

王 进,陈文强,邓百万,等. 汉中麻鸭肠道定殖菌的生活状态和分布[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):176-178.

汉中麻鸭肠道定殖菌的生活状态和分布

王 进¹, 陈文强^{1,2}, 邓百万^{1,2}, 彭 浩^{1,2}, 解修超^{1,2}, 孔亚男¹, 刘兆迪¹, 赵娜娜¹

(1. 陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000; 2. 陕西省食药工程用工程技术研究中心, 陕西汉中 723000)

摘要:采用梯度稀释和组织培养方法,分别用 LB、玫瑰红钠及 MRS 固体培养基对汉中麻鸭肠道定殖菌进行培养并计数,结果表明:汉中麻鸭肠道中定殖有芽孢菌、酵母菌和乳酸菌;芽孢菌在汉中麻鸭小肠后段达到最大值,菌体数达 6.3×10^4 CFU/mL;酵母菌在盲肠达到最大值,菌体数达 7.6×10^4 CFU/mL;乳酸菌在十二指肠后段达到最大值,菌体数达 8.6×10^4 CFU/mL。

关键词:麻鸭;肠道;定殖菌;芽孢菌;酵母菌;乳酸菌;生活状态;分布

中图分类号: S834⁺.835 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0176-02

麻鸭为观赏及肉用兼用型鸭种,在全国各地广泛分布,绍兴麻鸭、高邮麻鸭、吴川麻鸭、微山麻鸭、汉中麻鸭等都是我国麻鸭的优良品种。麻鸭体型较小,羽毛紧凑;毛色麻褐色居多,体躯及背部土黄色并有黑褐色斑点^[1];头清秀,喙呈橙黄色,胫、蹼多为橘红色,少数为乌色;初生重为 38.7 g,300 日龄体重公鸭为 1 172 g,母鸭为 1 157 g,成年公鸭体重为 1 kg、母鸭为 1.4 kg;160~180 日龄开始产蛋,年产蛋 220 枚,平均蛋重为 68 g/枚,蛋壳颜色以白色为主,还有青色。

芽孢菌(*Bacillus*)是一种广泛分布于土壤、水、空气及动物肠道等处的细菌,对外界有害因子抵抗力强,作为益生菌中的一种,它能分泌高活性胞外产物,其中包含蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶等水解酶和一些分解饲料中非淀粉多糖的酶类^[2]。酵母菌(*Saccharomyces*)仅零星存在于动物肠道内,是动物肠道内寄生的一类正常有益菌。酵母细胞富含蛋白质、核酸、维生素和多种酶,具有增加饲料适口性、促进动物对饲料消化吸收能力等功能,并可提高动物对磷的利用率^[3]。乳酸菌是动物微生态制剂中报道最多、可以分解糖类产生乳酸的革兰氏阳性菌,厌氧或兼性厌氧生长。乳酸菌在 pH 值为 3.0~4.5 时可生长,对胃中酸性环境有一定耐受性^[4]。研究表明,乳酸菌能够调节机体胃肠道正常菌群,保持微生态平衡,提高食物消化率和生物价,降低血清胆固醇,控制内毒素,抑制肠道内腐败菌生长繁殖和腐败产物的产生,制造营养物质,刺激组织发育,从而对机体的营养状态、生理功能、细胞感染、药物效应、毒性反应、免疫反应、肿瘤发生、衰老过程和突然的应激反应等产生作用;乳酸菌亦可通过调节肠道 pH 值,以激活胃蛋白酶,促进胃肠蠕动,减轻胀气和促进肝脏功能^[5]。

为了使各类芽孢益生菌剂、酵母制剂及乳酸菌剂在我国畜牧养殖业中得到更好的应用^[6-7],全国不同地区对麻鸭肠道各个部位定殖菌数量和菌体萌发数量进行了检测分析,以推断定殖菌在麻鸭肠道中的萌发和生活状态;但是,陕西汉中

麻鸭肠道内芽孢菌、酵母菌及乳酸菌数量及分布尚未见研究报道。为此,以陕西汉中麻鸭为试验材料,通过对其肠道定殖菌生活状态和分布进行研究,为各类益生菌在汉中麻鸭养殖中更好的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验麻鸭 购自陕西汉中汉台区丰辉贸易市场。

1.1.2 培养基 LB 培养基:胰蛋白胨 10.0 g、酵母提取物 5.0 g、琼脂 15.0 g、氯化钠 10.0 g、H₂O 1 L;玫瑰红钠培养基:蛋白胨 5.0 g、琼脂 14.0 g、葡萄糖 10.0 g、玫瑰红钠 0.013 3 g、MgSO₄·7H₂O 0.5 g、K₂HPO₄ 1.0 g、H₂O 1 L;MRS 改良固体培养基:蛋白胨 10.0 g、琼脂 20.0 g、葡萄糖 20.0 g、牛肉膏 10.0 g、酵母膏 5.0 g、柠檬酸二胺 2.0 g、乙酸钠 5.0 g、吐温 80 1.0 mL、MgSO₄·7H₂O 0.58 g、K₂HPO₄ 2.0 g、MnSO₄·4H₂O 0.25 g、CaCO₃ 2.0 g、H₂O 1 L,pH 值 6.8。

1.1.3 主要仪器与设备 ZHWY-210 2C 型恒温振荡器,上海智诚分析仪器制造有限公司生产;SW-CJ-1F 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司生产;BJ100M 型电子天平,上海精科天美科学仪器有限公司生产;LS-B50L 型立式圆形压力蒸气灭菌器,上海医用核子仪器厂生产;LRH-800-GS 型人工气候箱,韶关市明天环保仪器有限公司生产;DZKW-S-4 型恒温水浴锅,惠州市新旭实业有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 麻鸭肠道的处理 将购买的麻鸭空腹处理 3 d,宰杀并解剖,取出肠道,用 75% 乙醇清洗肠道表面,待用。

1.2.2 芽孢菌、酵母菌、乳酸菌的数量测定 将麻鸭待用肠道分为 7 段,其中包括十二指肠 2 段、小肠 4 段、盲肠 1 段;无菌手术刀剖开各段肠道,将肠道内容物分别溶于 100 mL 已灭菌的生理盐水中,搅拌均匀,为待测样品^[8]。取待测样品 1.0 mL 分别于 2 支试管中,其中 1 支试管样品经 75 ℃ 热处理 20 min,另 1 支试管样品不经热处理。用生理盐水梯度稀释 10、100、1 000 倍,各浓度取 100 μL 涂布于 LB 培养基、玫瑰红钠培养基、MRS 固体培养基上,并做 3 个平行皿。芽孢菌于 37 ℃ 恒温培养 36 h,酵母菌于 28 ℃ 恒温培养 48~72 h,乳酸菌于 37 ℃ 恒温培养 48~72 h,分别统计菌落数和

收稿日期:2013-06-17

作者简介:王 进(1988—),男,陕西礼泉人,硕士,从事微生物资源开发利用研究。

通信作者:陈文强(1956—),男,陕西洋县人,教授,硕士生导师,主要从事微生物资源保护与利用研究。Email:wenqiang@126.com。

计算菌体总数^[9-10]。

1.2.3 样品活性菌体数量统计 1 mL 菌液中活性菌体数量的计算公式为:样品活性菌体数量=(未热处理样品菌落数-热处理样品菌落数)×稀释倍数×10。

2 结果与分析

2.1 汉中麻鸭不同肠道区段定殖菌活性菌体数量

2.1.1 芽孢菌在不同肠道区段活性菌体数量 由表 1 可见,芽孢菌在汉中麻鸭肠道内可以定殖,少数芽孢菌滞留在麻鸭十二指肠处,进入小肠后开始萌发,并进行生长繁殖,在小肠后段达到最大值,菌体数达 6.3×10⁴ CFU/mL,而后重新转入休眠体的芽孢状态,完成一个生活周期。小肠后段即盲肠附

近是芽孢菌主要生长繁殖和滞留的场所。

2.1.2 酵母菌在不同肠道区段活性菌体数量 由表 2 可见,酵母菌在汉中麻鸭肠道内虽可定殖,但菌体数量较少,分布范围较窄,在小肠后段才开始萌发、繁殖;在盲肠处菌体数量达到最大值,为 7.6×10⁴ CFU/mL。盲肠附近是酵母菌生长繁殖和滞留的场所。

2.1.3 乳酸菌在不同肠道区段活性菌体数量 由表 3 可见,乳酸菌在汉中麻鸭肠道内可以定殖,十二指肠前段即可见乳酸菌菌落;十二指肠后段乳酸菌菌体数达到最大,为 8.6×10⁴ CFU/mL;至小肠中段时乳酸菌落几乎不能检出。十二指肠后段及小肠前段附近是乳酸菌主要生长繁殖和滞留的场所。

表 1 菌液中芽孢菌菌落数

肠道区段	未经热处理的菌落数			经过热处理的菌落数			菌体总数 (CFU/mL)
	稀释 10 倍	稀释 100 倍	稀释 1 000 倍	稀释 10 倍	稀释 100 倍	稀释 1 000 倍	
十二指肠 1	16	5	0	0	0	0	1.6×10 ²
十二指肠 2	18	6	0	0	0	0	1.8×10 ²
小肠 1	>1 000	116	14	19	6	1	1.1×10 ⁴
小肠 2	607	77	6	11	2	0	0.8×10 ⁴
小肠 3	>1 000	478	56	13	2	1	5.6×10 ⁴
小肠 4	>1 000	532	63	14	1	1	6.3×10 ⁴
盲肠	>1 000	252	27	8	1	0	2.5×10 ⁴

表 2 菌液中酵母菌菌落数

肠道区段	未经热处理的菌落数			经过热处理的菌落数			菌体总数 (CFU/mL)
	稀释 10 倍	稀释 100 倍	稀释 1 000 倍	稀释 10 倍	稀释 100 倍	稀释 1 000 倍	
十二指肠 1	15	3	0	0	0	0	1.5×10 ²
十二指肠 2	13	2	0	0	0	0	1.3×10 ²
小肠 1	14	1	0	0	0	0	1.4×10 ²
小肠 2	14	3	0	0	0	0	1.4×10 ²
小肠 3	16	3	0	0	0	0	1.6×10 ²
小肠 4	>1 000	197	2	9	2	0	2.0×10 ⁴
盲肠	>1 000	668	76	12	3	0	7.6×10 ⁴

表 3 菌液中乳酸菌菌落数

肠道区段	未经热处理的菌落数			经过热处理的菌落数			菌体总数 (CFU/mL)
	稀释 10 倍	稀释 100 倍	稀释 1 000 倍	稀释 10 倍	稀释 100 倍	稀释 1 000 倍	
十二指肠 1	327	47	1	1	0	0	0.5×10 ⁴
十二指肠 2	>1 000	786	86	3	0	0	8.6×10 ⁴
小肠 1	>1 000	564	63	2	0	0	6.3×10 ⁴
小肠 2	378	41	1	0	0	0	0.4×10 ⁴
小肠 3	21	4	0	0	0	0	2.1×10 ²
小肠 4	13	2	0	0	0	0	1.3×10 ²
盲肠	11	1	0	0	0	0	1.1×10 ²

2.2 汉中麻鸭肠道中定殖菌的分布

以汉中麻鸭肠道中芽孢菌、酵母菌、乳酸菌菌体数量为纵坐标,以活性菌体在不同肠道区段的分布部位为横坐标作图(图 1)。芽孢菌耐酸碱,生长最适 pH 值为 6.0 左右,能分泌高活性的胞外产物,在胃液中仍保持活性,以孢子状态进入消化道,在小肠内开始萌发,故芽孢菌主要分布和定殖在远离胃端的小肠中、后段。酵母菌多分布在土壤、水和动植物体表面,仅零星分布在动物肠道内,因其富含蛋白质、核酸、维生素和多种酶,具有促进对饲料的消化吸收功能,在汉中麻鸭中虽有酵母菌菌落检出,但分布和定殖在小肠后段和盲肠。乳酸

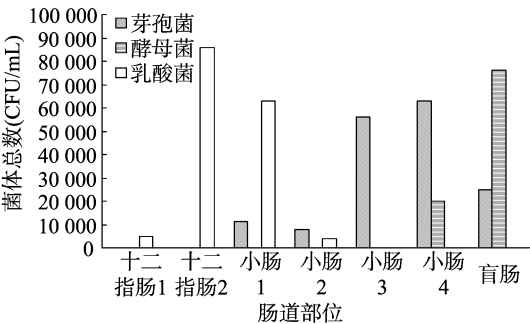


图1 芽孢菌、酵母菌、乳酸菌在汉中麻鸭肠道中的分布

蒋晓新,魏星远,邓双义,等. 计步器监测荷斯坦奶牛蹄病的效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):178-180.

计步器监测荷斯坦奶牛蹄病的效果

蒋晓新¹, 魏星远², 邓双义³, 刘 炜², 艾 力³

(1. 新疆农业大学, 新疆乌鲁木齐 831100; 2. 新疆天润五一奶牛场, 新疆乌鲁木齐 830088;

3. 新疆农业职业技术学院, 新疆昌吉 831203)

摘要:为探讨北方地区运用计步器对荷斯坦奶牛蹄病的监测效果,新疆天润五一奶牛场运用计步器对全场1280头奶牛进行了为期1年的蹄病监测。结果表明:在北方地区因气候环境和饲养管理因素,不同季节蹄病发病种类和发病率各不相同,奶牛步履活动变化差异极显著($P < 0.01$);在不同季节采用不同预防措施,蹄病发病率降低27.45%;运用奶牛计步器可有效监测奶牛蹄病,做到早发现早治疗,治愈率提高19.60%,可有效指导养牛生产。

关键词:计步器;荷斯坦奶牛;蹄病;监测

中图分类号: S858.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0178-03

奶牛蹄病已成为危害奶牛生产的四大疾病之一,轻则引起奶牛跛行,重则引起奶牛瘫痪,严重影响奶牛采食和牛奶生产^[1],如不加以重视,则会增加奶牛淘汰成本,降低经济效益。新疆春、夏、秋、冬四季明显,气候差异大,年内气温最低为 $-38.3\text{ }^{\circ}\text{C}$,最高达 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,全年平均气温为 $4.5\text{ }^{\circ}\text{C}$,具有典型北方气候特点。环境差异较大,导致蹄病发病率有所不相

同。为了研究在北方地区舍饲条件下气候因素对奶牛蹄病的影响,新疆天润五一奶牛场采用尤利农奶牛计步器与 Afai-farm(阿菲牧)3.04 软件管理系统对该场1280头奶牛蹄病发病进行了为期1年的监测与分析。试验结果表明,季节和饲养管理因素对奶牛蹄病发病存在直接相关关系。究其原因,主要是奶牛在不同季节,气温、日照、营养以及饲养管理条件对奶牛蹄病发病有较大影响。

收稿日期:2013-06-21

基金项目:2011年度新疆农业职业技术学院资助课题(编号:XJNZYKJ2011012)。

作者简介:蒋晓新(1978—),男,新疆昌吉人,硕士,畜牧师,从事奶牛养殖方面的研究。E-mail:jiangxiaoxin2010@sina.cn。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

本试验于2012年1月1日至2012年12月31日在新疆天润五一奶牛场进行。

菌生长的最适pH值为4.0左右,在动物肠道内能通过生物拮抗,阻止和抑制致病菌侵入肠道,还可提高食物消化率,因此,在与胃部相连的十二指肠即能检出乳酸菌菌落,乳酸菌主要分布和定植在十二指肠后段和小肠前段。

3 小结与讨论

采用梯度稀释和组织培养方法研究陕西汉中麻鸭肠道中定殖菌的生活状态和分布,研究结果表明,小肠后段芽孢菌数量达最大值 $6.3 \times 10^4\text{ CFU/mL}$,盲肠酵母菌数量达最大值 $7.6 \times 10^4\text{ CFU/mL}$,十二指肠后段乳酸菌数量达最大值 $8.6 \times 10^4\text{ CFU/mL}$ 。

芽孢菌剂、酵母菌剂及乳酸菌剂作为动物益生菌或肠道竞争抑制剂,除了可以改善、调整肠道菌群外,还可抑制有害细菌在肠道内膜的吸附和定殖,饲喂动物日粮中添加一定比例,可明显降低肉肉比。

芽孢菌、酵母菌及乳酸菌产生多种消化酶,是提高动物生产性能的一个重要体现,它可以帮助动物消化吸收营养物质,具有较强的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性,同时,还具有降解饲料中复杂碳水化合物化合物的酶,如果胶酶、葡聚糖酶、纤维素酶等,这些酶能够破坏植物饲料细胞的细胞壁,促使细胞的营养物质释放出来,并能消除饲料中的抗营养因子,减少抗营养因子对动物消化利用的障碍。

参考文献:

- [1] 辞海编辑委员会. 辞海:生物分册[M]. 上海:上海辞书出版社, 1999:524.
- [2] 姚 茹,王智勇,王广军,等. 饲料中添加芽孢杆菌对草鱼生长和水质的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(4):214-216.
- [3] Sekirov I. Gut microbiota in health and disease[J]. Physiological Reviews,2010,90(3):859-904.
- [4] Wong S, Rawls J F. Intestinal microbiota composition in fishes is influenced by host ecology and environment[J]. Molecular Ecology, 2012,21(13):3100-3102.
- [5] Tam N K, Uyen N Q, Hong H A, et al. The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives[J]. Journal of Bacteriology,2006, 188(7):2692-2700.
- [6] 陈 琼. 鸡源益生菌的分离、筛选、鉴定与特性研究[D]. 广州:华南理工大学,2004:1-64.
- [7] 蔡 雁,郝 勃,喻子牛. 抗动物病原菌芽孢杆菌的筛选、初步鉴定和抗菌活性[J]. 微生物学杂志,2005,25(5):19-22.
- [8] 方 祥,胡文锋,张辉华,等. 乳酸菌的分离、鉴定及其生长特性[J]. 中国微生态学杂志,2000,12(5):262-264.
- [9] 史怀平. 朱鹮消化道正常菌群的分离鉴定及微生态制剂的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2005:1-54.
- [10] 赖国旗,韦 克,张德纯,等. 健康动物肠道正常菌群的分离与鉴定[J]. 中国微生态学杂志,1997,9(2):23-25.