(1) (2014) 60-64.
- [33] Y. Zhang, K. Tang, X. Shi, X. Zhang, *Flaviramulus ichthyenteri* sp nov., an N-acylhomoserine lactone-degrading bacterium isolated from the intestine of a flounder (*Paralichthys olivaceus*), and emended descriptions of the genus *Flaviramulus* and *Flaviramulus basaltis*, *Int. J. Syst. Evol. Micr.* 63 (2013) 4477-4483.
- [34] Y. Zhang, J. Liu, K. Tang, M. Yu, T. Coenye, X. Zhang, Genome analysis of *Flaviramulus ichthyenteri* Th78T in the family Flavobacteriaceae: insights into its quorum quenching property and potential roles in fish intestine, *BMC Genomics* 16(38) (2015) (5 February 2015)-(5 February 2015).
- [35] E. Ringø, Z. Zhou, J.G. Vecino, S. Wadsworth, J. Romero, Å. Krogdahl, R. Olsen, A. Dimitroglou, A. Foey, S. Davies, Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story?, *Aquacul. Nutr.* 22(2) (2016) 219-282.
- [36] R. She, T. Li, D. Luo, J. Li, L. Yin, H. Li, Y. Liu, X. Li, Q. Yan, Changes in the intestinal microbiota of gibel carp (*Carassius gibelio*) associated with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) infection, *Curr. Microbiol.* 74(10) (2017) 1130-1136.
- [37] N.T. Tran, J. Zhang, F. Xiong, G. Wang, W. Li, S. Wu, Altered gut microbiota associated with intestinal disease in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 34(6) (2018) 71.
- [38] A. Nematollahi, A. Decostere, F. Pasmans, F. Haesebrouck, *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish, *J. Fish Dis.* 26(10) (2003) 563-574.
- [39] A.M. Declercq, F. Haesebrouck, W. Van den Broeck, P. Bossier, A. Decostere, Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions, *Vet. Res.* 44(1) (2013) 27.
- [40] F.J. Gatesoupe, The use of probiotics in aquaculture, *Aquaculture* 180(1) (1999) 147-165.
- [41] A. Ray, K. Ghosh, E. Ringø, Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review, *Aquacult. Nutr.* 18(5) (2012) 465-492.

- [42] H. Dong, Y. Su, Y. Mao, X. You, S. Ding, J. Wang, Dietary supplementation with *Bacillus* can improve the growth and survival of the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* in high-temperature environments, *Aquacul. Int.* 22(2) (2014) 607-617.
- [43] A. Mukherjee, D. Dutta, S. Banerjee, E. Ring α E.M. Breines, E. Hareide, G. Chandra, K. Ghosh, Potential probiotics from Indian major carp, *Cirrhinus mrigala*. Characterization, pathogen inhibitory activity, partial characterization of bacteriocin and production of exoenzymes, *Res. Vet. Sci.* 108 (2016) 76-84.
- [44] S. Zhou, A. Zhang, H. Yin, W. Chu, *Bacillus* sp. QSI-1 modulate quorum sensing signals reduce *Aeromonas hydrophila* level and alter gut microbial community structure in fish, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 6 (2016) 184.
- [45] M. Wang, G. Liu, M. Lu, X. Ke, Z. Liu, F. Gao, J. Cao, H. Zhu, M. Yi, D. Yu, Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia, *Aquac. Res.* 48(6) (2017) 3163-3173.
- [46] Y. Sun, H. Yang, R. Ma, W. Lin, Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*, *Fish Shellfish Immunol.* 29(5) (2010) 803-809.
- [47] Y. Sun, H. Yang, R. Ma, K. Song, W. Lin, Molecular analysis of autochthonous microbiota along the digestive tract of juvenile grouper *Epinephelus coioides* following probiotic *Bacillus pumilus* administration, *J. Appl. Microbiol.* 110(4) (2011) 1093-1103.
- [48] Y. Sun, H. Yang, K. Huang, J. Ye, C. Zhang, Application of autochthonous *Bacillus* bioencapsulated in copepod to grouper *Epinephelus coioides* larvae, *Aquaculture* 392 (2013) 44-50.
- [49] Q. Ai, H. Xu, K. Mai, W. Xu, J. Wang, W. Zhang, Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*, *Aquaculture* 317(1-4) (2011) 155-161.
- [50] W. Li, B. Deng, Z. Cui, L. Fu, N. Chen, X. Zhou, W. Shen, D. Yu, Several indicators of immunity and antioxidant activities improved in grass carp given a diet containing *Bacillus* additive, *J. Anim. Vet. Adv.* 11(14) (2012) 2392-2397.
- [51] Z. Wu, X. Feng, L. Xie, X. Peng, J. Yuan, X. Chen, Effect of probiotic *Bacillus subtilis* Ch9 for grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844), on growth performance, digestive enzyme activities and intestinal microflora, *J. Appl. Ichthyol.* 28(5) (2012) 721-727.
- [52] Y. Yu, F. Lv, C. Wang, A. Wang, W. Zhao, W. Yang, Effects of *Bacillus coagulans* on growth performance, disease resistance, and HSP70 gene expression in juvenile gibel carp, *Carassius*

- auratus* gibelio, J. World Aquacult. Soc. 47(5) (2016) 729-740.
- [53] B. Han, W. Long, J. He, Y. Liu, Y. Si, L. Tian, Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections, Fish Shellfish Immunol. 46(2) (2015) 225-231.
- [54] X. Zhang, L. Fu, B. Deng, Q. Liang, J. Zheng, J. Sun, H. Zhu, L. Peng, Y. Wang, W. Shen, W. Li, *Bacillus subtilis* SC02 supplementation causes alterations of the microbial diversity in grass carp water, World J. Microb. Biot. 29(9) (2013) 1645-1653.
- [55] H. Liu, S. Wang, Y. Cai, X. Guo, Z. Cao, Y. Zhang, S. Liu, W. Yuan, W. Zhu, Y. Zheng, Z. Xie, W. Guo, Y. Zhou, Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fish Shellfish Immunol. 60 (2017) 326-333.
- [56] Y. Yi, Z. Zhang, F. Zhao, H. Liu, L. Yu, J. Zha, G. Wang, Probiotic potential of *Bacillus velezensis* JW: Antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and immune enhancement effects on *Carassius auratus*, Fish Shellfish Immunol. 78 (2018) 322-330.
- [57] Y. Yan, H. Xia, H. Yang, S. Hoseinifar, Y. Sun, Effects of dietary live or heat-inactivated autochthonous *Bacillus pumilus* SE5 on growth performance, immune responses and immune gene expression in grouper *Epinephelus coioides*, Aquacult. Nutr. 22(3) (2016) 698-707.
- [58] W. Shen, L. Fu, W. Li, Y. Zhu, Effect of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Aquac. Res. 41(11) (2010) 1691-1698.
- [59] K. Hao, J. Liu, F. Ling, X. Liu, L. Lu, L. Xia, G. Wang, Effects of dietary administration of *Shewanella haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15, single or combined, on the growth, innate immunity and disease resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Aquaculture 428-429 (2014) 141-149.
- [60] Y. Zhao, W. Zhang, W. Xu, K. Mai, Y. Zhang, Z. Liufu, Effects of potential probiotic *Bacillus subtilis* T13 on growth, immunity and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, Fish Shellfish Immunol. 32(5) (2012) 750-755.
- [61] F. Yan, X. Tian, S. Dong, Effect of *Bacillus baekryungensis* YD13 supplemented in diets on growth performance and immune response of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*), J. Ocean U. China 13(5) (2014) 805-810.
- [62] G. Yang, X. Tian, S. Dong, M. Peng, D. Wang, Effects of dietary *Bacillus cereus* G19, *B. cereus* BC-01, and *Paracoccus marcusii* DB11 supplementation on the growth, immune response, and expression of immune-related genes in coelomocytes and intestine of the sea cucumber

- (*Apostichopus japonicus* Selenka), Fish Shellfish Immunol. 45(2) (2015) 800-807.
- [63] Y. Zhao, L. Yuan, J. Wan, Z. Sun, Y. Wang, H. Sun, Effects of potential probiotic *Bacillus cereus* EN25 on growth, immunity and disease resistance of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, Fish Shellfish Immunol. 49 (2016) 237-242.
- [64] H. Liu, Z. Li, B. Tan, Y. Lao, Z. Duan, W. Sun, X. Dong, Isolation of a putative probiotic strain S12 and its effect on growth performance, non-specific immunity and disease-resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Fish Shellfish Immunol. 41(2) (2014) 300-307.
- [65] P. Chai, X. Song, G. Chen, H. Xu, J. Huang, Dietary supplementation of probiotic *Bacillus* PC465 isolated from the gut of *Fenneropenaeus chinensis* improves the health status and resistance of *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus, Fish Shellfish Immunol. 54 (2016) 602-611.
- [66] J. Wang, H.L. Yang, H. Xia, J. Ye, K.L. Lu, X. Hu, Y. Feng, L. Ruan, Y. Sun, Supplementation of heat-inactivated *Bacillus clausii* DE5 in diets for grouper, *Epinephelus coioides*, improves feed utilization, intestinal and systemic immune responses and not growth performance, Aquacult. Nutr. 24(2) (2018) 821-831.
- [67] X. Zhou, Y. Wang, W. Li, Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities, Aquaculture 287(3-4) (2009) 349-353.
- [68] X. Yang, S. Wang, D. Zhang, L. Zhou, Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1, Bioresource Technology 102(2) (2011) 854-862.
- [69] Q. Zhang, Y. Liu, G. Ai, L. Miao, H. Zheng, Z. Liu, The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7, Bioresource Technol. 108 (2012) 35-44.
- [70] R. Yao, L. Qiu, W. Zhang, A. Gong, Z. Wang, H. Cai, Isolation and characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus cereus* X7 at High Salinity, in: H. Li, Q. Xu, H. Ge (Eds.), Environmental Engineering, Pts 1-42014, pp. 111-114.
- [71] F. Douglas, R. Hambleton, G. Rigby, An Investigation of the oxidation-reduction potential and of the effect of oxygen on the germination and outgrowth of *Clostridium butyricum* Spores, using platinum electrodes, Journal of Applied Bacteriology 36(4) (1973) 625-633.
- [72] M. Junghare, S. Subudhi, B. Lal, Improvement of hydrogen production under decreased partial pressure by newly isolated alkaline tolerant anaerobe, *Clostridium butyricum* TM-9A: Optimization of process parameters, Int. J. Hydrogen energy 37(4) (2012) 3160-3168.
- [73] X. Liao, G. Ma, J. Cai, Y. Fu, X. Yan, X. Wei, R. Zhang, Effects of *Clostridium butyricum* on growth performance, antioxidation, and immune function of broilers, Poultry science 94(4) (2015)

662-667.

- [74] X. Liao, R. Wu, G. Ma, L. Zhao, Z. Zheng, R. Zhang, Effects of *Clostridium butyricum* on antioxidant properties, meat quality and fatty acid composition of broiler birds, *Lipids in health and disease* 14(1) (2015) 36.
- [75] D. Vandak, M. Telgarský, E. Šturdík, Influence of growth factor supplements on butyric acid production from sucrose by *Clostridium butyricum*, *Folia microbiologica* 40(6) (1995) 669-672.
- [76] Q. Gao, Y. Xiao, P. Sun, S. Peng, F. Yin, X. Ma, Z. Shi, In vitro protective efficacy of *Clostridium butyricum* against fish pathogen infections, *Indian Journal of Microbiology* 53(4) (2013) 453-459.
- [77] Q. Gao, C. Xiao, M. Min, C. Zhang, S. Peng, Z. Shi, Effects of probiotics dietary supplementation on growth performance, innate immunity and digestive enzymes of silver pomfret, *Pampus argenteus*, *Indian J. Anim. Res.* 50(6) (2016) 936-941.
- [78] Y. Miyazaki, H. Yokota, H. Takahashi, M. Fukuda, H. Kawakami, S. Kamiya, T. Hanawa, Effect of probiotic bacterial strains of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Enterococcus* on enteroaggregative *Escherichia coli*, *J. Infect. Chemother.* 16(1) (2010) 10-18.
- [79] Y. Sun, H. Yang, Z. Ling, J. Chang, J. Ye, Gut microbiota of fast and slow growing grouper *Epinephelus coioides*, *Afr. J. Microbiol. Res.* 3(11) (2009) 713-720.
- [80] Y. Sun, Y. Hongling, M.A. Rulong, S. Kai, Survival of lactic acid bacteria isolated from gut of *Epinephelus coioides* in mimic gastrointestinal environments, *Journal of Fishery Sciences of China* 17(1) (2010) 128-135.
- [81] Y. Sun, H. Yang, R. Ma, K. Huang, J. Ye, Culture-independent characterization of the autochthonous gut microbiota of grouper *Epinephelus coioides* following the administration of probiotic *Enterococcus faecium*, *Aquacult. Int.* 20(4) (2012a) 791-801.
- [82] Y.Z. Sun, H.L. Yang, R.L. Ma, K. Song, J.S. Li, Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*, *Aquacult. Nutr.* 18(3) (2012b) 281-289.
- [83] J. Cui, M. Xiao, M. Liu, Z. Wang, F. Liu, L. Guo, H. Meng, H. Zhang, J. Yang, D. Deng, S. Huang, Y. Ma, C. Liu, Coupling metagenomics with cultivation to select host-specific probiotic micro-organisms for subtropical aquaculture, *J. Appl. Microbiol.* 123(5) (2017) 1274-1285.
- [84] C. Li, Y. Ren, S. Jiang, S. Zhou, J. Zhao, R. Wang, Y. Li, Effects of dietary supplementation of four strains of lactic acid bacteria on growth, immune-related response and genes expression of the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka, *Fish Shellfish Immunol.* 74 (2018) 69-75.
- [85] E. Ringo, S. Hossein, K. Ghosh, H.V. Doan, B.R. Beck, S. Song, Lactic acid bacteria in

- finfish—an update, *Front Microbiol.* 9 (2018) 1818.
- [86] D. Zeng, A. Lei, Effect of *Lactobacillus* supplementation on growth and disease resistance in tilapia, *Journal of Southern Agriculture* 42(3) (2011) 328-331.
- [87] G. Wang, Y. Huang, Y. Zhou, S. Dong, W. Huang, Q. Yan, Effects of *Lactobacillus* on growth performance, digestive enzyme activities and non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei*, *Chinese Journal of Animal Nutrition* 22(1) (2010) 228-234.
- [88] Y. Huang, X. Zhou, G. Wang, Z. Kuang, H. Zhao, W. Mo, J. Cao, Effects of *Lactobacillus* on immunity and disease resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureu*), *Fisheries Science (Dalian)* 33(10) (2014) 601-605.
- [89] C. Qin, Z. Zhang, Y. Wang, S. Li, C. Ran, J. Hu, Y. Xie, W. Li, Z. Zhou, EPSP of *L. casei* BL23 protected against the infection caused by *Aeromonas veronii* via enhancement of immune response in zebrafish, *Front. Microbiol.* 8 (2017).
- [90] X. Zheng, Y. Duan, H. Dong, K. Yang, Y. Yang, J. Zhang, Effects of *Lactobacillus plantarum* on growth performance, gut histology and activity of digestive enzymes in Pacific white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Fisheries Science (Dalian)* 35(1) (2016) 1-6.
- [91] X. Zheng, Y. Duan, H. Dong, J. Zhang, Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and stress of acute low salinity, *Fish Shellfish Immunol.* 62 (2017) 195-201.
- [92] H. Yang, Y. Han, T.J. Ren, Z.Q. Jiang, F.Q. Wang, Y.T. Zhang, Effects of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 (HK L-137) on the growth performance, digestive enzymes and selected non-specific immune responses in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka, *Aquac. Res.* 47(9) (2016) 2814-2824.
- [93] L. Yu, Q. Zhai, J. Zhu, C. Zhang, T. Li, X. Liu, J. Zhao, H. Zhang, F. Tian, W. Chen, Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation enhances growth performance and alleviates aluminum toxicity in tilapia, *Ecotox. Environ. Safe.* 143 (2017) 307-314.
- [94] Q. Zhai, H. Wang, F. Tian, J. Zhao, H. Zhang, W. Chen, Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation decreases tissue lead accumulation and alleviates lead toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Aquac. Res.* 48(9) (2017) 5094-5103.
- [95] X. Gao, M. Zhang, X. Li, Y. Han, F. Wu, Y. Liu, The effects of feeding *Lactobacillus pentosus* on growth, immunity, and disease resistance in *Haliotis discus hannai* Ino, *Fish Shellfish Immunol.* 78 (2018) 42-51.
- [96] F. Xie, F. Zhang, K. Zhou, Y. Zhao, Q. Zhao, H. Sun, Isolation, identification and fermentation optimization of lactic acid bacteria for aquaculture water purification, *Acta*

- Microbiologica Sinica 57(2) (2017) 304-314.
- [97] X. Zhou, Y. Wang, J. Yao, W. Li, Inhibition ability of probiotic, *Lactococcus lactis*, against *A. hydrophila* and study of its immunostimulatory effect in tilapia (*Oreochromis niloticus*), International Journal of Engineering, Science and Technology 2(7) (2010).
- [98] H. Yang, Y. Sun, R. Ma, K. Song, K. Wang, W. Lin, Antagonistic property of lactic acid bacteria MM1 and MM4 isolated from the intestine of grouper *Epinephelus coioides*, Oceanologia et Limnologia Sinica 41(4) (2010) 544-548.
- [99] W. Zhang, M.Q. Liu, X.J. Dai, Biological characteristics and probiotic effect of *Leuconostoc lactis* strain isolated from the intestine of black porgy fish, Braz. J. Microbiol. 44(3) (2013) 685-691.
- [100] J.F. Rawls, B.S. Samuel, J.I. Gordon, Gnotobiotic zebrafish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota, P. Natl. Acad. Sci. 101(13) (2004) 4596-4601.
- [101] O. Rotem, Z. Pasternak, E. Jurkevitch, *Bdellovibrio* and like organisms, The Prokaryotes, Springer 2014, pp. 3-17.
- [102] Y. Guo, Q. Pan, S. Yan, Y. Chen, M. Li, D. Chen, H. Han, B. Wu, J. Cai, *Bdellovibrio* and like organisms promoted growth and survival of juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino and modulated bacterial community structures in its gut, Aquacult. Int. 25(4) (2017) 1625-1643.
- [103] L. Zhang, J. Shen, J. Chen, The effects of *Bdellovibrio bacteriovorus* on the water quality and bacterial population in the grass carp ponds, Journal of Hydroecology (01) (2009) 6-10.
- [104] Z. Zhang, Z. Song, D. Li, Isolation of *Bdellovibrio* bacteria from the gut of eel and the study of its prevention of bacterial diseases in aquaculture, Journal of Fujian Fisheries (02) (2009) 54-58.
- [105] H. Cao, S. He, H. Wang, S. Hou, L. Lu, X. Yang, *Bdellovibrios*, potential biocontrol bacteria against pathogenic *Aeromonas hydrophila*, Veterinary Microbiology 154(3-4) (2012) 413-418.
- [106] H. Li, C. Chen, Q. Sun, R. Liu, J. Cai, *Bdellovibrio* and like organisms enhanced growth and survival of *Penaeus monodon* and altered bacterial community structures in its rearing water, Appl. Environ. Micro. 80(20) (2014) 6346-6354.
- [107] C. Wen, M. Xue, H. Liang, S. Zhou, Evaluating the potential of marine *Bacteriovorax* sp. DA5 as a biocontrol agent against vibriosis in *Litopenaeus vannamei* larvae, Vet. Microbiol. 173(1-2) (2014) 84-91.
- [108] J. Chen, X. Li, G. Tong, L. Huang, X. Wei, W. Wu, Effects of *B. bacteriovorus* on disease prevention in tilapia farming, Journal of Anhui Agricultural Sciences 39(17) (2011) 10494-10496.
- [109] W. Chu, W. Zhu, Isolation of *Bdellovibrio* as biological therapeutic agents used for the treatment of *Aeromonas hydrophila* infection in fish, Zoonoses Public Hlth 57(4) (2010) 258-264.

- [110] C.Q. Wen, M. Xue, H.F. Liang, Y. Wu, X. Li, Beneficial effects of *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* WF on larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*, *Benef. Microbes* 6(4) (2015) 525-533.
- [111] I. Llamas, A. del Moral, V. B ęar, M.D. Gir 3n, R. Salto, E. Quesada, Plasmids from *Halomonas eurihalina*, a microorganism which produces an exopolysaccharide of biotechnological interest, *FEMS Microbiol. Lett.* 156(2) (1997) 251-257.
- [112] M. Kamekura, Production and function of enzymes of eubacterial halophiles, *FEMS Microbiol. Lett.* 39(1-2) (1986) 145-150.
- [113] L. Zhang, K. Mai, B. Tan, Q. Ai, C. Qi, W. Xu, W. Zhang, Z. Liufu, X. Wang, H. Ma, Effects of dietary administration of probiotic *Halomonas* sp B12 on the intestinal microflora, immunological parameters, and midgut histological structure of shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*, *J. World Aquacult. Soc.* 40(1) (2009) 58-66.
- [114] F. Yan, X. Tian, S. Dong, Y. Niu, Isolation, identification and characterization of a low-temperature degrading bacterium, *Periodical of Ocean University of China* 41(3) (2011) 24-30.
- [115] F. Yan, X. Tian, S. Dong, Z. Fang, G. Yang, Growth performance, immune response, and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed a supplementary diet of the potential probiotic *Paracoccus marcusii* DB11, *Aquaculture* 420 (2014) 105-111.
- [116] J. Lalucat, A. Bennasar, R. Bosch, E. Garc 3a-Vald 3s, N.J. Palleroni, Biology of *Pseudomonas stutzeri*, *Microbiol. Mol. Biol. R.* 70(2) (2006) 510-547.
- [117] B. Deng, L. Fu, X. Zhang, J. Zheng, L. Peng, J. Sun, H. Zhu, Y. Wang, W. Li, X. Wu, D. Wu, The denitrification characteristics of *Pseudomonas stutzeri* SC221-M and Its Application to Water Quality Control in Grass Carp Aquaculture, *Plos One* 9(12) (2014).
- [118] L. Fu, X. Zhang, Y. Wang, L. Peng, W. Li, Nitrogen removal characteristics of *Pseudomonas stutzeri* F11 and its application in grass carp culture, *Fisheries Science* 83(1) (2017) 89-98.
- [119] C. Chi, J. Liu, S. Fei, C. Zhang, Y. Chang, X. Liu, G. Wang, Effect of intestinal autochthonous probiotics isolated from the gut of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) on immune response and growth of *A. japonicus*, *Fish Shellfish Immunol.* 38(2) (2014) 367-373.
- [120] Y. Ma, F. Sun, C. Zhang, P. Bao, S. Cao, M. Zhang, Effects of *Pseudoalteromonas* sp BC228 on digestive enzyme activity and immune response of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*), *J. Ocean U. China* 13(6) (2014) 1061-1066.
- [121] X. Sun, G. Zhao, C. Gu, L. Liu, M. Zhu, Z. Liu, Screening for and identification of an anti-clam *Vibrio* marine bacterium from an aquaculture pond in the yellow sea, *Clean-Soil Air*

Water 44(3) (2016) 304-308.

[122] C.M.A. Caipang, M.F. Brinchmann, V. Kiron, Antagonistic activity of bacterial isolates from intestinal microbiota of Atlantic cod, *Gadus morhua*, and an investigation of their immunomodulatory capabilities, *Aquac. Res.* 41(2) (2010) 249-256.

[123] Y. Sun, H. Yang, R. Ma, C. Zhang, W. Lin, Effect of dietary administration of *Psychrobacter* sp. on the growth, feed utilization, digestive enzymes and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*, *Aquacult. Nutr.* 17(3) (2011) e733-e740.

[124] H. Yang, Y. Sun, R. Ma, J. Li, K. Huang, Probiotic *Psychrobacter* sp. improved the autochthonous microbial diversity along the gastrointestinal tract of grouper *Epinephelus coioides*, *Journal of Aquaculture Research and Development* 2(Special issue) (2011) 001-001.

[125] H. Xia, H. Yang, J. Ye, K. Huang, W. Zou, Y. Sun, Effect of viable and heat-inactivated *Psychrobacter* sp. SE6 on growth performance and immune function of juvenile grouper (*Epinephelus coioides*), *Journal of Fisheries of China* 37(1) (2013) 86-93.

[126] Y. Wang, Q. Gu, Effect of probiotics on white shrimp (*Penaeus vannamei*) growth performance and immune response, *Mar. Biol. Res.* 6(3) (2010) 327-332.

[127] Y. Wang, Use of probiotics *Bacillus coagulans*, *Rhodopseudomonas palustris* and *Lactobacillus acidophilus* as growth promoters in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fingerlings, *Aquacult. Nutr.* 17(2) (2011) E372-E378.

[128] X. Zhang, M. Shu, Y. Wang, L. Fu, W. Li, B. Deng, Q. Liang, W. Shen, Effect of photosynthetic bacteria on water quality and microbiota in grass carp culture, *World J. Microb. Biot.* 30(9) (2014) 2523-2531.

[129] X. Wang, P.J. Quinn, *Endotoxins: structure, function and recognition*, Springer Science & Business Media 2010.

[130] M. Adams, M. Moss, *Food Microbiology*. 3. vydání Royal Society of Chemistry. Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFME00011/food-microbiology-3rd/foodmicrobiology-3rd>, 2008.

[131] H. Jiang, X. Liu, Y. Chang, X. Leng, D. Li, G. Wang, Selection of potential probiotics from the abalone intestinal and their effects on juvenile small abalone *Haliotis discus hannai*, *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 2 (2013) 482-487.

[132] H. Jiang, X. Liu, Y. Chang, M. Liu, G. Wang, Effects of dietary supplementation of probiotic *Shewanella colwelliana* WA64, *Shewanella olleyana* WA65 on the innate immunity and disease resistance of abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, *Fish Shellfish Immunol.* 35(1) (2013) 86-91.

[133] Z. Wu, C. Jiang, F. Ling, G. Wang, Effects of dietary supplementation of intestinal autochthonous bacteria on the innate immunity and disease resistance of grass carp

- (*Ctenopharyngodon idellus*), *Aquaculture* 438 (2015) 105-114.
- [134] B. Austin, D. Austin, *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*, – Springer-Praxis in Aquaculture in Fisheries, Praxis Publication Ltd, Chichester, UK (2012).
- [135] K. Mujeeb Rahiman, Y. Jesmi, A.P. Thomas, A. Mohamed Hatha, Probiotic effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the survival, growth performance and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), *Aquac. Res.* 41(9) (2010) e120-e134.
- [136] F.R. Silva-Aciares, P.O. Carvajal, C.A. Mejías, C.E. Riquelme, Use of macroalgae supplemented with probiotics in the *Haliotis rufescens* (Swainson, 1822) culture in Northern Chile, *Aquac. Res.* 42(7) (2011) 953-961.
- [137] N. Liu, S. Zhang, W. Zhang, C. Li, *Vibrio* sp. 33 a potential bacterial antagonist of *Vibrio splendidus* pathogenic to sea cucumber (*Apostichopus japonicus*), *Aquaculture* 470 (2017) 68-73.
- [138] C. Ran, L. Huang, Z. Liu, L. Xu, Y. Yang, P. Tacon, E. Auclair, Z. Zhou, A comparison of the beneficial effects of live and heat-inactivated baker's yeast on Nile tilapia: suggestions on the role and function of the secretory metabolites released from the yeast (vol 10, e0145448, 2015), *Plos One* 11(3) (2016) 2.
- [139] S. He, Z. Zhou, Y. Liu, P. Shi, B. Yao, E. Ringø, I. Yoon, Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA®) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂) cultured in cages, *Aquaculture* 294(1) (2009) 99-107.
- [140] L. Huang, C. Ran, S. He, P. Ren, J. Hu, X. Zhao, Z. Zhou, Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* culture or live cells with *Bacillus amyloliquefaciens* spores on growth performance, gut mucosal morphology, hsp70 gene expression, and disease resistance of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*), *Aquaculture* 438 (2015) 33-38.
- [141] H. Li, G. Qiao, Q. Li, W. Zhou, K.M. Won, D.H. Xu, S.I. Park, Biological characteristics and pathogenicity of a highly pathogenic *Shewanella marisflavi* infecting sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, *J. Fish Dis.* 33(11) (2010) 865-877.
- [142] Y. Ma, Z. Liu, Z. Yang, P.Y. Bao, C. Zhang, J. Ding, Effects of *Hanseniaspora opuntiae* C21 on the growth and digestive enzyme activity of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 32(4) (2014) 743-748.
- [143] Z. Liu, Y. Ma, Z. Yang, M. Li, Liu, P. Bao, Immune responses and disease resistance of the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* induced by *Metschnikowia* sp. C14, *Aquaculture* 368 (2012) 10-18.
- [144] Z. Yang, J. Sun, Z. Xu, C. Zhang, Q. Zhou, Beneficial effects of *Metschnikowia* sp. C14 on growth and intestinal digestive enzymes of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, *Anim.*

Feed Sci. Technol. 197 (2014) 142-147.

[145] Z. Yang, J. Sun, Z. Xu, Beneficial effects of *Rhodotorula* sp. C11 on growth and disease resistance of Juvenile Japanese spiky sea cucumber *Apostichopus japonicus*, J. Aquat. Anim. Health 27(2) (2015) 71-76.

[146] J. Wang, L. Zhao, J. Liu, H. Wang, S. Xiao, Effect of potential probiotic *Rhodotorula benthica* D30 on the growth performance, digestive enzyme activity and immunity in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, Fish Shellfish Immunol. 43(2) (2015) 330-336.

[147] S. Yang, Z. Wu, J. Jian, X. Zhang, Effect of marine red yeast *Rhodospiridium paludigenum* on growth and antioxidant competence of *Litopenaeus vannamei*, Aquaculture 309(1-4) (2010) 62-65.

[148] S. Yang, Z. Wu, J. Jian, Effect of marine red yeast *Rhodospiridium paludigenum* on antioxidant-related gene expression in *Litopenaeus vannamei*, Isr. J. Aquacult - Bamid. 65 (2013) IJA_65.2013.817-IJA_65.2013.817.

[149] R. Fuller, Probiotics in man and animals. A review, Journal of Applied Bacteriology 66(5) (1989) 365-378.

[150] X. Geng, X.H. Dong, B.P. Tan, Q. Yang, S. Chi, H. Liu, X. Liu, Effects of dietary probiotic on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*, Aquacult. Nutr. 18(1) (2012) 46-55.

[151] M.J. Zorriehzahra, S.T. Delshad, M. Adel, R. Tiwari, K. Karthik, K. Dhama, C.C. Lazado, Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review, Vet. Quart. 36(4) (2016) 228-241.

[152] R. He, J. Feng, X. Tian, S. Dong, B. Wen, Effects of dietary supplementation of probiotics on the growth, activities of digestive and non-specific immune enzymes in hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* male x *Epinephelus fuscoguttatus* female), Aquac. Res. 48(12) (2017) 5782-5790.

[153] S. Liu, J. Chen, J. Li, H. Liu, J. Hu, L. Zhang, H. Han, G. Sun, C. Wang, Effects of complex-probiotic-preparation on the growth, digestive enzymes and the nonspecific immune indices of Atlantic salmon (*Salmo salar*), Progress in Fishery Sciences 38(5) (2017) 100-106.

[154] G.R. Gibson, M.B. Roberfroid, Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, J. Nutr. 125(6) (1995) 1401-1412.

[155] U. Rodriguez-Estrada, S. Satoh, Y. Haga, H. Fushimi, J. Sweetman, Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Aquaculture Science 57(4) (2009) 609-617.

- [156] R. Cerezuela, J. Meseguer, M. Esteban, Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review, *Journal of Aquaculture Research & Development* S1 (2011) 1-7.
- [157] B.C. De, D. Meena, B. Behera, P. Das, P.D. Mohapatra, A. Sharma, Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses, *Fish Physiol. Biochem.* 40(3) (2014) 921-971.
- [158] E. Ringø, R.E. Olsen, I. Jensen, J. Romero, H.L. Lauzon, Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges, *Rev. Fish Biol. Fisher.* 24(4) (2014) 1005-1032.
- [159] E. Ringø, S. Song, Application of dietary supplements (synbiotics and probiotics in combination with plant products and β -glucans) in aquaculture, *Aquacult. Nutr.* 22(1) (2016) 4-24.
- [160] T.-G. Huynh, Y.-L. Shiu, T.-P. Nguyen, Q.-P. Truong, J.-C. Chen, C.-H. Liu, Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review, *Fish Shellfish Immunol.* 64 (2017) 367-382.
- [161] Q. Zhang, H. Ma, K. Mai, W. Zhang, Z. Liufu, W. Xu, Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, *Fish Shellfish Immunol.* 29(2) (2010) 204-211.
- [162] C. Zhang, X. Li, W. Xu, G. Jiang, K. Lu, L. Wang, W. Liu, Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream (*Megalobrama terminalis*), *Fish Shellfish Immunol.* 35(5) (2013) 1380-1386.
- [163] D. Yao, Q. Zou, W. Liu, S. Xie, A. Zhou, J. Chen, J. Zou, Effects of *Bacillus licheniformis* and xylo-oligosaccharide on growth performance, intestinal microflora and enzyme activities in grass carp *Ctenopharyngodon idella*, *Journal of Dalian Ocean University* 29(2) (2014) 136-140.
- [164] C. Zhang, X. Li, W. Xu, D. Zhang, K. Lu, L. Wang, H. Tian, W. Liu, Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of triangular bream (*Megalobrama terminalis*), *Aquacult. Nutr.* 21(5) (2015) 755-766.
- [165] Q. Zhang, B. Tan, K. Mai, W. Zhang, H. Ma, Q. Ai, X. Wang, Z. Liufu, Dietary administration of *Bacillus* (*B. licheniformis* and *B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae), *Aquac. Res.* 42(7) (2011) 943-952.
- [166] X. Hu, Y. Cao, G. Wen, X. Zhang, Y. Xu, W. Xu, Y. Xu, Z. Li, Effect of combined use of *Bacillus* and molasses on microbial communities in shrimp cultural enclosure systems, *Aquac. Res.*

48(6) (2017) 2691-2705.

- [167] S. Lin, S. Mao, Y. Guan, L. Luo, L. Luo, Y. Pan, Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio* koi), *Aquaculture* 342 (2012) 36-41.
- [168] X. Wang, Y. Sun, L. Wang, X. Li, K. Qu, Y. Xu, Synbiotic dietary supplement affects growth, immune responses and intestinal microbiota of *Apostichopus japonicus*, *Fish Shellfish Immunol.* 68 (2017) 232-242.
- [169] J.D. Ye, K. Wang, F.D. Li, Y.Z. Sun, Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *Aquacult. Nutr.* 17(4) (2011) E902-E911.
- [170] X. Geng, X. Dong, B. Tan, Q. Yang, S. Chi, H. Liu, X. Liu, Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*, *Fish Shellfish Immunol.* 31(3) (2011) 400-406.
- [171] C.H. Liu, C.S. Chiu, P.L. Ho, S.W. Wang, Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto, *J. Appl. Microbiol.* 107(3) (2009) 1031-1041.
- [172] C. Liu, C. Chiu, S. Wang, W. Cheng, Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*, *Fish Shellfish Immunol.* 33(4) (2012) 699-706.
- [173] H. Liu, S. Wang, Y. Cai, X. Guo, Z. Cao, Y. Zhang, S. Liu, W. Yuan, W. Zhu, Y. Zheng, Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Fish Shellfish Immunol.* 60 (2017) 326-333.
- [174] H. Xu, Y. Rong, M. Zhao, B. Song, Z. Chi, Antibacterial activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* M1 against multidrug-resistant *Vibrio* spp. isolated from diseased marine animals, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98(1) (2014) 127-136.
- [175] X. Gao, Y. Liu, L. Miao, E. Li, T. Hou, Z. Liu, Mechanism of anti-*Vibrio* activity of marine probiotic strain *Bacillus pumilus* H2, and characterization of the active substance, *AMB Express* 7(1) (2017) 23.
- [176] X. Gao, Y. Liu, L. Miao, E. Li, G. Sun, Y. Liu, Z. Liu, Characterization and mechanism of anti-*Aeromonas salmonicida* activity of a marine probiotic strain, *Bacillus velezensis* V4, *Appl. Microbiol Biotechnol.* 101(9) (2017) 3759-3768.
- [177] Y. Sun, H. Xia, H. Yang, Y. Wang, W. Zou, TLR2 signaling may play a key role in the

- probiotic modulation of intestinal microbiota in grouper *Epinephelus coioides*, *Aquaculture* 430 (2014) 50-56.
- [178] C. Fuqua, M.R. Parsek, E.P. Greenberg, Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing, *Annu. Rev. of Genet.* 35(1) (2001) 439-468.
- [179] K. Tang, X. Zhang, Quorum quenching agents: resources for antivirulence therapy, *Mar. Drugs* 12(6) (2014) 3245-3282.
- [180] F. Chen, Y. Gao, X. Chen, Z. Yu, X. Li, Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection, *Int. J. Mol. Sci.* 14(9) (2013) 17477-17500.
- [181] T. Defoirdt, Virulence mechanisms of bacterial aquaculture pathogens and antivirulence therapy for aquaculture, *Rev. Aquacult.* 6(2) (2014) 100-114.
- [182] W. Chu, S. Zhou, W. Zhu, X. Zhuang, Quorum quenching bacteria *Bacillus* sp. QSI-1 protect zebrafish (*Danio rerio*) from *Aeromonas hydrophila* infection, *Sci. Rep.* 4(5446) (2014) srep05446.
- [183] Z. Zhou, W. Wang, W. Liu, D.M. Gatlin, III, Y. Zhang, B. Yao, E. Ringo, Identification of highly-adhesive gut *Lactobacillus* strains in zebrafish (*Danio rerio*) by partial *rpoB* gene sequence analysis, *Aquaculture* 370 (2012) 150-157.
- [184] P. Ren, L. Xu, Y. Yang, S. He, W. Liu, E. Ringo, Z. Zhou, *Lactobacillus planarum* subsp. *plantarum* JCM 1149 vs. *Aeromonas hydrophila* NJ-1 in the anterior intestine and posterior intestine of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* female $\times$ *Oreochromis aureus* male: An *ex vivo* study, *Fish Shellfish Immunol.* 35(1) (2013) 146-153.
- [185] C. Ran, Isolation and characterization of *Bacillus* spp. as potential probiotics for channel catfish, *Ictalurus punctatus*, 2013.
- [186] M. Egervärn, H. Lindmark, J. Olsson, S. Roos, Transferability of a tetracycline resistance gene from probiotic *Lactobacillus reuteri* to bacteria in the gastrointestinal tract of humans, *Anton. Leeuw.* 97(2) (2010) 189-200.
- [187] P.A. Cohen, Probiotic Safety—No Guarantees, *JAMA Inter. Med.* (2018).
- [188] Z. Liu, W. Liu, C. Ran, J. Hu, Z. Zhou, Abrupt suspension of probiotics administration may increase host pathogen susceptibility by inducing gut dysbiosis, *Sci. Rep.* 6 (2016).
- [189] S. He, C. Ran, C. Qin, S. Li, H. Zhang, W.M. de Vos, E. Ringo, Z. Zhou, Anti-infective effect of adhesive probiotic *Lactobacillus* in fish is correlated with their spatial distribution in the intestinal tissue, *Sci. Rep.* 7 (2017).
- [190] W. Salma, Z. Zhou, W. Wang, F. Askarian, A. Kousha, M.T. Ebrahimi, R. Myklebust, E.

- Ringø Histological and bacteriological changes in intestine of beluga (*Huso huso*) following *ex vivo* exposure to bacterial strains, *Aquaculture* 314(1-4) (2011) 24-33.
- [191] D.L. Merrifield, A. Dimitroglou, A. Foey, S.J. Davies, R.T.M. Baker, J. Bøgwald, M. Castex, E. Ringø The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids, *Aquaculture* 302(1) (2010) 1-18.
- [192] J.L. Balcázar, D. Vendrell, I. De Blas, I. Ruiz-Zarzuela, J.L. Múzquiz, Effect of *Lactococcus lactis* CLFP 100 and *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 on *Aeromonas salmonicida* infection in brown trout (*Salmo trutta*), *J. Mol. Microb. Biotech.* 17(3) (2009) 153-157.
- [193] A. Farzanfar, The use of probiotics in shrimp aquaculture, *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 48(2) (2006) 149-158.
- [194] N.G. Vine, W.D. Leukes, H. Kaiser, Probiotics in marine larviculture, *FEMS Microbiol. Rev.* 30(3) (2006) 404-427.
- [195] G.D. Gómez, J.L. Balcázar, A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish, *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 52(2) (2008) 145-154.
- [196] A.R. Wang, C. Ran, E. Ringø, Z.G. Zhou, Progress in fish gastrointestinal microbiota research, *Rev. Aquacult.* 10(3) (2018) 626-640.
- [197] D. Zhang, X. Guan, Growth and probiotic characteristics of *Bacillus subtilis* B2 in sea cucumber *Apostichopus japonicus*, *Fisheries Science (Dalian)* 35(3) (2016) 234-238.
- [198] H. Cao, J. An, W. Zheng, S. He, *Vibrio cholerae* pathogen from the freshwater-cultured whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* and control with *Bdellovibrio bacteriovorus*, *J. Invertebr. Pathol.* 130 (2015) 13-20.
- [199] Y. Sha, L. Wang, G. Sun, M. Liu, B. Wang, Effects of two lactic acid bacteria species and the corresponding supernatants on the activities of digestive enzymes in *Litopenaeus vannamei*, *Mar. Sci.* 40(3) (2016) 59-64.
- [200] Y. Ma, Z. Liu, Z. Yang, M. Li, J. Liu, J. Song, Effects of dietary live yeast *Hanseniaspora opuntiae* C21 on the immune and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, *Fish Shellfish Immunol.* 34(1) (2013) 66-73.

Table 1 Bibliographic review of research published in the last 9 years (2009–2018) on the use of probiotics in aquaculture of China.

Strains	Phylum	Effective	Target host	Dur	Probiotic effects				Referen
(source)		does/mode		atio	Disease resistance	Nutritional	Productive	Improve	ce
		of		n	including immune	modulation	effects and	ment of	
		application			improvements		others	aquacultu	
								re	
								environm	
								ent	
								Water	
Gram-negative bacteria									
Aeromonas									
A. veronii	Proteobact	Diets 10 ⁸	Common	28	Serum protein,				[15]
BA-1(from	eria	cell g ⁻¹	carp	day	albumin, globulin ↑				
intestinal tract		(live)	(Cyprinus	s	Phagocytic capacity				
of the			carpio)		↑				
common					QPCR IL-1β,				
carp)					TNF-α,				
					lysozyme-C* ↑				
					Mortality ↓ (80 to				
					66.66%) after A.				
					hydrophila challenge				
					↓				
A. veronii A-7	Proteobact	Diets 10 ⁸	Grass carp	14	Respiratory burst,		Potential		[17,
(from the	eria	cell g ⁻¹	(Ctenophary	day	phagocytic and		pathogen		133]
intestinal tract		(live)	ngodon	s	lysozyme ↑		bacteria ↓		
of the healthy			idella)		Serum complement		Potential		
grass carp).					C3, protein, albumin,		probiotics ↑		
					globulin ↑		Cellulose-degr		
					QPCR IL-8, IL-1,		ading		
					lysozyme-C, TNF-α		intestinal		
					↑		bacteria ↑		
					Mortality ↓ (80 to				
					26.67%) after A.				
					hydrophila				
					challenge.				
A. bivalvium	Proteobact	Diets 10 ⁷	Pacific white	28	Respiratory burst ↑,		Growth ↑		[59]
D15 (from the	eria	cell g ⁻¹	shrimp	day	SOD ↑				
gut of healthy		(live)	(Litopenaeus	s	QPCR				
Pacific white			vannamei)		prophenoloxidase ↑,				
shrimp)					β-1,				

					3-glucan-binding protein (LGBP) ↑ Mortality ↓ (43.33% to 13.33%) after <i>V. harveyi</i> challenge.		
<i>Ectothiorhodospira</i>							
<i>E. shaposhnikovii</i> WF (from marine shrimp pond)	Proteobacteria	Immersion twice at 10 ⁶ CFU ml ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	10 days		Mortality ↓ (46% to 74%) Growth ↑	Ammonia, nitrite, chemical oxygen demand (COD) ↓ [110]
<i>Flavobacterium</i>							
<i>Flavobacterium m. sasangense</i> BA-3 (from the intestinal tract of the common carp)	Proteobacteria	Diets 1 × 10 ⁸ cell g ⁻¹	Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	28 days	Lysozyme, complement C3, total serum protein, albumin and globulin levels, respiratory burst activity, phagocytic activity ↑ QPCR IL-1, lysozyme-C, and TNF-α ↑ Mortality rate ↓ (80% to 66.66%) after <i>A. hydrophila</i> challenge.		[15]
<i>Halomonas</i>							
<i>Halomonas</i> sp. B12 (from the intestine of <i>Fenneropenaeus chinensis</i>)	Proteobacteria	Diets 3.68 × 10 ⁷ or 7.18 × 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹ (live)	Chinese whiter shrimp (<i>Fenneropenaeus chinensis</i>)	6 weeks	Hemocyte counts ↑, phenoloxidase (PO) activity ↑ Mortality after white spot syndrome virus challenge test ↓		[113]
<i>Rhodopseudomonas</i>							
<i>R. palustris</i> G06 (from a carp pond in Haining, China)	Proteobacteria	Immersion at 1 × 10 ⁷ CFU ml ⁻¹ (live)	Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	40 days	Activities of SOD and catalase (CAT) ↑	Growth ↑	[19]
<i>R. palustris</i> (from a pond of grass carp)	Proteobacteria	Incubation 1 × 10 ¹¹ CFU ml ⁻³	Grass carp (<i>Ctenopharyngodon</i>)	15 days		Ammonia ↓, nitrite ↓, COD ↓,	[128]

		(live)	<i>idella</i>			nitrogen	
						↓	
<i>Shewanella</i>							
<i>S. colwelliana</i>	Proteobact	Diets 10 ⁹	Abalone	4	Haemocytes,		[132]
WA64	eria	cell g ⁻¹	(<i>Haliotis</i>	wee	respiratory burst		
<i>S. olleyana</i>		(live)	<i>discus</i>	ks	activity, serum		
WA65 (from			<i>hannai</i> Ino),		lysozyme activity,		
GI tract of					and total protein		
abalone)					levels↑		
					Mortality↓ after <i>V.</i>		
					<i>harveyi</i> challenge.		
<i>S. japonica</i>	Proteobact	Diets 10 ⁹	Sea	28	Total coelomocytes	Mortality ↓	[119]
HS7 (from	eria	cell g ⁻¹	cucumber	day	counts, respiratory	(97.6% to	
the intestines		(unidentifie	(<i>Apostichopu</i>	s	burst activity,	90.71%)	
of healthy sea		d)	<i>s japonicus</i>		lysozyme, ACP, and		
cucumbers)					phagocytic activities		
					↑		
<i>S.</i>	Proteobact	Diets 10 ⁸	Grass carp	14	Respiratory burst,	The	[17]
<i>xiamenensis</i>	eria	cells g ⁻¹ of	(<i>Ctenophary</i>	day	phagocytic and	abundance of	
A-1		<i>S.</i>	<i>ngodon</i>	s	lysozyme activities ↑	the potential	
<i>S.</i>		<i>xiamenensi</i>	<i>idella</i>)		Complement C3,	pathogenic	
<i>xiamenensis</i>		s A-1(live)			total serum proteins,	bacteria ↓	
A-2					albumin and	(e.g.,	
(from the					globulin levels ↑	<i>Pseudomonas</i>	
intestines of					QPCR IL-8, IL-1,	and	
grass carp)					lysozyme-C, and	<i>Flavobacteriu</i>	
					TNF-α ↑	<i>m</i> genus),	
					Mortality ↓ (80% to	reproduction	
					46.67%, 80%	of potential	
					to33.33%) after A.	probiotics↓	
					<i>hydrophila</i>	(e.g., <i>Vibrio</i> ,	
					challenge.	<i>Streptococcus</i> ,	
						and	
						<i>Enterococcus</i>	
						genus) and	
						impact the	
						abundance of	
						cellulose-degr	
						ading bacteria	
						↑ (e.g.,	
						<i>Citrobacter</i>	
						genus) in the	
						grass carp	
						intestine.	

<i>S. haliotis</i> D4 (from the gut of shrimp)	Proteobact eria	Diets 10 ⁷ cell g ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus</i> <i>vannamei</i>)	28 day s	Expression of respiratory burst, SOD, prophenoloxidase, LPS- and LGBP ↑ Mortality ↓ (43.33% to 33.33%) after <i>V.</i> <i>harveyi</i> challenge.	Growth ↑	[59]
--	--------------------	---	--	----------------	---	----------	------

Vibrio

<i>V.</i> <i>tasmaniensis</i> HS10 (from the intestine of sea cucumber)	Proteobact eria	Diets 10 ⁹ cell g ⁻¹ (unidentifie d)	Sea cucumber (<i>Apostichopu</i> <i>s japonicus</i>)	28 day s	Total coelomocytes counts, respiratory burst activity, lysozyme actvity, ACP, and phagocytic activity ↑.	Survival rate ↑ (87.60% to 97.97%).	[119]
--	--------------------	---	---	----------------	---	---	-------

Gram-positive bacteria

Arthrobacter

<i>Arthrobacter</i> sp. CW9 (from guts of white shrimp)	Actinobact eria	Added to the saline rearing water at 0, 10 ⁵ , 10 ⁶ and 10 ⁷ CFU ml ⁻¹ every 5 days during the 24-day breeding experiment (unidentifie d)	Pacific white shrimp (<i>Penaeus</i> <i>vannamei</i>)	24 day s	Phenoloxidase, phagocytic and clearance efficiency ↑	Survival rate ↑ Mean shrimp weights ↑	[32]
--	--------------------	--	--	----------------	---	---	------

Bacillus

<i>Bacillus</i> PC465 (from the intestine of a healthy <i>Fenneropenae</i> <i>us chinensis</i>)	Firmicutes	Diets 10 ⁷ and 10 ⁹ CFU g ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus</i> <i>vannamei</i>)	30 day s	Transcription of Pen-3a, peroxinectin, C-type lectin 3 (Lec-3), thioredoxin (Trx), prophenoloxidase (proPO) ↑ Survival rate ↑ (14.9% to 45.2%, 50.7%) after white spot syndrome virus (WSSV)	Amylase and protease activities ↑	Growth ↑ Survival rate ↑ (35% to 73.32%, 66.7%)	[65]
---	------------	---	--	----------------	--	---	---	------

					challenge.	
<i>B. subtilis</i>	Firmicutes	Diets 10 ⁵	Grass carp	52	IgM, complement	[50]
<i>B. amyloliquefaciens</i>		CFU g ⁻¹ (live)	(<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	day s	C3 and alkaline phosphatase (AKP) ↑ serum glutathione (GSH), total antioxidant capacity (T-AOC), SOD and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities ↑ Malondialdehyde (MDA) and anti-superoxide anion (anti-O ₂ ⁻) activity ↓	
<i>B. licheniformis</i>	Firmicutes	Group 1: added	Grass carp (<i>Ctenopharyngodon</i>)	4 weeks	Globulin, IgM, myeloperoxidase and C3 ↑	[22]
<i>B. subtilis</i> (from the pond of grass carp)		<i>Bacillus</i> preparation no. 1 with 10 ⁸ CFU m ⁻³ per 7 days in culture water (live)			Levels of T-AOC, anti-superoxide anion free radical (ASAFR) and GSH ↑	
		Group 2: diet mixed with 0.5 % <i>Bacillus</i> preparation no. 2, and the culture water was added 10 ⁸ CFU m ⁻³ <i>Bacillus</i> preparation no. 1 per 7 days (live)				
Probiotics	Firmicutes	Diets 10 ¹⁰	Sea	32	Phagocytic activity	Growth ↑ [24]

product		CFU g ⁻¹	cucumbers	day	↑, superoxide anion		
containing <i>B. subtilis</i> YB-1 (50%) and <i>B. cereus</i> YB-2 (50%)		(live)	(<i>Apostichopus japonicus</i>)	s	production ↑, lysozyme, catalase and phenoloxidase activities ↑		
					The cumulative mortality ↓ (100% to 47%) after <i>V. alginolyticus</i> challenge.		
<i>B. pumilus</i>	Firmicutes	Diets 1 ×10 ⁸	Grouper	60	Phagocytic activity	Feed	[46]
<i>B. clausii</i> (from the gut of grouper <i>E. coioides</i>)		cell g ⁻¹ (live)	(<i>Epinephelus coioides</i>)	day s	and phagocytic index, serum lysozyme activity, complement C3, IgM and SOD ↑	conversion ratio (FCR) ↑	
<i>B. subtilis</i> DCU	Firmicutes	Diets 1 ×10 ⁵	Juvenile mud crabs (<i>Scylla paramamosa in</i>)	30 day s	QPCR CAT, proPO and SOD genes ↑, respiratory burst ↑		[16]
<i>B. pumilus</i> BP (from the intestine of mud crabs)		cell g ⁻¹			Final survival rates ↑ (54.88% to 76.67%, 78.33%) after <i>V. parahaemolyticus</i> challenge.		
<i>B. baekryungensis</i> YD13 (from sea cucumber culturing ponds)	Firmicutes	Diets 1 ×10 ⁶ CFU g ⁻¹ (live)	Sea cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)	60 day s	Lysozyme, ACP, AKP, SOD, CAT ↑		[61]
<i>B. cereus</i> G19		Diets 1 ×10 ⁹	Sea	60	The phagocytic	Growth ↑	[62]
<i>B. cereus</i> BC-01 (from the intestine of the sea cucumber)		CFU kg ⁻¹ (live)	cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i> Selenka).	day s	activity, respiratory burst activity, and AKP activity ↑		
					QPCR Aj-p50, Aj-rel ↑		
<i>B. cereus</i>	Firmicutes	Diets 1 ×10 ⁷	Juvenile sea	30	Phagocytosis,		[63]

EN25 (from mud of sea cucumber culturing water bodies)		CFU g ⁻¹ (live)	cucumbers (<i>Apostichopus japonicus</i>)	day	respiratory burst activity and total nitric oxide synthase activity ↑ The cumulative mortality (64.2% to 33.3%) ↓ after <i>V. splendidus</i> challenge.		
<i>B. cereus</i> (from the intestinal contents of tilapia)	Firmicutes	Added to the water (1 × 10 ⁴ CFU mL ⁻¹ and 1 × 10 ⁵ CFU mL ⁻¹) or feed (1 × 10 ⁷ cell g ⁻¹ and 1 × 10 ⁸ cell g ⁻¹)	Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	42 days	Serum lysozyme, peroxidase, AKP and total superoxide dismutase (TSOD) activities ↑	Affect the gut microbiota of tilapia and stimulated various potentially beneficial bacteria	[45]
<i>B. clausii</i> DE5 (from the gut of juvenile <i>Epinephelus coioides</i>)	Firmicutes	Diets supplemented with viable (T1) and heat-inactivated (T2) <i>B. clausii</i> DE5 at dose of 1 × 10 ⁸ cell g ⁻¹	Grouper (<i>Epinephelus coioides</i>)	60 days	Serum lysozyme activity and complement C3 ↑ QPCR TLR5, pro-inflammatory cytokines (IL-8, IL-1β) and TGF-β1 ↑ in head kidney and intestine.	Feed intake ↓ Feed conversion ratio (FCR) ↓.	[66]
<i>B. coagulans</i> (from the shrimp <i>Penaeus vannamei</i> ponds)	Firmicutes	Diets viable (T-1) and dead (T-2) <i>B. coagulans</i> at dose of 1 × 10 ⁷ cell g ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	50 days		Protease, amylase, and lipase ↑ Growth ↓ Survival rate ↓	[20]
<i>B. coagulans</i> (from common carp aquaculture)	Firmicutes	Diets 1 × 10 ⁷ cell g ⁻¹ , 2 × 10 ⁷ cell	Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	45 days	Lysozyme, myeloperoxidase, and respiratory burst activities ↑.	Contents of crude fat, inosine, and inosinic	Growth ↑ [23]

ponds)		g^{-1} , 4×10^7 cell g^{-1} (live)				acid↑.		
<i>B. coagulans</i> , (from a commercial product provided by Suwei Microbial Research Co., Ltd (Jiangsu, China) that contained <i>B.</i> <i>coagulans</i> 2×10^{10} CFU g^{-1}).	Firmicutes	Diets 125, 250, 500, and 1000 mg kg^{-1} (live)	Juvenile gibel carp (<i>Carassius</i> <i>auratus</i> <i>gibelio</i>)	8 wee ks	Plasma lysozyme activity, superoxide dismutase, and superoxide anion radical scavenging activity ↑ and heat shock protein 70 (HSP70) gene expression ↑ The cumulative mortalities↓ after A. <i>hydrophila</i> challenge.	The activities of protease↑, lipase↑ and amylase ↑	Growth ↑ Feed conversion ratio (FCR)↓	[52]
<i>B. coagulans</i> SC8168 (from the pond sediment of shrimp)	Firmicutes	Diets supplement 1×10^6 CFU ml^{-1} (live)	Larvae shrimp (<i>Penaeus</i> <i>vannamei</i>)	ont oge neti c stag es		Protease, amylase activity and lipase activity ↑	Survival rate ↑ (generally by 7.00-13.10%) over the controls.	[67]
<i>B. coagulans</i> B16 (from a carp <i>Cyprinus</i> <i>carpio</i> pond)	Firmicutes	Added to the water of tanks at final concentrati on of 1×10^7 CFU ml^{-1} every 2 days	Tilapia (<i>Oreochromi</i> <i>s niloticus</i>)	40 day s	SOD, CAT activity and respiratory burst activity ↑ Concentrations of serum protein and globulin ↑		Growth ↑	[19]
<i>B.</i> <i>licheniformis</i> BSK-4 (from a grass carp culture pond)	Firmicutes	Diets 3×10^9 CF Ug^{-1} (live)	Grass carp (<i>Ctenophary</i> <i>ngodon</i> <i>idellus</i>)	18 day s			Total nitrogen↓	[21]
<i>B.</i> <i>licheniformis</i> BSK-4 (from a grass carp culture pond)	Firmicutes	Diets 1×10^8 CFU m^{-3} (live)	Grass carp (<i>Ctenophary</i> <i>ngodon</i> <i>idellus</i>)				Nitrite, nitrate and total nitrogen levels ↓, ammonia level ↑. Alteratio	[21]

							ns of the microbial compositi on in grass carp water.	
<i>B. licheniformis</i> (commercial product, AlCare®, Zoetis, Shanghai, China)	Firmicutes	Diets 4.4 ×10 ⁶ CFU g ⁻¹ (live)	Juvenile Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	10 weeks	Complement C3 ↑ Survival rate ↑	Growth ↑		[53]
<i>B. pumilus</i> SE5 (from the gut of juvenile grouper <i>Epinephelus coioides</i>)	Firmicutes	Diets live and heat-inactivated <i>B. pumilus</i> SE5 at dose of 1 ×10 ⁸ CFU g ⁻¹	Grouper (<i>Epinephelus coioides</i>)	60 days	Phagocytic activity, serum complement C3 and IgM levels, SOD activity ↑ QPCR TLR2 and pro-inflammatory cytokines (IL-8 and IL-1β) ↑	Growth ↑		[57]
<i>B. subtilis</i> (identified from the gut contents of farm-reared shrimp)	Firmicutes	Diets <i>B. subtilis</i> at dose of 5 ×10 ⁴ CFU g ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	40 days	Phenoloxidase activity and lysozyme activity ↑ Total antioxidant capacity, SOD, GSH-Px activity and superoxide anion activity ↑	Growth ↑		[58]
<i>B. subtilis</i> T13 (from intestine of healthy sea cucumbers)	Firmicutes	Diets 1 ×10 ⁹ CFU g ⁻¹ (live)	Juvenile sea cucumbers (<i>Apostichopus japonicus</i>)	30 days	Phagocytosis, respiratory burst activity and total nitric oxide synthase (T-NOS) activity ↑ The cumulative mortality ↓ (56.2% to 20.0%) after <i>V. splendidus</i> challenge.	Growth ↑		[60]
<i>B. subtilis</i> SC02 (from a	Firmicutes	Diets 1 × 10 ⁹ CFU	Grass carp (<i>Ctenophary</i>	15 day			Level of ammonia,	[54]

pond		m ³ per 7	<i>ngodon</i>	s					nitrite	
containing		days in	<i>idellus</i>)						and total	
grass carp)		culture							nitrogen	
		water (live)							↓	
<i>B. subtilis</i>	Firmicutes	Add to	Pacific white	56					Levels of	[26]
FY99-01		water with	shrimp	day					pH,	
(commercial		5×10 ⁴ CFU	<i>(Litopenaeus</i>	s					nitrite	
probiotic)		mL ⁻¹ (live)	<i>vannamei</i>)						and	
									soluble	
									reactive	
									phosphor	
									us ↓	
<i>B. subtilis</i> B2	Firmicutes	Diets	Sea	7	Activities of AKP,	Activity of				[197]
(from		supplement	cucumbers	day	TSOD and PO ↑	amylase and				
sediment in		ed	<i>(Apostichopus</i>	s		protease ↑				
healthy sea		according	<i>s japonicus</i>)							
cucumber A		to the								
<i>postichopus j</i>		weight of								
<i>aponicus</i> farm		sea								
in Dalian)		cucumber								
		by 0.1%,								
		0.2% and								
		0.3% (live)								
<i>B. subtilis</i>	Firmicutes	Diets 10 ⁸	Tilapia	4	Respiratory bursts	Activity of	Growth ↑			[173]
HAINUP40		CFU g ⁻¹	<i>(Oreochromis</i>	wee	and serum lysozyme	protease and				
(from natural		(live)	<i>s nilotica</i>)	ks	activity ↑	amylase ↑				
pond water					T-AOC and SOD ↑	The relative				
in Hainan						percent				
University)						survival				
						(RPS%) ↓				
<i>B. subtilis</i>	Firmicutes	Diets 10 ⁹	<i>Carassius</i>	4	Activities of ACP,					[56]
FY99-01		CFU g ⁻¹	<i>auratus</i>	wee	AKP, and GSH-PX ↑					
(from the		(live)		ks	QPCR IFN- γ,					
gastrointestin					TNF-α, IL-1, IL-4,					
al tract (GIT)					IL-10) ↑and IL-12↓					
of healthy					Survival rate ↑					
grass carp)					(30%-80%) after <i>A.</i>					
					<i>hydrophila</i>					
					challenge.					
<i>Bdellovibrio</i>										
<i>B.</i>	Proteobact	Add to	White leg	7	Control of shrimp					[198]
<i>bacteriovorus</i>	eria	water with	shrimp	day	pathogen <i>V.</i>					
		a final	<i>(Penaeus</i>	s	<i>cholerae</i> .					
		concentrati	<i>vannamei</i>)							

		on of 5×10^6						
		PFU ml ⁻¹						
<i>B. bacteriovorus</i> (commercial product)	Proteobacteria	5×10^7 PFU m ⁻³ (unidentified)	Tilapia (<i>Oreochromis nilotica</i>)	126 days	The death number of Tilapia caused by bacteriosis ↓		The general bacterial population ↓ The number of coli group ↓	[108]
BALO strain		Added to water at dose of 1×10^5 PFU ml ⁻¹ (live)	Abalone (<i>Haliotis discus hannai</i> Ino)	90 days		Growth ↑		[102]
BDH12 (from sediment of Daya Bay in China)								
<i>B. bacteriovorus</i> Bdm4 (from the sediment of fish ponds)	Proteobacteria	Added to water at dose of 10^7 PFU ml ⁻¹ (live)	Grass carp (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	17 days			COD↓, NH ₃ -N↓, sulphide ↓, DO↑	[103]
<i>Clostridium</i>								
<i>C. butyricum</i> (purchase from Miyarisan Pharmaceutical Co. Ltd, Tokyo, Japan)	Firmicutes	Diets 1.0×10^8 CFU g ⁻¹ (live)	Silver pomfret (<i>Pampus argenteus</i>)	60 days	Lysozyme activity, SOD activity and IgM concentrations ↑	Activity of lipase, protease and amylase ↑	Growth ↑	[25]
<i>C. butyricum</i> (purchase from Zhongke Biotic Co., Ltd, China)	Firmicutes	Diets 1.0×10^9 CFU g ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	56 days	T-AOC, lysozyme activity, inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity ↑ QPCR heat shock protein 70 (HSP70), Toll and immune deficiency (Imd) gene ↑.	Intestine SCFA content ↑ and body crude protein content ↑, modulated intestine digestive capacity ↑.	Growth ↑ Intestine epithelium height ↑	[27]
<i>Enterococcus</i>								
<i>E. faecium</i> MM4 (from the gut of	Firmicutes	Diets 1.0×10^8 CFU g ⁻¹	Grouper (<i>Epinephelus coioides</i>)	60 days	Complement C3 levels ↑	Activity of hepatopancreatic		[81]

healthy		(live)				protease,		
juvenile						intestinal		
<i>Epinephelus</i>						lipase ↑and		
<i>coioides</i>)						amylase ↑		
<i>E. faecium</i>	Firmicutes	Diets	White	4		Activities of		[199]
NRW-2 (from		1.0 ×10 ⁷	shrimp	wee		hepatopancr		
the intestine		CFU g ⁻¹	(<i>Penaeus</i>	ks		eatic,		
of health		(live)	<i>vannamei</i>)			intestinal		
<i>Acanthogobiu</i>						lipase ↑and		
<i>s hasta</i>)						amylase ↑		
<i>E. faecalis</i>	Firmicutes	Diets	Sea	30	AKP activity ↑		Growth ↑	[84]
LC3 (from		1.0 ×10 ⁹	cucumber	day	QPCR NF-kappa-B			
intestine		CFU g ⁻¹	(<i>Apostichopu</i>	s	transcription factor			
of marine		(live)	<i>s japonicus</i>)		p65 (Rel), CASP2,			
animals)					HSP 90, HSP70 ↓at			
					15 d and ↑at 30 d.			
					The survival rate ↑			
					(48.1% to 61.1%)			
					after <i>V. splendius</i>			
					challenge.			
<i>Lactobacillus</i>								
<i>L. plantarum</i>	Firmicutes	Diets 0.05	Sea	60	Amylase, lysozyme,		Growth ↑	[92]
L-137 (HK		g and 0.25	cucumber	day	phagocytic, SOD			
L-137) (from		g HK	(<i>Apostichopu</i>	s	and AKP ↑.			
the Zhuanghe		L-137 kg ⁻¹	<i>s japonicus</i>)					
Jintuo		(heat-killed						
Aquaculture		)						
Farming)								
<i>L. pentosus</i>	Firmicutes	Diets	White	4		Activities of		[199]
HC-2 (from		1.0 ×10 ⁷	shrimp	wee		hepatopancr		
the intestine		CFU g ⁻¹	(<i>Penaeus</i>	ks		eatic,		
of health		(live)	<i>vannamei</i>)			intestinal		
<i>Acanthogobiu</i>						lipase and		
<i>s hasta</i>)						amylase ↑		
<i>L. plantarum</i>	Firmicutes	Diets 10 ⁸	Tilapia	4	Al-induced oxidative		Growth ↑	[93]
CCFM639(fr		CFU g ⁻¹	(<i>Oreochromi</i>	wee	stress↓, recovered			
om the		(live)	<i>s nilotica</i>)	ks	the activities of			
Culture					TAOC, SOD, CAT			
Collections of					and GPx.			
Food								
Microbiology,								
Jiangnan								
University)								
<i>L. plantarum</i>	Firmicutes	Probiotic	Tilapia	4	Pb-induced oxidative		Pb	[94]

CCFM8661		was	(<i>Oreochromis nilotica</i>)	weeks	stress↓, blood	accumulation	
(from the Culture Collections of Food Microbiology, Jiangnan University)		administered at 10 ⁸ CFU g ⁻¹ in fish diet twice daily (live)			daminolevulinic acid dehydratase activity↑, reversed alterations in innate immune status ↑. The frequencies of the nuclear abnormalities↓ in peripheral blood erythrocytes.	↓	
<i>L. delbrueckii</i>	Firmicutes	Diets	Huanghe	8	QPCR TNF- α , IL-8,		[161]
(from Angel Company, Wuhan, China)		1.0×10 ⁶ and 1.0×10 ⁷ CFU g ⁻¹ (live)	carp (<i>Cyprinus carpio</i> Huanghe var)	weeks	IL-1, NF- κ B p65, IL-10 and TGF- β ↑ The antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GPX, T-AOC) ↑ The survival rate ↑ after <i>A. hydrophila</i> challenge.		
<i>L. plantarum</i>	Firmicutes	Cell-free extract of <i>L. plantarum</i> (dead)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	45 days	Significantly improved the resistance of <i>L. vannamei</i> against the stress of acute low salinity, as indicated by higher survival rate as well as higher transcript levels of ProPo, SOD and Lys gene.		[91]
<i>L. plantarum</i>	Firmicutes	Cell-free extract of <i>L. plantarum</i> (dead)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	15 days	Digestive enzyme (amylase, lipase, and pepsin) activity ↑	Growth ↑ FCR ↓	[91]
(provided by Xinhailisheng Biological Technology Co., Ltd., South China Sea Fisheries Research Institute,							

Chinese Academy of Fishery Sciences, China)								
<i>L. plantarum</i>	Firmicutes	Diets	Sea	30	AKP, ACP and SOD		Growth ↑	[84]
LL11 (from marine fish)		1.0×10 ⁹ CFU g ⁻¹ (live)	cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)	day s	↑ Heat shock proteins (HSP60, HSP70 and HSP90) ↑ The survival rate ↑ (48.1% to 66.7%) after <i>V. splendidus</i> challenge.			
<i>L. pentosus</i> (from shrimp farming pond in Zhangpu, Fujian province, China)	Firmicutes	Diets 1.0×10 ⁷ CFU g ⁻¹ (live)	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	28 day s	The cumulative mortality ↓ after <i>Vibrio</i> strains challenge.	The digestive enzyme (protease, cellulose) activity ↑	Growth ↑	[91]
<i>L. pentosus</i> (from the intestinal tracts of healthy abalone)	Firmicutes	Diets 10 ³ CFU g ⁻¹ and 10 ⁵ CFU g ⁻¹ (live)	Abalone (<i>Haliotis discus hannai</i> Ino),	8 week s	The total number of blood lymphocytes, lysozyme activity, acid phosphatase, and SOD↑. Expression levels of peroxidase (TPx) ↑, malondialdehyde (MDA) content ↓ The cumulative mortality rate ↓	Survival rate, Shell length-specific growth rate, and FCR ↑		[95]
<i>Lactococcus</i>								
<i>L. lactis</i> MM1(from the gut of juvenile grouper <i>Epinephelus coioides</i>)	Firmicutes	Diets 1.0×10 ⁸ CFU g ⁻¹ (live)	Juvenile grouper (<i>Epinephelus coioides</i>)	60 day s	Serum complement component 3 (C3) level and lysozyme activity ↑	Hepatopancreatic protease activities ↑	Feed utilization ↑	[82]
<i>L. lactis</i> RQ516 (from fresh milk)	Firmicutes	Add to water at final concentration	Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	40 day s	Concentrations of serum protein and globulin ↑ Respiratory burst		Growth ↑	[97]

		on of 1×10^7 CFU ml ⁻¹ every 2 days (live)			activity ↑ lysozyme content (LC) ↑, myeloperoxidase (MPO) ↑ and SOD activities ↑		
<i>L. lactis</i> LH8 (from marine fish)	Firmicutes	Diets 1.0×10^9 CFU g ⁻¹ (live)	Sea cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)	30 day s	The Rel, HSP90 and HSP60 were down-regulated firstly at 15 d and up-regulated at 30 d, and only CASP2 showed up-regulation at both timepoints with 5.86 fold at 15 d and 10.29 fold at 30 d. The survival rate (48.1% to 64.8%) ↑ after of <i>V. splendidus</i> challenge.	Growth ↑	[84]
<i>Paracoccus</i>							
<i>Paracoccus</i> <i>marcusii</i> DB11	Proteobact eria	Diets 1.0×10^8 CFU g ⁻¹ (live)	Juvenile sea cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)	60 day s	SOD, CAT, lysozyme, ACP, and alkaline phosphatase (ALP) ↑. The cumulative mortality ↓ (40% to 0%) after <i>V.</i> <i>splendidus</i> challenge.		[62, 115]
<i>Pseudomonas</i>							
<i>P. stutzeri</i> SC221-M (from a grass carp pond)	Proteobact eria	Diet 3.0×10^9 CFU g ⁻¹ (live)	Grass carp (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	6 day s		Improve both the water quality and microbial communi ty structure in experime ntal aquacultu	[117]

								re system. Levels of ammonia -N↓, nitrite-N↓ , and total N levels↓ and alter the microbial communi- ty structure of the water.	
<i>P. stutzeri</i> F11 (from a grass carp pond)	Proteobact eria	Added to water at dose of 1×10 ⁵ CFU ml ⁻¹ (dead)	Grass carp (<i>Ctenophary ngodon idellus</i>)						[118]
<i>Pseudoalteromonas</i>									
<i>Pseudoaltero monas piscicida</i> SW-1 (from seawater from a clam farm)	Proteobact eria	Added to water at 10 ⁷ , 10 ⁸ , or 10 ⁹ CFU ml ⁻¹ (live)	Clams	15 day s	The mortality (100% to 11%) ↓ after <i>V. alginolyticus</i> challenge.				[121]
<i>P. monas</i> sp. BC228 (from healthy A. <i>japonicas</i>)	Proteobact eria	Diets 10 ⁵ , 10 ⁷ and 10 ⁹ CFU g ⁻¹ (live)	Juvenile sea cucumber (<i>Apostichopu s japonicus</i>)	45 day s	Lysozyme and phenoloxidase activities ↑ The mortality↓	Intestinal trypsin and lipase activities ↑			[120]
<i>Psychrobacter</i>									
<i>Psychrobacte r</i> sp. (from the gut of <i>Epinephelus coioides</i>)	Proteobact eria	Diets 1.0×10 ⁸ CFU g ⁻¹ (live)	Grouper (<i>Epinephelus coioides</i>)	60 day s	Phagocytic activity and phagocytic index ↑	Hepatopancr eatic protease and lipase activities ↑ Intestinal amylase activity ↑	FCR ↑		[123]
<i>Weissella</i>									
<i>Weissella confusa</i> LS13	Firmicutes	Diets 1.0×10 ⁹ CFU g ⁻¹ (live)	Sea cucumber (<i>Apostichopu s japonicus</i>)	30 day s	ACP activity, HSP60 and Rel ↑ Survival rate ↑ (48.1% to 63.0%) after <i>V. splendius</i> challenge.		Growth ↑		[84]

Yeast							
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	<i>Hanseniaspora</i>	Diets	Juvenile sea cucumbers	50 day	Phagocytic activity, coelomocytes, lysozyme, PO, total nitric oxide synthase (T-NOS), SOD, AKP and ACP ↑		[200]
C21 (from the intestine of healthy sea cucumber)		1.0 × 10 ⁴ CFU g ⁻¹ (live)	(<i>Apostichopus japonicus</i>)	s	The cumulative mortality ↓ (50% to 0%) after <i>V. splendidus</i> challenge.		
<i>Metschnikowia</i> sp. C14 (from the intestine of sea cucumber <i>Apostichopus japonicus</i>)		Diets 10 ⁴ , 10 ⁵ , 10 ⁶ CFU g ⁻¹	Sea cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)	45 day s	Phagocytic activity, lysozyme, PO, T-NOS, SOD and AKP ↑. The cumulative mortality ↓ (30% to 0%) after <i>V. splendidus</i> challenge.	Trypsin and lipase activities ↑	[143]
<i>Rhodotorula benthamica</i> D30 (from local sea mud)		Diets 1.0 × 10 ⁶ and 1.0 × 10 ⁷ CFU g ⁻¹ (live)	Juvenile sea cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)		Activities of lysozyme, phagocytic and total nitric oxide synthase ↑	Activities of amylase, cellulase activity and alginase ↑	[146]
<i>Rhodotorula</i> sp. C11 (from the intestine of healthy sea cucumbers collected from the waters around Bailanzi, Dalian, China)		Diets 1.0 × 10 ⁴ CFU g ⁻¹ (live)	Sea cucumber (<i>Apostichopus japonicus</i>)		The cumulative prevalence and mortality of sea cucumbers fed diets supplemented with <i>Rhodotorula</i> sp. C11 were zero, which were lower than those of animals fed the control diet. In control animals, the prevalence of disease was 70% and the resulting mortality was 30%.	Growth ↑	[145]
<i>Rhodospiridium</i>		Dry yeast at 1 g/100 g	Pacific white shrimp	2 wee	Expression of manganese	Growth ↑	[148]

<i>paludigenum</i> (from coastal water at Zhanjiang, China)	diet and (b) live yeast at 10 ⁸ yeast cells (hemocyto meter counts)/1 g diet	(<i>Litopenaeus</i> <i>vannamei</i>)	ks	superoxidate dismutase (SODMn) and catalase (CAT) actin ↑.		
<i>Rhodospiridi</i> <i>um</i> <i>paludigenum</i> (from coastal water at Zhanjiang, China r)	Diets dry yeast at 1 g/100 g diet and live yeast at 10 ⁸ yeast cells (hemocyto meter counts)/1 g diet.	Pacific white shrimp (<i>Litopenaeus</i> <i>vannamei</i>)	6 wee ks	T-AOC, CAT, SOD and GPX ↑	Growth ↑	[147]
<i>Saccharomyc</i> <i>es cerevisiae</i> (obtain as commercial preparation, Actisaf (Lesaffre, France).	Diet was incorporate d with 1 g kg ⁻¹ of the yeast for a final concentrati on of 10 ⁷ CFU g ⁻¹ of feeds (live)	Tilapia (<i>Oreochromi</i> <i>s nilotica</i>)	8 wee ks	QPCR <i>hsp70</i> , <i>tnfa</i> and <i>tgfb</i> ↓, AKP activity ↓.	Growth ↑	[138]