

畜禽益生菌研究方向的思考

陆伟伟¹, 汪 兵¹, 李庆华², 张盼望²

(1. 鄂州市动物疫病预防控制中心, 湖北 鄂州 436000; 2. 鄂州市农业综合执法支队)

摘要:作为最具潜力替代抗生素生物制剂之一的益生菌,一直备受人们关注。为了全面精准挖掘益生菌的功能作用,本文在众多学者的研究基础上,系统梳理并概括了益生菌未来研究的六个方面,旨在为益生菌后续深层次探索提供参考,更好推动畜牧业的高质量发展。

关键词:益生菌; 畜禽; 功能

[中图分类号] S816.73 [文献标识码] A [文章编号] 1004-6704(2023)03-0069-03

Thoughts on the Research Direction of Probiotics in Livestock and Poultry

LU Wei-wei¹, WANG Bing¹, LI Qing-hua², ZHANG Pan-wang²

(1. Ezhou Animal Disease Prevention and Control Center, Ezhou Hubei 436000, China;

2. Ezhou Agricultural Comprehensive Law Enforcement Team)

Abstract: As one of the most promising biological agents to replace antibiotics, probiotics have always attracted people's attention. In order to fully and accurately explore the functional role of probiotics, this paper systematically sorts out and summarizes six aspects of future research on probiotics based on the research of many scholars. This aims to provide a reference for the subsequent in-depth exploration of probiotics and better promote the high-quality development of animal husbandry.

Key words: probiotics; livestock and poultry; function

益生菌,又称“益生素”,2001年由联合国粮食农业委员会统一将其概括为:通过摄取一定的数量,对宿主健康产生有益作用活的微生物。因具备天然、安全、功能多、无残留等优点一直是益生菌备受关注的重要因素,也被视为替代抗生素最具潜力的生物制剂之一。目前的研究重点主要集中在益生菌的体外筛选优良菌种和使用效果等方面的应用研究。首先通过特定的生化试验和分子生物学鉴定,明确菌株具体的种属分类,然后对目的菌株经过安全性、有效性、耐受性、同源性和生产性等方面验证,筛选出活性好、耐受性强、易于大量生产的菌株投入到养殖生产中,用于提高动物的生产性能和改善畜产品质量。

但随着科技水平的进步,仅靠体外筛选和临床饲喂等方式研究益生菌功能,难于发挥出菌种的最大功效,因此本文综合众多学者的研究成果,系统指出益生菌今后一段时期的研究重点,便于研究出益生菌更多的功效和作用。

1 采用新技术、新方法,瞄准肠道菌群核心靶位

肠道菌群主要由胃肠道内寄居的微生物群落和过路群落构成,包括厌氧菌、需氧菌和兼性厌氧菌等。各种菌之间互相制约,互相依存,肠道内菌群形成一种平衡状态。正常情况下,肠道菌群有相当固定的细菌组成,而且各菌群按照一定比例组合,对宿主胃肠道功能和完整性、维持免疫机能和宿主能量代谢等方面起着重要作用。但当肠道菌群失衡时,则会导致轻度慢性肠炎、肠道炎症疾病、肠道应激综合征、代谢紊乱,进而引起肥胖病、糖尿病等不良后果。

2011年O'Shea提出益生菌或者代谢产物可以抑制病菌的生长,主要通过竞争和结合受体位点来抵抗其他细菌的生长。同年, Lee and Bak 得出乳酸杆菌能提高肠道屏障,导致能粘附到肠道表面的细菌数目降低,降低胃肠道疾病的发生,比如:肠道应激综合征、肠道炎症疾病等。而对于益生菌能引起肠道菌群的改变,目前使用的方法手段主要有高通量测序、DGGE、宏基因组测序等新技术。2010年Cox运用高通量测序对6月龄的婴儿粪便进行检测,结果显示益生菌增加肠道菌群的均匀度指数。

[收稿日期] 2022-10-12

[作者简介] 陆伟伟(1986-),女,河南濮阳人,硕士,兽医师,主要从事畜禽养殖及疫病防控研究。E-mail: 523374859@qq.com

2011年 Ki Cha 运用 DGGE 技术对患者粪便进行检测,结果表明益生菌组使肠道菌群更趋于稳定。2013年 Peera Hemarajata and James Versalovic 提出益生菌对肠道菌群组成、多样性作用的改变,主要采用宏基因组技术完成的;2012年 Preidis 探讨益生菌对小鼠肠道菌群的影响,同样使用了 16S rRNA 宏基因组测序方法,结果显示此益生菌能增加肠道菌群的多样性和稳定性。因此,对于益生菌采用的新技术、新方法,主要针对肠道菌群这个关键靶位产生作用。

2 优良菌种的选育方法实现新突破

优良菌种的选育是生产益生菌菌株的关键一环,是发挥益生作用的重要一步。目前,筛选益生菌的方法主要通过毒力因子安全性检测、模拟胃肠道酸碱碱性耐受等试验,进而培育出目的菌株。但随着科技手段的进步,很多文献表明益生菌的选育方向更加精准、选育方式更加多样。秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)是一种可以独立生存的线虫,个体小,生活史短,通身透明,以大肠杆菌为食,其遗传背景清楚,和高等动物相比有很大的同源性。早在 1965 年,科学家就采用线虫作为模式生物用于发育生物学等相关领域开展研究。

当前线虫应用领域广泛,在益生菌和药物筛选、环境生物学等方面都取得很大进展。研究表明,Grompone 和 Martorel 等人首先采用 H_2O_2 使线虫处于氧化应激状态,然后喂养定量益生菌株后,通过观察线虫寿命长短等因素来选育抗氧化益生菌,方

法便捷且实效性高。另外作者还对筛选的目的菌株就如何调控宿主寿命等内在机制开展了深层探究,文章的思考视角和选育益生菌株的方式与以往完全不同,研究的广度和深度都有较大进展,也为今后科学选育出更多有益生功能的菌株开辟了新的路径。

3 益生菌株分子机理方面的探索

研究表明益生菌是良好的免疫激活剂,主要通过特异性和非特异性免疫应答途径来增强机体免疫防御能力。2009年 Zoumpopoulou 等人采取骨髓来源的 IEC、DC 及九种不同来源的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和益生菌株开展体外互作模拟研究。结果显示金黄色葡萄球菌、大肠杆菌与益生菌株相比,上调了免疫细胞分泌的一些促炎症因子含量,结论得出可能与细菌表面不同的标记相关。

2009年 Preidis 和 Versalovic 表明益生菌主要通过分泌活性分子和代谢物来激活免疫细胞和肠上皮细胞,进而分泌促炎症和抗炎症因子来增强机体的免疫反应。Thomas 和 Versalovic 在 2010 年具体阐述了益生菌一方面通过与细胞受体识别,激活 MAPK/ NF- κ B 等信号途径使巨噬细胞分泌细胞因子,从而提高机体的非特异免疫水平;另一方面激活 DC 使初始的 T 细胞向 Th1/Th2/Th17 等不同类型分化,主要分泌 IL-1、IL-6、TNF- α 等促炎症因子,向 Treg 类型分化,主要分泌 IL-10 等抗炎症因子,从而共同影响机体的细胞免疫应答;使 B 细胞分化成效应 B 细胞分泌 IgA/IgG,增强机体的体液免疫应答,抵抗病原菌的入侵(见图 1)。

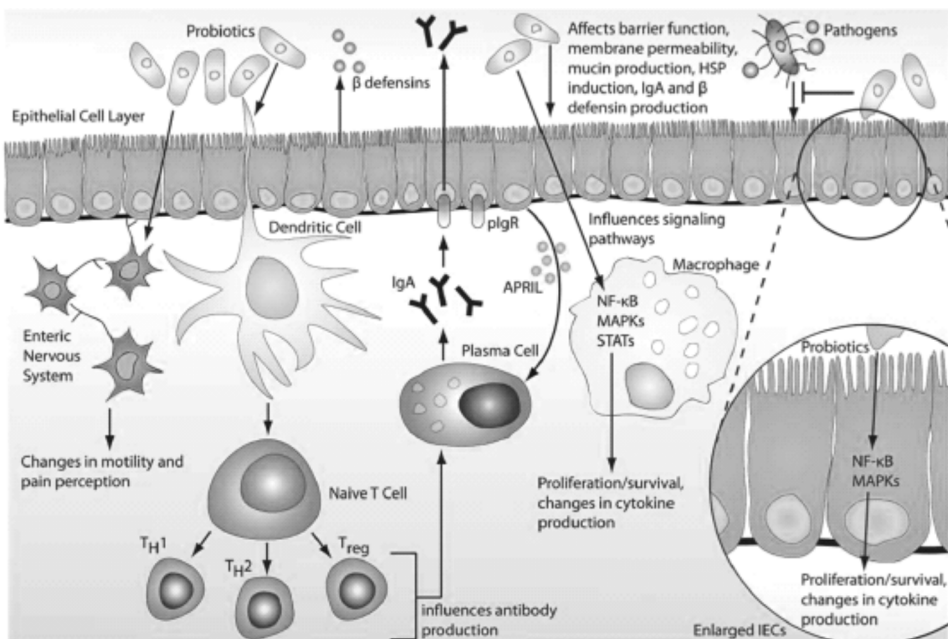


图 1 益生菌调节肠道免疫应答反应

当前大部分学者的研究重点主要在益生菌与免疫细胞的体外互作方面,由于病原菌和益生菌菌株表面分子标记不同,与 DC 或者 IEC 等免疫细胞结合后,致使其分泌的细胞因子不同、表达量不一。但菌株表面的标记如何调控免疫细胞,其内在的分子机理信号传导途径仍是今后科学领域研究的热点部分。

4 开发出“益生菌种测序+生物信息学+功能分析”融合新思维

当前研究益生菌或其他微生物的功能多样性,主要采用基因测序手段,优点在于不用对益生菌进行传统的分离培养即可达到对未知功能性基因测定,过程全自动化,能实现高通量、多样本间的相关性分析。同时结合生物信息学知识,采用“菌种测序+生物信息+功能分析”新思维,能更深层地挖掘益生菌的功能作用。

2011 年 Saulnier 和 Santos 等人对四株筛选到的乳酸菌菌株采取全基因组测序方法,同时借助生物信息学数据库相关软件,开展了基因组、转录组等相关比较,初步探索出抗菌特性分析、代谢分析、免疫调节机制和黏附机制等内在调控的靶向基因,此融合思维也为后续益生菌或其他菌株的更多功能研究提供了有力依据。

5 复合益生菌制剂“1+1>2”的作用功效

2010 年我国农业部发布新公告,明确规定能直接饲喂动物且安全的微生物添加剂种类有 33 种,其中乳酸菌类有 17 种,芽胞杆菌类占 5 种,并规定这些菌株即能单独使用,也能够两种菌株或多种菌株混合添加。

研究表明,赵剑闯等人详细分析了枯草芽胞杆菌与乳酸菌不同的益生机制,王永芬等采用枯草芽胞杆菌和乳酸菌配比成复合益生菌,主要研究复合益生菌和单一菌株对蛋鸡生产性能的影响,结论显示饲喂复合益生菌在产蛋率、平均蛋重和日采食量等指标上显著高于单一菌株,这也与 Zhang Panwang 等人在蛋鸡热应激方面的研究结论相一致。2014 年 Wang 等人利用复合益生菌菌株(由双歧杆菌、乳酸杆菌和链球菌组成)在 PI-IBS 鼠科模型中证实,在肠道敏感性、屏障功能和免疫性能等指标上,复合益生菌的改善效果均好于单菌作用。

现阶段,乳酸菌类、芽胞杆菌类两种单菌虽然是目前临床上应用最多的菌株,并取得了一定的成效。但是单一菌株的益生功能毕竟有限,有时会暴露出临床使用效果不太稳定的缺陷。因此,应根据动物

肠道多菌共生的特点和不同菌株之间的协同关系,发挥出菌株之间优势互补的“最大公约数”,开发出更多功效、更有利于提升动物生产性能的复合益生菌菌株,将是今后益生菌的研究方向。

6 定向改造益生菌的靶向基因

研究表明,致病菌大肠杆菌主要由菌毛基因与肠粘膜受体发生粘附,通过系列信号传导进而致病,并且大肠杆菌菌毛与肠粘膜粘附性很强,也是诱发疾病的主要原因。枯草芽胞杆菌为“过路菌”,主要靠“挤位”来阻止病原菌在肠道中定植,粘附性较差。如果将大肠杆菌菌毛基因重组到粘附性较差的枯草芽胞杆菌中,定向改造益生菌靶向基因,将能大大破解枯草芽胞杆菌粘附性差的难题,进而开发出更多优良的益生菌种用于实际生产中。

参考文献:

- [1] GROMPONE G, MARTORELL P, LLOPIS S, et al. Anti-inflammatory *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690 strain protects against oxidative stress and increases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Plos One*. 2012, 7: e52493.
- [2] ZOUMPOPOULOU G, TSAKALIDOU E, DEWULF J, et al. Differential crosstalk between epithelial cells, dendritic cells and bacteria in a co-culture model. *Int J Food Microbiol*. 2009, 131: 40-51.
- [3] PREIDIS G and VERSALOVIC J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. *Gastroenterology*. 2009, 136: 2015-2031.
- [4] SAULNIER DM, SANTOS F, ROOS S, et al. Exploring metabolic pathway reconstruction and genome-wide expression profiling in *Lactobacillus reuteri* to define functional probiotic features. *Plos One*. 2011, 6: 604-607.
- [5] 赵剑闯,周勃. 乳酸菌与芽胞杆菌对机体作用机制的比较[J]. 饲料与畜牧. 2010,10:39-41.
- [6] 王永芬,赵志军,席磊,等. 单一菌种与复合菌种益生菌制剂对蛋鸡生产效果研究[J]. 中国畜牧兽医. 2011, 38:28-31.
- [7] ZHANG PW, YAN T, WANG XL, et al. Probiotic mixture ameliorates heat stress of laying hens by enhancing intestinal barrier function and improving gut microbiota. *Italian Journal of Animal Science*. 2016. 1264261.
- [8] WANG H, GONG J, WANG WF, et al. Are there any different effects of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Streptococcus* on intestinal sensation, barrier function and intestinal immunity in PI-IBS mouse model *Plos One*. 2014, 9: e90153.