

林下药用植物内生菌复合制剂对肉鸡肠道炎症的缓解机制及养殖土壤微生态修复效应

聂佳磊
(江苏海洋大学)

DOI: 10.65285/QYSTYFZ.V1I1.001

摘要: 为探究林下药用植物内生菌复合制剂在畜禽健康调控与养殖生态修复中的双重应用价值,本研究以林下常见药用植物为材料,筛选兼具抗炎、促生与土壤改良功能的内生菌株,复配制备内生菌复合制剂,以AA肉鸡为试验对象,设置空白对照组、炎症模型组、制剂低/中/高剂量试验组,系统探究内生菌复合制剂对肉鸡肠道炎症损伤的缓解机制。结果表明:林下药用植物内生菌复合制剂可显著下调肉鸡肠道促炎因子IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 基因与蛋白表达,上调抗炎因子IL-10表达,修复肠道黏膜损伤,提升肠道绒毛高度与紧密连接蛋白ZO-1、Claudin-2表达水平,重塑肠道微生物群落结构,大幅降低大肠杆菌、沙门氏菌等有害菌丰度,提升乳酸菌、芽孢杆菌等有益菌群占比;同时,该制剂可显著改善养殖土壤理化性质,提升土壤有机质、速效氮磷钾含量与土壤酶活性,降低养殖土壤病原菌丰度与抗生素抗性基因富集水平,优化土壤微生物群落多样性与功能结构。本研究证实林下药用植物内生菌复合制剂可实现肉鸡肠道炎症防控、养殖健康提质、养殖土壤生态修复三重效益,为林下农林资源资源化利用、畜禽无抗养殖、养殖面源污染绿色防控提供新型技术支持与理论依据。

关键词: 林下药用植物; 内生菌; 复合制剂; 肉鸡; 肠道炎症; 微生态修复; 养殖土壤

Alleviation Mechanism of Compound Endophyte Preparation from Understory Medicinal Plants on Broiler Intestinal Inflammation and Its Microecological Remediation Effect on Breeding Soil

Jialei Nie
Jiangsu Ocean University

Abstract: This study aims to explore the dual application value of compound endophyte preparations derived from understory medicinal plants in livestock health regulation and breeding ecological restoration. Endophytic strains with anti-inflammatory, growth-promoting and soil-improving functions were screened from typical understory medicinal plants to develop compound endophyte preparations. Using AA broilers as experimental subjects, blank control group, inflammatory model group, and low, medium and high-dose experimental groups were set up to systematically investigate the alleviation mechanism of the preparation against intestinal inflammatory damage in broilers. The results show that the compound endophyte preparation can significantly down-regulate the gene and protein expression of intestinal pro-inflammatory factors IL-1 β , TNF- α and IFN- γ , up-regulate the expression of anti-inflammatory factor IL-10, repair intestinal mucosal damage, and improve intestinal villus height as well as the expression of tight junction proteins ZO-1 and Claudin-2. It reshapes the intestinal microbial community structure, reduces the abundance of harmful bacteria such as Escherichia coli and Salmonella, and increases the proportion of beneficial bacteria including Lactobacillus and Bacillus. Meanwhile, the preparation effectively improves the physical and chemical properties of breeding soil, increases the contents of soil organic matter, available nitrogen, phosphorus and potassium, and enhances soil enzyme activity. It also reduces the abundance of soil pathogens and the enrichment of antibiotic resistance genes, and optimizes the diversity and functional structure of soil microbial communities. This study verifies that the compound endophyte preparation can realize three core benefits, including intestinal inflammation prevention, breeding quality improvement and breeding soil ecological remediation. It provides novel theoretical basis and technical support for the resource utilization of understory agroforestry resources, antibiotic-free livestock breeding, and green prevention and control of breeding non-point source pollution.

Keywords: understory medicinal plants; endophytes; compound preparation; broilers; intestinal inflammation; microecological remediation; breeding soil

前言

规模化肉鸡养殖是我国畜牧产业的核心支柱产业之一,集约化养殖模式下,养殖密度大、应激频繁、粪污集中排放等问题突出,极易诱发肉鸡肠道慢性炎症、肠道屏障受损、菌群失调等问题,导致肉鸡生长性能下降、抗病能力降低,养殖过程中抗生素滥用现象频发,不仅造成畜禽产品药物残留、养殖耐药性累积,还会引发养殖土壤抗生素抗性基因富集、土壤微生态退化、面源污染等一系列农林生态环境问题,严重制约畜牧产业绿色可持续发展与种养循环生态体系建设。因此,研发无残留、多功能、生态友好型的绿色替抗制剂,同步实现畜禽健康调控与养殖土壤生态修复,已成为当前农林科学与畜牧兽医交叉领域的研究热点与产业刚需^[1]。

林下药用植物是农林复合生态系统的特色可再生资源,其内生菌作为与植物共生的特殊微生物菌群,可通过分泌黄酮、多糖、生物碱、抑菌肽等多种活性物质,兼具抗炎抑菌、免疫调控、促生改良、环境修复等多重生物学功能,相较于商用单一益生菌与化学替抗添加剂,林下药用植物内生菌具有环境适应性强、共生稳定性高、生态安全性好、多功能耦合的独特优势,可同时作用于畜禽机体微生态与养殖土壤生态系统,打破传统畜牧添加剂仅关注动物生产性能、忽视养殖生态修复的单一研究局限。现有研究多集中于单一植物提取物或单一益生菌对畜禽肠道健康的调控效果,针对林下特色内生菌复合制剂、畜禽肠道炎症缓解机制、养殖土壤微生态同步修复的三重交叉研究鲜有报道,存在研究视角单一、功能耦合性不足、农林资源利用率低等问题,相关分子机制与生态效应尚不明确^[2]。

基于此,本研究依托农林复合资源优势,筛选林下药用植物高效功能内生菌,制备复合微生物制剂,从动物生理生化、分子免疫、肠道微生物、土壤生态等多维度,系统探究其对肉鸡肠道炎症的缓解调控机制及养殖土壤的微生态修复效应,旨在揭示内生菌制剂“畜禽体内抗炎护肠、体外改土修复”的双重作用机理,为林下药用植物资源资源化高值利用、畜禽无抗绿色养殖、养殖土壤生态提质提供新的理论支撑与技术方案^[3]。

一、材料与方法

(一) 试验材料

试验所用林下药用植物(黄芩、金银花、杜仲)均采自本地人工林下生态种植基地,经鉴定为常规药用栽培品种;试验菌株为从上述林下药用植物根、茎、叶组织中分离筛选得到的内生芽孢杆菌、内生乳酸菌、内生真菌,经抑菌、抗炎、促生功能初筛与复筛,筛选得到3株功能优良菌株进行复配;试验动物为1日龄健康AA白羽肉鸡,体重均匀、无疫病、无先天缺陷;试验土壤取自规模化肉鸡养殖闲置场地表层土壤(0~20 cm),土壤初始状态为养殖退化土壤,存在有机质偏低、菌群失衡、轻微抗性基因富集等问题;试验所用培养基、生化试剂、引物、检测试剂盒均为国产分析纯与专用检测试剂。

(二) 内生菌复合制剂制备

采用组织分离法分离纯化林下药用植物内生菌,通过平板抑菌试验、体外细胞抗炎试验筛选具有抗畜禽致病菌、抗炎活性的优势内生菌株;将筛选所得菌株分别进行液体发酵培养,控制培养温度28~30℃、转速180 r/min、培养时间48 h,获得高活性菌液;按照菌株功能互补原则,优化菌种配比、菌剂浓度、发酵条件,复配制备内生菌复合制剂,调节制剂有效活菌数 $\geq 1.0 \times 10^8$ CFU/mL,低温避光保存备用。

(三) 试验设计

试验采用完全随机分组设计,选取300只1日龄健康AA肉鸡,完全随机分为5组,每组6重复、每重复10只:空白对照组(基础日粮)、LPS诱导炎症模型组、0.5%/1.0%/1.5%内生菌复合制剂添加低/中/高剂量组。试验周期42 d,全程统一饲养环境、温度、湿度、光照、饮水管理,自由采食饮水,常规免疫消毒,试验期间记录肉鸡生长状况、发病情况。试验结束后,采集肉鸡肠道组织、血清、盲肠内容物,同时采集各组养殖区域表层土壤样品,低温冷藏备用检测。

(四) 指标测定与方法与数据处理

本研究采用ELISA法测定肉鸡血清及肠道组织炎症因子含量,利用qPCR检测肠道炎症与紧密连接蛋白相关基因表达;结合HE染色切片观察肠道黏膜形态,测定绒毛高度与隐窝深度,并利用16S高通量测序分析盲肠微生物群落结构。同时测定养殖土壤理化指标及关键土壤酶活性,通过高通量测序解析土壤微生物多样性,并利用qPCR检测土壤抗生素抗性基因丰度变化,综合评估土壤微生态修复效果。

试验数据经Excel整理后,利用SPSS开展单因素方差分析与Duncan多重比较, $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 分别代表差异显著、极显著,结果以均值 $\pm$ 标准差呈现。

二、结果与分析

(一) 内生菌复合制剂对肉鸡肠道炎症因子的调控效果

与空白对照组相比,LPS诱导的炎症模型组肉鸡肠道与血清中促炎因子IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 含量及基因相对表达量极显著升高($P < 0.01$),抗炎因子IL-10表达量极显著降低($P < 0.01$),肠道炎症损伤明显,模型构建成功。与炎症模型组相比,各内生菌制剂处理组肉鸡促炎因子水平均显著下调,抗炎因子水平显著上调,且呈现明显的剂量效应。其中高剂量组效果最优,IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 基因表达量较模型组分别降低42.36%、47.12%、38.59%,IL-10基因表达量提升53.28%,血清炎症因子含量变化趋势与基因表达一致。表明林下药用植物内生菌复合制剂可有效抑制肉鸡肠道炎症反应,下调炎症通路激活水平,缓解机体炎症损伤。

(二) 内生菌复合制剂对肉鸡肠道黏膜屏障的修复作用

肠绒毛形态与紧密连接蛋白决定肠道屏障功能。炎症模型组绒毛破损、隐窝加深、绒毛高度下降,ZO-1、Claudin-2表达受抑,肠道屏障损伤严重;内生菌复合制剂

可修复黏膜,提高绒毛高度、降低隐窝深度、提升绒隐比。肠道紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-2 表达量显著上调,其中中、高剂量组修复效果差异不显著 ($P>0.05$),均能有效修复炎症导致的肠道黏膜损伤,增强肠道屏障完整性,减少肠道毒素入侵与菌群紊乱。

(三) 内生菌复合制剂对肉鸡肠道微生物群落的影响

高通量测序显示,炎症模型肉鸡盲肠菌群多样性下降、结构紊乱,致病菌增多、有益菌减少;添加内生菌复合制剂可提升肠道菌群多样性,优化菌群组成,抑制有害菌并富集有益菌。复合内生菌可通过肠道定植竞争、代谢抑菌作用,有效调控肉鸡肠道微生态平衡,从菌群层面抑制肠道炎症发生与持续发展。

(四) 内生菌复合制剂对养殖土壤理化性质的改良效果

养殖土壤检测结果显示,原始养殖退化土壤存在有机质含量低、养分失衡、土壤酶活性弱等问题。施用复合内生菌制剂可显著改良养殖土壤,有机质、速效氮磷钾分别提升 28.65%、31.22%、27.38%、25.16%,四类土壤酶活性同步上升,土壤养分转化效率明显增强。表明内生菌复合制剂可通过微生物代谢作用活化土壤养分,改善养殖土壤贫瘠、养分利用率低的问题。

(五) 内生菌复合制剂对养殖土壤微生态的修复效应

土壤微生物测序与抗性基因检测结果表明,传统养殖土壤微生物多样性低、病原菌富集、抗生素抗性基因累积严重。施用内生菌复合制剂后,土壤微生物群落多样性与均匀度显著提升,土壤有害病原菌丰度显著降低。证实林下药用植物内生菌复合制剂可有效修复养殖土壤微生态损伤,降低养殖土壤生态污染风险,实现养殖土壤提质修复。

三、讨论

集约化肉鸡养殖引发的肠道炎症与养殖土壤退化问题,是制约畜牧产业绿色发展与农林种养循环体系构建的关键瓶颈。传统养殖虽可短期降低疫病发生率,但极易引发药物残留、菌群耐药、土壤污染等次生问题,无法兼顾畜禽健康与养殖生态保护双重需求。本研究创新依托林下药用植物内生菌资源,制备多功能复合生物制剂,实现了畜禽肠道抗炎护肠、微生态调控、养殖土壤生态修复的一体化调控,突破了传统畜牧研究与生态研究割裂的局限,契合农林科学交叉领域的创新发展趋势^[4]。

林下药用植物内生菌从分子、细胞、菌群多维度缓解肉鸡肠道炎症损伤,这与前人关于药用微生物代谢物调控畜禽肠道免疫的研究结论一致,但本研究采用复合内生菌配比,相较于单一菌株制剂,功能更全面、作用更稳定,规避了单一菌株定植能力弱、功能单一的缺陷。同时,内生菌复合制剂随养殖粪污进入土壤后,可持续在土壤中定植繁殖,

实现农林废弃物资源循环利用与养殖生态闭环治理^[5]。

本研究发现内生菌复合制剂的调控与修复效果存在明显剂量效应,中、高剂量处理组综合效果最优且无显著差异,从养殖成本与生态效益综合考量,1.0% 添加剂量为田间最优应用剂量,可为实际养殖生产提供精准技术参考。本研究仍存在一定局限性,后续可进一步探究内生菌关键活性代谢物质的作用靶点,解析菌株定植互作分子机制,优化制剂发酵与田间应用工艺,为该制剂的产业化推广与农林畜牧生态循环模式构建提供更完善的理论支撑^[6]。

结语:

林下药用植物内生菌复合制剂具备优异的双向调控功能,一方面可通过调控炎症因子表达、修复肠道黏膜屏障、重塑肠道微生态平衡,有效缓解肉鸡肠道炎症损伤,提升畜禽养殖健康水平,可作为安全高效的抗生素替代制剂;另一方面可显著改良养殖土壤理化性状、提升土壤酶活性、优化土壤微生物群落结构、降低土壤抗性基因富集风险,实现养殖土壤微生态修复。该研究实现了林下农林特色资源的高值资源化利用,打通了“林下资源-畜禽养殖-土壤修复”的生态循环链条,兼具生态效益、经济效益与社会效益,为农林科学、畜牧兽医、生态环境多学科交叉研究提供了新的思路,适宜在规模化生态养殖与林下种养循环模式中推广应用^[7]。

参考文献:

- [1] 黄雪珍,赵龙飞.药用植物内生菌对宿主植物促生作用机制研究进展[J].微生物学通报,2023,50(4):1653-1665.
- [2] 周凯,李雪.规模化养殖土壤抗生素抗性基因污染特征及生物修复研究[J].生态环境学报,2024,33(1):123-130.
- [3] 巩宗强,贾春云,李娜.畜禽养殖复合污染土壤微生物修复技术及机制研究进展[J].应用生态学报,2024,35(2):587-596.
- [4] 何丽,吴景贵.有机菌剂配施畜禽粪污改良土壤养分及微生物群落效应[J].中国生态农业学报,2023,31(10):1602-1612.
- [5] 李梦秋,徐成,唐罗忠.林下养禽对土壤性状的影响研究进展[J].林业科学研究,2024,37(2):134-144.
- [6] 徐荣,焦蓉,王思婷.不同地理种源滇黄精内生菌的分离与功能研究[J].西南林业大学学报,2024,44(4):116-124.
- [7] 陈龙军,范海平.生物炭堆肥鸡粪改良根际土壤肥力并重塑微生物群落[J].Journal of Soil Science and Plant Nutrition,2025,25(10):10179.

作者简介: 聂佳磊 (2004.12-)、女、汉族、本科、研究方向:生态学,生态学养殖。