网络出版时间:2026-01-09 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.07.003

丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡生产性能及肠道菌群的影响

李晓丽,丁美洁,何万领
(河南科技大学 动物科技学院,河南 洛阳 471023)

[摘 要] 【目的】研究丙酸杆菌(*Propionibacterium freudennreichii*)固态发酵物及替代$V_{B_{12}}$对蛋鸡生产性能、蛋品质、免疫指标及肠道菌群的影响。【方法】试验选取480只60周龄的罗曼灰蛋鸡,随机分成4个处理组,每组4个重复,每个重复30只。其中对照组(CK)饲喂基础饲粮,并补加化学品氰钴胺(cyanocobalamin,$V_{B_{12}}$)0.02 mg/kg,试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组在基础饲粮水平上分别添加0.07%,0.14%和0.21%的丙酸杆菌固态发酵物,对应腺苷钴胺(deoxyadenosylcobalamin)分别为0.01,0.02和0.03 mg/kg。试验期35 d,分别测定蛋鸡生产性能、蛋品质、免疫指标和肠道菌群指标。【结果】①蛋鸡基础饲粮添加丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡产蛋率、料蛋比、平均蛋质量、日均采食量和破软蛋率无显著影响($P>0.05$)。②与对照组相比,试验Ⅰ组和Ⅱ组哈氏单位显著增加($P<0.05$),试验各组蛋形指数、蛋壳强度、蛋白高度、蛋黄颜色、蛋壳颜色和蛋壳厚度均无显著变化($P>0.05$)。③与对照组相比,试验Ⅱ、Ⅲ组sIgA、IgM水平增加($P>0.05$),同时TNF-α和IFN-γ有所下降($P>0.05$)。④蛋鸡基础饲粮添加丙酸杆菌固态发酵物能够增加盲肠OTUs、Ace指数、Chao 1指数,在属水平上,能够促进拟杆菌属、乳酸杆菌属和瘤胃菌属丰度增加。【结论】综合考虑,本试验条件下丙酸杆菌固态发酵物及替代$V_{B_{12}}$不会对蛋鸡生产性能、蛋品质产生不利影响,且当添加水平为0.14%时可对蛋鸡哈氏单位、免疫指标和盲肠菌群产生有利影响。

[关键词] 丙酸杆菌;固态发酵物;蛋鸡;生产性能;肠道菌群
[中图分类号] S831.5 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)07-0020-07

Effects of *Propionibacterium freudenreichii* solid-state fermentation products on the production performance and gut microbiota of laying hens

LI Xiaoli, DING Meijie, HE Wanling
(*College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Hennan* 471023, *China*)

Abstract: 【Objective】 The study aims to investigate the effects of *Propionibacterium freudenreichii* solid-state fermentation products used as a substitute for $V_{B_{12}}$ on the production performance, egg quality, immune indicators, and gut microbiota of laying hens. 【Method】 A total of 480 sixty-week-old Roman grey laying hens were selected for the experiment and randomly divided into 4 groups, with 4 replicates per group and 30 chickens per replicate. The control group was fed the basic diet and supplemented with 0.02 mg/kg cyanocobalamin ($V_{B_{12}}$). The experimental groups Ⅰ, Ⅱ, and Ⅲ were added with 0.07%, 0.14%, and 0.21% solid-state fermentation products of *Propionibacterium lactis* on the basis of the basic diet, corresponding to 0.01, 0.02, and 0.03 mg/kg of deoxyadenocobalamin, respectively. During the 35-day experimental period, the production performance, egg

[收稿日期] 2025-03-28 [修回日期] 2025-05-27
[基金项目] 河南省青年科学基金项目(212300410136);河南岐伯实业有限公司重点研发项目(4025-22010074)
[作者简介] 李晓丽(1980—),女,河南漯河人,副教授,博士,主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail:lxlhwlhh@163.com

quality, immune indicators, and gut microbiota indicators of laying hens were measured separately.【Result】① Adding *Propionibacterium freudenreichii* solid-state fermentation products to laying hens' diet had no significant effect on the egg production rate, feed egg ratio, average egg weight, daily feed intake, and soft egg breakage rate ($P>0.05$). ② Compared with the control group, the Haugh units in experimental groups Ⅰ and Ⅱ were significantly increased ($P<0.05$), while the egg shape index, eggshell strength, protein height, yolk color, eggshell color, and eggshell thickness were not significantly affected ($P>0.05$). ③ Compared with the control group, the levels of sIgA and IgM increased in groups Ⅱ and Ⅲ ($P>0.05$), while TNF-α and IFN-γ decreased ($P>0.05$). ④ Adding solid-state fermentation products of *Propionibacterium freudenreichii* to laying hens' diet increased the OTUs, Ace index, and Chao 1 index of the cecum. At the genus level, it promoted an increase in the abundance of *Bacteroidetes*, *Lactobacillus*, and *Rumen bacteria*.【Conclusion】Comprehensively, under the conditions of this experiment, the solid-state fermentation product of *Propionibacterium freudenreichii* used as a substitute for $V_{B_{12}}$ did not show adverse effects on the production performance and egg quality of laying hens. When the addition level of the fermentation product was 0.14%, it had beneficial effects on the Haugh unit, immune indicators, and cecal microbiota.

Key words: *Propionibacterium freudenreichii*; solid-state fermentation products; laying hens; production performance; gut microbiota

在畜牧业全面"禁抗"的大环境下，抗生素替代品的开发与应用显得极为重要。丙酸杆菌（*Propionibacterium freudenreichii*）为革兰氏阳性厌氧菌[1]，广泛存在于乳制品、青贮饲料、动物肠道及腐败的橙汁和橄榄加工废水中，是一种多产物益生菌[2]。丙酸杆菌不但能产生维生素 B_{12}（$V_{B_{12}}$），而且代谢过程中会产生海藻糖、丙酸、细菌素等活性物质，对动物肠道健康具有保护作用[3]，在替代抗生素方面具有潜在优势。2012年美国食品药品监督管理局（FDA）对丙酸杆菌进行了GRAS（generally recognized as safe）认证，确定其为 $V_{B_{12}}$ 生产的模式菌株[4]。丙酸杆菌可通过厌氧途径，在钴离子与5,6-二甲基苯丙咪唑的诱导下合成 $V_{B_{12}}$ 前体物质腺苷钴胺（deoxyadenosylcobalamin），再与氰化钠反应生成氰钴胺（$V_{B_{12}}$）[5]。XIE等[6]利用费氏丙酸杆菌与短乳杆菌共同发酵谷物，发现费氏丙酸杆菌可在大多数谷物上生长并产生 $V_{B_{12}}$，含量高达742 μg/kg。研究发现，丙酸杆菌属的大多数菌种都能产生细菌素等活性物质，对细菌、酵母菌和霉菌等具有抑制效应[7]。此外，丙酸杆菌代谢过程中可产生低分子量的蛋白质丙酸杆菌素，对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、志贺氏菌、沙门氏菌和枯草芽孢杆菌等有抑制作用[8]。MARTINEZ等[9]给肉鸡饲喂丙酸杆菌菌液，发现其能够显著增加肉鸡回肠绒隐比和黏膜上杯状细胞的数量，从而促进中性黏蛋白表达量升高。RABAH等[10]发现，费氏丙酸杆菌乳酪培养物可调节仔猪肠道炎症基因的表达，缓解肠道炎症损伤。NAIR等[11]研究认为，丙酸杆菌能与肠道上皮细胞有效结合，抑制鼠伤寒沙门氏菌、海德堡沙门氏菌和肠炎沙门氏菌对鸡肠道黏膜的侵袭。然而畜牧生产中对丙酸杆菌的应用仍集中于其代谢产物 $V_{B_{12}}$ 上，而且该生产过程采用液态发酵体系，需增加丙酸分离、含氰废液无害化处理、VB_{12} 分离、纯化等70多个环节，工艺复杂，效率低，成本较高，存在安全隐患[12]。近些年，固态发酵工艺的优势被广泛提及，其发酵介质更接近菌种的生长习性，消耗能源少，工艺简单，发酵产物仅需干燥处理即可添加到动物日粮中[13]。但由于固态发酵无法合理添加氰化物以生成氰钴胺，那么其产物腺苷钴胺或甲钴胺素稳定性如何，是否可替代氰钴胺在动物体内的作用效果尚不清楚。为此，本试验拟研究费氏丙酸杆菌固态发酵物及替代 $V_{B_{12}}$ 对蛋鸡生产性能、蛋品质、免疫指标及肠道菌群的影响，旨在探讨丙酸杆菌固态发酵物及腺苷钴胺替代 $V_{B_{12}}$ 在动物生产中的应用可行性，为其在动物生产中的应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验菌种：费氏丙酸杆菌（*Propionibacterium freudenreichii*）由河南省生物发酵微量元素饲料添加剂工程技术研究中心提供，活菌数不低于 1×10^9 CFU/g。

发酵条件为：次粉和豆粕质量比为1:2，料水质

量比为1∶4,培养温度31 ℃,培养时间5 d,初始发酵pH 5.5,氯化钴添加量20 mg/kg,接种量20%,装瓶量(200 mL)120 g。参照徐国霞[14]的方法,检测发酵物料中腺苷钴胺含量为14.8 mg/kg,丙酸杆菌活菌数为3.3×10^8 CFU/g,大肠杆菌4.92 CFU/g,霉菌总数2.87 CFU/g,黄曲霉毒素3.4 μg/kg,赭曲霉毒素10.6 μg/kg,未检出沙门氏菌和玉米赤霉烯酮。

1.2 试验动物及基础饲粮

试验动物选用480只60周龄、身体健康、体质量相近的罗曼灰蛋鸡,随机分为4组,每组4个重复,每个重复30只鸡。对照组饲喂基础饲粮,并按照NRC(1994)要求,添加纯化学品氰钴胺($V_{B_{12}}$)至0.02 mg/kg,试验Ⅰ组、Ⅱ组和Ⅲ组分别在基础饲粮中添加0.07%,0.14%和0.21%的丙酸杆菌固态发酵物,其腺苷钴胺水平分别相当于0.01,0.02和0.03 mg/kg的$V_{B_{12}}$。预试期7 d,正式期35 d。预试期各组蛋鸡均饲喂基础饲粮。基础饲粮以玉米、豆粕为主要原料,依据NRC(1994)、中国蛋鸡营养需要标准(2004)和《罗曼灰蛋鸡饲养手册》配制基础饲粮,饲粮中粗蛋白含量参照国家标准(GB/T 6432—2018)[15]进行测定。基础饲粮组成及营养水平见表1。

表1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)

项目 Item	含量 Content	项目 Item	含量 Content
原料 Ingredient		营养水平 Nutrient levels	
玉米/% Corn	63.5	粗蛋白质/% CP	16.02
豆粕/% Soybean meal	23.0	代谢能/(MJ·kg^{-1}) Metabolizable energy	11.16
油脂/% Grease	0.5	钙/% Ca	3.54
石粉/% Limestone	8.0	有效磷/% AP	0.43
预混料/% Premix	5.0	赖氨酸/% Lys	0.78
合计/% Total	100.0	蛋氨酸/% Met	0.39
		半胱氨酸/% Cys	0.28

注:预混料为每千克饲粮提供V_A 7 500 IU,V_{D_3} 2 500 IU,V_E 35 mg,V_{K_3} 1 mg,V_{B_1} 1.5 mg,V_{B_2} 4 mg,V_{B_6} 2 mg,烟酸30 mg,叶酸0.55 mg,泛酸10 mg,生物素0.16 mg,氯化胆碱420 mg,铜6 mg,铁65 mg,锰100 mg,锌80 mg。粗蛋白为实测值,其他营养水平为计算值。

Note: Premix provided per kg of diet: V_A 7 500 IU, V_{D_3} 2 500 IU, V_E 35 mg, V_{K_3} 1 mg, V_{B_1} 1.5 mg, V_{B_2} 4 mg, V_{B_6} 2 mg, nicotinic acid 30 mg, folic acid 0.55 mg, pantothenic acid 10 mg, biotin 0.16 mg, choline chloride 420 mg, Cu 6 mg, Fe 65 mg, Mn 100 mg, Zn 80 mg. Crude protein was measured, and other nutrient levels were calculated.

1.3 饲养管理

蛋鸡采用三层阶梯式笼养,每笼3只鸡。鸡舍光照时间为18 h/d,每日08:00、17:00各饲喂1次,匀料2次,清粪1次。各组采用自由饮水。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生产性能指标测定 试验期间,每日以重复为单位,记录各组蛋鸡采食量、产蛋数、蛋质量和破软蛋数,按常规方法统计采食量、料蛋比、平均蛋质量、产蛋率和破软蛋率。

1.4.2 蛋品质指标测定 试验期间,每周于每个试验组随机选取40枚鸡蛋(每个重复10枚鸡蛋),用于蛋品质指标测定。其中蛋白高度、哈氏单位、蛋壳颜色、蛋黄颜色用蛋品质分析仪(QCH,英国)测定;蛋壳强度用强度测定仪(In-spec 2200,美国)测定;用游标卡尺测量蛋样纵径和横径,计算蛋形指数(纵径/横径);用螺旋测微器测定蛋壳(已去除内外壳膜)钝端、中部及锐端的厚度,计算平均值。

1.4.3 肠道免疫指标测定 试验结束后,各组随机选取8只鸡(每个重复2只),禁食12 h后处死,迅速采集回肠黏膜组织,于液氮中保存,用于肠道免疫指标测定。取0.2~0.5 g肠道黏膜样品,加入9倍体积的冰生理盐水,于组织匀浆管中充分研磨。取组织浆液于2 000~3 000 r/min低温离心10 min,收取上清液,用试剂盒方法测定分泌型免疫球蛋白A(sIgA)、免疫球蛋白M(IgM)、免疫球蛋白G(IgG)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)和干扰素γ(IFN-γ),所用试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.4.4 盲肠微生物测定 将1.4.3节试鸡处死后,同时迅速收集盲肠内容物于灭菌的离心管中,将其放于液氮中保存,送至上海生工生物工程有限公司进行16S rDNA测序,并基于OTU和物种注释结果分析试验鸡肠道微生物多样性及差异性。

1.5 数据处理

采用SPSS 25.0中的单因素方差分析(ONE-WAY ANOVA)对试验数据进行统计分析,用最小显著差异法(LSD)进行多重比较,以$P<0.05$作为差异显著性判断标准,结果以"平均值±标准差"表示。

2　结果与分析

2.1　丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡生产性能的影响

由表2可知，与对照组相比，各试验组间蛋鸡的产蛋率、料蛋比、平均蛋质量、日均采食量和破软蛋率均无显著差异（$P>0.05$）。

2.2　丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡蛋品质的影响

由表3可知，与对照组相比，试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组哈氏单位均有所提高，且试验Ⅰ组和Ⅱ组显著高于对照组（$P<0.05$）。各试验组间蛋形指数、蛋壳强度、蛋白高度、蛋黄颜色、蛋壳颜色和蛋壳厚度均无显著差异（$P>0.05$）。

表2　丙酸杆菌发酵产物对蛋鸡生产性能的影响

Table 2　Effects of *Propionibacterium freudenreichii* fermentation products onproduction performance of laying hens

处理 Treatment	产蛋率/% Laying rate	平均蛋质量/(g·只$^{-1}$) Egg weight	日均采食量/(g·只$^{-1}$) Daily egg yield	料蛋比 F/G	破软蛋率/% Broken egg rate
CK	82.77±2.42 a	59.87±1.38 a	128.75±4.04 a	2.40±0.03 a	0.53±0.06 a
Ⅰ	84.27±2.54 a	59.91±2.03 a	130.27±4.22 a	2.37±0.05 a	0.51±0.03 a
Ⅱ	83.58±2.84 a	60.27±2.87 a	131.21±3.95 a	2.40±0.04 a	0.55±0.05 a
Ⅲ	84.39±2.02 a	59.78±1.21 a	129.94±3.63 a	2.36±0.02 a	0.61±0.12 a

注：同列数据后标不同小写字母表示不同处理间差异显著（$P<0.05$）。下表同。

Note：Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among different treatments（$P<0.05$）. The same below.

表3　丙酸杆菌发酵产物对蛋鸡蛋品质的影响

Table 3　Effects of *Propionibacterium freudenreichii* fermentation products on egg quality

处理 Treatment	蛋形指数 Egg shape index	蛋壳强度/(kg·cm^{-2}) Eggshell strength	蛋白高度/mm Albumen height	哈氏单位 Haugh unit	蛋黄颜色 Yolk colour	蛋壳颜色 Eggshell colour	蛋壳厚度/mm Eggshell thickness
CK	1.30±0.03 a	4.51±1.16 a	4.32±0.82 a	59.43±4.48 b	4.95±0.84 a	33.89±1.18 a	0.36±0.02 a
Ⅰ	1.31±0.06 a	4.36±0.58 a	5.08±0.73 a	68.80±3.21 a	4.85±1.05 a	36.79±1.77 a	0.37±0.04 a
Ⅱ	1.32±0.04 a	4.63±0.95 a	4.65±1.02 a	68.37±4.80 a	5.00±0.41 a	36.14±1.72 a	0.38±0.04 a
Ⅲ	1.31±0.08 a	4.32±1.14 a	4.87±0.43 a	65.33±2.95 ab	5.15±0.55 a	35.55±1.30 a	0.39±0.03 a

2.3　丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡肠道免疫指标的影响

由表4可知，各组间IgG、sIgA、IgM、TNF-α及IFN-γ水平差异均不显著（$P>0.05$）。试验Ⅰ组sIgA和IgM水平低于对照组，而试验Ⅱ、Ⅲ组sIgA和IgM水平高于对照组，且试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组的sIgA、IgM水平呈逐步增长趋势。对于TNF-α和IFN-γ指标，试验Ⅰ组均高于对照组，而试验Ⅱ、Ⅲ组则低于对照组，且试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组呈逐步下降趋势。

表4　丙酸杆菌发酵产物对蛋鸡肠道免疫指标的影响

Table 4　Effects of *Propionibacterium freudenreichii* fermentation products onintestinal immune index of laying hens

处理 Treatment	免疫球蛋白G/(μg·mL^{-1}) IgG	分泌型免疫球蛋白A/(μg·mL^{-1})sIgA	免疫球蛋白M/(μg·mL^{-1}) IgM	肿瘤坏死因子α/(ng·L^{-1}) TNF-α	干扰素γ/(ng·L^{-1}) IFN-γ
CK	213.75±32.17 a	2.18±0.44 a	120.81±20.68 a	32.34±6.56 a	107.51±9.61 a
Ⅰ	197.16±29.14 a	2.02±0.58 a	113.13±19.45 a	36.42±8.72 a	117.15±6.96 a
Ⅱ	218.64±36.01 a	2.35±0.41 a	125.25±11.83 a	27.89±8.51 a	102.41±7.74 a
Ⅲ	202.23±20.42 a	2.57±0.34 a	129.50±11.57 a	23.59±7.48 a	91.50±6.67 a

2.4　丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡肠道菌群组成的影响

8个试验样本共获得2 639 380条高质量序列，平均长度为417.82 nt，样品覆盖率均在99%以上。经97%相似性回归，共得到19 843个OTUs。由表5可知，试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组的OTUs、Chao 1指数、Ace指数均不同程度高于对照组，说明饲喂丙酸杆菌发酵物可以增加蛋鸡盲肠微生物种群丰富度。

由图1可知，对照组与各试验组共有OTU 1 669个，试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组特有OTU分别为1 163，719和1 051个，均不同程度高于对照组，说明各试验组蛋鸡盲肠菌群丰富度均有所增加。

由图2可知，在属水平上，随着丙酸杆菌固态发酵物添加水平增加，拟杆菌属相对丰度呈逐渐增加趋势。与对照组相比，各试验组乳酸杆菌属、未分类瘤胃菌属丰富度增加；试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组中未分类拟杆菌目、另枝菌属和奥尔森菌属相对丰度降低，试验Ⅱ、Ⅲ组中未分类拟杆菌门相对丰度降低。

表 5 丙酸杆菌发酵产物对蛋鸡肠道菌群的高通量测序结果

Table 5 High throughput sequencing results of intestinal microbiota in laying hens fed *Propionibacterium freudenreichii* fermentation products

处理 Treatment	数量 Number	操作单元 OTUs	群落分布丰度 Community richness		群落分布多样性 Community diversity		覆盖率/% Coverage
			Chao 1指数 Chao 1 index	Ace指数 Ace index	Shannon指数 Shannon index	Simpson指数 Simpson index	
CK	148 568±18 224	2 204±311	2 353±272	2 487±286	5.14±0.12	0.02±0.003	99.7
Ⅰ	230 275±12 497	2 686±430	2 800±379	2 938±377	5.02±0.06	0.02±0.003	99.8
Ⅱ	174 710±4 925	2 400±111	2 561±74	2 690±70	5.24±0.14	0.02±0.004	99.8
Ⅲ	205 519±921	2 633±175	2 752±155	2 892±158	5.16±0.07	0.02±0.004	99.8

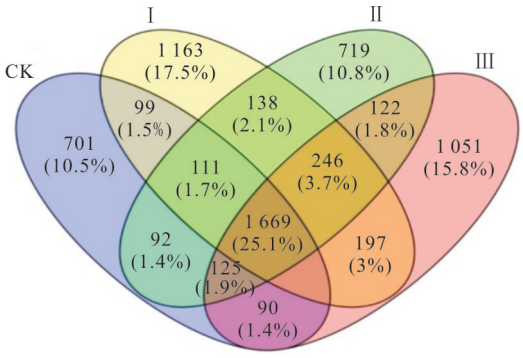


图 1 蛋鸡盲肠菌群 OTUs 差异韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of OTUs in cecal microflora of laying hens

3 讨 论

3.1 丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响

本试验结果表明,在蛋鸡基础饲粮中添加丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡产蛋率、平均蛋质量、日均采食量、料蛋比和破软蛋率均无显著影响($P>0.05$),但各试验组产蛋率及日均采食量与对照组相比呈增长趋势。这表明添加丙酸杆菌发酵物可替代 $V_{B_{12}}$,且其他发酵代谢产物对蛋鸡生产性能有一定促进效果。

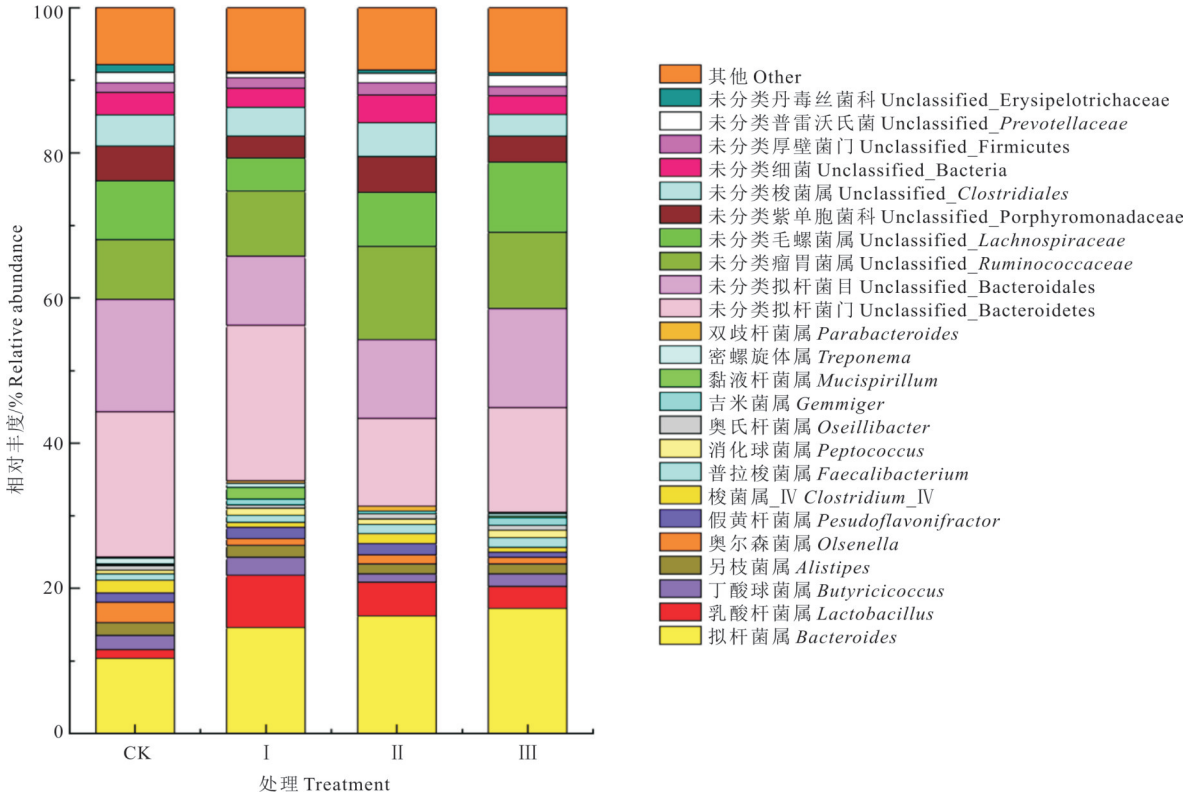


图 2 蛋鸡肠道微生物在属水平上的相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of intestinal microbiota in laying hens at the genus level

LUO 等[16]在 20 周龄蛋鸡饮水中添加詹氏丙酸杆菌，发现其可提高蛋鸡产蛋率。$V_{B_{12}}$对蛋品质有一定影响，研究表明日粮添加 0.01 mg/kg $V_{B_{12}}$可显著提高蛋壳厚度[17]。HUSSEINY 等[18]研究表明，饲粮中添加维生素 B_{12}和叶酸可显著增加 28～43 周龄白羽蛋鸡的蛋壳比重，但对蛋壳厚度无显著影响。何欣等[19]研究发现，维生素 B_{12}与叶酸具有协同作用，联合添加可改善 33 周龄蛋鸡的蛋壳强度。武笑天[20]研究认为，同时添加叶酸和维生素 B_{12}或单独添加维生素 B_{12}，都显著提高了产蛋高峰期京红蛋鸡的哈氏单位。本研究结果发现，添加丙酸杆菌固态发酵物提高了鸡蛋蛋白高度、蛋壳厚度，并显著提高了哈氏单位，表明丙酸杆菌固态发酵物可以替代蛋鸡饲粮中 $V_{B_{12}}$的功效，且有一定促进作用。

3.2　丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡肠道免疫指标的影响

肠道免疫功能与肠道健康密切相关。IgG 是体液免疫应答的主要抗体，具有抗菌、抗病毒、增强免疫力等多种作用。IgM 产生于初次体液免疫反应，在机体的早期防御中起着重要作用。sIgA 由浆细胞分泌，是机体黏膜防御系统的主要成分，可以阻止病原菌和抗原物质的入侵与渗透，维持肠道屏障完整性[21]。TNF-α是一种促炎因子，能够调节诱生免疫细胞，与细胞表面的可溶性三聚受体结合，诱导 IL-1、IL-6、IL-3、IL-8、IFN-γ的产生，介导内毒素休克和炎症反应，在整个免疫反应中具有调控作用[22]。IFN-γ属于诱生蛋白，通常在病原刺激后表达，是体内重要的免疫调节因子[23]。研究表明，促炎因子可损伤肠道黏膜屏障，增加上皮通透性，从而产生级联效应或扩大炎症反应[24]。相关研究显示，饲粮中添加叶酸、$V_{B_{12}}$及其交互作用均能增加血清中 sIgA、IgG 和 IgM 含量，且当添加 2 mg/kg 叶酸和 25 μg/kg $V_{B_{12}}$时能显著上调 sIgA 的基因表达量，降低 TNF-α表达量，从而促进肠道免疫调节，减少肠道炎性疾病发生[19]。本试验中，随着丙酸杆菌固态发酵物添加水平增加，sIgA 和 IgM 呈增加趋势，当腺苷钴胺素水平为 0.02 和 0.03 mg/kg $V_{B_{12}}$当量时，蛋鸡血清 sIgA 和 IgM 含量不同程度高于纯品 $V_{B_{12}}$（对照组），且 TNF-α和 IFN-γ水平均低于对照组，并呈现一定的剂量效应。该结果可能与丙酸杆菌及其代谢产物有关。研究表明，丙酸杆菌能黏附于动物肠道上皮细胞或黏膜，调控细胞增殖和免疫反应[25]。DEUTSCH 等[26]研究发现，丙酸杆菌可诱发白细胞中 IL-10 的表面蛋白表达，从而展现出其抗炎特性。

3.3　丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡肠道菌群组成的影响

肠道菌群是动物肠道的重要组成部分，其在一定范围内处于动态平衡状态。肠道菌群的结构与变化可影响肠上皮的代谢和增殖，并与宿主机体健康、新陈代谢、营养物质的消化吸收及免疫机能息息相关[27]。本研究结果表明，丙酸杆菌固态发酵物可增加蛋鸡盲肠微生物的数量和丰度，直接影响物种丰度 OTUs 和菌落丰富度，且随着丙酸杆菌固态发酵物添加水平的增加，蛋鸡肠道拟杆菌属丰富度呈剂量效应。有研究认为，拟杆菌属在宿主肠道中具有吸收多糖、蛋白质及抵御病原等重要作用[28]。此外，拟杆菌属参与脂质代谢，并通过调节炎症通路改善蛋鸡脂肪肝[29]。LIU 等[30]研究发现，拟杆菌属与家禽肠道黏膜免疫功能密切相关，可缓解沙门氏菌感染引起的肠道炎性损伤。这可能是本试验中丙酸杆菌固态发酵物提升蛋鸡肠道免疫，降低炎症因子的原因之一。本试验中，丙酸杆菌固态发酵物添加还促进了蛋鸡肠道乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）和未分类瘤胃菌属（unclassified_*Ruminococcaceae*）丰富度的增加。乳酸杆菌属和瘤胃菌属是家禽肠道分解粗纤维等多糖的主要菌种，并产生短链脂肪酸（SCFA）等主要代谢物[31]，而 SCFA 在调节宿主代谢、免疫和肠细胞增殖中起重要作用[32]，且 SCFA 中的不同脂肪酸可通过多种途径广泛参与机体脂质代谢，降低蛋鸡脂肪肝的发生[33]。由此推测，丙酸杆菌固态发酵物对蛋鸡脂肪肝的发生可能具有一定缓解作用，但其作用效果及机理尚待进一步研究。

4　结　论

1）基础饲粮添加丙酸杆菌固态发酵物及替代 $V_{B_{12}}$不会对蛋鸡生产性能产生负面影响，且可显著提高鸡蛋哈氏单位。

2）当丙酸杆菌固态发酵物添加水平为 0.14% 以上时，可一定程度上提高 sIgA 和 IgM 水平，同时降低 TNF-α和 IFN-γ水平。

3）基础饲粮添加丙酸杆菌固态发酵物可增加蛋鸡盲肠微生物丰富度和多样性，促进拟杆菌属、乳酸杆菌属等有益菌的生长。

综上所述，在本试验条件下，丙酸杆菌固态发

酵物及替代$V_{B_{12}}$对蛋鸡不但未产生负面影响,且对蛋鸡生产性能及蛋品质有一定促进作用,以0.14%的添加水平(腺苷钴胺素水平0.02 mg/kg)效果较好。

[参考文献]

[1] PIWOWAREK K, LIPINSKA E, HAC-SZYMANCZUK E, et al. *Propionibacterium* spp. source of propionic acid, vitamin B_{12}, and other metabolites important for the industry[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(2): 515-538.

[2] MEILE L, BLAY G L, THIERRY A. Safety assessment of dairy microorganisms: *Propionibacterium* and *Bifidobacterium* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 126(3): 316-320.

[3] WANG M L, ASAM S, CHEN J Q, et al. Production of four ^{15}N-Labelled cobalamins via biosynthesis using *Propionibacterium freudenreichii*[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 713321.

[4] TANGYU M Z, FUZI F M, YE L J, et al. Co-cultures of *Propionibacterium freudenreichii* and *Bacillus amyloliquefaciens* cooperatively upgrade sunflower seed milk to high levels of vitamin B_{12} and multiple co-benefits[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 48.

[5] WANG Z Q, XU G X, DU W, et al. Efficient exsitu biosynthesis of vitamin B_{12} by *Propionibacterium freudenreichii* using membrane separation coupling technology[J]. Biochemical Engineering Journal, 2020, 161: 107688.

[6] XIE C, CODA R, CHAMLAGAIN B, et al. Fermentation of cereal, pseudo-cereal and legume materials with *Propionibacterium freudenreichii* and *Leevilactobacillus brevis* for vitamin B_{12} fortification[J]. LWT, 2020, 137: 110431.

[7] 潘淼. 薛氏丙酸杆菌发酵培养基优化及其抑菌产物性质初步研究[D]. 上海:东华大学, 2015.
PAN M. The optimization of fermentation medium of *Propionibacterium shermanii* and characteristics of its antimicrobial metabolites[D]. Shanghai: Donghua University, 2015.

[8] 罗欣,傅亮,郝天瑶,等. 丙酸杆菌素抑菌效果评价及在芽菜保鲜中的应用[J]. 工业微生物, 2018, 48(1): 37-42.
LUO X, FU L, HAO T Y, et al. Evaluation of antibacterial effects of *Propionibacterium* bacteriocin on mung bean sprouts and its application in preservation[J]. Industrial Microbiology, 2018, 48(1): 37-42.

[9] MARTINEZ E A, BABOT J D, LORENZO-PISARELLO M J, et al. Feed supplementation with avian *Propionibacterium acidipropionici* contributes to mucosa development in early stages of rearing broiler chickens[J]. Beneficial Microbes, 2016, 7(5): 687-698.

[10] RABAH H, FERRET-BERNARD S, HUANG S, et al. The cheese matrix modulates the immunomodulatory properties of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA 129 in healthy piglets[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 106: 712-721.

[11] NAIR D V T, KOLLANOOR-JOHNY A. Effect of *Probionibacterium freudenreichii* on salmonella multiplication, motility, and association with avian epithelial cells[J]. Poultry Science, 2017, 96(5): 1376-1386.

[12] KAI M, MGAKO S, SHA J, et al. Efficent production of vitamin B_{12} from propionic acid bacteria under periodic variation of dissolved oxygen concentration[J]. Journal of Frmentation an Bioengineering, 1996, 82(5): 484-491.

[13] 高强,高海飞. 固态发酵酶制剂的研究进展[J]. 生物产业技术, 2018, 3(5): 24-30.
GAO Q, GAO H F. Advances in enzyme preparation via solid state fermentation[J]. Biotechnology & Business, 2018, 3(5): 24-30.

[14] 徐国霞. 丙酸/维生素B_{12}的膜分离耦合发酵及工艺集成[D]. 河北保定:河北大学, 2016.
XU G X. Coupling fermentation of propionic acid and vitamin B_{12} with membrane separation and process integration[D]. Baoding, Hebei: Hebei University, 2016.

[15] 中国国家标准化管理委员会. 饲料中粗蛋白的测定:凯氏定氮法:GB/T 6432—2018[S]. 北京:中国标准出版社, 2018.
The Standardization Administration of China. Determination of crude protein in feed: kjeldahl nitrogen determination method: GB/T 6432—2018)[S]. Beijing. Standards Press of China, 2018.

[16] LUO J, KING S, ADAMS M C. Effect of probiotic *Propionibacterium jensenii* 702 supplementation on layer chicken performance[J]. Beneficial Microbes, 2010, 1(1): 53-60.

[17] WANG R, BAI Y, YANG Y, et al. A comparison of production performance, egg quality, and cecal microbiota in laying hens receiving graded levels of vitamin B_{12}[J]. Front Vet Sci, 2021, 8: 712183.

[18] HUSSEINY O M E, SOLIMAN A Z, OMARA I I. Evaluation of dietary methionine, folic acid and cyanocobalamin B_{12} and their interactions in laying hen performance[J]. International Journal of Poultry Science, 2008, 7(5): 461-469.

[19] 何欣,王晓霞,滑静. 饲粮氰钴素($V_{B_{12}}$)及叶酸($V_{B_{11}}$)水平对蛋鸡生产性能及血液生化指标的影响[J]. 北京农学院学报, 2001, 16(3): 51-53.
HE X, WANG X X, HUA J. Effects of vitamin B_{11} and B_{12} on the performance and blood index of layers[J]. Journal of Beijing Agricultural College, 2001, 16(3): 51-53.

[20] 武笑天. 叶酸和维生素B_{12}对产蛋鸡生产性能和肠道屏障功能的影响[D]. 山西太谷:山西农业大学, 2021.
WU X T. Effects of folic acid and vitamin B_{12} on the production performance and intestinal barrier function of laying hens[D]. Taigu, Shanxi: Shanxi Agricultural University, 2021.

[21] BRUEWER M, SAMARIN S, NUSRAT A. Inflammatory bowel disease and the apical junctional complex[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2006, 1072(1): 242-252.

(下转第65页)