



## 研究报告

## 复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肠道菌群结构和肝脏抗氧化酶指标的影响

杨瑞思<sup>Δ1,2</sup> 江宇航<sup>Δ1,2</sup> 张关令<sup>1,2</sup> 王峰<sup>1,2</sup> 王春<sup>3</sup> 张麒麟<sup>\*1,2</sup> 林连兵<sup>\*1,2</sup>

1 昆明理工大学生命科学与技术学院 云南 昆明 650500

2 云南省高校饲用抗生素替代技术工程研究中心 云南 昆明 650500

3 昆明三正生物科技(集团)有限公司 云南 昆明 650500

**摘要:**【背景】噬菌体裂解酶具有良好的安全性与抑菌特性,有望替代抗生素作为一种饲料添加剂应用于改善畜禽肠道菌群和预防动物疾病。【目的】以白羽肉鸡为饲喂对象,分别饲喂复合噬菌体裂解酶与抗生素制剂,评估噬菌体裂解酶对畜禽肠道菌群的影响及其作为替抗饲料添加剂的应用潜能。

【方法】以3日龄健康白羽肉鸡为饲喂对象,在基础饲粮上添加由噬菌体裂解酶 TSPphg 和噬菌体裂解酶 MMPphg 获得的复合噬菌体裂解酶制剂(200 mg/kg)与 50 μg/g 的金霉素制剂,分别进行比较饲喂管理。利用第三代测序技术对28 d时白羽肉鸡肠道菌群进行高通量测序,借助生物信息学分析肠道菌群多样性和优势菌群(丰度前10)相对丰度,揭示各分组组间与组内差异,并对肝脏主要氧化酶活性进一步比较。【结果】饲喂复合噬菌体裂解酶和金霉素制剂对白羽肉鸡肠道菌群有一定影响,均降低了肠道菌群相对丰度与多样性,而且 Shannon 指数与空白组相比存在显著差异( $P<0.05$ )。优势菌群中,复合噬菌体裂解酶组相较于金霉素组和空白组,拟杆菌门的相对丰度发生了显著上升,而厚壁菌门的相对丰度发生了显著下降( $P<0.05$ )。同时,在属水平上,粪杆菌属的相对丰度发生了显著上升,而螺杆菌属的相对丰度发生了显著下降( $P<0.05$ ),这一趋势与多数替代抗生素产品饲喂家禽后肠道菌群变化趋势类似,更有利于家禽肠道的健康。此外,饲喂复合噬菌体裂解酶组相较于金霉素组和空白组,过氧化氢酶(Catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性均发生了显著上升( $P<0.05$ )。【结论】噬菌体裂解酶能够有效改善畜禽肠道菌群,促进畜禽肠道菌群的微生态健康及提高机体免疫力,将噬菌体裂解酶替代抗生素应用于畜禽养殖具有较好的前景,值得进一步研究。

**关键词:** 噬菌体裂解酶, 白羽肉鸡, 抗生素替代, 肠道菌群, 抗氧化酶活性

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (31760042)

ΔThese authors equally contributed to this work

**\*Corresponding authors:** E-mail: ZHANG Qilin: zhangql@kust.edu.cn; LIN Lianbing: linlb@kmust.edu.cn

**Received:** 07-01-2021; **Accepted:** 24-03-2021; **Published online:** 03-06-2021

**基金项目:** 国家自然科学基金(31760042)

Δ对本文贡献相同

**\*通信作者:** E-mail: 张麒麟: zhangql@kust.edu.cn; 林连兵: linlb@kmust.edu.cn

**收稿日期:** 2021-01-07; **接受日期:** 2021-03-24; **网络首发日期:** 2021-06-03

## Effects of complex phage lysin on growth performance, organ index and major antioxidant enzyme activities in white feather broilers

YANG Ruisi<sup>Δ1,2</sup> JIANG Yuhang<sup>Δ1,2</sup> ZHANG Guanling<sup>1,2</sup> WANG Feng<sup>1,2</sup> WNGA Chun<sup>3</sup>  
ZHANG Qilin<sup>\*1,2</sup> LIN Lianbing<sup>\*1,2</sup>

1 Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China

2 Engineering Research Center for Replacement Technology of Feed Antibiotics of Yunnan College, Kunming, Yunnan 650500, China

3 Kunming Sanzheng Biotechnology Group, Kunming, Yunnan 650500, China

**Abstract:** [Background] Phage lysin has good safety and antibacterial properties, and is expected to replace antibiotics as a feed additive to improve the intestinal flora of livestock and poultry and prevent animal diseases. [Objective] White feather broilers were fed with complex phage lyase and antibiotic preparations to evaluate the effect of phage lysin on the intestinal flora of livestock and poultry and its application potential as an alternative feed additive. [Methods] Three-day-old healthy white feather broilers were fed, and the basic diet was supplemented with (200 mg/kg) complex phage lysin prepared from *Thermus* bacteriophage lysin (TSPphg) and *Subthermus* bacteriophage lysin (MMPphg) the lysin preparation and the 50 µg/g chlortetracycline preparation were respectively compared for feeding management. The high-throughput sequencing on the intestinal flora of white feather broilers at 28 days using the third-generation high-throughput sequencing technology, With the help of bioinformatics analysis of intestinal flora diversity and the relative abundance of dominant flora (top ten relative abundance), reveal the differences between and within each group, and further compare the liver oxidase activities. [Results] Complex phage lysin and chlortetracycline preparation had a certain effect on the intestinal flora of white feather broilers, both of which decreased the abundance and diversity of intestinal flora, and the Shannon index was significantly different compared with the blank group ( $P<0.05$ ). In the dominant intestinal bacteria, *Bacteroidetes* significantly increased and *Firmicutes* significantly decreased in the complex phage lysin group compared with chlortetracycline group and blank group ( $P<0.05$ ). At the same time, at the genus level, the relative abundance of *Faecalibacterium* increased significantly, while the relative abundance of *Helicobacter* decreased significantly ( $P<0.05$ ), this trend was similar to that of most alternative antibiotic products after feeding poultry intestinal flora, which was more conducive to the health of poultry intestines. In addition, compared with chlortetracycline group and blank group, the activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in complex phage lysin group were significantly increased go up ( $P<0.05$ ). [Conclusion] Phage lysin can effectively improve the intestinal flora of livestock and poultry, promote the micro-ecological health of the intestinal livestock and poultry and improve the immunity of the body. It has a good prospect to replace antibiotics with phage lysin in livestock and poultry breeding and is worth further study.

**Keywords:** phage lysin, white feather broiler, antibiotic replacement, intestinal flora, antioxidant enzyme activity

噬菌体裂解酶是由双链 DNA 噬菌体在感染细菌后由其基因组编码复制晚期合成的一类细胞壁水解酶<sup>[1-2]</sup>。噬菌体裂解酶对于宿主菌的杀伤主要是作用于细菌细胞壁结构中的保守位点致使细菌

裂解,使得细菌不易产生耐药性突变,可有效降低目前所面临的细菌耐药性风险<sup>[3-4]</sup>。目前,随着生物工程技术的快速发展,许多以研究噬菌体裂解酶模块化结构域的文献报道中发现,将噬菌体裂解酶

结构域结构进行结合或催化活性分离为不同亚基,经重新排列后可创建得到具有优化功能的新型嵌合酶,此类嵌合酶具有更高度保守的肽键,其与常规抗生素相比宿主细菌更不易产生耐药性<sup>[5-6]</sup>。同时,诸多研究证实噬菌体裂解酶具有良好的安全性与相对较高的专一性,能够高效杀灭一种或多种细菌,而且多数噬菌体裂解酶对革兰氏阳性菌的抑制效果略优于革兰氏阴性菌<sup>[7-9]</sup>。此外,噬菌体裂解酶作用宿主的高度专一性使其在杀灭病原菌的同时对正常菌群不会产生较大干扰<sup>[10]</sup>。因此,噬菌体裂解酶可作为替代抗生素用于解决细菌耐药性问题,并减缓抗菌药物对动物肠道菌群的影响,具有良好的应用潜能。

动物肠道菌群被称为宿主的第二基因组,在宿主健康与疾病、维持免疫屏障、防御感染等方面扮演着重要的角色<sup>[11]</sup>。通常动物肠道菌群与宿主之间维持着动态平衡,当平衡受到破坏时就会导致动物肠道菌群失调而引发诸多病理性疾病。特别是目前抗生素滥用现象严重,动物产生疾病时会大量服用抗生素药物,这不仅严重破坏了动物的肠道菌群平衡,还致使诸多耐药性细菌产生<sup>[12-13]</sup>。例如,抗生素给药小鼠后发现小鼠肠道中的肠球菌、双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌群显著减少,而白色念珠菌等显著增加,导致肠道菌群失调<sup>[12]</sup>。此外,肠道中微生态环境的改变常常会引起某些生物代谢产物发生变化,造成机体器官的病变,例如具有致癌作用的二元胆汁酸和 Toll 受体家族介导的肠道泄漏信号通路等,可诱发慢性肺病、原发性肝癌等肝脏疾病的发生<sup>[14]</sup>。因此,在 2020 年全面退出抗生素在饲料端使用的关键节点,不仅要寻找到多样的抗生素替代品,还应该考虑抗生素替代品对畜禽肠道菌群及机体代谢刺激等多方面的影响。

白羽肉鸡养殖自 1979 年就已开始启动,具有生长速度快、饲料转化率高及肌肉蛋白质含量高等特点,在我国肉类供应中占有重要地位,已成为一种重要的家禽生物模型<sup>[15]</sup>。目前,针对饲料添加剂及饲料产品的评估主要是以白羽肉鸡的行为、

生理、肠道菌群、基因表达等方面进行<sup>[16-18]</sup>。因此,本研究选择白羽肉鸡作为动物模型,在前期揭示 M23 家族裂解酶 TSPphg 和 MMPphg 对多种猪源、鸡源致病菌具有良好杀灭效果和成熟制备复合噬菌体裂解酶制剂的基础上<sup>[19-22]</sup>,将制备获得的复合噬菌体裂解酶作为潜在替代抗生素饲料添加剂饲喂白羽肉鸡,评估其对肠道菌群及肝脏抗氧化酶活性的影响,并通过与抗生素产品进行比较,从而证实复合噬菌体裂解酶的安全性及其作为替代抗生素应用于畜禽养殖的应用潜力。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

3 日龄白羽肉鸡苗、无添加肉鸡基础日粮(配方见表 1)、饲用金霉素制剂,昆明三正生物科技(集团)有限公司提供;总 DNA 抽提试剂盒(TIANamp Stool DNA Kit),天根生物技术公司;肝脏抗氧化酶活检测试剂盒,北京雷根生物技术有限公司。PCR 仪,杭州博日科技公司;低速大容量离心机,上海安亭科学仪器厂;电泳仪,北京市六一生物科技有限公司;高低温恒温振荡培养箱,上海一恒科学仪器有限公司。

### 1.2 复合噬菌体裂解酶制剂的制备

复合噬菌体裂解酶制剂的制备方法为:分别构建含有 TSPphg 和 MMPphg 基因的基因工程菌,将构建成功的基因工程菌发酵培养(35–38 °C、100–300 r/min) 10–12 h,检测基因工程菌的生物量达到  $OD_{600}$  为 30–35 后,利用乳糖进行诱导 5–6 h,去除培养基,使用磷酸缓冲盐溶液重悬进行高压匀浆破碎,压力为 1 000–1 100 bar,收集破碎液并于 12 000 r/min 离心 10 min,收集上清并过滤,在无菌条件下将含有裂解酶 TSPphg 的上清液、裂解酶 MMPphg 的上清液与适宜的辅料制备获得噬菌体裂解酶复合制剂,置于常温下保存,具体制备保存方法参考文献[22],复合噬菌体裂解酶制剂由云南省高校饲用抗生素替代技术工程研究中心前期制备。

表 1 基础日粮组成及营养水平

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet

项目 Items	0-14 日龄 0-14 days old	15-28 日龄 15-28 days old
日粮组成 Diets composition (%)		
优质玉米 High quality maize	57.72	63.16
豆粕 Soybean meal	24.70	20.28
棉仁粕 Cotton seed meal	3.00	2.92
蛋白粉 Albumen powder	5.00	5.00
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	1.30	1.14
羽毛粉 Feather powder	0	1.00
石粉 Limestone	1.38	1.30
小麦粉 Wheat bran	3.00	0
油脂 Grease	1.85	3.50
预混料 <sup>a</sup> Premix <sup>a</sup>	2.15	1.90
总计 Total	100	100
营养水平 <sup>b</sup> Nutrition level <sup>b</sup> (%)		
代谢能 Metabolizable energy	12.26	12.94
粗蛋白 CP	221.26	20.04
粗脂肪 CF	4.42	6.11
钙 Ca	1.05	0.95
总磷 TP	0.68	0.63
赖氨酸 Lys	1.26	1.16
蛋氨酸 Met	0.50	1.15

注: a: 预混料为每千克常规日粮含有: 维生素 A 1 500 IU, 维生素 B1 1.8 mg, 维生素 B2 3.6 mg, 维生素 B6 3.5 mg, 维生素 B12 0.01 mg, 维生素 D3 200 IU, 维生素 E 10 mg, 维生素 K 0.5 mg; 泛酸 10 mg, 烟酸 35 mg, 叶酸 0.55 mg, 生物素 0.15 mg, 胆碱 1 300 mg; 锰 60 mg, 锌 40 mg, 铁 80 mg, 铜 8 mg, 碘 0.35 mg, 硒 0.15 mg。b: 计算值

Note: a: The premix contains: 1 500 IU of vitamin A, 1.8 mg of vitamin B1, 3.6 mg of vitamin B2, 3.5 mg of vitamin B6, 0.01 mg of vitamin B12, 200 IU of vitamin D3, 10 mg of vitamin E, 0.5 mg of vitamin K; 10 mg of pantothenic acid, 35 mg of nicotinic acid, 0.55 mg of folic acid, 0.15 mg of biotin, 1 300 mg of choline; 60 mg of manganese, 40 mg of zinc, 80 mg of iron, 8 mg of copper and iodine 35 mg, Se 0.15 mg. b: Calculated value

1.3 饲料配制与分组饲养

试验分成 3 个组方: (1) 基础日粮(组名为 CHE); (2) 基础日粮中按 50 ppm 添加饲用金霉素制剂[昆明三正生物(集团)有限公司指导抗生素产

品指导浓度, 组名为 CKB]; (3) 基础日粮中添加 200 mg/kg 复合噬菌体裂解酶制剂: 组名为 LYS200, 是前期提高畜禽生长、免疫力最佳浓度, 在此浓度下能够有效提升白羽肉鸡的料中比为 1.58±0.04、血清中的超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性最高, 分别为 41.52±1.45 U/mL、217.63±7.29 U/mL、128.36±6.53U/mL。所有日粮均按等氮等能原则配制, 饲喂日粮分为 0-14 d 和 15-28 d 这 2 个批次, 营养标准满足 NRC (1998)<sup>[23]</sup>和中国饲料成分及营养价值表(2018)<sup>[24]</sup>要求。以上饲料组方制剂配制好后保存在阴凉干燥处备用。试验分组, 按照随机分配 63 只 3 日龄健康白羽肉鸡至每个分组, 设置 3 个重复, 重复数量为 21 只, 分为 CHE、CKB 与 LYS200 这 3 个组进行饲喂, 其中 CHE 为空白组、CKB 为对照组、LYS200 为实验组。以 28 d 饲喂为一个试验周期, 按照文献[25]的饲养标准, 分笼饲养, 常规免疫, 自由采食和饮水。

1.4 DNA 提取和 PCR 扩增

在试验 29 d 时, 每个分组各取 5 只白羽肉鸡, 利用乙醚麻醉法处死并解剖, 迅速将白羽肉鸡盲肠肠道取出, 转移至 5.0 mL 的无菌离心管中, 使用无菌水反复冲洗 3 次去除肠道表面微生物及杂质。总 DNA 的抽提使用 TIANamp Stool DNA Kit, 严格按照其说明书进行。以提取得到的总 DNA 为模板, 采用通用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGA GGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGG TWTCTAAT-3') PCR 扩增各样品 16S rRNA 基因的 V3-V4 区序列。PCR 反应体系及条件参照文献[26]进行。PCR 扩增产物经 2%琼脂糖凝胶电泳检测后, 使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒将目标片段切胶回收。利用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统对 PCR 产物进行检测定量, 并根据结果将各样品等量混合。后续 HiSeq 文库构建和高

通量测序、分析，由百迈客生物科技有限公司二代测序平台完成<sup>[27]</sup>。

1.5 测序数据处理与分析

基于 Illumina HiSeq 测序平台得到原始图像数据文件，经碱基识别(Base Calling)分析后转化为原始测序序列(Sequenced Reads)，结果以 FASTQ (简称为 fq)文件格式存储<sup>[27]</sup>。原始测序序列使用 FLASH V1.2.7 软件<sup>[28]</sup>，通过 Overlap 对每个样品的 Reads 进行拼接，得到的拼接序列即原始 Tags (Raw Tags)数据；再利用 Trimmomatic V0.33 软件<sup>[29]</sup>对拼接得到的 Raw Tags 进行过滤，得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags)；最后去除嵌合体，使用 UCHIME V4.2 软件<sup>[30]</sup>鉴定并去除嵌合体序列，得到最终的有效数据(Effective Tags)。后续分析基于百迈客云平台进行微生物多样性分析，得到样本的  $\alpha$  多样性、 $\beta$  多样性及各个分类水平：界(Kingdom)、门(Phylum)、纲(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、种(Species)。

1.6 肝脏抗氧化酶活性检测

在试验 29 d 时，每个分组各取 5 只白羽肉鸡，解剖收集肝脏，在预冷匀浆培养基中研磨，经 4 °C、3 000 r/min 离心 5 min，收集上清液。收集得到的上清液与酶底物进行 37 °C 孵育后用于酶活性检测。酶活的测定利用设置特定波长在 UV-8000ST 分光光度计下检测，测定酶活性时每个样品分为 3 份，独立进行 3 次测定。其中，谷胱甘肽(GSH-Px)酶活性测定采用 DTNB 速率比

色法，操作过程参照还原型谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒(DTNB 速率比色法)使用方法进行；过氧化氢酶活性的测定采用紫外法，操作过程参照过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒(紫外法)使用方法进行；超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用 NBT 核黄素比色法，操作过程参照总超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(NBT 核黄素比色法)使用方法进行。

1.7 数据分析

本试验所测得的数据均包含 3 次生物学重复，以平均值±标准差(SD)的方式呈现。全部数据均采用 Excel 2010 进行初步整理分析，应用 IBM SPSS 22.0 统计软件进行统计分析。平均值的多重比较采用 Duncan 氏法进行<sup>[31]</sup>，显著差异性水平定为  $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1  $\alpha$  多样性分析

由表 2 可知，各分组样本的有效序列数在 65 505–69 202 范围内，具有相对较高的有效序列数目，各分组样本的覆盖度(Coverage)也在 0.999 以上，表明测序结果已基本覆盖测序样本，而且各分组样本之间的 OTU 数目不存在显著差异( $P>0.05$ )。分析 CKB、LYS200 组与 CHE 组之间的 ACE、Chao1、Shannon、Simpson 多样性指数，发现 CKB、LYS200 组的  $\alpha$  多样性指数均低于 CHE，其中 CKB 和 LYS200 组的 Shannon 与 CHE 组之间

表 2  $\alpha$  多样性指数  
Table 2 Alpha diversity indexes

项目 Items	CHE	CKB	LYS200
有效序列 Valid sequence	66 833±1 328	66 551±775	68 003±1 199
操作分类单元数目 OTU number	342±4	329±7	326±5
ACE 指数 ACE index	348.92±4.77	340.84±4.66	335.78±10.58
Chao1 指数 Chao1 index	356.21±4.09	343.09±8.98	340.48±15.69
Shannon 指数 Shannon index	3.72±0.08	3.49±0.30*	3.38±0.35*
Simpson 指数 Simpson index	0.87±0.05	0.85±0.01	0.81±0.01
覆盖度 Coverage	0.999	0.999	0.999

注：\*：不同组与空白组(CHE)差异显著( $P<0.05$ )  
Note: \*: Represents significant difference between with blank group (CHE) ( $P<0.05$ )

存在显著差异( $P<0.05$ ), 表明金霉素制剂和复合噬菌体裂解酶在一定程度上可导致白羽肉鸡肠道菌群的多样性和丰度下降。对比 LYS200 组与 CKB 组之间的  $\alpha$  多样性指数发现, LYS200 组的 ACE、Chao1、Shannon、Simpson 多样性指数均低于 CKB 组对应的  $\alpha$  多样性指数但略有不同, 说明复合噬菌体裂解酶和金霉素制剂对白羽肉鸡肠道菌群结构的影响效果存在一定差异。

## 2.2 $\beta$ 多样性分析

$\beta$  多样性主要分析样本与样本间微生物群落组成的相似性, 本试验通过 NMDS 与 PCoA 法分析样本间的  $\beta$  多样性。由 NMDS (Stress=0.03) 分析 (图 1A) 发现, 不同样品间显著分开, 而且各自生物学重复之间紧密靠近, 表明各分组之间的肠道菌群结构区分明显。经主坐标分析 (Principal Co-Ordinates Analysis, PCoA) (图 1B) 发现, 摄入复合噬菌体裂解酶和金霉素制剂后, 处理组与空白组之间呈现三角形态势分布, 彼此之间距离相差较大, 表明复合噬菌体裂解酶与金霉素制剂对白羽肉鸡肠道菌群结构造成影响且存在着较大差异。

## 2.3 肠道菌群组成及优势菌群相对丰度分析

对白羽肉鸡肠道菌群测序数据进行注释后得到门、属等分类单元信息。其中, 在门分类单元中,

相对丰度最高的为厚壁菌门(*Firmicutes*), 其次为拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、*Epsilonbacteraeota*、梭杆菌门(*Fusobacteria*)等 (图 2A)。为探索复合噬菌体裂解酶和金霉素制剂处理后对白羽肉鸡肠道菌群结构的影响, 本研究定义水平上相对丰度前 10 的菌群为优势菌群。分析比较 LYS200 组与 CHE 组间的相对丰度差异及 LYS200 组与 CKB 组的相对丰度差异, 结果发现相比 CHE 组, LYS200 组中拟杆菌门、变形菌门、梭杆菌门、蓝藻菌门、黏胶球形菌门和疣微杆菌门均发生了显著上升( $P<0.05$ ), 而厚壁菌门、*Epsilonbacteraeota*、软壁菌门则均发生了显著下降( $P<0.05$ ); CKB 组中拟杆菌门、蓝藻菌门、黏胶球形菌门发生了显著上升( $P<0.05$ ), 变形菌门、*Epsilonbacteraeota*、软壁菌门发生了显著下降( $P<0.05$ ), 其他门类则表现出不同程度的上升和下降趋势。比较 LYS200 组与 CKB 组发现, 变形菌门、梭杆菌门、蓝藻菌门和疣微杆菌门发生了显著上升( $P<0.05$ ), 厚壁菌门和拟杆菌门发生了显著下降( $P<0.05$ ) (表 3), 其他门类则无明显变化。结果显示, 饲喂噬菌体裂解酶和金霉素后对白羽肉鸡肠道菌群具有相似影响, 但噬菌体裂解酶在某些方面也有自己独特的影响作用。

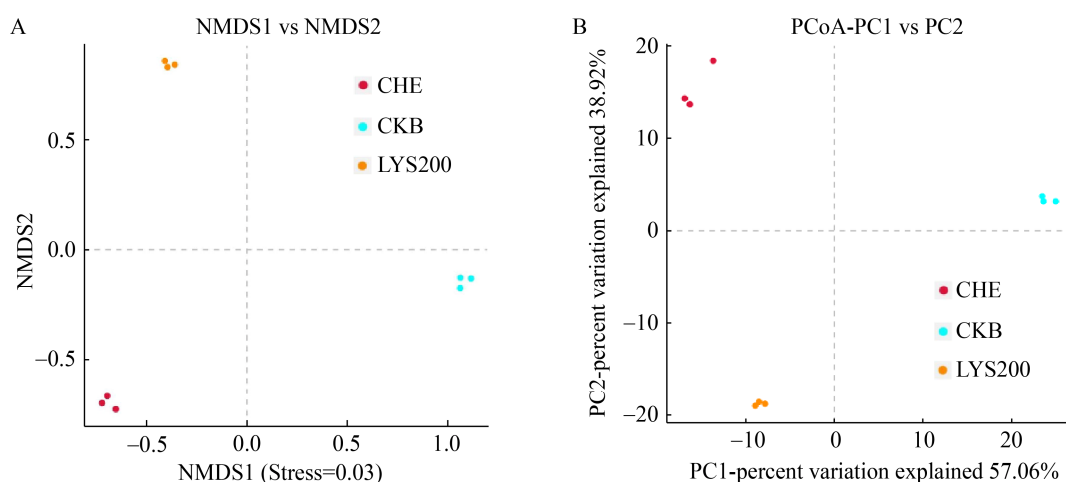


图 1 不同处理样品的 NMDS (A) 和 PCoA 图 (B)

Figure 1 NMDS (A) and PCoA (B) of different processed samples

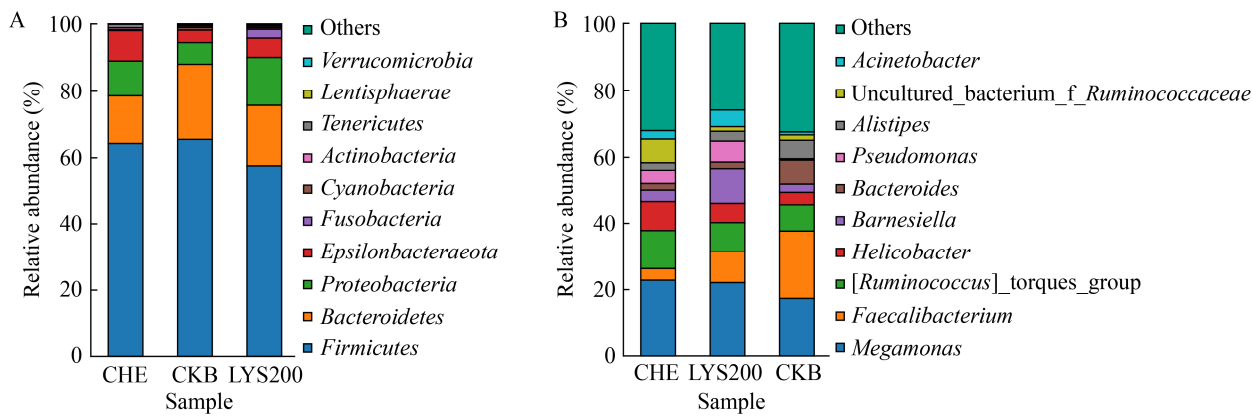


图 2 门(A)、属(B)水平肠道菌群组成  
Figure 2 Composition of intestinal flora at Phyla (A) and Genera (B) level

表 3 门分类单元下相对丰度前 10 细菌的变化  
Table 3 Changes in relative abundance of top 10 bacteria phylum taxa

Phylum	CHE	CKB	LYS200
厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	0.642 5±0.037 0	0.655 1±0.003 1	0.565 9±0.003 3*+
拟杆菌门 <i>Bacteroidetes</i>	0.143 4±0.001 5	0.228 5±0.002 7*	0.181 7±0.002 1*+
变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	0.103 9±0.009 8	0.064 4±0.001 4*	0.143 2±0.012 1*+
<i>Epsilonbacteraeota</i>	0.090 5±0.002 7	0.037 3±0.005 1*	0.057 6±0.003 2*+
梭杆菌门 <i>Fusobacteria</i>	0	0	0.026 4±0.002 9*+
蓝藻菌门 <i>Cyanobacteria</i>	0.002 5±0.000 3	0.007 4±0.001 0*	0.004 8±0.000 2*+
放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	0.005 9±0.000 8	0.004 4±0.000 6	0.004 2±0.000 4
软壁菌门 <i>Tenericutes</i>	0.010 1±0.001 2	0.001 9±0.000 3*	0.001 0±0.000 1*
黏胶球形菌门 <i>Lentisphaerae</i>	0.000 6±0.000 1	0.003 6±0.000 1*	0.003 6±0.000 2*+
疣微杆菌门 <i>Verrucomicrobia</i>	0.000 3±0.000 1	0.000 2±0.000 1	0.001 2±0.000 0*+
Others	0	0	0.000 8±0.000 0

注：\*：不同组与空白组(CHE)显著差异( $P<0.05$ )；+：复合噬菌体裂解酶组与金霉素制剂组显著差异( $P<0.05$ )  
Note: \*: Represents significant difference between with blank group (CHE) ( $P<0.05$ ); +: Represents significant difference between different complex phage lysin group and chlortetracycline preparation group ( $P<0.05$ )

在属水平上，相对丰度最高的为巨单胞菌属 (*Megamonas*)、粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、螺杆菌属(*Helicobacter*)等 (图 2B)。相比 CHE 组，LYS200 组中粪杆菌属、*Barnesiella*、假单胞菌属(*Pseudomonas*)发生了显著上升 ( $P<0.05$ )，瘤胃球菌属、螺杆菌属、*Uncultured\_bacterium\_f\_Ruminococcaceae* 则发生了显著下降( $P<0.05$ )，而 CKB 组中粪杆菌属、螺杆菌属拟杆菌属(*Bacteroides*)、另枝菌属(*Alistipes*)

发生了显著上升( $P<0.05$ )，巨单胞菌属、瘤胃球菌属等发生了显著下降( $P<0.05$ )，其他属则呈现出不同程度下降或上升。比较 LYS200 组与 CKB 组发现，巨单胞菌属、螺杆菌属、*Barnesiella*、假单胞菌属、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、粪杆菌属、拟杆菌属发生了显著下降，其他属则与金霉素制剂无明显变化(表 4)。结果表明：噬菌体裂解酶和金霉素组均能够对白羽肉鸡肠道菌群造成影响，但彼此之间对白羽肉鸡肠道菌群的影响结果不尽相同。



表 4 属分类单元下相对丰度前 10 细菌的变化  
Table 4 Changes in relative abundance of the top10 in genera taxa

Genus	CHE	CKB	LYS200
巨单胞菌属 <i>Megamonas</i>	0.227 7±0.009 2	0.173 9±0.010 1*	0.220 8±0.001 9+
粪杆菌属 <i>Faecalibacterium</i>	0.035 2±0.000 5	0.202 6±0.010 8*	0.093 3±0.005 2*+
瘤胃球菌属 [ <i>Ruminococcus</i> ] <sub>torques_group</sub>	0.115 0±0.019 0	0.078 6±0.005 4*	0.088 2±0.002 3*
螺杆菌属 <i>Helicobacter</i>	0.087 0±0.003 5	0.037 3±0.003 2*	0.057 6±0.003 0*+
<i>Barnesiella</i>	0.034 1±0.005 2	0.024 6±0.002 1	0.106 5±0.005 5*+
拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	0.020 1±0.004 1	0.074 5±0.005 6*	0.022 0±0.002 7+
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	0.041 4±0.004 1	0.004 3±0.001 8	0.062 4±0.001 5
另枝菌属 <i>Alistipes</i>	0.023 0±0.000 9	0.054 9±0.003 9*	0.029 4±0.003 2+
Uncultured_bacterium_f_Ruminococcaceae	0.071 1±0.003 8	0.016 2±0.000 9*	0.014 0±0.001 5*
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0.025 5±0.010 5	0.016 0±0.000 6	0.050 1±0.006 9+
Others	0.319 9±0.003 7	0.324 1±0.001 3	0.257 9±0.002 6

注：\*：不同组与空白组(CHE)显著差异( $P<0.05$ )；+：复合噬菌体裂解酶组与金霉素制剂组显著差异( $P<0.05$ )  
Note: \*: Represents significant difference between with blank group (CHE) ( $P<0.05$ ); +: Represents significant difference between different complex phage lysin group and chlortetracycline preparation group ( $P<0.05$ )

2.4 复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肝脏 SOD 指标的影响

评估日粮中添加金霉素制剂、复合噬菌体裂解酶制剂对白羽肉鸡肝脏中 SOD 活性的影响，分别测定白羽肉鸡肝脏中的 SOD 活性指标，测定结果如图 3 所示。对比 LYS200 组和 CKB 组处理后

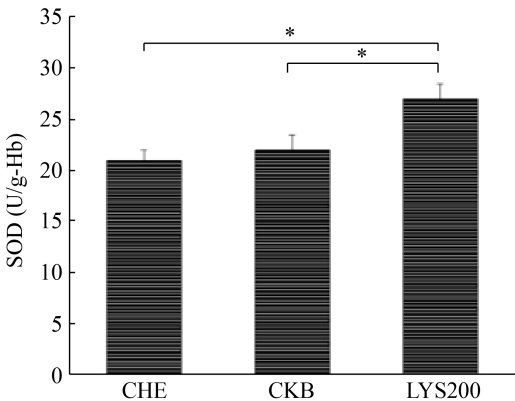


图 3 不同分组之间肝脏样品中 SOD 活性比较  
Figure 3 Comparison of SOD activity in plasma samples between different groups

注：\*：不同组与空白组(CHE)显著差异( $P<0.05$ )；+：复合噬菌体裂解酶组与金霉素制剂组显著差异( $P<0.05$ )  
Note: \*: Represents significant difference between with blank group (CHE) ( $P<0.05$ ); +: Represents significant difference between different complex phage lysin group and chlortetracycline preparation group ( $P<0.05$ )

的血清样品与空白组(CHE)之间 SOD 活性的差异，发现 LYS200 组肝脏的 SOD 活性与 CHE 组之间存在显著差异( $P<0.05$ )，而 CKB 组的 SOD 仅有少量增加，无显著性差异( $P>0.05$ )。比较 LYS200 组与 CKB 组之间的肝脏 SOD 活性，发现 LYS200 组显著高于 CKB 组肝脏的 SOD 活性( $P<0.05$ )。结果表明，复合噬菌体裂解酶与抗生素制剂均能够在一定程度上提升白羽肉鸡肝脏样品中的 SOD 活性，但复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肝脏中的 SOD 活性显著优于抗生素。

2.5 复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肝脏 GSH-Px 指标的影响

评估日粮中添加金霉素制剂与复合噬菌体裂解酶制剂对白羽肉鸡 GSH-Px 活性的影响，分别测定白羽肉鸡肝脏中 GSH-Px 的指标活性，对比结果如图 4 所示。比较饲喂 LYS200 组和 CKB 组的肝脏样品与空白组(CHE)之间 GSH-Px 活性的差异，发现饲喂 LYS200 组和 CKB 组中的肝脏 GSH-Px 活性均显著高于 CHE 组( $P<0.05$ )。比较 LYS200 组与 CKB 组的 GSH-Px 活性，发现 LYS200 组的肝脏 GSH-Px 活性略高于 CKB 组但无显著差异( $P>0.05$ )。结果表明，复合噬菌体裂解酶和抗生素



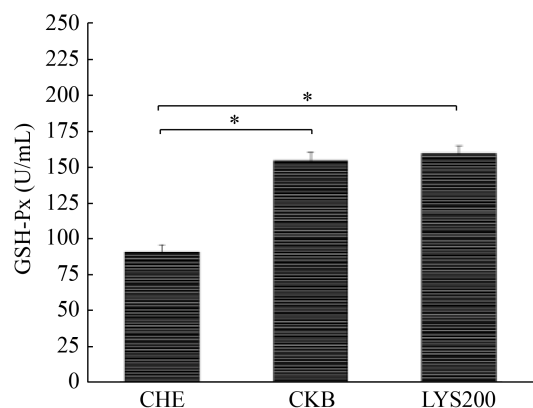


图4 不同分组之间肝脏样品 GSH-Px 活性比较

Figure 4 Comparison of GSH-Px activity of plasma samples between different groups

注: \*: 不同组与空白组(CHE)差异显著( $P < 0.05$ )

Note: \*: Represents significant difference between with blank group (CHE) ( $P < 0.05$ )

均能够有效提升白羽肉鸡肝脏的 GSH-Px 活性,而且复合噬菌体裂解酶和金霉素影响效果相似。

## 2.6 复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肝脏 CAT 指标的影响

评估日粮中添加金霉素制剂和复合裂解酶粉剂对白羽肉鸡 CAT 活性的影响,分别测定白羽肉鸡肝脏中 CAT 的指标活性,对比结果如图 5 所示。对比 LYS200 组和 CKB 组的肝脏样品与 CHE 组之

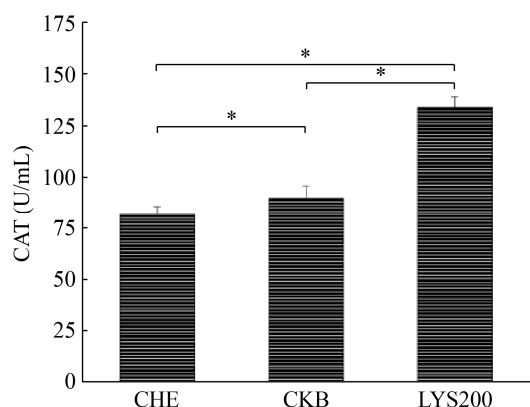


图5 不同分组之间肝脏样品中 CAT 活性比较

Figure 5 Comparison of CAT activity in plasma samples between different groups

注: \*: 不同组与空白组(CHE)差异显著( $P < 0.05$ )

Note: \*: Represents significant difference between with blank group (CHE) ( $P < 0.05$ )

间的 CAT 活性差异,发现饲喂 LYS200 和 CKB 组的白羽肉鸡肝脏 CAT 活性显著高于 CHE 组( $P < 0.05$ )。同时,比较 LYS200 组与 CKB 组之间的肝脏 CAT 活性,发现 LYS200 组显著高于 CKB 组( $P < 0.05$ )。结果表明,复合噬菌体裂解酶和抗生素均能够有效提升白羽肉鸡肝脏的 CAT 活性,而且复合噬菌体裂解酶的提升效果与金霉素相比效果更佳。

## 3 讨论与结论

本研究通过第二代测序技术对复合噬菌体裂解酶组和金霉素制剂组与空白组之间处理后的白羽肉鸡肠道菌群 16S rRNA 基因序列进行高通量测序,获得了一批高质量的数据,保证了下游肠道菌群结构分析的可靠性。通过多个  $\alpha$  指数评估饲喂噬菌体裂解酶与抗生素制剂后的白羽肉鸡肠道菌群丰富度与多样性,发现饲喂复合噬菌体裂解酶与抗生素制剂组方后,白羽肉鸡肠道菌群的丰富度和多样性均发生了不同程度的下降。其中,抗生素类制剂组饲喂畜禽后能够降低动物肠道菌群的丰富度和多样性已在诸多研究中证实<sup>[26-27]</sup>。对比抗生素组与复合噬菌体裂解酶组的丰富度与多样性,发现两者之间均无显著差异( $P > 0.05$ ),而且  $\alpha$  指数相差较小。这一结果表明,复合噬菌体裂解酶和抗生素产品对白羽肉鸡肠道菌群均有一定程度的影响,均能降低白羽肉鸡肠道菌群的丰富度和多样性。同时,经 NMDS 和 PCoA 分析发现,各样品组间明显分开,而且不同处理的生物学重复样品各自聚在一起,表明饲喂金霉素制剂与复合噬菌体裂解酶制剂组方后白羽肉鸡肠道菌群结构产生了不同的结构特征。因此,可以看出复合噬菌体裂解酶和金霉素对畜禽的肠道菌群会造成一定的影响但略有不同。

肠道微生物是动物机体的重要组成部分,维护动物正常生理和免疫功能及营养物质的消化吸收<sup>[32-33]</sup>。本研究在基础日粮的基础上分别添加复合噬菌体裂解酶和金霉素制剂饲喂白羽肉鸡后,

其肠道菌群在门分类水平上, 厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门的相对丰度占据前三, 尤其厚壁菌门和拟杆菌门占比较高, 该研究结果与以往大部分针对成年斑肉鸡的研究结果相似<sup>[34]</sup>。以往研究表明, 饲喂抗生素制剂能够显著降低变形菌门和 *Epsilonbacteraeota* 的相对丰度, 而拟杆菌门的丰度则会发生显著上升<sup>[35]</sup>, 这与本研究饲喂金霉素制剂的变化趋势一致。然而, 饲喂复合噬菌体裂解酶后拟杆菌门的相对丰度发生了上升, 厚壁菌门的相对丰富发生了下降, 这一趋势与其他部分替代抗生素产品饲喂家禽后相同<sup>[13,36-37]</sup>。值得注意的是, 降低厚壁菌门的相对丰度或者提升拟杆菌门的相对丰度会有利于畜禽的免疫和消化能力有效提升, 以往研究表明厚壁菌门/拟杆菌门比例与脂肪沉积有关<sup>[38-39]</sup>, 其比例越低越有助于改善畜禽的新陈代谢及减少脂肪沉积。因此, 可以发现饲喂复合噬菌体裂解酶后可能有助于提高畜禽的免疫与消化能力, 改善畜禽新陈代谢功能。此外, 饲喂复合噬菌体裂解酶后, 以厚壁菌门为主的革兰氏阳性菌相对丰度发生了显著下降, 而以变形菌门和梭杆菌门等为主的革兰氏阴性菌相对丰度则发生了显著上升, 这一结果与前期利用噬菌体裂解酶抑制革兰氏阳性菌效果较优于革兰氏阴性菌结果相同<sup>[20-22]</sup>。可见, 饲喂复合噬菌体裂解酶和抗生素后均能够影响白羽肉鸡肠道菌群, 而且噬菌体裂解与其他替抗产品影响效果具有相似性, 但也有自己独特的影响效果。

在属分类水平, 10 个优势细菌属的相对丰度对复合噬菌体裂解酶组饲喂白羽肉鸡发生了显著变化。尽管一些相对丰度变化较大的细菌其生物学功能尚不明了, 但其中部分细菌类群与宿主免疫、炎症发生等密切相关。粪杆菌属自 2013 年从豹和浣熊的粪便中首次分离得到, 是肠道和粪便中的优势菌群, 对肠内炎症发生起预防和治疗作用<sup>[40]</sup>。当前替抗饲料添加剂对粪杆菌属类群影响的研究极为罕见, 本研究首次报道了以复合噬

菌体裂解酶作为无抗饲料添加剂饲喂白羽肉鸡后对粪杆菌属细菌的影响, 结果显示, 饲喂金霉素制剂后肠道内粪杆菌属的相对丰度发生了显著上升, 表明金霉素制剂在炎症发生方面起着预防和治疗的作用。虽然饲喂金霉素制剂后白羽肉鸡肠道菌群中的粪杆菌属丰度比复合噬菌体裂解酶处理后的相对丰度上升幅度更大, 但这也证实了噬菌体裂解酶在畜禽抗菌消炎方面与抗生素具有相似的效果。同时, *Barnesiella* 菌属类群在肠道内定殖具有抵抗病原菌感染的能力<sup>[41]</sup>, 在饲喂复合噬菌体裂解酶后白羽肉鸡肠道内 *Barnesiella* 的相对丰度也发生了显著增加, 进一步证实噬菌体裂解酶在替代抗生素应用于畜禽防病、治病等方面具有良好的替抗潜力。此外, 瘤胃球菌属在降解纤维素方面起重要作用, 其部分代谢产物还能抑制瘤胃真菌对纤维素的降解作用<sup>[42]</sup>。巨单胞菌属、另枝菌属在鸡肠道中的生物学功能还鲜有报道, 但这类细菌已广泛用作动物肠道健康的评价指标之一。螺杆菌属是鸡肠道内主要的病原菌, 这类菌相对丰度的降低可减少肉鸡患肠道炎症的风险<sup>[43]</sup>。以上菌属在饲喂复合噬菌体裂解酶组后均发生了一定程度的变化, 说明噬菌体裂解酶作为无抗饲料添加剂饲喂白羽肉鸡后, 对于改善畜禽肠道的微生态平衡及促进畜禽健康等方面有着重要的作用。

噬菌体裂解酶和抗生素制剂通常都有自己独特的抑菌谱, 产生的抑菌活性往往随着菌株类别不同而略有差异。本研究中所利用的复合噬菌体裂解酶制剂中含有 2 种噬菌体裂解酶(TSPphg 和 MMPphg), 其中 TSPphg 的宿主菌和 MMPphg 的宿主菌分别为亚栖热菌属 TC6 (革兰氏阴性菌高温菌)<sup>[20]</sup>和亚栖热菌属 TG7<sup>[21]</sup>, 其抑菌谱分别为表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、副伤寒沙门氏菌(*S. paratyphi* B)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)等

(TSPpgh)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella ser. Typhi*)、痢疾志贺氏菌(*Shigella dysenteriae*)、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)等(MMPpgh)<sup>[44-45]</sup>,而且前期研究发现在其抑菌谱的范围内对革兰氏阳性菌的抑菌活性高于革兰氏阴性菌<sup>[20-21]</sup>。比较分析噬菌体裂解酶的抑菌谱与肠道菌群变化,结果发现噬菌体裂解酶抑菌谱中的枯草芽孢杆菌属于厚壁菌门,对比 CHE、LYS200 组发现 LYS200 组厚壁菌门的部分菌属(巨单胞菌属、Uncultured\_bacterium\_f\_Ruminococcaceae 等)的相对丰度发生了下降,推测本研究的噬菌体裂解酶在其抑菌谱范围内可能对厚壁菌门的细菌产生了抑菌活性。同时,噬菌体裂解酶抑菌谱中的大肠杆菌属于变形菌门,而螺杆菌属也同为变形菌门,对比 CHE、LYS200 组发现,LYS200 组螺杆菌属的相对丰度发生了显著性下降( $P<0.05$ ),这表明噬菌体裂解酶对革兰氏阴性菌中的变形菌门也具有抑菌作用。此外,分析 *Barnesiella* 属的变化,对比 CKB、LYS200 组发现,CKB 组 *Barnesiella* 属的相对丰度发生了下降,而 LYS200 组中反而升高了,这种差异可能是由于金霉素是一类抗菌谱广的抗生素药物,可作用于一系列有机体,如革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、支原体、衣原体等致病菌<sup>[46]</sup>,而噬菌体裂解酶对革兰氏阴性菌拟杆菌门中的 *Barnesiella* 不具有抑菌杀灭作用。*Barnesiella* 在抵抗感染性病原菌的定殖上具有促进作用,是有益菌,在这种情况下,饲喂噬菌体裂解酶后更有利于 *Barnesiella* 属的增殖。这一研究结果证实了金霉素无论是对革兰氏阳性菌还是革兰氏阴性菌都具有较强的抑菌活性,而噬菌体裂解酶对革兰氏阳性菌具有较强的抑菌活性,但只对一部分革兰氏阴性菌具有作用。

肝脏抗氧化酶的活性高低间接体现了畜禽机

体免疫水平的高低<sup>[47]</sup>。在本研究中,利用复合噬菌体裂解酶饲喂白羽肉鸡后,肝脏中的 SOD、GSH-Px、CAT 酶活性均出现不同程度的变化。其中,复合噬菌体裂解酶组与空白组相比,肝脏中的 SOD、GSH-Px、CAT 酶活性均发生了显著上升( $P<0.05$ ),表明饲喂复合噬菌体裂解酶后能够有效提升白羽肉鸡的肝脏抗氧化酶活性,可有效防止  $H_2O_2$  对机体造成的损伤,对畜禽免疫力的提升有着极为重要的作用。此外,复合噬菌体裂解酶组的肝脏 SOD、GSH-Px、CAT 活性与抗生素制剂相比,SOD 活性和 CAT 活性也存在显著差异,表明噬菌体裂解酶在提高畜禽免疫力方面具有一定作用,这也进一步证实了噬菌体裂解酶对于畜禽的安全性。

本文首次利用复合噬菌体裂解酶制剂与抗生素产品分别饲喂白羽肉鸡,比较其肠道菌群结构和抗氧化指数的变化。结果证实,复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肠道菌群结构和抗氧化指数均有不同程度的影响,特别是能够显著提高白羽肉鸡肠道的有益菌群与肝脏中的抗氧化能力。对比市场已有的抗生素产品,噬菌体裂解酶与其影响的肠道菌群种类虽然不一,但与其他多种替代抗生素产品的影响结果相似,而且其对于提高血清中的抗氧化酶活性、增强畜禽免疫力及改善肠道微生态平衡等方面更为有效。值得注意的是,虽然噬菌体裂解酶具有上述有益作用,却由于噬菌体裂解酶属于蛋白类物质,易被机体消化吸收且饲喂剂量小,因此无法检测噬菌体裂解酶在鸡粪中的残留情况。然而已有研究表明噬菌体裂解酶在体内的安全性以及噬菌体裂解酶代替抗生素作为防治畜禽疾病的制剂<sup>[48-49]</sup>。本研究在当前我国面临饲料中禁用抗生素的重要关键节点,评估了制备获得的复合噬菌体裂解酶对家禽肠道菌群的微生态环境与对肝脏的抗氧化指标,这对于提供一种有效、安全的抗生素替代品应用于饲料提供了重要的参考价值。

## REFERENCES

- [1] Schmelcher M, Donovan DM, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials[J]. *Future Microbiology*, 2012, 7(10): 1147-1171
- [2] Loessner MJ. Bacteriophage endolysins — current state of research and applications[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8(4): 480-487
- [3] Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Górski A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2006, 231(4): 366-377
- [4] Nelson D, Schuch R, Chahales P, Zhu SW, Fischetti VA. PlyC: a multimeric bacteriophage lysin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(28): 10765-10770
- [5] Baker JR, Liu CB, Dong SL, Pritchard DG. Endopeptidase and glycosidase activities of the bacteriophage B30 lysin[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(10): 6825-6828
- [6] Carlos SJ, Ricardo P, Graca V, Mário AS. The n-terminal region of the bacteriophage fog44 lysin behaves as a bona fide signal peptide in *Escherichia coli* and as a cis-inhibitory element, preventing lytic activity on oenococcal cells[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(20): 5823-5831
- [7] Entenza JM, Loeffler JM, Grandgirard D, Fischetti VA, Moreillon P. Therapeutic effects of bacteriophage cpl-1 lysin against *Streptococcus pneumoniae* endocarditis in rats[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(11): 4789-4792
- [8] Walmagh M, Boczkowska B, Grymonprez B, Briers Y, Drulis-Kawa Z, Lavigne R. Characterization of five novel endolysins from Gram-negative infecting bacteriophages[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(10): 4369-4375
- [9] Fischetti VA. Bacteriophage endolysins: a novel anti-infective to control Gram-positive pathogens[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2010, 300(6): 357-362
- [10] Loessner MJ, Wendlinger G, Scherer S. Heterogeneous endolysins in *Listeria monocytogenes* bacteriophages: a new class of enzymes and evidence for conserved holin genes within the siphoviral lysis cassettes[J]. *Molecular Microbiology*, 1995, 16(6): 1231-1241
- [11] Lei CL, Dong GZ. Regulation of intestinal mucosal immunity by intestinal flora in animals[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(3): 416-422 (in Chinese)  
雷春龙, 董国忠. 肠道菌群对动物肠黏膜免疫的调控作用[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(3): 416-422
- [12] Liu CH, Yang XQ, Liu CH, He Y, Wang LJ. Allergic airway response associated with the intestinal microflora disruption induced by antibiotic therapy[J]. *Chinese Journal of Pediatrics*, 2007, 45(6): 450-454 (in Chinese)
- [13] Jiang ZY, Zhou YM, Xu Y, Jia DH, Wang GL, Wang T. Effects of xylooligosaccharides, probiotics and antibiotics on intestinal microflora and performance of broilers[J]. *Ecology of Domestic Animal*, 2005, 26(2): 11-15 (in Chinese)  
蒋正宇, 周岩民, 许毅, 贾代汉, 王桂玲, 王恬. 低聚木糖、益生菌及抗生素对肉鸡肠道菌群和生产性能的影响[J]. *家畜生态学报*, 2005, 26(2): 11-15
- [14] Yu LX, Schwabe RF. The gut microbiome and liver cancer: mechanisms and clinical translation[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 14(9): 527-539
- [15] Chen QC, Saatkamp HW, Cortenbach J, Jin WD. Comparison of Chinese broiler production systems in economic performance and animal welfare[J]. *Animals*, 2020, 10(3): 491
- [16] Niu JL, Zhang J, Wei LQ, Ma X, Zhang WJ, Nie CX. Cottonseed meal fermented by *Candida tropicalis* reduces the fat deposition in white-feather broilers through cecum bacteria-host metabolic cross-talk[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(10): 4345-4357
- [17] Niu JL, Wei LQ, Luo YQ, Yang WT, Lu QC, Zheng XX, Niu YJ, Sheng W, Cheng H, Zhang WJ, et al. Fermented cottonseed meal improves production performance and reduces fat deposition in broiler chickens[J]. *Animal Bioscience*, 2021, 34(4): 680-691
- [18] Gu XX, Zhang J, Li JJ, Wang ZH, Feng J, Li JZ, Pan KC, Ni XQ, Zeng D, Jing B, et al. Effects of *Bacillus cereus* PAS38 on immune-related differentially expressed genes of spleen in broilers[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2020, 12(2): 425-438
- [19] Wang F, Ji XY, Li QP, Zhang GL, Peng JN, Hai J, Zhang Y, Ci BQ, Li HW, Xiong Y, et al. TSPphg lysin from the extremophilic *Thermus* bacteriophage TSP<sub>4</sub> as a potential antimicrobial agent against both Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria[J]. *Viruses*, 2020, 12(2): 192
- [20] Ji XY. Study on the bacteriostasis of lysin TSPpgh from a thermophilic phage[D]. Kunming: Master's Thesis of Kunming University of Science and Technology, 2019 (in Chinese)  
嵇歆戣. 高温噬菌体裂解酶 TSPpgh 的抑菌作用研究[D]. 昆明: 昆明理工大学硕士学位论文, 2019
- [21] Xiong Y. Characteristics of *Meiothermus* phage MMP7' genomics and its lysin MMPpgh[D]. Kunming: Master's Thesis of Kunming University of Science and Technology, 2019 (in Chinese)  
熊燕. 亚栖热菌噬菌体 MMP7 的基因组及裂解酶 MMPpgh 的特征研究[D]. 昆明: 昆明理工大学硕士学位论文

论文, 2019

- [22] Lin LB, Zhang GL, Xiong Y, Ji XY, Cai SB, Deng XY, Wang F, Zhang QL, Guo J. Bacteriophage lysin complex powder and its preparation method and application: CN110592056A[P]. 2019-12-20 (in Chinese)  
林连兵, 张关令, 熊燕, 嵇歆歆, 蔡赛波, 邓先余, 王峰, 张麒麟, 郭军. 噬菌体裂解酶复合粉剂及其制备方法和应用: CN110592056A[P]. 2019-12-20
- [23] Li CZ, Zhang HF. NRC (1998) 10th edition of pig nutritional needs scale[J]. Animal Science Abroad: Feed, 1998(3): 37-48 (in Chinese)  
李长忠, 张宏福. NRC (1998)第十版猪营养需要量表[J]. 国外畜牧学: 饲料, 1998(3): 37-48
- [24] Xiong BH, Luo QY, Zhou ZK. Tables of feed composition and nutritive values in China (2018 twenty-ninth edition)[J]. China Feed, 2019(21): 63-73 (in Chinese)  
熊本海, 罗清尧, 周正奎. 中国饲料成分及营养价值表 (2018 年第 29 版)制订说明[J]. 中国饲料, 2019(21): 63-73
- [25] Chen J. General Administration of Quality Supervision Introduction to the latest national standards issued by the National Standards Committee[J]. Supervision and Selection, 2005(10): 18-19 (in Chinese)  
陈九. 国家质检总局 国家标准委最新颁布的国家标准简介[J]. 监督与选择, 2005(10): 18-19
- [26] Zeng CX, Lin M, Li ZQ, Ma Y, Wang SH. The structural and functional characteristics of the gut microbiota of *Marsupenaeus japonicus* as revealed by 16S rRNA gene amplicon sequencing[J]. Microbiology China, 2020, 47(6): 1857-1866 (in Chinese)  
曾晨熾, 林茂, 李忠琴, 马英, 王淑红. 基于 16S rRNA 基因扩增子测序分析日本囊对虾肠道菌群结构与功能的特征[J]. 微生物学通报, 2020, 47(6): 1857-1866
- [27] Wei BL, Liu CG, Xiao YS, Peng Z, Huang T, Guan QQ, Xiong T. Bacterial diversity analysis using Illumina HiSeq sequencing of Jiangshui, a Chinese fermented vegetable food, and its physicochemical properties[J]. Food Science, 2019, 40(6): 62-68 (in Chinese)  
魏本良, 刘长根, 肖阳生, 彭珍, 黄涛, 关倩倩, 熊涛. 基于 Illumina HiSeq 技术分析浆水中细菌多样性及理化性质[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 62-68
- [28] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963
- [29] Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120
- [30] Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. Bioinformatics, 2011, 27(16): 2194-2200
- [31] Duncan DB. Multiple range and multiple *F* tests[J]. Biometrics, 1955, 11(1): 1
- [32] Yuan L, Li WL, Du CH, Wang ZX, Yi BD, Wang MF. Effects of coptidis powder for detoxification and flavomycin on ileal microflora in broilers of different ages[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2020, 49(2): 142-149 (in Chinese)  
袁林, 李万利, 杜晨红, 王志祥, 易宝弟, 王明发. 黄连解毒散和黄霉素对不同日龄肉鸡回肠菌群结构的影响[J]. 河南农业科学, 2020, 49(2): 142-149
- [33] Zhu BQ, Ding XM, Yu B, Chen DW, Wu XQ. Effects of dietary organic acids and flavomycin on production performance and gut micro-ecology in broilers[J]. Feed and Husbandry, 2007(7): 12-15 (in Chinese)  
朱碧泉, 丁雪梅, 余冰, 陈代文, 吴秀群. 复合有机酸和黄霉素对肉鸡生产性能及肠道微生态影响的比较[J]. 饲料与畜牧, 2007(7): 12-15
- [34] Yamashiro Y. Gut microbiota in health and disease[J]. Annals of Nutrition and Metabolism, 2017, 71(3/4): 242-246
- [35] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. Nature, 2012, 489(7415): 242-249
- [36] Wang HL, Liu DD, Jiang SW, Wang JQ, Wang Z, Sun TL. Effects of compound probiotics and *Astragalus* polysaccharide on growth performance, intestinal microflora and immune function of broilers[J]. Feed Industry, 2014, 35(6): 10-14 (in Chinese)  
王虹玲, 刘丹丹, 姜诗文, 王家庆, 汪琢, 孙天利. 复合微生态制剂与黄芪多糖对肉鸡生长性能、肠道菌群和免疫功能的影响[J]. 饲料工业, 2014, 35(6): 10-14
- [37] Kanda T, Hiroi M, Sugiyama K, Kubo R, Noda Y, Hara-Kudo Y, Matsui S, Iida N, Ohashi N. Factors for occurrence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers[J]. The Journal of Veterinary Medical Science, 2012, 74(12): 1635-1637
- [38] Jia G, Yan JY, Wang H, Huang L, Liu XL, Wang KN. Effects of slow-release compound acidifiers on gastrointestinal pH and immune index of avine broilers and ammonia concentration in chicken house[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2009, 21(5): 747-754 (in Chinese)  
贾刚, 晏家友, 王辉, 黄兰, 刘小莉, 王康宁. 缓释复合酸化剂对艾维茵白羽肉鸡消化道酸度、免疫指标及鸡舍氨浓度的影响[J]. 动物营养学报, 2009, 21(5): 747-754
- [39] Yu JM, Che Z, Qi XY, Xie QX, Zheng JH, Liu XJ, Gu W, Shan BL. Effects of compound probiotics and antibiotics on growth performance, intestinal flora and immune function of broilers[J]. China Animal Husbandry & Veterinary

- Medicine, 2018, 45(8): 2219-2226 (in Chinese)
- 于佳民, 陈振, 齐秀晔, 谢全喜, 郑军红, 刘学江, 谷巍, 单宝龙. 复合微生态制剂、饲用抗生素对肉鸡生长性能、肠道菌群数量和免疫性能的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(8): 2219-2226
- [40] Endo A, Irisawa T, Futagawa-Endo Y, Salminen S, Ohkuma M, Dicks L. *Lactobacillus faecis* sp. nov., isolated from animal faeces[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(Pt 12): 4502-4507
- [41] Ubeda C, Bucci V, Caballero S, Djukovic A, Toussaint NC, Equinda M, Lipuma L, Ling LL, Gobourne A, No D, et al. Intestinal microbiota containing *Barnesiella* species cures vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* colonization[J]. Infection and Immunity, 2013, 81(3): 965-973
- [42] Stewart CS, Duncan SH, Flint HJ. The properties of forms of *Ruminococcus flavefaciens* which differ in their ability to degrade cotton cellulose[J]. FEMS Microbiology Letters, 1990, 72(1/2): 47-50
- [43] Hu SK, Xu JG. Research of *Helicobacter* spp. and its pathogenicity[J]. Disease Surveillance, 2014, 29(4): 321-326 (in Chinese)
- 胡守奎, 徐建国. 螺杆菌属及其致病性研究[J]. 疾病监测, 2014, 29(4): 321-326
- [44] Wang F, Zhang GL, Peng JN, Ji XY, Hai J, Deng XY, Lin LB. High cell-density fermentation, expression and purification of bacteriophage lysin TSPphg, a thermostable antimicrobial protein from extremophilic *Thermus* bacteriophage TSP<sub>4</sub>[J]. Protein Expression and Purification, 2020, 174: 105676
- [45] Wang F, Ji XY, Li QP, Zhang GL, Peng JN, Hai J, Zhang Y, Ci BQ, Li HW, Xiong Y, et al. TSPphg lysin from the extremophilic *Thermus* bacteriophage TSP<sub>4</sub> as a potential antimicrobial agent against both Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria[J]. Viruses, 2020, 12(2): 192
- [46] Reinbold JB, Coetzee JF, Hollis LC, Nickell JS, Riegel C, Olson KC, Ganta RR. The efficacy of three chlortetracycline regimens in the treatment of persistent *Anaplasma marginale* infection[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 145(1/2): 69-75
- [47] Chen H, Wang CJ, Simujide, Zhang C, Cao JM, Wu ST, Xu P, Liu FH, Aorigele. Effects of supplementary feeding on growth performance, body size indexes and serum antioxidant, biochemical indexes of grazing cows during growing period[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(11): 5267-5274 (in Chinese)
- 陈浩, 王纯洁, 斯木吉德, 张晨, 曹家铭, 武思同, 徐萍, 刘飞鸿, 敖日格乐. 育成期补饲对放牧牛生长性能、体尺指标及血清抗氧化、生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(11): 5267-5274
- [48] Stanford K, McAllister TA, Niu YD, Stephens TP, Mazzocco A, Waddell TE, Johnson RP. Oral delivery systems for encapsulated bacteriophages targeted *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle[J]. Journal of Food Protection, 2010, 73(7): 1304-1312
- [49] Schuch R, Nelson D, Fischetti VA. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*[J]. Nature, 2002, 418(6900): 884-889