

葡萄糖氧化酶和嗜酸乳杆菌与小檗碱配伍对大肠杆菌生长的抑制作用

陈景岩¹, 耿启泉², 常娟¹, 王平¹, 尹清强^{1*}, 刘超齐¹, 李茂龙¹, 朱群³, 卢富山⁴

(1.河南农业大学动物科技学院, 河南郑州 450046; 2.河南省卫辉市农业农村局, 河南卫辉 453100; 3.河南德邻生物制品有限公司, 河南新乡 453000; 4.河南普爱饲料股份有限公司, 河南周口 466000)

摘要 为了获得抗生素的最佳替代品, 采用单因素和多因素设计开展了葡萄糖氧化酶(GOD)和嗜酸乳杆菌与小檗碱(BBR)配伍对大肠杆菌生长抑制作用的研究。单因素试验结果表明, 葡萄糖氧化酶、嗜酸乳杆菌、小檗碱和金霉素均对大肠杆菌生长有显著的抑制作用($P < 0.05$), 并且随着浓度的增加其抑制作用逐步增强。多因素试验结果表明, 选取0.005 0% GOD和 1×10^5 CFU/mL嗜酸乳杆菌与0.001 5% BBR组合对大肠杆菌的抑制作用与75~150 mg/kg金霉素的抑菌作用相当。通过该研究获得了一种新的抗生素替代品, 为畜产品安全生产提供了保障。

关键词 葡萄糖氧化酶; 嗜酸乳杆菌; 小檗碱; 金霉素; 抑菌作用

中图分类号 S816.7 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)20-0095-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.20.026



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Inhibition Effects of Glucose Oxidase and *Lactobacillus acidophilus* and Berberine on the Proliferation of *Escherichia coli*

CHEN Jing-yan¹, GENG Qi-quan², CHANG Juan¹ et al (1. College of Animal Science & Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450046; 2. Weihui Agricultural and Rural Bureau of Henan Province, Weihui, Henan 453100)

Abstract In order to obtain the optimal substitute of antibiotics, the inhibition effects of combination of glucose oxidase (GOD) and *Lactobacillus acidophilus* with berberine (BBR) on the growth of *Escherichia coli* were studied by single-factor and multi-factor experiments. The results of single-factor experiment showed that GOD, *L. acidophilus*, BBR and aureomycin individually had significant inhibitory effects on the proliferation of *E. coli* ($P < 0.05$), and the antibacterial activity gradually increased with increasing of their concentrations. The multi-factor experiments showed that the combination of 0.005 0% GOD, 1×10^5 CFU/mL *L. acidophilus* and 0.001 5% BBR had the same inhibitory effect on *E. coli* growth with 75~150 mg/kg aureomycin. A new antibiotic substitute was obtained, which provided guarantee for the safe production of livestock products.

Key words Glucose oxidase; *Lactobacillus acidophilus*; Berberine; Aureomycin; Antibacterial activity

20世纪50年代我国就开始使用抗生素类饲料添加剂来提高动物的生产性能, 但抗生素产生的滥用会导致动物肠胃功能紊乱, 并产生抗药、耐药、二重感染以及体内残留等问题, 给畜禽生产带来了巨大的威胁。因而, 寻找可代替抗生素类的饲料添加剂势在必行^[1]。嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)是一种能在动物肠道内定殖的益生菌, 其耐酸性和抗逆性强, 是肠道内重要的益生菌。嗜酸乳杆菌具有调节机体肠道菌群平衡、抑制肠道病原微生物生长、提高机体免疫力等作用, 已经被广泛应用于畜禽生产中^[2-4]。

葡萄糖氧化酶(glucose oxidase, GOD)是一种需氧脱氢酶, 能专一氧化 β -D-葡萄糖为葡萄糖酸和过氧化氢, 并在此过程中消耗 O_2 。目前, 葡萄糖氧化酶已被广泛应用于食品、医药等领域。据报道, 葡萄糖氧化酶具有抑菌、促进动物生长作用, 且无毒、无抗药性, 是一种替代抗生素的新型添加剂, 具有广阔的应用前景^[5]。

小檗碱(berberine, BBR)是从黄连根茎中提取的异喹林生物碱, 是我国传统中药之一。小檗碱具有显著的抑菌作用, 临床上主要作为非处方药, 用于治疗胃肠道炎症和细菌性痢疾^[6]。由于单一因素的抑菌作用所需剂量大、效果差、成本高, 所以研究低浓度嗜酸乳杆菌和葡萄糖氧化酶与小檗

碱配伍对大肠杆菌(*Escherichia coli*)生长的抑制作用, 对于抗生素替代品的研制具有重要意义。笔者采用单因素和多因素设计开展了葡萄糖氧化酶(GOD)和嗜酸乳杆菌与小檗碱(BBR)配伍对大肠杆菌生长抑制作用的研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料 试验所用大肠杆菌和嗜酸乳杆菌均由河南农业大学生物技术与动物营养研究实验室保存。小檗碱(纯度99%)和葡萄糖氧化酶(10 000 U/g)由河南德邻生物制品有限公司提供, 盐酸金霉素(纯度90%)由福建浦城正大生化有限公司提供。

1.2 培养基 ①LB培养基: 胰蛋白胨10 g, 酵母浸粉5 g, 氯化钠10 g, 蒸馏水定容至1 000 mL, pH为7.0~7.2, 在121℃、0.15 MPa条件下高压灭菌20 min, 4℃下保存备用。②MRS培养基: 胰蛋白胨20 g, 酵母浸粉10 g, 葡萄糖20 g, 吐温80 1 mL, 磷酸氢二钾2 g, 无水乙酸钠5 g, 柠檬酸铵2 g, 硫酸镁0.2 g, 硫酸锰0.05 g, 蒸馏水定容至1 000 mL, pH为6.2~6.6, 在121℃、0.15 MPa条件下高压灭菌20 min, 4℃下保存备用。③伊红美蓝培养基(北京奥博星生物技术有限责任公司): 称取42.5 g, 蒸馏水定容至1 000 mL, pH为(7.2±0.2), 在121℃、0.15 MPa条件下高压灭菌20 min, 备用。

1.3 菌种活化、计数与母液配制 将大肠杆菌接种到LB培养基中, 37℃、180 r/min摇床培养24 h后按照2%接种量接入新鲜的LB培养基中, 再于37℃、180 r/min摇床培养24 h后测定活菌数, 置于4℃冰箱中保存备用。将嗜酸乳杆菌接种到MRS培养基中, 37℃恒温培养箱中静止培养24 h后按

基金项目 河南省重大科技专项(171100110500); 新乡市重大科技专项(ZD19005)。

作者简介 陈景岩(1983—), 男, 吉林吉林人, 硕士研究生, 研究方向: 饲料生物技术。*通信作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事饲料生物技术研究。

收稿日期 2020-04-02

照2%的接种量接入新鲜MRS培养基中,37℃恒温培养箱中静止培养24h后测定活菌数,4℃下保存备用。分别将BBR、GOD、金霉素配制成0.03%、2.50%、0.15%的母液,用滤膜过滤除菌后4℃下保存备用。

1.4 试验方法

1.4.1 不同浓度GOD对大肠杆菌生长的抑制作用。利用已配制好的GOD母液,分别配制成GOD终浓度为0、0.005 0%、0.012 5%、0.025 0%的LB培养液100 mL,按照1%的接种量接入大肠杆菌,37℃、180 r/min摇床培养24 h,分别在8、16、24 h对培养液进行取样,每组每个时间点9个重复。用伊红美蓝培养基计算大肠杆菌数量(CFU/mL),用常用对数表示。

1.4.2 不同活菌数嗜酸乳杆菌对大肠杆菌生长的抑制作用。将已经计数好的嗜酸乳杆菌分别稀释成最终活菌数为0、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 CFU/mL的MRS培养液,将大肠杆菌按照1%的接种量接入含有不同活菌数嗜酸乳杆菌的100 mL MRS培养液中,37℃、60 r/min摇床培养24 h,其他处理同“1.4.1”。

1.4.3 不同浓度BBR对大肠杆菌生长的抑制作用。将预先配制好的小檗碱母液配制成终浓度为0、0.001 5%、0.003 0%、0.006 0%、0.009 0%的MRS培养液100 mL,在121℃、0.15 MPa条件下高压灭菌20 min后,按照1%接种量接入大肠杆菌菌液,37℃、180 r/min摇床培养24 h,其他处理同“1.4.1”。

1.4.4 GOD与嗜酸乳杆菌组合对大肠杆菌生长的抑制作用。分别配制含0.005 0% GOD的不同活菌数嗜酸乳杆菌(0、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 CFU/mL)的100 mL MRS培养液,按照1%

的接种量接入大肠杆菌,37℃、摇床中60 r/min培养24 h,其他处理同“1.4.1”。

1.4.5 GOD、BBR和嗜酸乳杆菌组合对大肠杆菌生长的抑制作用。分别配制含有0.005 0% GOD和0.001 5%小檗碱及不同活菌数嗜酸乳杆菌(0、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 CFU/mL)的MRS培养液100 mL,按照1%的接种量接入大肠杆菌,37℃、60 r/min摇床培养24 h,其他处理同“1.4.1”。

1.4.6 GOD和BBR与嗜酸乳杆菌的不同组合以及不同浓度的金霉素对大肠杆菌生长的抑制作用。配制含0.005 0% GOD、0.001 5% BBR和 1×10^5 CFU/ml嗜酸乳杆菌的MRS培养液100 mL,配制金霉素有效含量分别为37.50、75.00、150.00 mg/kg的MRS培养液100 mL,分别按照1%的接种量接入大肠杆菌,并以100 mL MRS培养液接入1%大肠杆菌作为对照组,在37℃、转速60 r/min的条件下摇床培养24 h,其他处理同“1.4.1”。

1.5 数据统计与分析 采用SPSS 17.0统计软件对所有数据进行处理,采用方差分析进行显著性检验,结果均以“平均数±标准差”表示, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同浓度GOD对大肠杆菌生长的抑制作用 由表1可知,仅添加2%葡萄糖对大肠杆菌生长有一定的抑制作用($P<0.05$)。在仅添加单一GOD时,对大肠杆菌生长不具有抑制作用($P>0.05$),而只能在有葡萄糖共同作用下才有抑制大肠杆菌生长的作用($P<0.05$),且随着GOD浓度的增加和作用时间的延长对大肠杆菌生长的抑制作用逐渐增强($P<0.05$)。

表1 不同浓度GOD作用不同时间对大肠杆菌生长的抑制作用

Table 1 Inhibitory effect of different concentrations of GOD and reaction time on the growth of *E.coli*

组别 Group	8 h	16 h	24 h
对照组 Control group	9.23±0.03 a	9.40±0.02 a	9.54±0.02 a
2%葡萄糖组 2% glucose group	8.90±0.00 b	8.77±0.01 b	8.30±0.02 b
0.025 0% GOD组 0.025 0% GOD group	9.20±0.06 a	9.37±0.04 a	9.50±0.03 a
0.012 5% GOD组 0.012 5% GOD group	9.20±0.03 a	9.41±0.01 a	9.52±0.02 a
2%葡萄糖+0.025 0% GOD组 2% glucose + 0.025 0% GOD group	7.19±0.17 e	3.46±0.15 e	0.00±0.00 d
2%葡萄糖+0.012 5% GOD组 2% glucose + 0.012 5% GOD group	7.66±0.05 d	5.76±0.02 d	0.00±0.00 d
2%葡萄糖+0.005 0% GOD组 2% glucose + 0.005 0% GOD group	8.13±0.10 c	6.52±0.15 c	3.31±0.01 c

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

2.2 不同活菌数嗜酸乳杆菌对大肠杆菌生长的抑制作用 由表2可知,不同活菌数的嗜酸乳杆菌对大肠杆菌生长均具有显著的抑制作用($P<0.05$),随着嗜酸乳杆菌活菌数的增加

和作用时间的延长,对大肠杆菌生长的抑制作用逐渐增强($P<0.05$)。

表2 不同活菌数嗜酸乳杆菌作用不同时间对大肠杆菌生长的抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of *L.acidophilus* with different number of viable bacteria and reaction time on the growth of *E.coli*

组别 Group	8 h	16 h	24 h
对照组 Control group	8.88±0.01 a	8.92±0.00 a	8.95±0.00 a
嗜酸乳杆菌 1×10^5 CFU/mL组 1×10^5 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	7.78±0.01 b	7.68±0.01 b	7.47±0.01 b
嗜酸乳杆菌 1×10^6 CFU/mL组 1×10^6 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	7.61±0.01 c	7.46±0.01 c	7.01±0.02 c
嗜酸乳杆菌 1×10^7 CFU/mL组 1×10^7 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	7.03±0.02 d	6.48±0.01 d	5.35±0.01 d

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

2.3 不同浓度 BBR 对大肠杆菌生长的抑制作用 从表 3 可以看出,不同浓度的 BBR 对大肠杆菌生长均有显著的抑制作用($P<0.05$),并且随着 BBR 浓度的增加和作用时间的延长,对大肠杆菌生长的抑制作用明显增强($P<0.05$)。

表 3 不同浓度 BBR 作用不同时间对大肠杆菌生长的抑制作用

Table 3 Inhibitory effect of different concentrations of BBR and reaction time on the growth of *E.coli*

BBR 浓度 BBR concentration // %	lgCFU/mL		
	8 h	16 h	24 h
0.000 0	8.88±0.01 a	8.92±0.00 a	8.95±0.00 a
0.001 5	8.79±0.00 b	8.62±0.01 b	8.46±0.02 b
0.003 0	8.62±0.01 c	8.07±0.02 c	7.53±0.01 c
0.006 0	8.46±0.02 d	7.94±0.01 d	6.86±0.00 d
0.009 0	8.00±0.00 e	7.27±0.01 e	6.01±0.02 e

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

2.4 GOD 与不同活菌数嗜酸乳杆菌组合对大肠杆菌生长的抑制作用 由表 4 可知,0.005 0%GOD 与不同活菌数的嗜酸

表 4 GOD 与不同活菌数的嗜酸乳杆菌组合作用不同时间对大肠杆菌生长的抑制作用

Table 4 Inhibitory effect of combinations of GOD and *L.acidophilus* with different number of viable bacteria and reaction time on the growth of *E.coli*

组别 Group	lgCFU/mL		
	8 h	16 h	24 h
对照组 Control group	8.87±0.01 a	8.92±0.01 a	8.95±0.01 a
0.005 0% GOD+嗜酸乳杆菌 1×10^5 CFU/mL 组 0.005 0% GOD+ 1×10^5 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	6.80±0.01 b	4.72±0.01 b	0.00±0.00 b
0.005 0%GOD+嗜酸乳杆菌 1×10^6 CFU/ml 组 0.005 0% GOD+ 1×10^6 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	6.71±0.01 c	4.59±0.01 c	0.00±0.00 b
0.005 0%GOD+嗜酸乳杆菌 1×10^7 CFU/ml 组 0.005 0% GOD+ 1×10^7 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	6.66±0.02 d	4.50±0.01 d	0.00±0.00 b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

表 5 GOD 和 BBR 与不同活菌数嗜酸乳杆菌组合作用不同时间对大肠杆菌生长的抑制作用

Table 5 Inhibitory effect of combination of *L.acidophilus* with different number of viable bacteria with BBR+GOD and reaction time on the growth of *E.coli*

组别 Group	lgCFU/mL		
	8 h	16 h	24 h
对照组 Control group	8.86±0.01 a	8.91±0.01 a	8.94±0.00 a
0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+嗜酸乳杆菌 1×10^5 CFU/mL 组 0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+ 1×10^5 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	5.90±0.01 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b
0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+嗜酸乳杆菌 1×10^6 CFU/mL 组 0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+ 1×10^6 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	5.71±0.02 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b
0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+嗜酸乳杆菌 1×10^7 CFU/mL 组 0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+ 1×10^7 CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	5.52±0.05 d	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

3 讨论与结论

3.1 单一 BBR、GOD 和嗜酸乳杆菌的抑菌功能 小檗碱具有抑菌、抗肿瘤、抗氧化、抗痢疾等药理作用^[7],通过建立人工感染沙门氏菌小鼠体内模型发现小檗碱可以抑制小鼠体内革兰氏阴性菌,并可延长细菌感染小鼠的存活时间及降低细菌感染小鼠的死亡率^[8]。借助人工建立大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌悬浮液体外模型,结果表明小檗碱具有抑制大肠杆菌(抑菌率 93.96%)、金黄色葡萄球菌(抑菌率

乳杆菌组合对大肠杆菌具有显著的抑制作用($P<0.05$),并且随着嗜酸乳杆菌活菌数的增加和作用时间的延长,抑制大肠杆菌的作用逐渐增强($P<0.05$)。这初步证实了低浓度 GOD 与不同活菌数嗜酸乳杆菌组合的抑菌效果与高浓度 GOD 相当,并具有较好的协同抑菌作用。

2.5 GOD 和 BBR 与不同活菌数的嗜酸乳杆菌组合对大肠杆菌生长的抑制作用 从表 5 可以看出,0.005 0%GOD 和 0001 5%BBR 与不同活菌数嗜酸乳杆菌组合具有明显抑制大肠杆菌生长的作用($P<0.05$)。与单一因素或双因素组合结果相比,低浓度的三因素组合的抑菌作用更强。

2.6 GOD 和 BBR 与嗜酸乳杆菌的不同组合以及不同浓度金霉素对大肠杆菌生长的抑制作用 由表 6 可知,低浓度 GOD、BBR 与嗜酸乳杆菌两两组合或者三者组合以及不同浓度的金霉素对大肠杆菌均具有明显的抑制作用($P<0.05$)。其中,三因素组合的抑菌作用最强,与 150.00 mg/kg 金霉素的抑菌效果相当。另外,GOD 与嗜酸乳杆菌双因素组合的抑菌作用效果,与 75.00 mg/kg 金霉素的抑菌效果相当。

41.88%)、白色念珠菌(抑菌率 34.28%)的作用^[9],这与该研究结果相吻合。小檗碱的抑菌机理包括抑制菌体分裂、核酸复制、致病性和蛋白酶活性,与肠道菌群相互作用,并对胃肠道黏膜具有保护作用等^[7]。

葡萄糖氧化酶是一种需氧脱氢酶,能专一性氧化葡萄糖生成葡萄糖酸和过氧化氢。由于氧气的消耗抑制了需氧菌的生长,有利于厌氧益生菌的生长,形成生态竞争优势,从而抑制大肠杆菌、沙门氏菌等有害菌的存活,所产生的过氧

化氢具有杀菌作用^[10]。该研究结果表明,GOD 能够显著改善动物肠道微生态平衡以及肠道消化环境,保护肠道健康,提高饲料的利用率,促进动物的生长和增强动物机体抗病力,是一种绿色、安全、高效、对人体无毒副作用的饲料添加剂^[11]。杨久仙等^[12]研究表明日粮中添加 0.2%和 0.3%GOD

可以显著降低仔猪胃和回肠的大肠杆菌数量,增加仔猪胃和回肠内乳酸菌数量。汤海鸥等^[13]开展了 GOD 体外抑菌试验,结果表明 GOD 对大肠杆菌和沙门氏菌生长具有明显的抑制效果。该研究结果表明,低剂量的 GOD 也表现出较好的抑制大肠杆菌生长的作用。

表 6 GOD 和 BBR 与嗜酸乳杆菌不同组合及金霉素作用不同时间对大肠杆菌生长的抑制作用

Table 6 Inhibitory effect of different combinations of *L.acidophilus* with BBR+GOD,aureomycin and reaction time on the growth of *E.coli*

组别 Group	8 h	16 h	24 h
对照组 Control group	8.83±0.04 a	8.88±0.03 a	8.93±0.03 a
0.005 0%GOD+嗜酸乳杆菌 1×10 ⁵ CFU/mL 组	6.75±0.05 d	4.56±0.07 d	0.00±0.00 e
0.005 0%GOD+1×10 ⁵ CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group			
0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+嗜酸乳杆菌 1×10 ⁵ CFU/mL 组	5.87±0.03 e	0.00±0.00 f	0.00±0.00 e
0.005 0%GOD+0.001 5%BBR+1×10 ⁵ CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group			
0.005 0%GOD+0.001 5%BBR 0.005 0%GOD+0.001 5%BBR 组	6.87±0.03 d	4.63±0.06 d	2.36±0.10 d
0.001 5%BBR+嗜酸乳杆菌 1×10 ⁵ CFU/mL 0.001 5%BBR+1×10 ⁵ CFU/mL <i>L.acidophilus</i> group	7.52±0.07 b	5.92±0.03 b	4.67±0.06 b
37.50 mg/L 金霉素组 37.50 mg/L aureomycin group	7.10±0.17 c	5.36±0.10 c	3.80±0.04 c
75.00 mg/L 金霉素组 75.00 mg/L aureomycin group	5.36±0.10 f	3.80±0.04 e	0.00±0.00 e
150.00 mg/L 金霉素组 150.00 mg/L aureomycin group	3.87±0.03 g	0.00±0.00 f	0.00±0.00 e

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note:Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

嗜酸乳杆菌是一种微生态制剂,属于乳酸菌家族的成员,可在肠道中定殖,具有改善和调节肠道微生物菌群平衡、抑制病原微生物生长、增强机体免疫力及抑制肿瘤细胞的形成等功能^[14-15]。Sartor^[2]报道用嗜酸乳杆菌对 137 例急性腹泻患者进行治疗,结果表明口服嗜酸乳杆菌制剂 24 h 后,82%的患者腹泻次数明显减少,粪便稠度也有改善;治疗 72 h 后,所有患者排便次数和粪便稠度恢复正常。该研究结果表明,单一的嗜酸乳杆菌具有较强的抑制大肠杆菌生长的作用,且随着嗜酸乳杆菌数量的增多,其抑菌效果逐渐增强,是一种较好的抗生素替代品。

3.2 GOD、BBR 与嗜酸乳杆菌组合对大肠杆菌的抑制作用 虽然单一 GOD、BBR 和嗜酸乳杆菌都具有良好的抑制大肠杆菌生长作用,但使用剂量均较高,这在生产成本和实际应用中都受到一定的限制。另外,GOD、BBR 和嗜酸乳杆菌这 3 种产品均有各自的优势。如何发挥三者的协同作用,对于研制高效的抗生素替代品具有重要意义。

GOD 可以催化葡萄糖生成葡萄糖酸,改善胃肠道酸性消化环境,当与嗜酸乳杆菌配合可在肠道内发挥酸化剂和微生态制剂的双重作用,可使胃肠道内 pH 降低,抑制大肠杆菌的生长和繁殖,促进益生菌的增殖^[16]。赵国先等^[17]研究表明,在日粮中添加 GOD 能不同程度降低回肠和空肠 pH,但对胃和十二指肠中 pH 却无显著影响;同时,GOD 还具有明显抑制大肠杆菌生长、促进盲肠中乳酸杆菌和双歧杆菌增殖的作用。嗜酸乳杆菌属于肠道中乳杆菌属,同时也是肠道中的益生菌类,产酸能力强,与 GOD 配伍可以起到协同抑制大肠杆菌的作用。

Wang 等^[18]报道 BBR 通过减少肠道菌产生 ATP 和 NADH,起到抑菌作用。Zhang 等^[19]报道小檗碱能够增加具有短链脂肪酸产生功能的 *Blautia* 和 *Allobaculum* 等菌属数量,调节肠道 pH,抑制大肠杆菌的生长和繁殖。据报道,益

生菌和中药提取物配伍使用通常比二者单一使用具有更强的抗菌作用^[20-21],充分证实了 BBR 与益生菌协同抑制大肠杆菌生长的有效性,与该研究结果相一致。

GOD 与益生菌配伍以及益生菌与 BBR 配伍的协同抑菌作用已有相关报道,但 GOD、嗜酸乳杆菌、BBR 三者协同对大肠杆菌生长的抑制作用尚未见报道。该研究结果表明,低浓度葡萄糖氧化酶和低浓度嗜酸乳杆菌与低浓度小檗碱配伍,其抑菌作用与 75~150 mg/kg 金霉素相当,充分证实了三者配伍对抑制大肠杆菌生长和繁殖的有效性和叠加性,为抗生素替代及畜产品安全生产提供了一种新的饲料添加剂。

参考文献

- [1] 孙芸,赵庆章.嗜酸乳杆菌在畜禽生产中的应用研究进展[J].当代畜牧,2017(30):24-25.
- [2] SARTOR R B.Probiotic therapy of intestinal inflammation and infections [J].Curr Opin Gastroenterol,2005,21(1):44-50.
- [3] 那淑敏,贾士芳,陈秀珠,等.嗜酸乳杆菌产生的广谱抗菌肽 AP311 的分离和鉴定[J].微生物学报,2001,41(4):494-498.
- [4] AHRNÉ S,NOBAEK S,JEPPSSON B,et al.The normal *Lactobacillus* flora of healthy human rectal and oral mucosa[J].J Appl Microbiol,1998,85:88-94.
- [5] 吕进宏,黄涛,马立保.新型饲料添加剂——葡萄糖氧化酶[J].中国饲料,2004(12):15-16.
- [6] 齐双翡,王玉珍.小檗碱在消化系统常见疾病中的作用研究进展[J].广东医学,2017,38(S1):343-345.
- [7] 林媛,司书毅,蒋建东.小檗碱的抗菌作用[J].药理学报,2018,53(2):163-168.
- [8] 王航,汤承,岳华,等.小檗碱对小鼠体内抑菌作用的研究[J].西南民族大学学报(自然科学版),2013,39(5):684-686.
- [9] 胡晓宁,石映洋,张喜民,等.一种鞣酸小檗碱抑菌凝胶的抑菌效果及毒性试验研究[J].中国消毒学杂志,2013,30(2):116-117.
- [10] 熊文霞,马现永,胡友军,等.葡萄糖氧化酶在畜牧业中的应用及检测方法研究进展[J].饲料工业,2016,37(4):15-20.
- [11] 陈博.葡萄糖氧化酶在动物生产中的应用[J].饲料博览,2017(2):23-26.
- [12] 杨久仙,张荣飞,张石柱,等.葡萄糖氧化酶对仔猪胃肠道微生物区系及血液生化指标的影响[J].畜牧与兽医,2011,43(6):53-56.
- [13] 汤海鸥,高秀华,姚斌,等.葡萄糖氧化酶体外抑菌和产酸效果试验研究[J].饲料工业,2015,36(10):13-16.

3 结论与讨论

对5个种源元宝枫苗木的生物量特征研究表明,各种源苗木生物量以辽宁四合城种源最高,辽宁章古台种源次之,辽宁铁岭、山东聊城和山西运城种源比较接近且相对较低。在植株生物量构成上均表现出一定的趋同性和差异性。各种源苗木叶生物量均占植株生物量比重最大,达50%以上,主要是苗期叶生物量占比高,有效光合面积大,有利于光合产物的积累^[8]。而在茎、根生物量分配方面,辽宁省3个种源与省外2个种源则表现出明显的差异模式,辽宁省3个种源茎生物量占比明显高于根占比,省外种源则正相反,反映出不同纬度分布区林木适应性种源地理变异的差异特征^[5,9]。

不同种源元宝枫苗木根冠比和茎叶比也存在显著差异,同辽宁省3个种源相比,山东和山西2个种源根冠比较大。根冠比是衡量植物地上和地下生物量分配格局的重要指标,一定程度上能够反映植物逆境适应性与抗逆性关系^[10]。结合各种源苗木生长量和生物量特征,山东聊城和山西运城种源苗木地上部生长量较低的同时,根幅小且侧根数量也较少,但根系更长,表明其在干旱环境下地上和地下部生长均受到了影响,但地上部受到的影响相对于根系更大^[8]。植物发生干旱胁迫时,为了维持地上部的水分供应通常会光合产物优先向根系输送以促进根系生长,造成根冠比增加。此外,为适应干旱要抑制蒸腾,同时为维持生长要保证光合作用最大化,相比于其他组织叶片可塑性更强,需要在蒸腾与光合端的叶片上产生权衡性调节,叶生物量降低不仅能有效减少地上部蒸腾面积从而有利于减少水分消耗,而且能维持部分光合能力,无法避免的结果是造成光合面积减少,使光合产量降低。当胁迫发生时,在光合产物优先向根系分配的前提下,会造成茎碳分配减少,进而形成较低茎叶比^[10]。山东聊城和山西运城种源苗木根冠比增加和茎叶比降低,反映了其在干旱适应或影响下表型可塑性的种源差异特征。

干旱条件下,植物建立适宜的根冠结构可以维持有效的水分利用和促进生长量提高^[9]。该研究中,生长表现较好的辽宁四合城和章古台种源苗木在相同环境下生长,其根冠比并未表现出较高水平,同时根幅大且侧根多,说明其根系生长以增加根吸收面积为主,根系吸收能力较强,从而保证了地上部光合产物投入量的增加,促进高、径生长量增加,这种特定的根冠结构的形成更适宜当地气候,与其种源分布于科尔沁沙地南缘的地理环境有密切关系^[1,6],是长期环境适应的结果。辽宁铁岭种源苗木在生长表现上,与山东聊城、山西运城种源接近,但其根冠比和茎叶比均较低,说明干旱环境对其地上和地下生长均影响较大,对干旱环境适应的调节能力相对较弱。

综上,该研究中5个种源元宝枫在生物量特征方面,以辽宁四合城和章古台种源较为适宜辽西北的干旱环境,在栽培选择上更有利于林木生产力的持续发展,可作为主要种源进行推广应用。

参考文献

- [1] 白国华.论述元宝枫繁育及高效栽培技术[J].现代园艺,2019(12):21-22.
- [2] 李晓储,黄利斌,李阳春,等.杉木不同种源地上干材与生物量的地理变异[J].江西林业科技,1994(Z1):128-133.
- [3] 李军.浅谈林木的地理变异与种源试验[J].民营科技,2013(10):90.
- [4] 胡晓健,欧阳献,喻方圆.干旱胁迫对不同种源马尾松苗木生长及生物量的影响[J].江西农业大学学报,2010,32(3):510-516.
- [5] 肖巍,尤国春,杨树军,等.章武沙地樟子松不同种源生长表现[J].防护林科技,2018(10):18-20.
- [6] 曹宇.沙地人工刺楸围栏生长及分化的初步研究[J].林业科技,2017,42(2):28-31.
- [7] 秦佳梅,孙庆玲,郑晓娇.苦碟子生物量与其株高的相关性分析[J].安徽农业科学,2010,38(21):11140-11141.
- [8] 朱铁霞,高阳,高凯,等.干旱胁迫下菊芋各器官生物量及物质分配规律[J].生态学报,2019,39(21):8021-8026.
- [9] 沈熙环.林木育种学[M].北京:中国林业出版社,1990.
- [10] 徐炳成,山仑.苜蓿和沙打旺苗期需水及其根冠比[J].草地学报,2003,11(1):78-82.
- [11] 肠微生物的影响[J].河北农业大学学报,2009,32(4):83-87.
- [12] WANG Y, SHOU J W, LI X Y, et al. Berberine-induced bioactive metabolites of the gut microbiota improve energy metabolism[J]. Metabolism, 2017, 70: 72-84.
- [13] ZHANG X, ZHAO Y F, ZHANG M H, et al. Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats[J]. PLoS One, 2012, 7(8): 1-12.
- [14] 张忠, 郑红星, 祝艳华, 等. 中药-益生菌复合制剂对生态肉鸡生长性能和脏器指数的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(1): 28-31.
- [15] 王瑞, 蔡文涛, 王喜亮, 等. 畜禽中药-益生菌复合微生态制剂的研究进展[J]. 生物工程学报, 2019, 35(6): 972-987.
- [14] PERDIGON G, DE MACIAS M E N, ALVAREZ S, et al. Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*[J]. J Dairy Res, 1990, 57(2): 255-264.
- [15] WAGNER R D, PIERSON C, WARNER T, et al. Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis on immunodeficient mice[J]. Infect Immun, 1997, 65(10): 4165-4172.
- [16] 吴端钦, 陈成, 戴求仲. 仔猪日粮中葡萄糖氧化酶适宜添加量及替代氧化锌的效益比较研究[J]. 家畜生态学, 2015, 36(9): 31-35.
- [17] 赵国先, 宋海彬, 马可为, 等. 葡萄糖氧化酶制剂对肉鸡肠道 pH 及盲

(上接第98页)