



地衣芽孢杆菌 HDTN 对 817 肉鸡生长性能及肠道菌群的影响

丁红霞^{1,2,3#}, 潘朝阳^{4#}, 孟凡丛³, 陈聘聘^{1,2,3}, 许萍^{1,2,3}, 王婕³, 范鑫^{1,2,3},
李世杰^{1,2,3}, 周祖涛^{1,2,3}, 石德时^{1,2,3}, 肖运才^{1,2,3*}

1 华中农业大学 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 湖北 武汉 430070

2 湖北省预防兽医学重点实验室, 湖北 武汉 430070

3 华中农业大学动物医学院, 湖北 武汉 430070

4 湖南宝东农牧科技股份有限公司, 湖南 邵阳 422000

丁红霞, 潘朝阳, 孟凡丛, 陈聘聘, 许萍, 王婕, 范鑫, 李世杰, 周祖涛, 石德时, 肖运才. 地衣芽孢杆菌 HDTN 对 817 肉鸡生长性能及肠道菌群的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(7): 2479-2492.

DING Hongxia, PAN Chaoyang, MENG Fancong, CHEN Pinpin, XU Ping, WANG Jie, FAN Xin, LI Shijie, ZHOU Zutao, SHI Deshi, XIAO Yuncai. Effects of *Bacillus licheniformis* HDTN on growth performance and intestinal flora of '817' broilers[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(7): 2479-2492.

摘要:“饲料禁抗”对于畜牧养殖业而言是个重要转折点, 标志着饲料行业和养殖行业步入转型升级的新阶段。【目的】探究饲料中添加地衣芽孢杆菌 HDTN 对 817 肉鸡生长性能及肠道菌群的影响。【方法】将地衣芽孢杆菌 HDTN 菌粉(7.0×10^{10} CFU/g)添加至饲料中饲喂 817 肉鸡, 探究不同添加剂量(高剂量组: 1 000 g/t; 中剂量组: 500 g/t; 低剂量组: 250 g/t; 对照组: 0 g/t)在 1–56 d 内对 817 肉鸡生长性能、血清生化指标、肠道形态及菌群结构的影响。【结果】与对照组相比 1–35 d 添加低剂量地衣芽孢杆菌 HDTN 可以使肉鸡平均体重(average body weight, ABW)显著提高 105.47 g ($P < 0.01$), 料重比显著降低 0.25 ($P < 0.05$)。肉鸡血清中部分抗氧化指标的含量与 HDTN 添加量呈正相关, 从而减少肉鸡氧化应激。丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量与 HDTN 添加量

资助项目: 武汉市知识创新专项-基础研究项目(2022020801010224); 中央高校基本科研业务费专项资金(2662022YJ004); 湖北省农业科技创新岗位基金(2021-620-000-001-030); 湖北省重点研发计划(2021BBA252)

This work was supported by the Knowledge Innovation Program of Wuhan-Basic Research (2022020801010224), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2662022YJ004), the Innovative Job Funds of Agricultural Science and Technology of Hubei Province (2021-620-000-001-030), and the Key Research and Development Plan of Hubei Province (2021BBA252).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: xyc88@mail.hzau.edu.cn

Received: 2023-12-26; Accepted: 2024-03-26; Published online: 2024-04-02

呈负相关,提示 HDTN 可以减少肉鸡细胞损伤。肠道切片结果显示低剂量组十二指肠的肠绒毛高度与隐窝深度比值(villus height/crypt depth, VH/CD)显著高于对照组($P<0.01$)。另外中剂量组($P<0.01$)、低剂量组($P<0.05$)的厚壁菌门(*Firmicutes*)菌群丰度显著上升,中剂量组拟杆菌属(*Bacteroides*)的菌群丰度同样出现显著上升($P<0.05$)。【结论】在 1–35 d 添加低剂量地衣芽孢杆菌 HDTN,可以提高 817 肉鸡生长性能、降低料重比、改善肠道形态并加快建立肠道优势菌群。

关键词: 地衣芽孢杆菌 HDTN; 817 肉鸡; 生长性能; 肠道菌群

Effects of *Bacillus licheniformis* HDTN on growth performance and intestinal flora of ‘817’ broilers

DING Hongxia^{1,2,3#}, PAN Chaoyang^{4#}, MENG Fancong³, CHEN Pinpin^{1,2,3}, XU Ping^{1,2,3}, WANG Jie³, FAN Xin^{1,2,3}, LI Shijie^{1,2,3}, ZHOU Zutao^{1,2,3}, SHI Deshi^{1,2,3}, XIAO Yuncai^{1,2,3*}

1 National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

2 Key Laboratory of Preventive Veterinary Medicine in Hubei Province, Wuhan 430070, Hubei, China

3 College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

4 Hunan Baodong Agriculture and Animal Husbandry Co., Ltd., Shaoyang 422000, Hunan, China

Abstract: The proposal of ban on antibiotics in feed is a turning point for the animal husbandry, marking that the feed industry and animal husbandry have entered a new stage of transformation and upgrading. **[Objective]** To investigate the effects of adding *Bacillus licheniformis* HDTN to feed on the growth performance and intestinal flora of ‘817’ broilers. **[Methods]** *B. licheniformis* HDTN powder (7.0×10^{10} CFU/g) was added to the feed for ‘817’ broilers. The effects of high-, medium-, and low-dose (1 000, 500, and 250 g/t) bacterial addition on the growth performance, serum biochemical indexes, intestinal morphology, and intestinal flora structure of the ‘817’ broilers during 1–56 days were studied, with the group without bacterial addition as the control. **[Results]** Compared with the control group, the addition of low-dose *B. licheniformis* HDTN increased the average body weight by 105.47 g ($P<0.01$) and reduced the feed-to-weight ratio by 0.25 ($P<0.05$) during days 1–35. The antioxidant indexes in the broiler serum were positively correlated with the dose of HDTN, which reduced oxidative stress in broilers. The content of malondialdehyde was negatively correlated with the dose of HDTN, which suggested that HDTN reduced cellular damage in broilers. The ratio of villus height to crypt depth in the duodenum of the low-dose group was higher than that of the control group ($P<0.01$). In addition, compared with the control group, medium-dose ($P<0.01$) and low-dose ($P<0.05$) groups showed increased relative abundance of *Firmicutes*, and the medium-dose group showed increased relative abundance of *Bacteroides* ($P<0.05$). **[Conclusion]** Addition of low-dose *B. licheniformis* HDTN for ‘817’ broilers can

improve the growth performance, reduce the feed-to-weight ratio, improve the intestinal morphology, and accelerate the assembly of intestinal flora during days 1–35.

Keywords: *Bacillus licheniformis* HDTN; ‘817’ broiler; growth performance; intestinal flora

益生菌指可以改善宿主健康状态的活体微生物。微生态制剂则是运用微生态学原理,以益生菌为原料制成的活菌制剂^[1]。益生菌及其代谢产物多具有预防疾病、调节宿主动物肠道菌群平衡、提高生长性能和减少氧化应激等一系列作用^[2]。随着畜禽养殖产业的发展,抗生素残留及细菌耐药性的不断提高已经成为亟待解决的问题。2020年7月起我国禁止使用除中草药外的所有促生长类药物饲料添加剂^[3]。因此,在畜禽养殖领域研发具有减抗替抗效果的微生态制剂是顺应发展、拥有广阔前景的研究^[4]。

益生菌的功能与菌体本身及其代谢产物息息相关。首先是益生菌菌体,畜禽胃肠道菌群绝大部分为厌氧菌,益生菌进入肠道与需氧型致病菌争夺氧气、营养物质和生存空间,从而控制有害菌的数量,维持肠道微生态平衡。另外在黏膜受损的情况下,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)会发生暴露,允许有害微生物定殖和感染,而益生菌则可以黏附在基质上与病原体竞争相同受体,并占据潜在结合位点^[5-6]。He等^[7]在饲料中添加枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌的混合制剂,使肉鸡空肠黏膜中的胞质紧密粘连蛋白1(zonula occludens-1, ZO-1)显著升高,降低有害细菌及毒素穿过肠道进入血液引起肠源性感染的风险。可见益生菌在促进肠道菌群平衡,减少有害微生物定殖及感染方面发挥着有益作用。

益生菌代谢产物如短链脂肪酸、吡啶、维生素和细菌素,参与宿主与微生物群的互动,如吡啶衍生物与芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)结合,调节宿主屏障功能和免疫稳态^[8]。Aliakbarpour等^[9]在肉鸡饲料中添加枯

草芽孢杆菌,其代谢产物甘露寡糖提高了粘糖蛋白2(mucin-2, MUC2)基因的表达,增加了杯状细胞数量和空肠绒毛高度。以上多项研究均表明,益生菌及其代谢产物在畜禽养殖过程中发挥着重要作用。

本研究中的HDTN是一种地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)。地衣芽孢杆菌是革兰氏阳性菌,具有安全性和优良的耐受性。地衣芽孢杆菌可产生多种抗生素,包括脂肽类^[10]、肽类、多烯类和氨基酸类等。Ham等^[11]在地衣芽孢杆菌中分离出含有特殊咪唑环的抗生素芽孢杆菌咪唑G,对多种动物、植物及人类病原菌起到很好的抑制作用。另一方面部分地衣芽孢杆菌能产生很强的蛋白酶^[12]、淀粉酶^[13]活性。因此,地衣芽孢杆菌被广泛应用于医药、农药、食品、饲料加工和环境污染治理等各个行业。

1 材料与方 法

1.1 菌株和试剂

地衣芽孢杆菌HDTN由湖北华大瑞尔科技有限公司提供,菌种保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏编号为CCTCC NO: M2020536。

4%多聚甲醛(g/L): $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 17.80 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 35.82 g, 多聚甲醛 40.00 g。

1.2 试验动物和日粮

1日龄817肉鸡购自衡阳县大安乡湘禽苗孵化场。所有试验均按照相关法律和制度指导进行,并经过华中农业大学动物伦理委员会批准进行。伦理编号:HZAUCH-2024-0003。

基础日粮参照817肉鸡标准配制。基础日粮配方和营养水平如表1所示。

表 1 817 肉鸡基础日粮配方和营养水平

Table 1 '817' broilers base diet formulation and nutrient levels

Items	1-21 d	21-56 d
Ingredients		
Corn (%)	64.00	64.00
Soybean meal (%)	27.00	28.00
Fishmeal (%)	5.00	2.00
Premix (%)	5.00	5.00
Nutritional levels		
Crude protein (%)	21.00	19.00
Metabolic energy (kcal/kg)	2 900	3 000
Lysine (%)	1.36	1.25
Methionine (%)	0.44	0.40
Total Ca (%)	1.00	0.90
Available P (%)	0.45	0.40

The premix provided the following per kg of diets: V_A 9 600 IU, V_{D3} 2 700 IU, V_E 36 mg, V_K 33 mg, V_{B1} 3 mg, V_{B2} 10.5 mg, V_{B6} 2 mg, V_{B12} 0.03 mg, folic acid 1.5 mg, niacinamide 60 mg, D-calcium pantothenate 18 mg, D-biotin 0.25 mg, iron 80 mg, copper 8 mg, manganese 80 mg, zinc 60 mg, iodine 0.35 mg, selenium 0.15 mg.

1.3 试验设计

选取雄性 1 日龄 817 肉鸡 400 只,仔鸡适应环境 3 d 后,选取体重无显著差异的仔鸡 384 只,随机分成 4 组,每组 6 个重复,每个重复 16 只肉鸡,试验周期全程 56 d (不包含适应环境的 3 d),试验设计如表 2 所示。

1.4 饲养管理

试验周期全程 56 d,另外保证饲料及饮水始终充足,肉鸡可自由采食饮水。每日早晚通风,消毒一次。每天记录采食量,每周进行称重,计算料重比。

表 2 试验分组及 HDTN 添加量

Table 2 Test groups and HDTN addition levels

Group	HDTN (7.0×10^{10} CFU/g)
High-dose group	Basic diet+1 000 g/t HDTN
Middle-dose group	Basic diet+500 g/t HDTN
Low-dose group	Basic diet+250 g/t HDTN
Control group	Basic diet+0 g/t HDTN

1.5 样品的采集及制备

试验期间每天记录采食量、死亡鸡数,于 7、21、35、56 日龄的早晨空腹称重计算体重、日增重、日采食量和料重比。

从每个重复中选择 6 只与平均体重相近的肉鸡,称取空腹 12 h 后的体重,真空促凝管翅静脉采血,室温静置 2 h 后置于冰上,待血清析出,3 000 r/min 离心 10 min,于 -20 °C 保存。对肉鸡进行屠宰,取肠道组织于 4% 多聚甲醛溶液中固定;采样鸡打开腹腔后,分离出盲肠,将盲肠内容物挤出至事先标记好的冻存管中,液氮速冻,后于 -80 °C 保存。

1.6 指标测定

1.6.1 生长指标测定

计算 7、21、35、56 日龄的平均体重、平均日增重(average daily gain, ADG)及料重比(feed to gain ratio, F/G)。

1.6.2 血清抗氧化指标测定

血清抗氧化指标采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定,包括总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、微量还原谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)。

1.6.3 肠道形态结构检测

截取肠段(十二指肠、空肠、回肠)采用生理盐水漂洗,多聚甲醛固定。组织经过脱水、透明、包埋、修蜡、切片、经苏木素-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色封片。测定完整绒毛高度(villus height, VH)和隐窝深度(crypt depth, CD),计算隐窝深度比(VH/CD)。

1.6.4 盲肠内容物检测

首先提取盲肠菌群总 DNA,以正向引物

338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和反向引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 使用 GeneAmp 9700 PCR 仪(Applied Biosystems)扩增细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 高变区。将 PCR 扩增产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光系统进行检测定量。建立 MiSeq 并上机测序, 利用 Qiime (version 1.8, <http://qiime.org>) 平台进行操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类 and 物种注释, 使用 Qiime 软件 (version 1.9.1) 计算 Shannon、Simpson、ACE 指数及 β 多样性(beta diversity)分析。本研究产生的原始读数已存入 NCBI 的 Sequence Read Archive (SRA) 数据库, 登录号为 PRJNA1056289。

1.7 数据处理

试验数据用 Excel 2020 软件进行初步处理后, 用 SPSS26.0 软件进行统计分析, 利用方差分析(analysis of variance, ANOVA)、最小显著差异法(least significant difference, LSD)进行差异显著性检验和 Duncan 多重比较, 试验结果以平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示。采用 SPSS

26.0 软件进行统计分析, 利用双变量相关性分析对变量进行相关性比较得到 Sig 值及 Spearman 相关性系数。

16S rRNA 基因测序结果使用 R 软件 (version 2.15.3) 进行 α 、 β 多样性指数组间差异分析。使用 R 软件(version 2.15.3)对各分类水平下的组间差异物种进行 *t* 检验。*表示 $P<0.05$; **表示 $P<0.01$; ***表示 $P<0.001$; ****表示 $P<0.0001$ 。

2 结果与分析

2.1 HDTN 对 817 肉鸡生产性能的影响

饲料中添加不同剂量 HDTN 对 817 肉鸡生长性能影响结果如表 3 所示。结果表明: 中剂量组和低剂量组的料重比在试验前期(1-35 d) 较对照组分别降低了 0.31 ($P<0.01$)、0.25 ($P<0.01$), 试验全程(1-56 d) 低剂量组料重比略低于其他组; 35 日龄中剂量组、低剂量组与对照组相比平均体重差值达到最大, 分别提高了 111.73 g ($P<0.01$)、105.47 g ($P<0.01$), 表明添加 HDTN 可以提高 817 肉鸡生长性能。

表 3 HDTN 对 817 肉鸡生产性能的影响

Table 3 Effect of HDTN on the production performance of '817' broilers

Items		High-dose group	Middle-dose group	Low-dose group	Control group
ABW (g)	7 d	68.74 \pm 2.35	69.50 \pm 7.76	72.56 \pm 5.41	66.89 \pm 7.39
	21 d	283.16 \pm 5.46Aa	279.02 \pm 7.10Aa	276.61 \pm 8.49ABa	265.60 \pm 7.52Bb
	35 d	722.35 \pm 45.25B	817.19 \pm 33.08A	810.93 \pm 30.20A	705.46 \pm 32.07B
	56 d	1 411.05 \pm 42.95Bb	1 496.16 \pm 27.21ABa	1 545.35 \pm 70.79Aa	1 538.38 \pm 56.03Aa
ADG (g)	1-35 d	19.65 \pm 1.30B	22.38 \pm 0.95A	22.20 \pm 0.85A	19.18 \pm 0.89B
	1-56 d	24.58 \pm 0.78BCb	26.11 \pm 0.48Ba	26.99 \pm 1.26ABa	26.86 \pm 1.00ABa
F/G	1-35 d	1.72 \pm 0.16Aa	1.53 \pm 0.07B	1.59 \pm 0.90Bb	1.84 \pm 0.07Aa
	1-56 d	2.21 \pm 0.08	2.17 \pm 0.08	2.15 \pm 0.10	2.22 \pm 0.10

Data in the table are means \pm SD; Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$), and different capital letters indicate highly significant differences ($P<0.01$).

2.2 HDTN 对 817 肉鸡血清抗氧化指标的影响

HDTN 对 817 肉鸡血清抗氧化指标的影响如表 4 所示。添加 HDTN 能极显著降低血清中 MDA 的含量($P<0.01$); 升高 GSH、CAT、SOD 和 T-AOC 的含量。MDA 对细胞具有严重的毒性作用, 其含量可以反映细胞受损程度。将各指标与 HDTN 添加量进行相关性分析, 可以看到各指标的 Sig 值均 <0.001 、Spearman 相关性系数绝对值均 >0.80 , 说明其均具有强相关性。地衣芽孢杆菌 HDTN 添加量与血清中 MDA 含量呈负相关, 提示 HDTN 的添加可以降低肉鸡细胞受损程度。血清中 GSH、CAT、SOD 和 T-AOC 的

含量与 HDTN 添加量呈正相关, 提示 HDTN 的添加可以使肉鸡抗氧化应激能力得到提高。

2.3 HDTN 对 817 肉鸡肠道形态的影响

如表 5 所示, 十二指肠: 绒毛高度高剂量组、中剂量组、低剂量组均高于对照组, 但无显著差异; 隐窝深度低剂量组显著低于高剂量组、中剂量组、对照组; 低剂量组十二指肠 VH/CD 值显著高于对照组($P<0.01$)。对于空肠形态: 对照组与高剂量组、中剂量组、低剂量组的空肠隐窝深度及 VH/CD 值均差异不显著。另外对照组与高剂量组、中剂量组、低剂量组相比回肠绒毛高度、隐窝深度和 VH/CD 值差异均不显著。

表 4 HDTN 对 35 日龄 817 肉鸡血清抗氧化指标的影响及其相关性分析

Table 4 Effect of HDTN on serum antioxidant indexes of 35-day-old '817' broilers and its correlation analysis

Items	High-dose group	Middle-dose group	Low-dose group	Control group	Sig	Spearman ρ
T-AOC (U/mL)	4.67±0.42Aa	3.64±0.39Ba	3.03±0.67BCb	2.61±0.51Cb	<0.001	0.82
SOD (nmol/mL)	22.21±0.51A	20.36±0.56B	18.60±0.85C	15.49±1.19D	<0.001	0.96
GSH (U/mL)	47.22±5.54Aa	39.24±5.21ABb	34.02±5.88Bb	20.49±5.65Ca	<0.001	0.89
CAT (U/mL)	28.45±3.39Aa	20.21±2.72Bb	12.64±1.71Ca	9.4±2.41Cb	<0.001	0.94
MDA (nmol/mL)	5.77±1.17D	8.46±0.97C	11.92±1.44B	18.97±1.98A	<0.001	-0.97

Data in the table are means±standard deviation; Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$), and different capital letters indicate highly significant differences ($P<0.01$).

表 5 HDTN 对 35 日龄 817 肉鸡肠道绒毛形态的影响

Table 5 Effect of HDTN on the morphology of intestinal villi in 35-day-old '817' broilers

Items		High-dose group	Middle-dose group	Low-dose group	Control group
Duodenum (μm)	VH	1 458.40±189.49	1 355.11±150.57	1 386.46±144.39	1 271.4±169.77
	CD	184.89±22.31ABa	185.82±29.80ABa	140.21±15.57Ab	181.71±36.87Ba
	VH/CD	7.99±1.48AB	7.53±2.05AB	9.14±0.75A	6.44±2.27B
Jejunum (μm)	VH	980.75±152.79	1 118.47±76.12	1 124.71±102.02	1 193.17±155.01
	CD	170.66±25.56	125.34±13.50	188.89±37.99	160.84±30.69
	VH/CD	5.75±0.45	8.54±1.87	6.11±1.17	7.61±1.77
Ileum (μm)	VH	859.64±22.32	817.67±81.38	900.66±82.43	816.66±85.79
	CD	145.14±27.81	149.87±22.81	155.45±23.40	166.62±24.21
	VH/CD	6.09±1.10	5.45±1.07	5.91±1.12	5.03±1.01

Data in the table are means±standard deviation; Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$), and different capital letters indicate highly significant differences ($P<0.01$).

2.4 HDTN 对 817 肉鸡肠道菌群和功能的影响

2.4.1 肉鸡盲肠菌群的稀释曲线及 Shannon-Wiener 曲线

本研究测序结果的稀释曲线最终逐渐趋于平缓,说明此次测序样本数量及测序深度均足够。图 1 展示了结果的合理性及准确性。Shannon-Wiener 曲线反映了各样本在不同测序数量时的微生物多样性,当曲线趋向平坦时说明测序数据可以反映样本中绝大多数的微生物信息(图 2)。

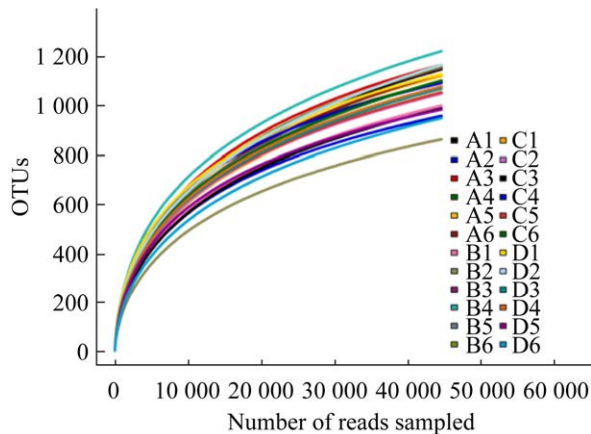


图 1 35 日龄盲肠菌群稀释曲线

Figure 1 Dilution curve of 35-day-old cecal flora. A: High-dose group; B: Middle-dose group; C: Low-dose group; D: Control group.

2.4.2 HDTN 对 817 肉鸡盲肠微生物 α 多样性及 β 多样性的影响

α 多样性多用于评估群落内物种多样性, β 多样性反映的是样本间微生物群落的差异。Chao1 指数反映群落中物种丰富度(图 3A); Shannon 指数反映群落的多样性(图 3B)。可以观察到中剂量组在物种丰富度、群落多样性上都要高于其他组。 β 多样性反映的是样本间微生物群落的差异, 中剂量组和低剂量组菌群结构相似度高, 高剂量组和对照组与中剂量组和低剂量组的菌群聚类均较远(图 4)。

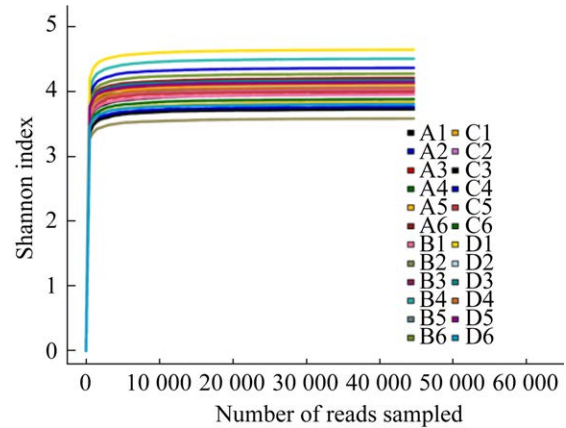


图 2 35 日龄盲肠菌群 Shannon-Wiener 曲线

Figure 2 Shannon-Wiener curve of 35-day-old cecal flora. A: High-dose group; B: Middle-dose group; C: Low-dose group; D: Control group.

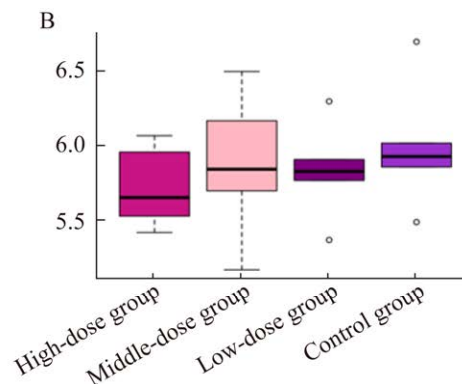
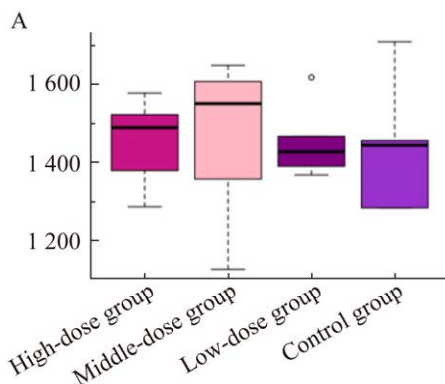


图 3 35 日龄盲肠菌群 α 多样性指数

Figure 3 Alpha diversity index of 35-days-old cecal colony. A: Species richness Chao1 index. B: Community diversity Shannon index.

2.4.3 地衣芽孢杆菌对 817 肉鸡盲肠内容物菌群结构的影响

在门水平上,相对丰度大于 1%的有 7 种菌门,其中厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)是 817 肉鸡盲肠主要优势菌群。HDTN 的添加改变了肠道的优势菌群占比,中剂量组($P<0.01$)和低剂量组($P<0.05$)的厚壁菌门相对丰度均显著高于对照组(图 5)。

在属水平上,35 日龄时中剂量组拟杆菌属(*Bacteroides*)相对丰度与对照组相比增加了 4.38%,低剂量组相对丰度与对照组相比也有上升趋势但并不显著;4 组间巴恩斯氏菌(*Barnesiella*)相对丰度差异显著($P<0.05$),其中中剂量组相对丰度显著低于对照组($P<0.0001$);4 组间粪杆菌属相对丰度占比分别为高剂量组 6.45%、中剂量组 7.99%、低剂量组 8.68%和对照组 5.07%,低剂量组粪杆菌

属(*Faecalibacterium*)相对丰度显著高于对照组($P<0.05$) (图 6)。

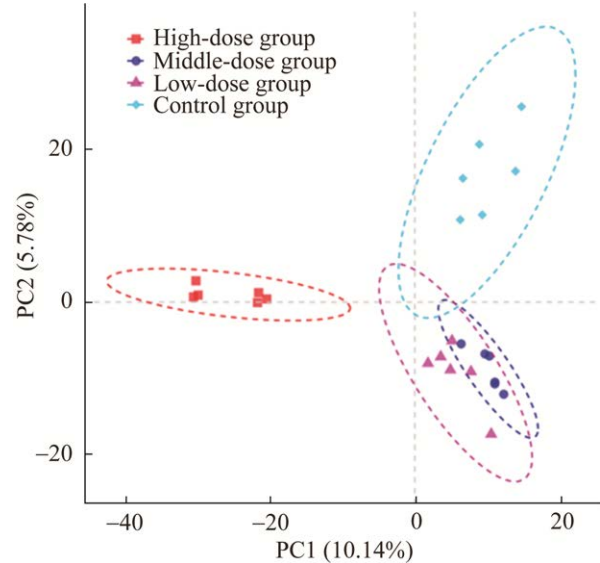


图 4 35 日龄盲肠菌群 β 多样性主坐标分析
Figure 4 Principal coordinates analysis of beta diversity of 35-day-old cecum flora.

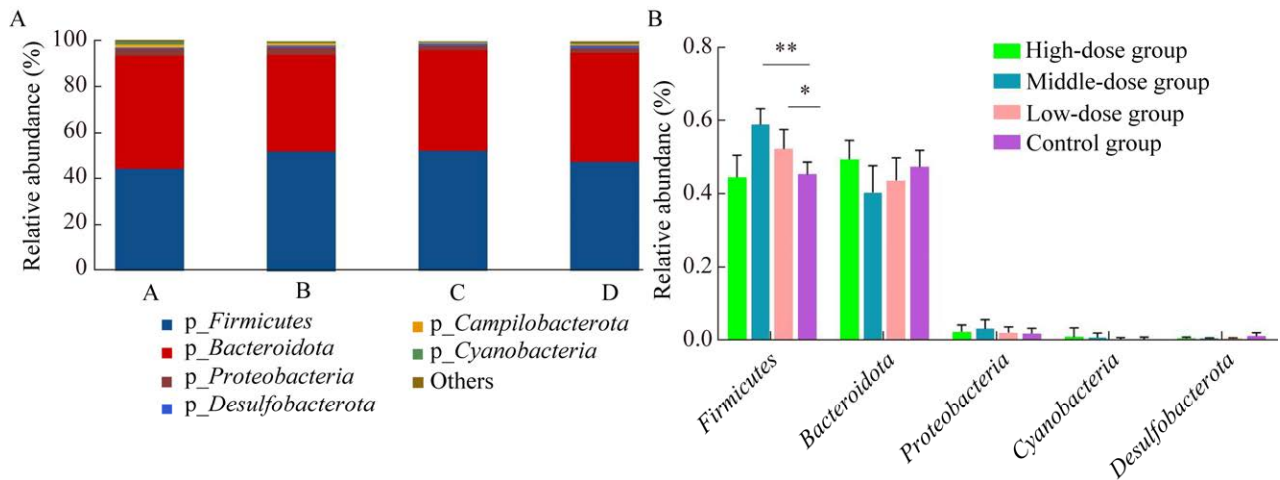


图 5 HDTN 对肉鸡肠道菌群组成在门水平上的影响

Figure 5 Effect of HDTN on the intestinal flora composition of broiler chickens at the phylum level. A: Distribution of phyla in the top 6 relative abundance of cecum contents. B: Statistical results of phyla in the top 5 relative abundance. The symbol “*” indicates a statistical difference ($P<0.05$), and the symbol “***” indicates a significant difference ($P<0.01$).

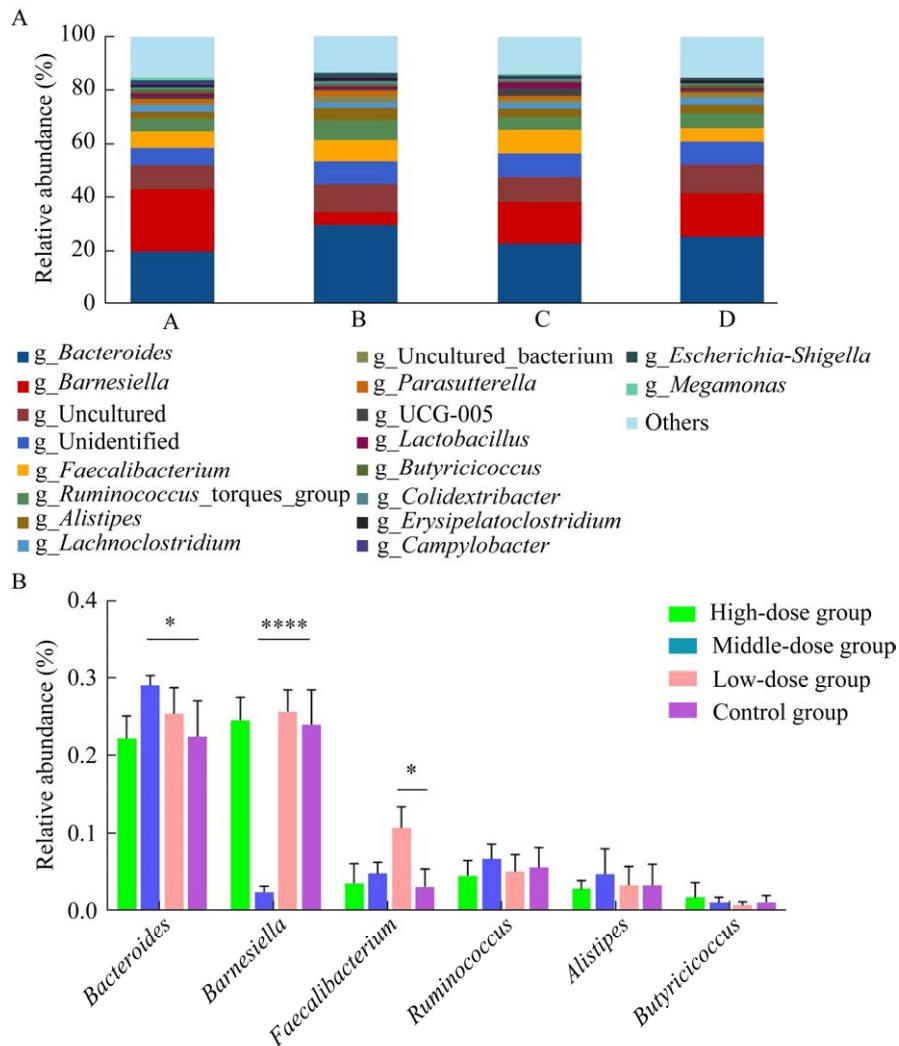


图 6 HDTN 对肉鸡肠道菌群组成在属水平上的影响

Figure 6 Effect of HDTN on the intestinal flora composition of broiler chickens at the genus level. A: Distribution of the top 18 genera of relative abundance of cecum contents. B: Statistical results of the top 6 genera of relative abundance. The symbol * indicates a statistically significant difference ($P < 0.05$) and the symbol **** indicates a highly significant difference ($P < 0.0001$).

3 讨论

3.1 生长性能

在养殖业全面限抗的背景下, 益生菌制剂可以在对宿主动物无毒副作用、无抗生素残留的前提下, 达到提高生长性能和疾病预防的目的。这一优势使益生菌在畜禽养殖业的应用与研究得到发展。

益生菌代谢物中的乳酸及抑菌素等可以调节肉鸡肠道菌群结构、增加饲料转化率, 从而使肉鸡生长性能得到提高^[14]。秦宋柯等^[15]在饲料中添加地衣芽孢杆菌显著降低了黄羽肉鸡平均日采食量和料重比。Chen 等^[16]使用地衣芽孢杆菌发酵产物饲喂白羽肉鸡, 结果显示 3 g/kg 的发酵产物在饲养前期即 1–35 d, 可以提高肉仔鸡的体重和平均日增重并显著提高肉鸡粪便中厚

壁菌门的丰度。Gong 等^[17]在饲料中添加地衣芽孢杆菌,可提高肉仔鸡的体重和日增重。本研究的动物试验结果显示,在 817 肉鸡生长前期(1–35 d)添加 HDTN 表现出良好的促生长作用,在第 35 天差异达到最大,后期差异逐渐不显著。有研究表明,肠道微生物对氨基酸、碳水化合物等的代谢能力在生长前期逐渐增强,28 d 达到最强,后期出现降低或持平^[18]。肉鸡肠道发育过程中的换料期即第 21 天,是肠道菌群变化的关键时期^[19],肉鸡的日龄变化是肠道菌群变化的重要驱动力,同时饮食也在微生物的组成中发挥重要作用,并对肠道环境产生影响^[20]。Yang 等^[21]研究发现,肉鸡肠道微生物多样性和组成在 28 d 后仍处于动态变化状态,但微生物 α 多样性已呈下降趋势,肉鸡肠道微生物 Shannon 指数在第 35 天达到最大。随着肉鸡日龄的增加,肠道菌群变化趋于平缓、微生物的代谢能力稳定于同一水平,这可能是大多数益生菌在前期发挥促生长作用而后期促生长效果降低的部分原因。

3.2 血清氧化应激指标

在家禽养殖过程中环境狭小、养殖密度高、通风保温条件差都容易导致禽类氧化应激,从而抑制家禽的正常生长并诱导疾病及炎症的发生^[22]。HDTN 的添加提高了肉鸡血清中 GSH、CAT、SOD 和 T-AOC 的含量,提示肉鸡抗氧化应激能力得到提高。MDA 是脂质过氧化的产物,对细胞有强烈毒性,其含量的降低反映细胞所受损伤降低。益生菌主要通过螯合作用、自身的抗氧化酶系统、抗氧化代谢物(如丁酸盐和叶酸)、介导抗氧化信号通路等方式达到抗氧化应激的作用^[23]。Du 等^[24]研究发现地衣芽孢杆菌代谢物可以使热应激肉鸡空肠 SOD 活性显著提高,血清、肝脏和空肠黏膜 MDA 含量降低。宦海琳等^[25]研究显示地衣芽孢杆菌可以显著降低十二指肠黏膜 MDA 含量。邢文杰^[26]于饲料中添加丁

酸钠,显著降低了母鸡肝脏中 MDA 的含量,并提高了试验组血清中 CAT 的水平。本研究中盲肠内容物菌群结果显示,添加 HDTN 增加了主要产丁酸的厚壁菌门相对丰度。目前已知的产丁酸细菌多属于厚壁菌门^[27]。HDTN 可能是通过提高肠道丁酸盐含量而进一步提升肉鸡抗氧化应激能力。

3.3 肠道形态

饲料在整个家禽生产成本中的占比较高,提高饲料的有效利用率从而提升肉鸡的生产性能,可以有效减少养殖成本^[28]。肉鸡的十二指肠和空肠在饲料养分消化和吸收中起着重要作用,小肠发育得好会使肉鸡摄入的营养得到充分吸收,加快生长速度,提高生长性能。长绒毛、低隐窝产生了较高的黏膜表面积和较高的消化效率^[29]。周梦佳等^[30]使用高、中、低剂量地衣芽孢杆菌饲喂肉鸡,3 组的隐窝深度较空白组均有降低。其中高剂量组下降最为显著,使得 VH/CD 值发生显著升高。本研究结果显示添加 HDTN 可以提高 817 肉鸡十二指肠绒毛高度,降低隐窝深度,最终使 VH/CD 值显著增加,而 HDTN 对空肠、回肠的影响并不显著。这种对肠道形态的影响,使得 817 肉鸡更高效地吸收营养物质,降低了饲养成本。

3.4 盲肠菌群

禽类的盲肠中含有大量黏液,无食物颗粒,内容物的流速较慢,创造了禽类盲肠复杂的微生物区系环境^[31]。陈家祥等^[32]研究证明地衣芽孢杆菌可以提高肉鸡盲肠内双歧杆菌和乳酸杆菌的数量。这是因为地衣芽孢杆菌为需氧菌,繁殖过程中消耗氧气促进了厌氧环境的形成,与厌氧益生菌形成共生或促生长关系^[33–34]。

本研究选择了生长性能差异最显著的 35 日龄 817 肉鸡,并对其盲肠内容物进行了微生物测序。 α 多样性结果显示中剂量组肠道菌群多样性

与丰富度高于其他 3 组, β 多样性中剂量组和低剂量组的菌群相似度高, 而高剂量组和对照组有着各自的菌群聚类。结合第 35 日龄中剂量组与低剂量组之间平均体重差异不显著且均显著高于高剂量组和对照组, 提示我们添加适宜剂量的 HDTN 可能促进 817 肉鸡形成了利于机体增重的菌群结构。

中剂量组和低剂量组中厚壁菌门的相对丰度发生显著提高, 脱硫杆菌门相对丰度发生下降。高剂量组、中剂量组和低剂量组中粪杆菌属含量与对照组相比均有升高, 但只有低剂量组的升高具有显著性。粪杆菌属也是丁酸盐的重要生产者之一^[35]。郑力维^[36]的研究显示饲喂丁酸甘油酯可以提高肉鸡生长性能及肠道微生物多样性。结合以上研究结果, HDTN 可能通过提高肉鸡盲肠菌群中产丁酸的厚壁菌门微生物相对丰度, 最终达到促进 817 肉鸡体重增加, 提高肉鸡生长性能的结果。拟杆菌具有消化膳食纤维多糖和宿主聚糖的能力, 促进营养物质的消化吸收^[37]。中剂量组和低剂量组盲肠菌群中拟杆菌属相对丰度与对照相比均有上升趋势。Pan 等^[38]证实地衣芽孢杆菌 DSM5749 可以提高蛋鸡盲肠内容物中拟杆菌属的丰度并使空肠 VH/CD 比值升高, 提高生长性能, 维持肠道微生态平衡, 与本研究结果相同。巴恩斯菌属是新发现菌种, 属于拟杆菌门^[39]。Rodriguez-Diaz 等^[40]研究发现非酒精性脂肪肝小鼠的肠道菌群中巴恩斯菌的丰度出现显著性降低。高剂量组、中剂量组和低剂量组肉鸡在第 35 天较对照组体重出现极显著上升, 中剂量组体重最高, 快速的体重增加可能导致脂肪堆积使中剂量组盲肠中巴恩斯菌显著降低^[40]。

4 结论

中剂量组和低剂量组中地衣芽孢杆菌

HDTN 可用于提高 817 肉鸡生长前期(1-35 d)的生产性能。地衣芽孢杆菌 HDTN 在 817 肉鸡日粮中最适添加剂量为 250 g/t (菌粉活菌数为 7.0×10^{10} CFU/g), 最适添加时间为生长前期 1-35 d, 可加快建立肠道优势菌群, 缓解肠道应激。地衣芽孢杆菌 HDTN 的添加可以改善 817 肉鸡肠道形态、增强机体抗氧化能力, 并加快肉鸡盲肠优势菌群的建立。

致谢

感谢湖北华大瑞尔科技有限公司的彭宏鑫在肉鸡饲养方面的帮助。

参考文献

- [1] 时宇飞, 刘婉榆, 佟丽鑫, 姜智礼, 叶子健, 生浩, 蓝木香. 浅谈动物微生态制剂在畜禽养殖中的应用[J]. 吉林畜牧兽医, 2023, 44(3): 103-104.
SHI YF, LIU WY, TONG LX, JIANG ZL, YE ZJ, SHENG H, LAN MX. Discussion on the application of animal microecological agents in livestock and poultry breeding[J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2023, 44(3): 103-104 (in Chinese).
- [2] 王茜, 黄霓裳, 李章云, 柴举, 游雪婷, 史海涛. 益生菌在肉鸡生产和肠道健康的研究进展[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2023, 49(1): 10-17.
WANG X, HUANG NS, LI ZY, CHAI J, YOU XT, SHI HT. Probiotics in broiler production and intestinal health: a review[J]. Journal of Southwest Minzu University (Natural Science Edition), 2023, 49(1): 10-17 (in Chinese).
- [3] 白玉惠, 李霆, 叶妮, 黄耀凌, 董玲玲, 孙红洋, 薛青红, 王鹤佳. 蛋鸡抗菌药使用减量化养殖中的全链条综合措施[J]. 中国兽药杂志, 2023, 57(12): 34-40.
BAI YH, LI T, YE N, HUANG YL, DONG LL, SUN HY, XUE QH, WANG HJ. Full chain integrated-measures for reducing the use of veterinary antimicrobials in laying hens production[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2023, 57(12): 34-40 (in Chinese).
- [4] 柴修杰. 畜禽养殖减抗替抗措施[J]. 四川畜牧兽医, 2023, 50(2): 44, 46.

- CHAI XJ. Measures to reduce resistance and replace resistance in livestock and poultry breeding[J]. *Sichuan Animal & Veterinary Sciences*, 2023, 50(2): 44, 46 (in Chinese).
- [5] ŠTYRIAK I, NEMCOVÁ R, CHANG Y, LJUNGH Å. Binding of extracellular matrix molecules by probiotic bacteria[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2003, 37(4): 329-333.
- [6] VÉLEZ MP, de KEERSMAECKER SCJ, VANDERLEYDEN J. Adherence factors of *Lactobacillus* in the human gastrointestinal tract[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 276(2): 140-148.
- [7] HE TF, LONG SF, MAHFUZ S, WU D, WANG X, WEI XM, PIAO XS. Effects of probiotics as antibiotics substitutes on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, and barrier function of broilers[J]. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 2019, 9(11): 985.
- [8] KHAN S, MOORE RJ, STANLEY D, CHOUSALKAR KK. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(13): e00600-e00620.
- [9] ALIAKBARPOUR HR, CHAMANI M, RAHIMI G, SADEGHI AA, QUJEQ D. The *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2012, 25(9): 1285-1293.
- [10] 孔亚超, 陈玉林, 彭健, 陈卫卫, 李俊德, 胡晓珂. 地衣芽孢杆菌 MB01 产抗菌性脂肽的发酵条件优化[J]. *食品科技*, 2020, 45(8): 8-14.
- KONG YC, CHEN YL, PENG J, CHEN WW, LI JD, HU XK. Optimization of fermentation conditions for the production of antibacterial lipopeptide from *Bacillus licheniformis* MB01[J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(8): 8-14 (in Chinese).
- [11] HAM SL, LEE TH, KIM KJ, KIM JH, HWANG SJ, LEE SH, YU JS, KIM KH, LEE HJ, LEE W, KIM CS. Discovery and biosynthesis of imidazolium antibiotics from the probiotic *Bacillus licheniformis*[J]. *Journal of Natural Products*, 2023, 86(4): 850-859.
- [12] 贾仲昕, 赵佳男, 季芳, 王雪, 李刚, 王承民, 秦建华. 高产中性蛋白酶芽孢杆菌的筛选鉴定及酶学性质研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2023(1): 106-112, 132.
- JIA ZX, ZHAO JN, JI F, WANG X, LI G, WANG CM, QIN JH. Study on screening, identification and enzymatic properties of high neutral protease-producing *Bacillus*[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2023(1): 106-112, 132 (in Chinese).
- [13] 肖颖, 姚霓红, 解泽峰, 宋琪, 黄多, 谢佳燕, 吴菁, 闫达中, 晁红军. 一株产淀粉酶的嗜热地衣芽孢杆菌的筛选及鉴定[J]. *武汉轻工大学学报*, 2023, 42(2): 61-67.
- XIAO Y, YAO NH, XIE ZF, SONG Q, HUANG D, XIE JY, WU J, YAN DZ, CHAO HJ. Screening and identification of a thermophilic *Bacillus licheniformis* strain producing amylase[J]. *Journal of Wuhan Polytechnic University*, 2023, 42(2): 61-67 (in Chinese).
- [14] 韩亚楠, 张瀚露, 王军, 张曼, 李月勤, 彭永帅, 宋予震, 张利卫. 益生菌对肉鸡生长性能和小肠上皮紧密连接基因表达的影响[J]. *饲料研究*, 2022, 45(20): 33-37.
- HAN YN, ZHANG HL, WANG J, ZHANG M, LI YQ, PENG YS, SONG YZ, ZHANG LW. Effect of probiotics on growth performance and expression of tight junction gene in small intestinal epithelium of broilers[J]. *Feed Research*, 2022, 45(20): 33-37 (in Chinese).
- [15] 秦宋柯, 崔振川, 李慧, 曾新福, 张瑞强, 杨彩梅. 地衣芽孢杆菌对黄羽肉鸡生长性能、免疫和抗氧化功能以及肠道菌群的影响[J]. *动物营养学报*, 2023, 35(2): 865-873.
- QIN SK, CUI ZC, LI H, ZENG XF, ZHANG RQ, YANG CM. Effects of *Bacillus licheniformis* on growth performance, immune and antioxidant functions and intestinal microbiota of yellow-feathered broilers[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(2): 865-873 (in Chinese).
- [16] CHEN YC, YU YH. *Bacillus licheniformis*-fermented products improve growth performance and the fecal microbiota community in broilers[J]. *Poultry Science*, 2020, 99(3): 1432-1443.
- [17] GONG L, WANG BK, MEI XQ, XU H, QIN Y, LI WF, ZHOU YS. Effects of three probiotic *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activities, antioxidative capacity, serum immunity, and biochemical parameters in broilers[J]. *Animal Science Journal*, 2018, 89(11): 1561-1571.
- [18] 张艳. 鸡肠道微生物的群落结构和功能基因与鸡的健康养殖[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2018.

- ZHANG Y. The community structure and functional genes of the chicken gut microorganism and the chicken growth[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018 (in Chinese).
- [19] 单春乔, 翟宏旭, 李娟, 王岩, 于洪敏, 吴怡琦, 刘恩, 刘艳. 丁酸梭菌对肉鸡肠道短链脂肪酸含量和菌群多样性的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(11): 4239-4251.
- SHAN CQ, ZHAI HX, LI J, WANG Y, YU HM, WU YQ, LIU E, LIU Y. Effects of *Clostridium butyricum* intestinal short-chain fatty acid content and microflora diversity of broilers[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2022, 49(11): 4239-4251 (in Chinese).
- [20] BALLOU AL, ALI RA, MENDOZA MA, ELLIS JC, HASSAN HM, CROOM WJ, KOCI MD. Development of the chick microbiome: how early exposure influences future microbial diversity[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2016, 3: 2.
- [21] YANG MS, SHI LZ, GE YL, LENG D, ZENG B, WANG T, JIE H, LI DY. Dynamic changes in the gut microbial community and function during broiler growth[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(4): e0100522.
- [22] 付少萌, 徐云, 付家敏. 海带多糖的抗氧化功效及其在畜牧生产上的应用[J]. 湖南饲料, 2022(1): 31-33.
- FU SM, XU Y, FU JM. Antioxidant effect of laminaria polysaccharide and its application in animal husbandry[J]. Hunan Feed, 2022(1): 31-33 (in Chinese).
- [23] WANG Y, WU YP, WANG YY, XU H, MEI XQ, YU DY, WANG YB, LI WF. Antioxidant properties of probiotic bacteria[J]. Nutrients, 2017, 9(5): 521.
- [24] DU MF, CHENG YF, CHEN YP, WANG SQ, ZHAO HR, WEN C, ZHOU YM. Dietary supplementation with synbiotics improves growth performance, antioxidant status, immune function, and intestinal barrier function in broilers subjected to cyclic heat stress[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(7): 18026-18038.
- [25] 宦海琳, 张干, 徐祝华, 闫俊书, 林勇, 徐小明, 周维仁. 地衣芽孢杆菌对脂多糖应激仔猪肠道形态、肠黏膜抗氧化能力和免疫力的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(2): 586-595.
- HUAN HL, ZHANG G, XU ZH, YAN JS, LIN Y, XU XM, ZHOU WR. Effects of *Bacillus licheniformis* on intestinal morphology, intestinal mucosal antioxidant capacity and intestinal immunity of lipopolysaccharide-stressed piglets[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(2): 586-595 (in Chinese).
- [26] 邢文杰. 包膜丁酸钠对乌骨种母鸡生产性能、血清生化指标及脂质代谢水平的影响[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2017.
- XING WJ. Effect of coated sodium butyrate on production performance, serum biochemical parameters and lipid metabolism of silky breedig hens[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [27] 梁胜男, 柯楚新, 黄鹤, 关嘉琦, 赵丽娜, 李柏良, 霍贵成. 肠道内产丁酸细菌及其产物丁酸生理功能的研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(3): 948-959.
- LIANG SN, KE CX, HUANG H, GUAN JQ, ZHAO LN, LI BL, HUO GC. Butyrate-producing bacteria in the intestinal tract and the physiological function of their metabolite butyrate: a review[J]. Microbiology China, 2021, 48(3): 948-959 (in Chinese).
- [28] 陈晓莉. 肉鸡饲料营养管理技术[J]. 山东畜牧兽医, 2022, 43(11): 29-30, 32.
- CHEN XL. Nutrition management technology of broiler feed[J]. Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2022, 43(11): 29-30, 32 (in Chinese).
- [29] AMER SA, TOLBA SA, AISADEK DMM, ABDEL FATTAH DM, HASSAN AM, METWALLY AE. Effect of supplemental glycerol monolaurate and oregano essential oil blend on the growth performance, intestinal morphology, and amino acid digestibility of broiler chickens[J]. BMC Veterinary Research, 2021, 17(1): 312.
- [30] 周梦佳, 李书伟, 张锦秀, 邝声耀, 刁慧, 张杰, 魏小兰. 地衣芽孢杆菌对肉鸡生长性能、血清抗氧化功能和肠道形态的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(8): 246-249.
- ZHOU MJ, LI SW, ZHANG JX, KUANG SY, DIAO H, ZHANG J, WEI XL. Effects of *Bacillus licheniformis* on growth performance, serum antioxidant function and intestinal morphology of broilers[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2021, 57(8): 246-249 (in Chinese).
- [31] HAAKENSEN M, DOBSON CM, DENEER H, ZIOLA B. Real-time PCR detection of bacteria belonging to the *Firmicutes* phylum[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 125(3): 236-241.

- [32] 陈家祥, 张仁义, 王全溪, 杨贤芳妹, 王长康. 地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡肠道组织结构及盲肠微生物区系的影响[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 757-761.
CHEN JX, ZHANG RY, WANG QX, YANG XFM, WANG CK. Effects of *Bacillus licheniformis* on intestinal structure and cecum microflora in Mayu broiler chickens[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(3): 757-761 (in Chinese).
- [33] 杨家军, 钱坤, 章薇, 许月英, 陈胜, 唐焰. 地衣芽孢杆菌对肉鸡肠道菌群和小肠形态学的影响研究[J]. *中国兽医学报*, 2014, 34(4): 664-668.
YANG JJ, QIAN K, ZHANG W, XU YY, CHEN S, TANG Y. Effect of supplementary *Bacillus licheniformis* to partridge shank chicken on intestinal spectrum of bacteria and small intestinal mucosal morphology[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2014, 34(4): 664-668 (in Chinese).
- [34] 全艳玲. 地衣芽孢杆菌对有害微生物的拮抗作用[J]. *食品科学*, 2002, 23(8): 67-69.
QUAN YL. Antagonistic effect of *Bacillus licheniformis* on harmful microorganisms[J]. *Food Science*, 2002, 23(8): 67-69 (in Chinese).
- [35] WANG RQ, YANG XY, LIU JT, ZHONG F, ZHANG C, CHEN YH, SUN T, JI CY, MA DX. Gut microbiota regulates acute myeloid leukaemia *via* alteration of intestinal barrier function mediated by butyrate[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 2522.
- [36] 郑力维. 丁酸甘油酯对黄羽肉鸡生长性能的影响及大肠杆菌攻毒的保护作用[D]. 佛山: 佛山科学技术学院硕士学位论文, 2020.
ZHENG LW. The effects of tributyrin supplementation on growth performance and protection after challenged with *E. coli* of yellow-feathered broilers[D]. Foshan: Master's Thesis of Foshan University, 2020 (in Chinese).
- [37] 莫潜渊, 肖德琴, 朱勇文, 杨琳, 王文策. 肠道微生物降解植物多糖的机制研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2023, 50(10): 4058-4069.
MO QY, XIAO DQ, ZHU YW, YANG L, WANG WC. Research progress in the mechanism of degradation of plant polysaccharides by intestinal microorganisms[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2023, 50(10): 4058-4069 (in Chinese).
- [38] PAN X, CAI YL, KONG LL, XIAO CP, ZHU QD, SONG ZG. Probiotic effects of *Bacillus licheniformis* DSM 5749 on growth performance and intestinal microecological balance of laying hens[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 868093.
- [39] 薛澳徽, 热依沙·帕孜力江, 陈文婷, 赵润东, 迪拉热·艾海提, 热比亚·努力. 巨单胞菌属和巴恩斯氏菌属与疾病相关性研究[J]. *医学信息*, 2023, 36(1): 169-172.
XUE AH, PAZILIJANG R, CHEN WT, ZHAO RD, AIHAITI D, NULI R. Study on the correlation between *Megamonas* spp. and *Barnesiella* spp. and disease[J]. *Journal of Medical Information*, 2023, 36(1): 169-172 (in Chinese).
- [40] RODRIGUEZ-DIAZ C, TAMINIAU B, GARCÍA-GARCÍA A, CUETO A, ROBLES-DÍAZ M, ORTEGA-ALONSO A, MARTÍN-REYES F, DAUBE G, SANABRIA-CABRERA J, JIMENEZ-PEREZ M, ISABEL LUCENA M, ANDRADE RJ, GARCÍA-FUENTES E, GARCÍA-CORTES M. Microbiota diversity in nonalcoholic fatty liver disease and in drug-induced liver injury[J]. *Pharmacological Research*, 2022, 182: 106348.