



抗鸡沙门菌的乳酸杆菌菌株筛选与鉴定

梁 玥, 陈 静, 张茹梦, 孔 娜, 谷雅倩, 陈思琪, 赵思惠, 韩琪琪, 刘华珍*

(华中农业大学动物医学院, 武汉 430070)

摘 要: 本研究旨在筛选与鉴定抗鸡沙门菌的乳酸杆菌菌株, 为养鸡业提供抗生素替代品。采用MRS培养基从鸡空肠内容物中分离乳酸杆菌, 通过体外抑菌能力、耐酸能力、产酶能力和黏附性能指标筛选候选菌株, 并选择1日龄AA肉鸡进行菌株移植28 d, 观察其对鸡生长发育的影响, 并在42 d进行沙门菌感染试验验证其抑制沙门菌能力, 最终鉴定抗鸡沙门菌的乳酸杆菌菌株。结果显示: 共分离鉴定27株乳酸杆菌(包括13株唾液联合乳杆菌、11株罗伊氏黏液乳杆菌、2株约氏乳杆菌和1株格氏乳杆菌), 其中唾液联合乳杆菌S31菌株可显著抑制鼠伤寒沙门菌和鸡伤寒沙门菌, 在pH 3.0时存活率大于50%, 可产蛋白酶、脂肪酶, 提示S31菌株不仅具有较强抑制沙门菌能力, 还具有胃肠道适应性及潜在的益生功能。动物试验结果显示, 唾液联合乳杆菌S31菌株移植28 d可显著增加受体鸡体重($P<0.0001$)、腿肌重($P<0.001$)、胸肌重($P<0.01$)、空肠长度($P<0.01$)、肠绒毛长度($P<0.05$)、杯状细胞数量($P<0.05$)、空肠乳酸杆菌丰度($P<0.05$), 提示S31菌株可促进鸡生长发育。在42 d进行沙门菌感染, 唾液联合乳杆菌S31菌株移植组脾脏载菌量($P<0.05$)、回肠TLR-4、MyD88和AP-1信号通路转录水平($P<0.01$)和促炎因子IL-1 β 、IL-6和IL-12转录水平($P<0.05$)均显著低于对照组, 空肠和回肠结构完整。综上, 唾液联合乳杆菌S31菌株不仅具备较强的抑制沙门菌能力, 还有良好的胃肠道适应性及优良的促生长功能, 具有潜在应用价值。

关键词: 鸡; 乳酸杆菌; 沙门菌; 抑菌能力

中图分类号: Q939.117

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)02-1074-13

Screening and Identification of *Lactobacillus* Strains against *Salmonella* for Chicken

LIANG Yue, CHEN Jing, ZHANG Rumeng, KONG Na, GU Yaqian, CHEN Siqi,

ZHAO Sihui, HAN Qiqi, LIU Huazhen*

(College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The aim of this study was to identify the *Lactobacillus* strains that are resistant to *Salmonella* and provide antibiotic alternatives for the chicken industry. *Lactobacillus* were isolated from chicken jejunal contents using MRS medium, candidate strains were screened by *in vitro* bacterial inhibition, acid resistance, enzyme production and adhesion, selected strains were orally administered to one-day-old AA chickens for 28 days to evaluate their effects on growth performance. At 42 days, a *Salmonella* challenge test was conducted to validate the inhibitory effect against salmonellosis, finally the *Lactobacillus* strain resistant to *Salmonella* was identified. Results: A total of 27 *Lactobacillus* strains (including 13 strains of *Ligilactobacillus salivarius*, 11 strains of *Limosilactobacillus reuteri*, 2 strains of *Lactobacillus johnsonii*, and 1 strain of *Lactobacillus gasseri*)

收稿日期: 2025-05-23

基金项目: 湖北省国际科技合作项目(2024EHA058)

作者简介: 梁 玥, 主要从事家禽肠道微生物的研究, E-mail: yueliang1002@webmail.hzau.edu.cn

* 通信作者: 刘华珍, 主要从事家禽肠道微生物及家禽免疫研究, E-mail: lhz219@mail.hzau.edu.cn

were isolated and identified, among which *L. salivarius* S31 could significantly inhibit *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Gallinarum, with survival rate of more than 50% at pH 3.0, and produce protease and lipase. This suggests that S31 strain not only has a strong ability to inhibit *Salmonella*, but also has gastrointestinal adaptability and potential probiotic function. The results of animal experiments showed that the transplantation of *L. salivarius* S31 strain for 28 d significantly increased the body weight ($P < 0.0001$), leg muscle weight ($P < 0.001$), breast muscle weight ($P < 0.01$), jejunum length ($P < 0.01$), intestinal villi length ($P < 0.05$), goblet cell counts ($P < 0.05$), and abundance of *Lactobacillus* in jejunum of the chickens ($P < 0.05$), which suggests that S31 strain can promote the growth of chickens. The *Salmonella* attacking was carried out at 42 days, and bacterial load of the spleen ($P < 0.05$), the transcription levels of *TLR-4*, *MyD88* and *AP-1* signaling pathways in the ileum ($P < 0.01$), and the transcription levels of pro-inflammatory factors *IL-1 β* , *IL-6* and *IL-12* ($P < 0.05$) in *L. salivarius* S31 transplantation group were significantly lower than those in the control group, and the jejunum and ileum structures were intact. *L. salivarius* S31 strain exhibits robust *Salmonella*-inhibitory capacity, favorable gastrointestinal adaptability, and superior growth-promoting properties, demonstrating significant potential for practical applications.

Keywords: chicken; *Lactobacillus*; *Salmonella*; antibacterial activity

* **Corresponding author:** LIU Huazhen, E-mail: lhz219@mail.hzau.edu.cn

在我国养禽业中,禽沙门菌病的发病率约占禽发病总数的30%,已成为严重危害养禽业健康发展的重要疾病之一^[1]。沙门菌感染不仅影响鸡生长性能,还通过污染肉、蛋及其制品威胁公共卫生安全,引发食品安全问题^[2]。有数据显示,我国生鸡肉被沙门菌污染率高达26.4%,对动物性食品安全和人类健康有潜在影响^[3]。美国因家禽造成的食源性疾病占比17.9%,每年经济损失高达28亿美元^[4-5]。欧盟报告多国疫情中沙门菌关联最多,其中肠炎沙门菌是蛋类鸡蛋制品中的主要致病菌,由其引发的疫情和病例数量居所有致病菌/食品组合首位^[6]。有研究表明,沙门菌可在肠上皮细胞表面定植并迁移到全身,通过多种毒力因子和机制引发全身感染^[7-9]。经典的抗生素治疗方式无法将其从受感染鸡群中全部根除,这可能是导致沙门菌感染率居高不下的主要原因。大量研究表明,肠道益生菌不仅能促进机体生长发育,还与病原菌之间存在复杂的相互作用,能有效抑制沙门菌的生长和定植^[10]。因此,开发基于益生菌的替代策略具有巨大潜力。乳酸杆菌作为鸡小肠内的优势菌属,不仅可通过竞争定植表位抑制沙门菌,还可产生有机酸、过氧化氢、胞外多糖、蛋白或肽类等抑菌物质抑制沙门菌^[11-12]。乳酸杆菌种类多样,不同乳酸杆菌的功能存在差异。因此,本研究旨在分离鉴定抗鸡沙门菌的乳酸杆菌菌株,为禽类生产实践提供新益生菌资源,推

动养鸡业可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 选择4周龄生长性能优良的桂山凰鸡,取空肠内容物进行乳酸杆菌分离鉴定。选择1日龄AA肉鸡(公)作为候选菌株移植和沙门菌感染试验动物。所有动物试验均获得华中农业大学科学伦理委员会批准(批准号:HZAUCH-2018-008)。

1.1.2 培养基 LB培养基:胰蛋白胨10 g·L⁻¹, NaCl 10 g·L⁻¹,酵母提取物5 g·L⁻¹。

NA液体培养基:胰蛋白胨5 g·L⁻¹, NaCl 5 g·L⁻¹, 牛肉浸粉3 g·L⁻¹。

蛋白酶鉴别培养基:牛肉膏5 g·L⁻¹, 蛋白胨10 g·L⁻¹, NaCl 1 g·L⁻¹, 琼脂粉15 g·L⁻¹, 脱脂乳粉15 g·L⁻¹, 115℃ 20 min 高压蒸汽灭菌。

淀粉酶鉴别培养基:蛋白胨5 g·L⁻¹, 酵母提取物5 g·L⁻¹, NaCl 5 g·L⁻¹, 可溶性淀粉10 g·L⁻¹, K₂HPO₄ 1 g·L⁻¹, KH₂PO₄ 1 g·L⁻¹, MgSO₄·7H₂O 0.4 g·L⁻¹, 琼脂粉10 g·L⁻¹。

脂肪酶鉴别培养基:蛋白胨10 g·L⁻¹, 酵母提取物5 g·L⁻¹, NaCl 10 g·L⁻¹, 琼脂粉10 g·L⁻¹, 三丁酸甘油酯乳化液40 mL·L⁻¹(2% 聚乙烯醇匀液:三丁酸甘油酯=1:9,磁力搅拌)。

1.1.3 主要试剂 MRS 肉汤(HB0384-1)和琼脂粉(HB8274-1)(青岛海博生物技术有限公司);2×Hieff® PCR Master Mix(With Dye)(上海翌圣生物科技股份有限公司);DL2000 DNA Marker、RNAiso Plus(9108)、反转录试剂盒(RR036A)和荧光定量 PCR 试剂盒(RR820A)(北京宝日医生物技术有限公司);革兰氏染色试剂盒(SL7040)(北京酷来搏科技有限公司);组织 DNA 提取试剂盒(D3396-01)(广州飞扬生物工程有限公司)。

1.1.4 沙门菌菌株 用于体外抑菌试验的指示菌为鼠伤寒沙门菌(CP112994.1 菌株)及鸡伤寒沙门菌(CICC 21510 菌株),用于动物感染试验的为鸡伤寒沙门菌(CICC 21510 菌株),保存于华中农业大学动物组织胚胎学实验室。

1.1.5 主要仪器 高压蒸汽灭菌锅(HVE-50)(华粤企业集团有限公司);微生物生长曲线全自动曲线分析仪(FLUOstar OMEGA)(美国 BioDot 公司);pH 计(武汉鑫星星科学仪器公司);荧光定量 PCR 仪(BIO-RAD CFX384)(上海伯乐生命医学产品有限公司);超微量紫外分光光度计(F-2100)(杭州遂真生物技术有限公司)。

1.2 乳酸杆菌菌株的分离鉴定

取鸡空肠内容物样品,采用 MRS 固体培养基 37 °C 培养 48 h 后,挑取优势单菌落进行纯化培养,并通过革兰染色观察菌体形态。以纯化菌液为模板,使用细菌通用引物(F: 5'-AGAGTTTG-ATCCTGGCTCAG-3'; R: 5'-GGTTACCTTG-TTACGACTT-3')进行 PCR 扩增所筛菌株 16S rRNA 基因。扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序,并将测序结果在 NCBI 中进行 Blast 对比分析。

1.3 体外筛选抑菌能力强、益生功能优、抗逆性能好的乳酸杆菌候选菌株

1.3.1 抑菌试验 用于抑菌试验的指示菌为鼠伤寒沙门菌(CP112994.1 菌株)及鸡伤寒沙门菌(CICC 21510 菌株)。将沙门菌活化并稀释至 10^8 CFU·mL⁻¹ 均匀涂布于 LB 固体平板上,使用 6 mm 打孔器打孔后加入 100 μL 分离菌株菌液,置 37 °C 恒温静置培养 6 h,测量抑菌圈直径,平行重复 3 次。

1.3.2 抑菌曲线及产酸曲线检测 将所筛菌株接种于 MRS 培养基,37 °C 180 r·min⁻¹ 振荡培养 20 h,每 2 h 测定菌液 pH 值并绘制产酸曲线。从 4 h

起菌液取样进行打孔法抑菌试验,测量抑菌圈直径并绘制抑菌曲线,平行重复 3 次。

1.3.3 菌液不同组分的抑菌性能探究 将所筛菌株接种于 MRS 培养基,37 °C 180 r·min⁻¹ 振荡培养 16 h,3 500 r·min⁻¹ 10 min 离心并经 0.22 μm 滤膜过滤,获得无菌上清液。离心所得菌体,用 PBS 缓冲液洗涤两次,再加入 PBS 缓冲液调整为原浓度。将无菌上清液、菌体和发酵液进行打孔法抑菌试验,测量抑菌圈直径,平行重复 3 次。将发酵液 pH 值经浓 HCl 和 NaOH 调为 3.80 后再进行打孔法抑菌试验,测量抑菌圈直径,平行重复 3 次。

1.3.4 无菌上清液不同浓度对沙门菌生长的影响 将所筛菌株无菌上清液,分别以 0.05、0.10、0.15、0.20 的体积比例加入 LB 培养基中,再将沙门菌活化菌液 1% 接种于其中,37 °C 180 r·min⁻¹ 振荡培养 24 h 后测 OD_{600 nm} 值记为 A_t,设置 LB 培养基作为对照测 OD_{600 nm} 值记为 A₀,平行重复三次并根据以下公式计算抑菌率:

$$\text{Antibacterial index (\%)} = (A_t/A_0) \times 100\%$$

1.3.5 自凝集能力和与沙门菌共聚集能力检测 将所筛菌株发酵液 3 000 r·min⁻¹ 10 min 离心弃上清,加入 PBS 缓冲液洗涤 2 次并调节菌液 OD_{600 nm} 值为 0.8,记为 A₀。吸取 4 mL 菌液,混匀后在 37 °C 静置培养 3 h,吸取上层菌液 1 mL 测定 OD_{600 nm} 值,记为 A_t。平行重复三次并根据以下公式计算菌株自凝集率:

$$\text{Auto-aggregation (\%)} = (1 - A_t/A_0) \times 100\%$$

沙门菌菌液同样洗涤并调节 OD_{600 nm} 值为 0.8,记为 A_y。吸取 2 mL 候选菌株菌液和 2 mL 致病细菌液,混匀后在 37 °C 静置培养 3 h,吸取上层菌液 1 mL 测定 OD_{600 nm} 值,记为 A_m。平行重复三次并根据以下公式计算菌株与沙门菌共聚集率:

$$\text{Co-aggregation (\%)} = [1 - A_m/(A_0 + A_y)/2] \times 100\%$$

1.3.6 产酶试验 使用 6 mm 打孔器在产酶鉴别培养基上打孔,并吸取 100 μL 发酵液于孔中,37 °C 静置培养 48 h 后测量并记录透明圈直径。向淀粉酶鉴别培养基滴加 2 mL 碘液,染色 10 min 测量透明圈直径。

1.3.7 耐酸试验 将菌液 10% 接种于 pH=3.00 的 MRS 培养基中,37 °C 2 h 后倍比稀释后涂板,48 h 后计数平板菌落数(C₁),对照组为 MRS 培养基计数平板菌落数(C₀)。平行重复三次并依据以下公式计算存活率:

$$\text{存活率}(\%) = C_1 / C_0 \times 100\%$$

1.4 动物试验验证候选菌株的功能

1.4.1 益生菌悬液和标准致病性鸡沙门菌悬液的制备 益生菌菌液 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 15 min 离心弃上清,加入等体积 0.75% 生理盐水混匀备用($1 \times 10^9\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$)。鸡伤寒沙门菌(CICC 21510 菌株)1% 接种于 NA 培养基, $37\text{ }^\circ\text{C}$ $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 12 h, $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 15 min 离心弃上清,加入 0.75% 生理盐水调节菌液浓度约为 $1 \times 10^{10}\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.4.2 试验动物处理 选择 1 日龄 AA 肉鸡

(公)作为试验动物,随机分为益生菌移植组和生理盐水对照组。益生菌移植组中,每只鸡每天灌胃 1 mL 益生菌悬液($1 \times 10^9\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$),对照组雏鸡每日灌胃 1 mL 0.75% 生理盐水,连续灌胃 28 d,在 30 日龄随机选择两组各 12 个个体进行解剖取材。为了进一步探讨益生菌移植是否对鸡沙门菌感染有拮抗作用,每组选择 12 只体重相近的个体继续饲喂至 42 d,灌胃 1 mL 鸡伤寒沙门菌(CICC 21510 菌株)悬液($1 \times 10^{10}\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$),并在 46 d 取材(图 1)。试验动物在相同的环境条件下进行饲养,自由采食和饮水。

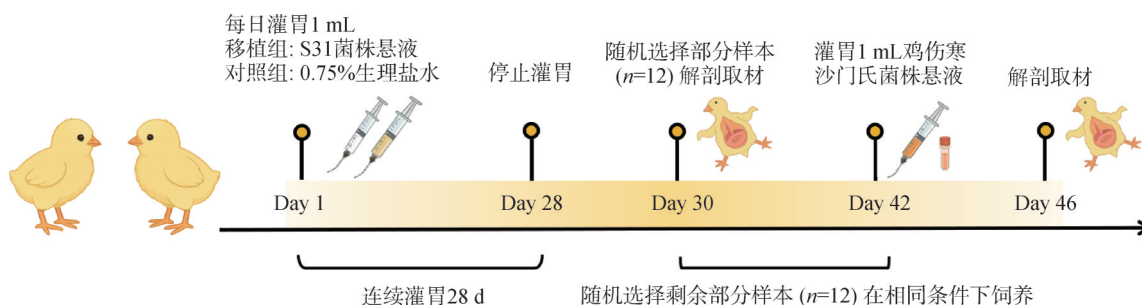


图 1 动物试验设计流程图

Fig. 1 Animal experiment design flowchart

1.4.3 样品采集 禁食 12 h 后,颈动脉放血处死动物。采集空肠内容物于 1.5 mL 无菌离心管中,液氮速冻后转移至 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱,用于肠道菌群测序。对胸肌和腿肌重量,空肠和回肠长度进行测量后,在每个个体的相同部位采集肝脏、脾脏、空肠和回肠组织,一部分置于 4% 多聚甲醛溶液中进行固定保存,一部分保存于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱。

1.4.4 空肠菌群 16S rRNA 基因测序 将空肠内容物送至上海美吉生物医药科技有限公司检测与分析。使用 Fast DNA SPIN 提取试剂盒提取总细菌基因组 DNA,使用细菌 16S rRNA 特异性 Barcode 序列的正向引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和反向引物 806R (5'-GGACTACHVGGG TWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增,利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒进行产物纯化。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库。数据通过 fastp 质控、FLASH 拼接后,使用 UPARSE 软件以 97% 相似度进行 OTU 聚类并去除嵌合体;通过 RDP classifier 结合 Silva 数据库(阈值 70%)完成物种注释。采用 QIIME 计算 α 多样性指数(Chao1 与 Shannon 指数),并通过 PCoA 分析群落结构差异,结合 ANOSIM 检

验显著性。

1.4.5 肠道组织形态 取空肠及回肠组织制作石蜡切片,并进行苏木素-伊红染色(HE 染色)。在 10×4 倍下进行显微镜摄影,每张切片随机选取 3 个视野采集图片,并采用 Image J 对图片中的肠绒毛长度及隐窝深度进行测量。空肠杯状细胞检测:取空肠组织制作石蜡切片,并进行过碘酸雪夫染色(PAS 染色)。在 10×40 倍下进行显微镜摄影,每张切片随机选取 5 个视野采集图片,并采用 Image Pro Plus 6.0 统计每张图片杯状细胞数量。

1.4.6 组织中沙门菌载量测定 取回肠、肝脏和脾脏组织使用 DNA 提取试剂盒提取总 DNA,根据鸡伤寒沙门菌特异性引物 glgC (F: 5'-AGA-GTTTGATCCTGGCTCAG-3'; R: 5'-GGTTA-CCTTGTTACGACTT-3') 进行荧光定量 PCR 反应,每个试验数据做 3 次技术重复。以 $10^2 \sim 10^6\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 鸡伤寒沙门菌菌液为模板,建立标准曲线。

1.4.7 回肠炎症通路相关基因转录检测 取回肠组织使用 RNAiso Plus 提取总 RNA,使用反转录试剂盒(RR036A)将 RNA 逆转录合成 cDNA,使用荧光定量 PCR 试剂盒(RR820A)进行实时荧光定

量,以鸡的 β -actin为内参,运用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算 mRNA 的相对转录水平,每个试验数据做 3 次技术重复。

引物由上海生工生物工程有限公司合成,具体的引物序列如表 1 所示。

表 1 荧光定量 PCR 分析基因和引物序列表

Table 1 List of genes and primer sequence for quantitative real-time PCR analysis

基因 Genes	引物序列(5'→3') Primer sequences	参考序列 Accession No.
β -actin	F: GTGGATCAGCAAGCAGGAGT R: ATCCTGAGTCAAGCGCCAAA	NM_205518. 1
TLR-4	F: TGACCTACCCATCGGACACT R: CTCAGGGCATCAAGGTCTCC	NM_001030693. 2
MyD88	F: GAGGGATGATCCGTATGGGC R: ACACGTTCTGGAAGACAT	NM_001030962. 5
AP-1	F: CTACGAGGATGCCCTGAACG R: ATGTCGGCGTTCTTGTTCCT	NM_001031289. 2
IL-1 β	F: ACCTACAAGCTAAGTGGGCG R: ATACCTCCACCCCGACAAGG	NM_204524. 1
IL-6	F: CTCCTCGCCAATCTGAAGTC R: AGGCACTGAAACTCCTGGTCT	NM_204628. 2
IL-12	F: ATTACTTTTCCTTTGCTGCCCTTC R: CTGGTGTCTCATCGTTCCACTC	NM_213571. 1

1.5 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.5 软件对数据进行统计分析并作图。定量数据以平均数±标准误(Mean±SEM)表示,两组数据间进行 t 检验分析(Student's t test),三组及三组以上数据使用单因素方差分析(one-way ANOVA)评价各组间的统计学意义。显著性标准为,ns. $P>0.05$,表示差异无显著性;*. $P<0.05$,表示差异显著;**. $P<0.01$;***. $P<0.001$;****. $P<0.0001$ 均表示差异极显著。

2 结果

2.1 27株乳酸杆菌菌株的分离与鉴定

在 MRS 培养基上,所筛菌株的菌落特征如下:圆形,凸起,乳白色或透明,湿润,边缘整齐,直径为 1~2 mm(图 2A)。革兰染色阳性,呈球杆状或长杆状(图 2B)。其中 S1、S2、S6 和 S20 因生长性能较弱或 PCR 扩增产物检测不合格而淘汰,剩余 36 株经 1492R/27F 引物 PCR 扩增其 16S rRNA 基因序列,琼脂糖凝胶电泳观察其产物片段长度约为 1 500 bp,符合预期(图 2C)。测序比较并排除重复菌株后共鉴定 27 株乳酸杆菌,包括 11 株罗伊氏黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus reuteri*)、13 株唾液联合乳杆菌(*Ligilactobacillus salivarius*)、2 株约氏乳杆菌(*Lactobacillus johnsonii*)和 1 株格氏乳杆菌

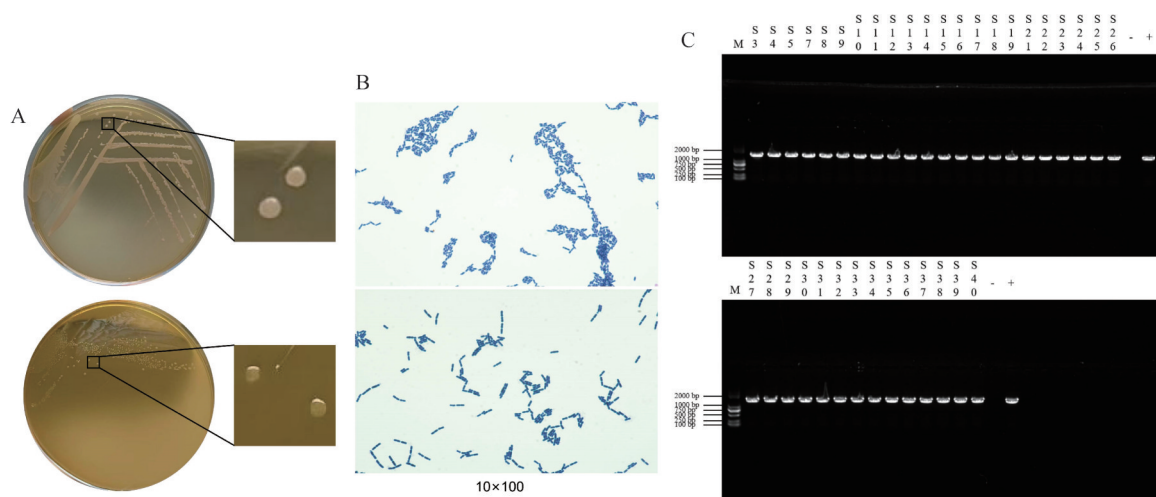
(*Lactobacillus gasseri*)。

2.2 唾液联合乳酸杆菌 S23 和 S31 菌株抗鼠伤寒沙门菌能力较强

为了筛选抗鼠伤寒沙门菌的候选菌株,将 27 株乳酸杆菌菌株分别与鼠伤寒沙门菌菌株共培养。结果显示,有 18 株可抑制鼠伤寒沙门菌(图 3A)(直径 >10 mm)。对抑菌圈直径进行排序发现,唾液联合乳杆菌 S31(13.43 mm±0.38 mm)和 S23(12.97 mm±0.35 mm)的抑菌效果较好,且 S31 菌株抗鼠伤寒沙门菌能力显著大于 S16、S14、S35、S17、S5、S28、S18 和 S10 等 8 株乳酸杆菌菌株(图 3B)。

2.3 唾液联合乳杆菌 S23 和 S31 菌株抗鸡伤寒沙门菌能力较强

为了筛选抗鸡伤寒沙门菌的候选菌株,将 27 株乳酸杆菌菌株分别与鸡伤寒沙门菌菌株共培养。结果显示,有 20 株可抑制鼠伤寒沙门菌(图 4A)(直径 >10 mm)。对抑菌圈直径比较发现,唾液联合乳杆菌 S21(15.53 mm±0.87 mm)、S31(15.30 mm±0.79 mm)、S24(15.13 mm±0.54 mm)和 S23(15.08 mm±1.22 mm)的抑菌效果较好,且 S31 菌株抗鸡伤寒沙门菌能力显著大于 S17、S3、S9、S37、S7、S19、S13、S14、S35、S28、S10、S16 和 S18 等 13 株乳酸杆菌菌株(图 4B)。

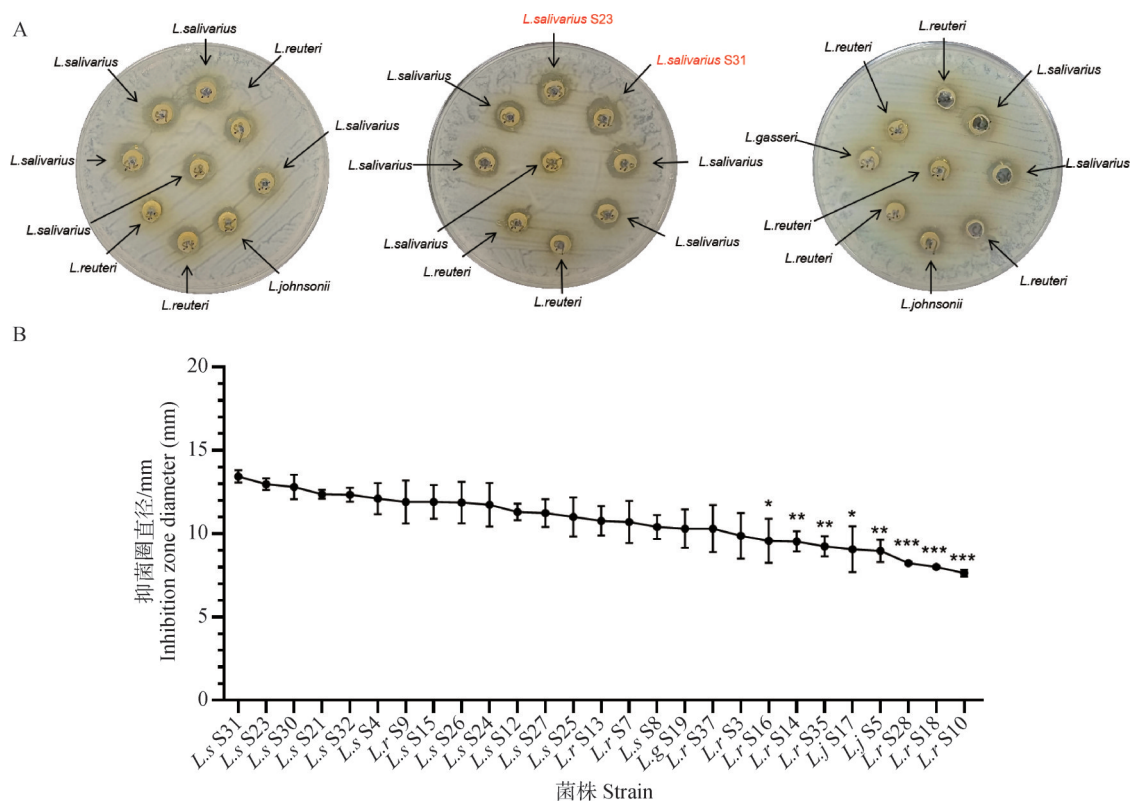


A. 所筛乳酸杆菌的菌落形态; B. 所筛乳酸杆菌的菌体特征; C. PCR 扩增结果 (M. 2000 bp DNA 相对分子质量标准; S3-S40. 所筛菌株扩增产物; - . 阴性对照; + . 阳性对照)

A. Colony morphology of the screened *Lactobacillus*; B. Cell characteristics of the screened *Lactobacillus*; C. PCR amplification result (M. 2000 bp DNA marker; S3-S40. Amplification products of the screened strains; - . Negative control; + . Positive control)

图2 所筛乳酸杆菌的菌落、菌体形态和 16S rRNA 基因 PCR 扩增结果

Fig. 2 The colony, cell morphology and 16S rRNA gene PCR amplification results of the screened *Lactobacillus*

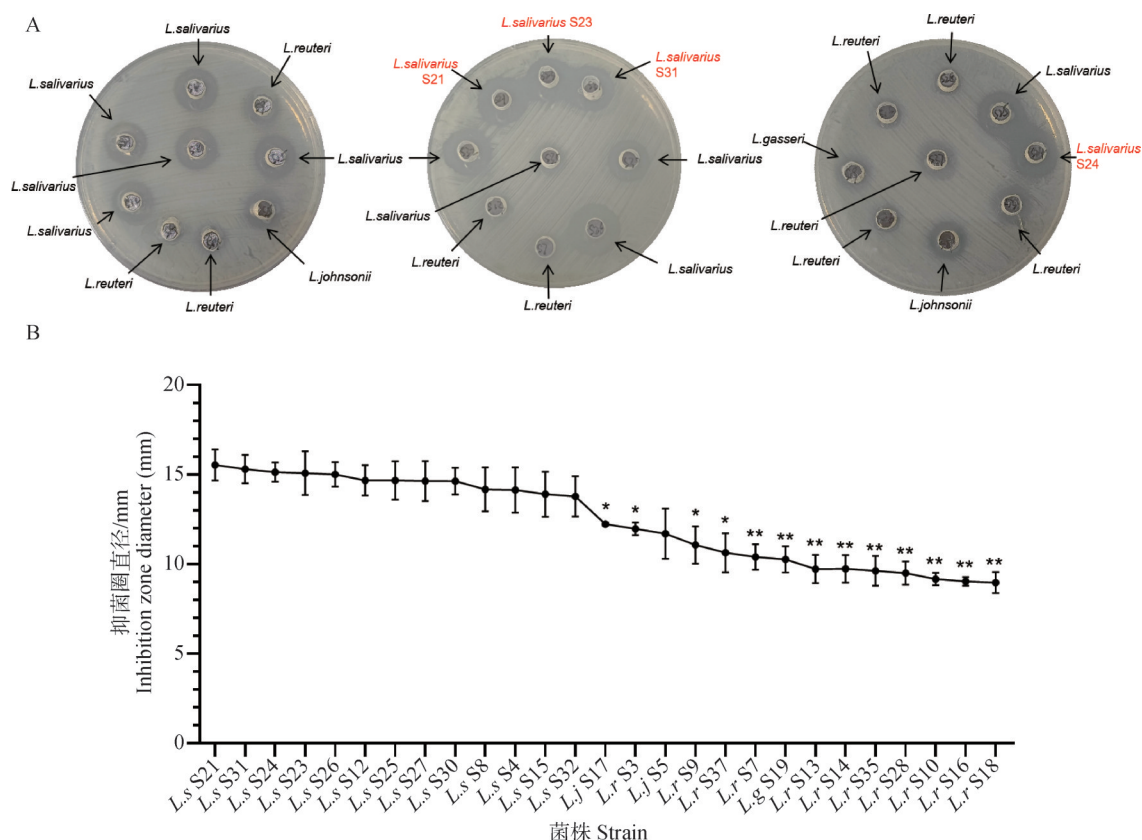


A. 所筛菌株抑鼠伤寒沙门菌平板图; B. 所筛菌株抑鼠伤寒沙门菌抑菌圈直径排序。显著性标准: *. $P < 0.05$, 表示差异显著; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$ 均表示差异极显著

A. Plate pictures of the screened strain against *Salmonella* Typhimurium; B. The order of the diameters of the inhibition zones of the screened strains against *Salmonella* Typhimurium. The criteria for statistical significance are defined as follows: *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$

图3 所筛菌株抑鼠伤寒沙门菌能力检测

Fig. 3 Detection of inhibitory ability of screened strains of *Salmonella* Typhimurium



A. 所筛菌株抑鸡伤寒沙门菌平板图; B. 所筛菌株抑鸡伤寒沙门菌抑菌圈直径排序。显著性标准: *. $P < 0.05$, 表示差异显著; **. $P < 0.01$, 表示差异极显著

A. Plate pictures of the screened strain against *Salmonella Gallinarum*; B. The order of the diameters of the inhibition zones of the screened strains against *Salmonella Gallinarum*. The criteria for statistical significance are defined as follows: *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$

图4 所筛菌株抑鸡伤寒沙门菌能力检测

Fig. 4 Detection of inhibitory ability of screened strains of *Salmonella Gallinarum*

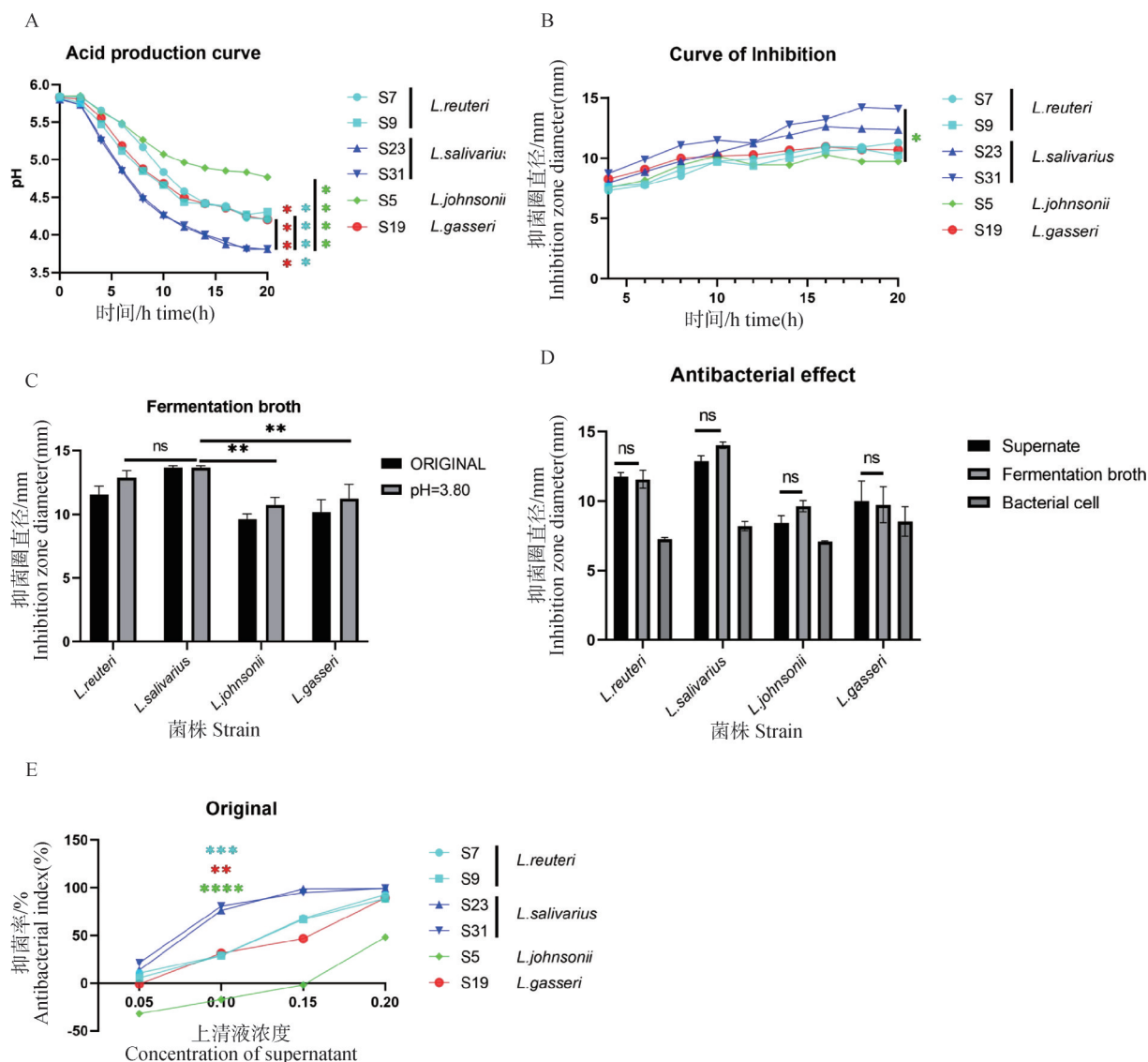
2.4 唾液联合乳杆菌 S23 和 S31 通过产酸和抑菌物质发挥抑菌功能

为了探究唾液联合乳杆菌是否通过产酸和抑菌物质发挥抑菌功能,测定不同时间点菌液 pH 值与抑菌效果的关系,以及 pH 值相同时抑菌效果差异,同时比较了菌液和无菌上清液的抑菌效果差异。结果显示,不同种属乳酸杆菌菌液 pH 值随培养时间延长持续降低,其中唾液联合乳杆菌 S31 和 S23 菌液 pH 值达最低 3.80,并与其他种属乳酸杆菌菌液 pH 值有显著差异 ($P < 0.0001$) (图 5A),且抑菌圈直径随培养时间增加而增大,其中唾液联合乳杆菌 S31 菌株的抑菌能力较强,与约氏乳杆菌 S5 的抑菌圈直径大小有显著差异 ($P < 0.05$) (图 5B)。将不同种属乳酸杆菌的菌液 pH 均调为 3.80 时,唾液联合乳杆菌的抑菌圈直径显著大于约氏乳杆菌和格

氏乳杆菌抑菌圈 ($P < 0.01$) (图 5C),提示唾液联合乳杆菌除了产酸外,可能还产生抑菌物质。进一步研究发现,无菌上清液与菌液的抑菌能力无显著差异 ($P > 0.05$) (图 5D),且抑菌能力随着无菌上清液浓度的增加而提升,其中唾液联合乳杆菌 S23 和 S31 在低浓度 ($c=0.10$) 时抑菌性能显著优于其他种属菌株 (与罗伊氏黏液乳杆菌相比, $P < 0.001$; 与格氏乳杆菌相比, $P < 0.01$; 与约氏乳杆菌相比, $P < 0.0001$) (图 5E)。以上研究提示,唾液联合乳杆菌 S23 和 S31 具有较强的抑菌能力,且主要通过产酸和抑菌物质发挥抑菌功能。

2.5 唾液联合乳杆菌 S31 菌株具有较强体外益生特性

为了探究唾液联合乳杆菌 S23 和 S31 的益生功能,测试产酶能力、抗逆性能和凝集能力。结果显



A. 产酸曲线; B. 抑菌曲线; C. pH调整前后不同种属菌株抑菌效果的比较; D. 不同种属乳酸杆菌菌株培养液不同组分的抑菌效果; E. 不同种属乳酸杆菌菌株无菌上清液不同浓度的抑菌率。显著性标准: ns. $P > 0.05$, 表示差异无显著性; *. $P < 0.05$, 表示差异显著; **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$, ****. $P < 0.0001$ 均表示差异极显著

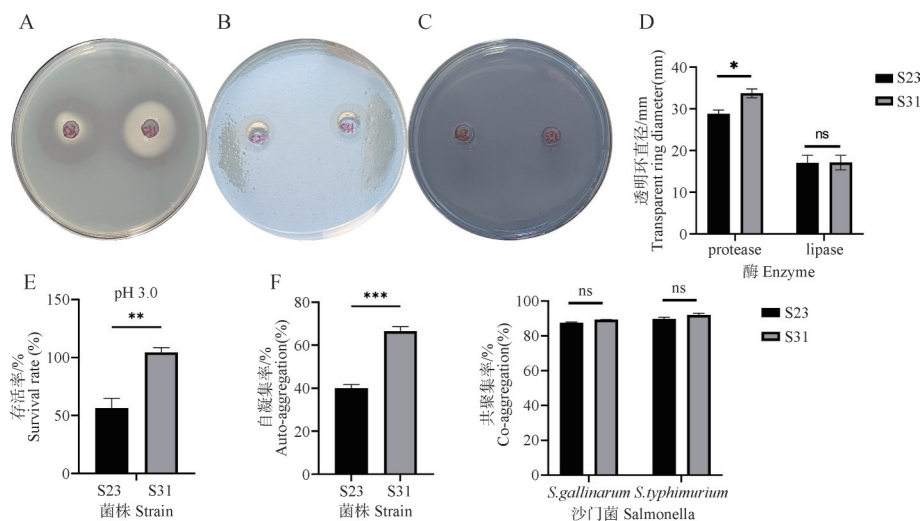
A. Acid production curve; B. Antibacterial curve; C. Comparison of the antibacterial effects of different species of strains before and after pH adjustment; D. The antibacterial effects of different components in the culture medium of different species *Lactobacillus* strains; E. The antibacterial rates of different concentrations of sterile supernatants from different species *Lactobacillus* strains. The criteria for statistical significance are defined as follows: ns (not significant). $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$; ****. $P < 0.0001$

图5 唾液联合乳杆菌通过产酸和抑菌物质抑制沙门菌生长

Fig. 5 *Ligilactobacillus salivarius* inhibits the growth of *Salmonella* by producing acid and antibacterial substances

示,唾液联合乳杆菌 S31 和 S23 菌株均具有产蛋白酶(图 6A)和脂肪酶(图 6B)能力,不具有产淀粉酶能力(图 6C)。其中菌株 S31 产蛋白酶直径达到 30 mm 以上,显著优于 S23 ($P < 0.05$) (图 6D)。经 pH 3.0 MRS 培养基处理 2 h 后,唾液联合乳杆菌 S31 菌株的存活率显著高于 S23 菌株 ($P < 0.01$) (图 6E)。唾液

联合乳杆菌 S31 的自凝集能力显著大于 S23 ($P < 0.001$),两株菌对鸡伤寒沙门菌和鼠伤寒沙门菌的共聚集能力均大于 80%,两株无显著差异 ($P > 0.05$) (图 6F)。以上研究结果表明,唾液联合乳杆菌 S31 菌株具有较强益生功能和胃肠道适应性。



A. 蛋白酶鉴定平板图; B. 脂肪酶鉴定平板图; C. 淀粉酶鉴定平板图; D. 候选菌株产酶能力比较; E. 候选菌株耐酸性能检测; F. 候选菌株自凝集能力和与沙门菌共聚集能力检测。显著性标准: ns. $P > 0.05$, 表示差异无显著性; *. $P < 0.05$, 表示差异显著; **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$ 均表示差异极显著

A. Plate picture for protease identification; B. Plate picture for lipase identification; C. Plate picture for amylase identification; D. Comparison of enzyme-producing capabilities of candidate strains; E. Detection of acid resistance performance of candidate strains; F. Detection of the self-agglutination ability and co-aggregation ability with *Salmonella* of candidate strains. The criteria for statistical significance are defined as follows: ns (not significant). $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$

图6 唾液联合乳杆菌 S23、S31 菌株的益生特性检测

Fig. 6 Detection of the probiotic characteristics of *Ligilactobacillus salivarius* S23 and S31 strains

2.6 唾液联合乳杆菌 S31 移植可显著改善鸡生长性能

为进一步探究唾液联合乳杆菌 S31 菌株是否能在体内发挥益生作用, 进行菌株移植试验。结果显示, 唾液联合乳杆菌 S31 菌株移植组的鸡体重 ($P < 0.0001$)、胸肌重 ($P < 0.01$)、腿肌重 ($P < 0.001$) (图 7A)、空肠肠绒毛高度 (图 7B) 和杯状细胞数量 (图 7C) 均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。唾液联合乳杆菌 S31 菌株移植组鸡空肠菌群群落结构与对照组存在显著差异 (图 7D)。进一步分析发现, 唾液联合乳杆菌 S31 菌株移植组空肠乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 的相对丰度高于对照组 (85.74% vs 64.50%) (图 7E), 且与鸡的体重、腿肌重以及胸肌重均显著正相关 (图 7F)。以上研究表明, 唾液联合乳杆菌菌株 S31 移植改变空肠菌群的组成结构, 促进肠道乳酸杆菌增殖以提升鸡的生长性能。

2.7 唾液联合乳杆菌 S31 菌株移植可显著增强对沙门菌的抑制能力

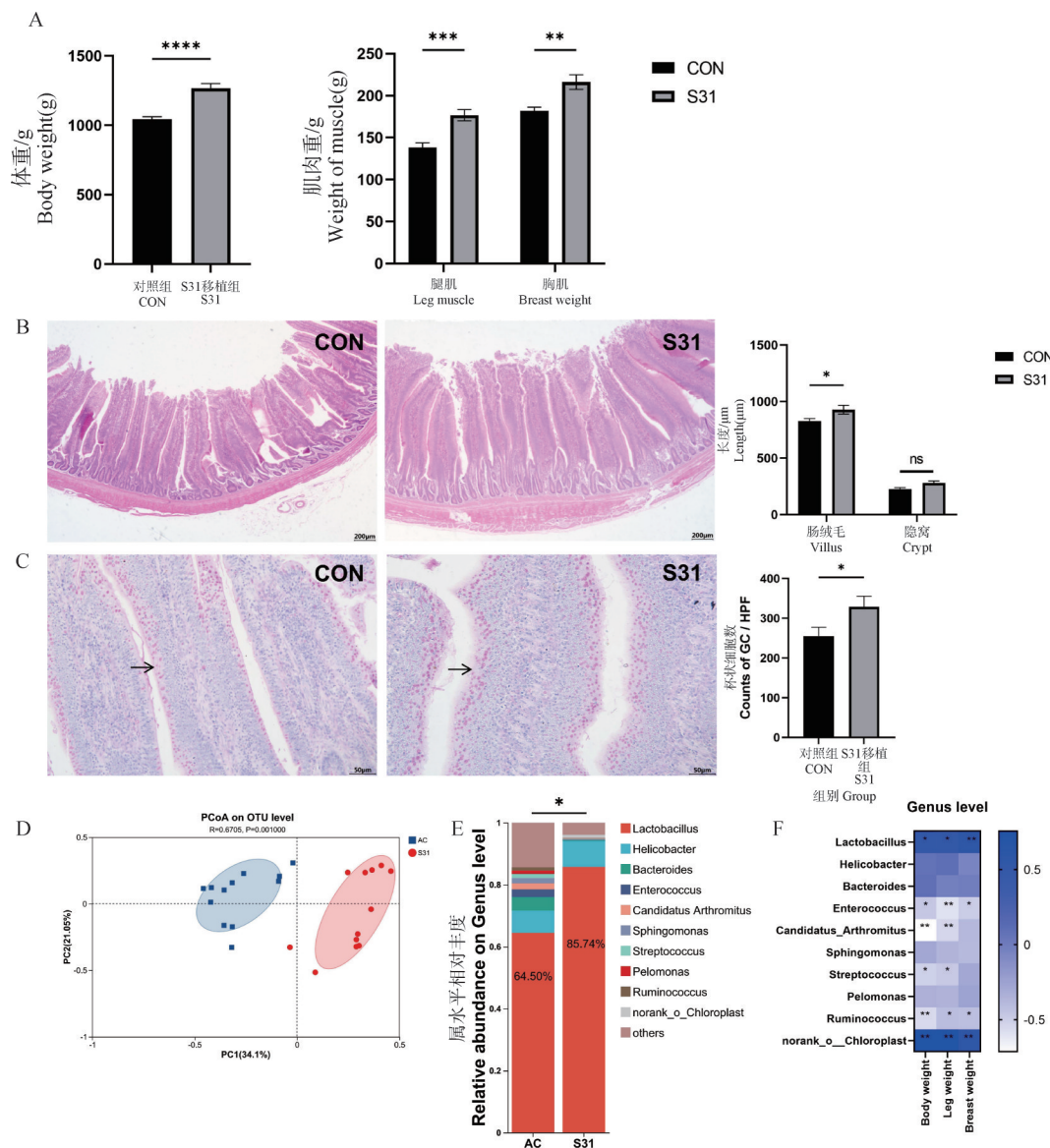
为了探究唾液联合乳杆菌 S31 菌株对沙门菌感染的抵抗效果, 从对照组和 S31 菌株移植组分别选取体重相近的鸡进行沙门菌感染试验。结果显示,

S31 菌株移植组的症状较轻, 体重显著大于对照组 ($P < 0.05$) (图 8A), 脾脏中沙门菌载量显著降低 ($P < 0.05$) (图 8B), 空肠和回肠结构较完整, 肠绒毛长 ($P < 0.05$)、隐窝深且腺体多 (图 8C), 回肠中 TLR-4 信号通路相关基因的转录水平 ($P < 0.01$) (图 8D) 和促炎因子 *IL-1 β* 、*IL-6* 和 *IL-12* 的转录水平 ($P < 0.05$) (图 8E) 均显著低于对照组。以上研究结果表明, 唾液联合乳酸杆菌 S31 菌株可通过抑制肠道炎症相关基因及促炎因子表达, 有效缓解沙门菌感染引发的肠道组织损伤, 维持肠道结构完整性。

3 讨论

3.1 乳酸杆菌可有效抑制沙门菌并具有种属特异性

乳酸杆菌作为鸡小肠的优势菌属, 种类多样, 常见种类有嗜酸乳杆菌、干酪乳酪杆菌、副干酪乳酪杆菌、鼠李糖乳酪杆菌、植物乳植杆菌、唾液联合乳杆菌、发酵黏液乳杆菌、罗伊氏黏液乳杆菌以及德氏乳杆菌保加利亚亚种等菌种^[13-14]。本研究采用 MRS 培养基从鸡空肠内容物中分离了 27 株乳酸杆

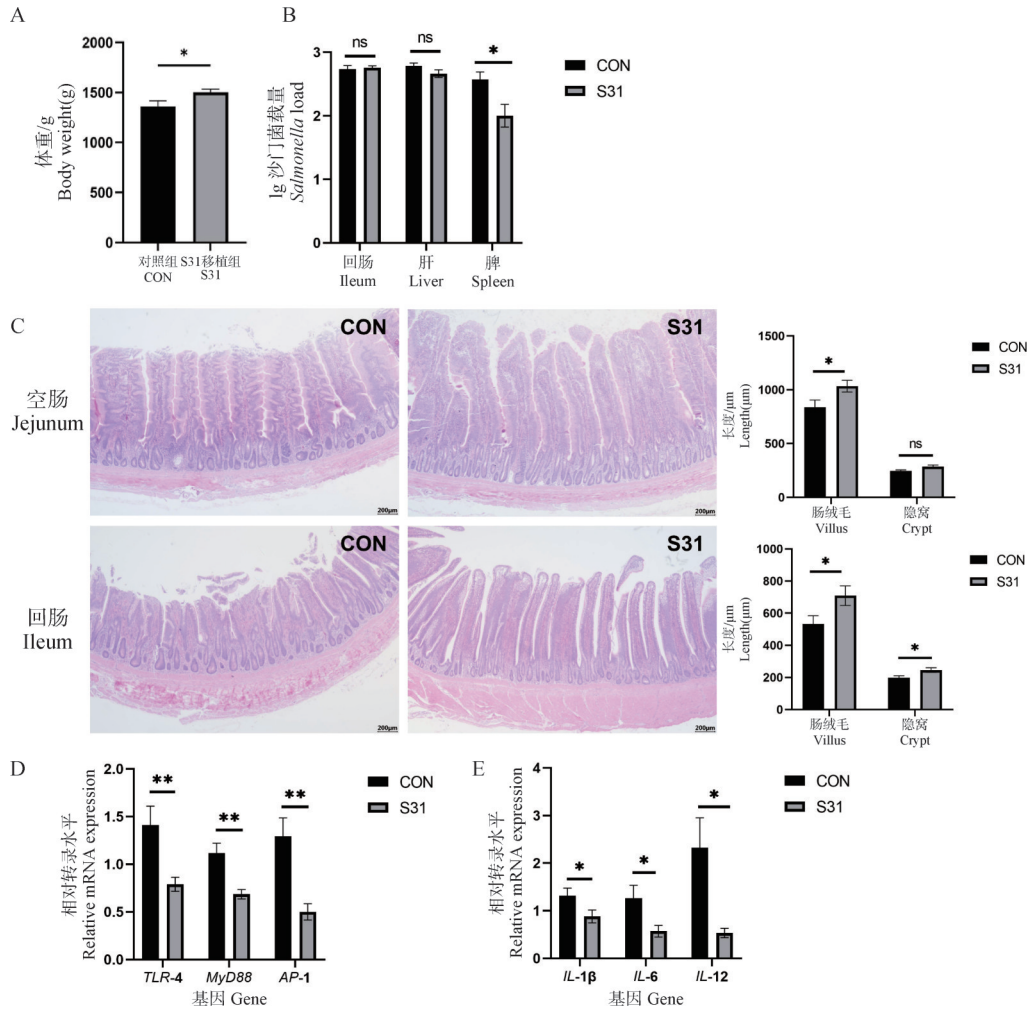


A. 唾液联合乳杆菌 S31 移植对鸡生长性能的影响; B. S31 处理组和空白对照组鸡空肠组织苏木精-伊红染色结果及肠绒毛长度和隐窝深度比较(4×10); C. S31 处理组和空白对照组鸡空肠杯状细胞数量比较(40×10); D. S31 处理组和空白对照组空肠菌群群落结构差异; E. S31 处理组和空白对照组鸡空肠属水平菌群组成和相对丰度比较; F. 属水平上空肠菌群与表型的相关分析。CON. 空白对照组; S31. S31 处理组。显著性标准: ns. $P > 0.05$, 表示差异无显著性; *, $P < 0.05$, 表示差异显著; **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$, ****, $P < 0.0001$ 均表示差异极显著

A. The effect of *Ligilactobacillus salivarius* S31 transplantation on the growth performance of chickens; B. Comparison of Hematoxylin-eosin staining results and length of intestinal villi and depth of crypts in chicken jejunum tissues between S31-treated group and blank control group (4×10); C. Comparison of the number of cupular cells in chicken jejunum between S31-treated group and blank control group (40×10); D. Differences in the community structure of jejunal flora between the S31 treatment group and the blank control group; E. Comparison of the composition and relative abundance of the horizontal flora of jejunum in chickens between the S31 treatment group and the blank control group; F. Correlation analysis of jejunal microbiota and phenotype at the genus level. CON. Control group; S31. *Lactobacillus* strain S31 treatment group. The criteria for statistical significance are defined as follows: ns (not significant). $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$

图 7 唾液联合乳杆菌 S31 移植可促进鸡生长发育

Fig. 7 The transplantation of *Ligilactobacillus salivarius* S31 can promote the growth and development of chickens



A. 唾液联合乳杆菌 S31 移植对鸡体重的影响; B. S31 处理组和空白对照组鸡回肠、肝和脾沙门菌载量的比较; C. S31 处理组和空白对照组鸡感染后空肠和回肠组织苏木精-伊红染色结果及分析(4×10); D. S31 处理组和空白对照组 *TLR-4* 通路转录的比较; E. S31 处理组和空白对照组促炎因子转录的比较。CON. 空白对照组; S31. S31 处理组。显著性标准: ns. $P > 0.05$, 表示差异无显著性; *. $P < 0.05$, 表示差异显著; **. $P < 0.01$, 表示差异极显著

A. The effect of *Ligilactobacillus salivarius* S31 transplanted on the body weight of chickens; B. Comparison of *Salmonella* load in the ileum, liver and spleen of chickens in the S31 treatment group and the blank control group; C. Comparison of hematoxylin-eosin staining results of the jejunum and ileum after virus challenge between the S31 treatment group and the blank control group, as well as the length of intestinal villi and the depth of recess (4×10); D. Comparison of *TLR-4* pathway transcription between the S31 treatment group and the blank control group; E. Comparison of pro-inflammatory factor transcription between the S31 treatment group and the blank control group. CON. Control group; S31. *Lactobacillus* strain S31 treatment group. The criteria for statistical significance are defined as follows: ns (not significant). $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$

图 8 唾液联合乳杆菌 S31 移植可抑制鸡沙门菌感染

Fig. 8 *Ligilactobacillus salivarius* S31 transplanted can inhibit *Salmonella* infection in chickens

菌并通过 16S rRNA 进行了详细分类,它们分别属于罗伊氏黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus reuteri*)、唾液联合乳杆菌(*Ligilactobacillus salivarius*)、约氏乳杆菌(*Lactobacillus johnsonii*)和格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)这 4 个种。为进一步丰富鸡

肠道乳酸杆菌菌种资源,需要进一步优化分离培养条件或使用先进分离技术^[15-16]。乳酸杆菌对促进消化吸收、抑制有害菌生长及维持肠道微环境平衡方面发挥重要作用^[17-18]。研究表明唾液联合乳杆菌 XP132、UO. C109 和 UO. C121 对禽沙门菌生物膜

的形成具有较强的抑制效果^[19-20]。另有研究发现,不同乳酸杆菌菌株对沙门菌的抑制能力存在显著差异^[21]。本研究发现,唾液联合乳杆菌菌株对沙门菌的抑制效果尤为突出,而罗伊氏黏液乳杆菌、约氏乳杆菌和格氏乳杆菌菌株抑制效果相对较弱。以上研究结果表明,不同种属乳酸杆菌对沙门菌的抑制能力存在差异。

3.2 唾液联合乳杆菌通过多种方式抗沙门菌感染

唾液联合乳酸杆菌作为一种广泛存在于动物口腔及消化道的益生菌,可能通过直接和间接方式抑制沙门菌感染^[22]。第一,通过产酸抑制沙门菌感染。有研究表明,唾液联合乳杆菌具有较强的产酸能力,可产生乳酸及短链脂肪酸等,破坏致病菌细胞膜结构、影响其代谢活动,从而直接抑制病原菌的生长^[23-24]。本研究发现,唾液联合乳杆菌的产酸能力优于其它种属的乳酸杆菌,提示唾液联合乳杆菌可通过产酸直接抑制沙门菌感染。第二,通过产生其它抑菌物质抗沙门菌感染。有研究表明,唾液联合乳杆菌分泌的细菌素可破坏细胞膜结构或进入胞内扰乱正常代谢,发挥直接抑菌作用^[25]。唾液联合乳杆菌也可通过上调肠道紧密连接蛋白基因表达,增强黏膜屏障,减少沙门菌的感染^[26]。为了探究唾液联合乳杆菌是否可产生其它抑菌物质直接抑制沙门菌感染,本研究将其它种属菌株菌液 pH 值调至与唾液联合乳杆菌一致时,其抑菌能力虽有提升,但仍不及唾液联合乳杆菌。表明唾液联合乳杆菌不仅可通过产酸抑制沙门菌感染,还可通过产生其它抑菌物质发挥抑菌功能,但具体是哪些抑菌物质还有待于进一步的研究。第三,唾液联合乳杆菌通过促进机体生长发育和肠道菌群平衡间接抑制沙门菌感染。有研究证实唾液联合乳杆菌能够产生多种消化酶,包括淀粉酶、蛋白酶、 β -半乳糖苷酶和胆汁盐水解酶等^[27-29],在促进碳水化合物、蛋白质、脂肪以及胆汁酸的分解代谢中发挥重要作用,进而促进肉鸡生长并提高其抗氧化水平,增强动物健康及免疫力^[30]。本研究发现唾液联合乳杆菌 S31 菌株具有产蛋白酶和脂肪酶能力,移植后促进肠道菌群平衡,改善肠道健康,促进肉鸡生长。在沙门菌感染时,可降低脾脏内的载菌量,降低 TLR-4 及其下游 MyD88、AP-1 信号分子及促炎因子 IL-1 β 、IL-6、IL-12 转录,说明唾液联合乳酸杆菌可通过维护鸡肠道健康间接抑制沙门菌感染。

4 结 论

从生长性能优良的桂山凰鸡空肠内容物中分离鉴定了 27 株乳酸杆菌。其中唾液联合乳杆菌 S31 菌株在体外可有效抑制鼠伤寒沙门菌和鸡伤寒沙门菌。唾液联合乳杆菌 S31 菌株移植时,可显著促进鸡生长发育,抵御鸡伤寒沙门菌感染,具有良好应用潜力。

参考文献(References):

- [1] 张彩兰. 禽沙门氏菌病流行现状与防控对策[J]. 福建畜牧兽医 2023,45(6):72-73.
ZHANG C L. Epidemic status and prevention and control strategies of avian salmonellosis [J]. *Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2023,45(06):72-73. (in Chinese)
- [2] 于明明,任志鹏,姜丽丹,等. 调理鸡肉中沙门氏菌污染状况调查及抗生素耐药监测[J]. 食品安全导刊, 2024(15):52-54,59.
YU M M, REN Z P, JIANG L D, et al. Investigation on the contamination status of *Salmonella* in prepared chicken and monitoring of antibiotic resistance [J]. *Food Safety Guide*, 2024(15):52-54,59. (in Chinese)
- [3] SUN T, LIU Y, QIN X, et al. The prevalence and epidemiology of *Salmonella* in retail raw poultry meat in China: A systematic review and meta-analysis [J]. *Foods*, 2021,10(11):2757.
- [4] PAINTER J A, HOEKSTRA R M, AYERS T, et al. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19(3):407-415.
- [5] SCHARFF R L. Food attribution and economic cost estimates for meat- and poultry-related illnesses [J]. *J Food Prot*, 2020,83(6):959-967.
- [6] EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA); EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). The European Union One Health 2023 Zoonoses report [J]. *EFSA J*, 2024,22(12):e9106.
- [7] FURTER M, SELLIN M E, HANSSON G C, et al. Mucus architecture and near-surface Swimming affect distinct *Salmonella* Typhimurium infection patterns along the murine intestinal tract [J]. *Cell Rep*, 2019,27(9):2665-2678.
- [8] FATTINGER S A, SELLIN M E, HARDT W D. *Salmonella* effector driven invasion of the gut epithelium: breaking in and setting the house on fire [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2021,64:9-18.

- [9] LU J, WU H, WU S, et al. *Salmonella*: Infection mechanism and control strategies [J]. *Microbiol Res*, 2025, 292: 128013.
- [10] VAN ZYL W F, DEANE S M, DICKS L M T. Molecular insights into probiotic mechanisms of action employed against intestinal pathogenic bacteria [J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1831339.
- [11] PESSIONE E. Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2012, 2: 86.
- [12] WANG Y, WU J, LV M, et al. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 612285.
- [13] ZHENG J, WITTOUCK S, SALVETTI E, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2020, 70(4): 2782-2858.
- [14] VIZOSO PINTO M G, FRANZ C M, SCHILLINGER U, et al. *Lactobacillus* spp. with *in vitro* probiotic properties from human faeces and traditional fermented products [J]. *Int J Food Microbiol*, 2006, 109(3): 205-214.
- [15] ZHAO Y, YU L, TIAN F, et al. An optimized culture medium to isolate *Lactobacillus fermentum* strains from the human intestinal tract [J]. *Food Funct*, 2021, 12(15): 6740-6754.
- [16] 李斌斌, 吴丹妮, 聂国兴, 等. 未/难培养微生物可培养策略研究: 机遇与挑战 [J]. *微生物学通报*, 2023, 50(2): 832-844.
- LI B B, WU D N, NIE G X, et al. Isolation and culture techniques of uncultured microorganisms: challenges and opportunities [J]. *Microbiology China*, 2023, 50(2): 832-844. (in Chinese)
- [17] LEMA I, ARAÚJO J R, ROLHION N, et al. Jejunum: The understudied meeting place of dietary lipids and the microbiota [J]. *Biochimie*, 2020, 178: 124-136.
- [18] HUANG R, WU F, ZHOU Q, et al. *Lactobacillus* and intestinal diseases: Mechanisms of action and clinical applications [J]. *Microbiol Res*, 2022, 260: 127019.
- [19] HE T, HU X, MI J, et al. *Ligilactobacillus salivarius* XP132 with antibacterial and immunomodulatory activities inhibits horizontal and vertical transmission of *Salmonella Pullorum* in chickens [J]. *Poult Sci*, 2024, 103(10): 104086.
- [20] MIRI S, HASSAN H, ESMAIL G A, et al. A two *Bacteriocinogenic Ligilactobacillus* strain association inhibits growth, adhesion, and invasion of *Salmonella* in a simulated chicken gut environment [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2024, 16(6): 2021-2038.
- [21] ZHAO M Z, MU Y J, SHI Z P, et al. Effects of different lactic acid bacteria on the physicochemical properties, functional characteristics and metabolic characteristics of fermented hawthorn juice [J]. *Food Chem*, 2025, 470: 142672.
- [22] KANG M S, LIM H S, OH J S, et al. Antimicrobial activity of *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus fermentum* against *Staphylococcus aureus* [J]. *Pathog Dis*, 2017, 75(2): 10.
- [23] WANG C, CHANG T, YANG H, et al. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Control*, 2015, 47: 231-236.
- [24] MAO Y, ZHANG X, XU Z. Identification of antibacterial substances of *Lactobacillus plantarum* DY-6 for bacteriostatic action [J]. *Food Sci Nutr*, 2020, 8(6): 2854-2863.
- [25] MESSAOUDI S, MANAI M, KERGOURLAY G, et al. *Lactobacillus salivarius*; bacteriocin and probiotic activity [J]. *Food Microbiol*, 2013, 36(2): 296-304.
- [26] LÉPINE A F P, DE WIT N, OOSTERINK E, et al. *Lactobacillus acidophilus* attenuates *Salmonella*-induced stress of epithelial cells by modulating tight-junction genes and cytokine responses [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1439.
- [27] ZHAI Q, SHEN X, CEN S, et al. Screening of *Lactobacillus salivarius* strains from the feces of Chinese populations and the evaluation of their effects against intestinal inflammation in mice [J]. *Food Funct*, 2020, 11(1): 221-235.
- [28] WANG Z, ZENG X, MO Y, et al. Identification and characterization of a bile salt hydrolase from *Lactobacillus salivarius* for development of novel alternatives to antibiotic growth promoters [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(24): 8795-8802.
- [29] CHOURADDI R, KUMAR S, KUMAR B, et al. Techno-functional characterization of fecal lactobacilli isolates of *Bos indicus* calves for probiotic properties [J]. *Vet Res Commun*, 2023, 47(3): 1285-1302.
- [30] YANG J, WANG J, LIU Z, et al. *Ligilactobacillus Salivarius* improve body growth and anti-oxidation capacity of broiler chickens via regulation of the microbiota-gut-brain axis [J]. *BMC Microbiol*, 2023, 23(1): 395.

(编辑 白永平)