

刘剑华, 张光际, 袁橙, 等. 基于 16S rDNA 测序分析柔嫩艾美耳球虫感染对鸡盲肠菌群的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (3): 99-105.
LIU J H, ZHANG G J, YUAN C, et al. Analysis of cecal microbiota in chickens infected with *Eimeria tenella* based on the 16S rDNA sequencing technology [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (3): 99-105.

基于 16S rDNA 测序分析柔嫩艾美耳球虫感染对鸡盲肠菌群的影响

刘剑华¹, 张光际^{2*}, 袁橙¹, 卢妍彤¹

(1. 江苏农牧科技职业学院动物医学院, 江苏 泰州 225300;

2. 泰州职业技术学院医学院, 江苏 泰州 225300)

摘要: 为探究柔嫩艾美耳球虫感染对鸡盲肠菌群的影响, 采集对照组和球虫感染组雏鸡盲肠内容物, 提取 DNA, 16S rDNA 测序分析鸡盲肠菌群丰度、多样性的变化, 采用粪菌移植验证正常鸡肠道菌群对柔嫩艾美耳球虫感染的保护作用。16S rDNA 测序结果显示, 柔嫩艾美耳球虫感染后盲肠内菌群丰度、多样性显著降低。在门水平上, 感染前, 两组雏鸡盲肠的优势菌门均为厚壁菌、变形菌、放线菌; 感染后厚壁菌门丰度下降, 变形菌门、放线菌门的丰度上升, 差异显著 ($P < 0.05$), 感染组出现了拟杆菌门。在属水平上, 与对照组相比, 感染组鸡盲肠微生物菌群中乳杆菌属、埃希菌-志贺菌属、拟杆菌属、罗姆布茨菌属、棒状杆菌属、肠球菌属、变形杆菌属丰度增加但差异不显著 ($P > 0.05$), 毛螺菌科未定属、瘤胃球菌属、梭菌 UCG-014、瘤胃球菌科未定属丰度显著下降 ($P < 0.05$), GCA-900066575 丰度降低但差异不显著 ($P > 0.05$)。粪菌移植结果显示, 与生理盐水移植组相比, 盲肠内容物移植组和粪便移植组能显著减轻柔嫩艾美耳球虫感染后鸡增重降低的影响, 减轻盲肠损伤, 卵囊产量显著下降 ($P < 0.05$)。盲肠内容物移植组和粪便移植组的抗球虫指数分别为 173.12 和 164.38, 可以抵抗柔嫩艾美耳球虫的感染。以上结果表明, 柔嫩艾美耳球虫感染破坏了原始肠道菌群, 鸡盲肠的组成和结构被改变, 促进了以埃希菌-志贺菌为代表的致病菌快速生长和定殖, 而正常鸡肠道内存在益生菌, 可保护机体对抗柔嫩艾美耳球虫感染。

关键词: 鸡; 柔嫩艾美耳球虫; 肠道菌群; 16S rDNA 测序; 粪菌移植

中图分类号: S852.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)03-0099-07

Analysis of cecal microbiota in chickens infected with *Eimeria tenella* based on the 16S rDNA sequencing technology

LIU Jianhua¹, ZHANG Guangji^{2*}, YUAN Cheng¹, LU Yantong¹

(1. College of Animal Medicine, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China;

2. College of Medicine, Taizhou Polytechnic College, Taizhou 225300, China)

Abstract: To explore the effect of *Eimeria tenella* infection on the cecal flora of chickens, the cecal contents in chickens in the control group and the infected group were collected and their DNA was extracted. 16S rDNA sequencing was used to analyze the changes in the abundance and diversity of the cecal flora. The 16S rDNA sequencing results showed that, compared with the control group, the abundance and diversity of bacteria in the cecum of the treated group were significantly reduced. At the phylum level, the dominant microbiota in the control group and the treat group were *Firmicutes*, *Proteobacteria*, and *Actinobacteriota*. After *Eimeria tenella* infection, the abundance of *Firmicutes* decreased, and those of *Proteobacteria* and *Actinobacteriota* were increased, the difference was significant ($P < 0.05$). At the same time, the dominant *Bacteroidot* appeared in the treated group. At the genus level, the abundances of *Lactobacillus*, *Escherichia-Shigella*, *Bacteroides*, *Rombutes*, *Corynebacterium*, *Enterococcus* and *Proteus* in the cecal microflora of the chickens in the treated group was increased, compared with that of the control group, but the difference was not significant ($P > 0.05$). The abundances of *f-Lachnospiraceae_unclassified*, the [*Ruminococcus*] *_torques_group*, *Clostridia_UCG-014*, *f-Ruminococcaceae_unclassified* were decreased significantly ($P < 0.05$). GCA-900066575 was also decreased but not significantly ($P > 0.05$). The results of the fecal microbiota transplantation showed that the cecal

收稿日期: 2023-01-29; 修回日期: 2023-12-25

基金项目: 江苏省泰州市“凤城英才”青年科技人才托举工程 (1710021005); 江苏高校“青蓝工程”资助项目 (苏教师函〔2020〕10号); 江苏农牧科技职业学院项目 (NSF2022ZR08)

第一作者: 刘剑华, 女, 硕士, 助教

* 通信作者: 张光际, 讲师, 研究方向: 肠道菌群作用机制研究, E-mail: 15861812316@163.com。

content transplantation group and the fecal bacteria transplantation group significantly reduced the weight gain of the chickens infected with *Eimeria tenella*, alleviated the cecal injury and OPG significantly, as compared with the saline transplantation group. The anticoccidial indexes of the cecal contents transplantation group and the fecal microbiota transplantation group were 173.12 and 164.38, respectively. The above results indicated that *Eimeria tenella* infection destroyed the original intestinal flora, changed the composition and structure of the chicken cecum, and promoted the rapid growth and colonization of pathogenic bacteria represented by *Escherichia-Shigella*, while the presence of probiotics in intestines of normal chickens protect them against *Eimeria tenella* infection.

Keywords: chicken; *Eimeria tenella*; intestinal flora; 16S rDNA sequencing; fecal microbiota transplantation

柔嫩艾美耳球虫 (*Eimeria tenella*) 是危害现代集约化养禽生产最严重一种寄生虫^[1]。它能引起病鸡盲肠肿胀、出血, 增重减少, 饲料转化率下降, 甚至造成死亡。全球每年因鸡球虫病导致的经济损失超 104 亿英镑^[2]。肠道菌群、寄生虫和宿主三者之间关系密切^[3]。肠道菌群可影响寄生虫在宿主体内的入侵和毒力^[4], 寄生虫感染则会引起机体肠道菌群稳态失衡、丰度降低, 甚至引发系列疾病^[5]。当前, 有关鸡球虫与肠道菌群相互作用的研究较少, 大多是评估已知或公认的益生菌对鸡球虫感染的保护效果。球虫感染后鸡肠道菌群的变化及鸡肠道内是否存在有益生菌还不清晰。已有研究表明, 一些肠道益生菌可治疗或预防寄生虫感染^[6-7]。本研究基于 16S rDNA 测序和粪菌移植技术, 分析柔嫩艾美耳球虫感染后鸡盲肠菌群的变化, 证实了正常鸡肠道菌群对该球虫感染具有保护作用, 确定了益生菌的存在, 以期从肠道微生物多样性角度为鸡球虫病的防制和致病机理研究提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 试验动物与虫株

1 日龄海蓝褐雏鸡购自南京特给力种植专业合作社鸡场, 饲养于消毒、无球虫的环境中, 自由采食和饮水, 饲料与饮水中不含抗球虫药物。柔嫩艾美耳球虫卵囊: 由南京农业大学兽医寄生虫教研室惠赠, 存于浓度为 2.5% 重铬酸钾溶液中, 置于 4 °C 冰箱中保存, 每 3~4 个月经鸡体复苏 1 次。

1.2 主要试剂

HiPure Stool DNA Kit DNA 试剂盒购自 Megan 公司; Qubit® dsDNA HS Assay Kit 试剂盒购自 Invitrogen 公司。

1.3 16S rDNA 测序分析

1.3.1 分组与攻虫

将体重相近, 体况良好的 20 只 14 日龄海蓝褐雏鸡随机平均分为对照组和感染组, 感染组的鸡在 14 日龄, 每只经口接种 5×10^4 个新鲜的柔嫩艾美耳球虫卵囊, 对照组灌服同体积生理盐水。21 日龄每组随机剖杀 3 只鸡, 标记为对照组 1、对照组 2、对照组

3、感染组 1、感染组 2、感染组 3, 无菌取盲肠内容物冻存于液氮中。

1.3.2 盲肠菌群 DNA 提取

使用 HiPure Stool DNA Kit 盒提取盲肠内容物 DNA, 具体步骤按照说明书操作; 提取好的 DNA, 用 Qubit® dsDNA HS Assay Kit 检测 DNA 浓度。

1.3.3 16S rDNA 基因 PCR 扩增及测序

以 20~30 ng DNA 为模板, 用 GENEWIZ 公司合成的 PCR 引物 (F: 5' - CCTACGGRRBGCAS-CAGKVRVGAAT - 3', R: 5' - GGACTACNVGGGT-WTCTAATCC - 3') 扩增原核生物 16S rDNA 上包括 V3 及 V4 的 2 个高度可变区。通过 PCR 向 16S rDNA 的 PCR 产物末端加上带有 Index 的接头, 以便进行 NGS 测序。最后 PCR 产物文库用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并利用胶回收进行纯化, 形成测序文库, 通过酶标仪检测文库浓度。委托 GENEWIZ, Inc (South Plainfield, NJ) 公司利用 Illumina MiSeq/Novaseq 平台进行 PE250/FE300 双端测序, 获得原始测序数据。

1.3.4 测序数据分析

原始数据经过质量过滤, 去除嵌合体序列, 最终得到的序列用于聚类分析, 每 1 个聚类称为 1 个物种可操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTU)。采用 Vsearch (1.9.6) 软件进行序列聚类 (序列相似性设为 97%) 得到多个可操作分类单元, 采用 Qiime 软件分析 α 多样性指数, 包括菌群丰度的指数: ACE 指数、Chao1 指数; 菌群多样性的指数: Simpson、Shannon, 测序深度的指数: 微生物覆盖率 (goods Coverage)。 β 多样性分析: 采用非加权距离分析比较样本间是否有显著的微生物群落差异, 主坐标分析比较不同样本在物种多样性方面存在的相似程度。

1.4 粪菌移植探究鸡肠道菌群对球虫感染的影响

1.4.1 分组与攻虫

选取将体重相当, 体况良好的 120 只 14 日龄海蓝褐雏鸡随机分为对照组和感染组 (60 只/组), 再将感染组平均细分为盲肠内容物移植组 (20 只/组)、粪菌移植组 (20 只/组) 和生理盐水移植组

(20只/组)。盲肠内容物移植组、粪菌移植组、生理盐水移植组在14日龄每只鸡均经口感染新鲜卵囊 5×10^4 个/羽。

1.4.2 菌群移植

感染后1~7 d, 每日剖杀对照组5只鸡, 无菌取新鲜的5 g盲肠内容物, 加入无菌生理盐水, 配成50 mL悬液并搅拌均匀。2 000 r/min离心滤液10 min。将离心后的悬液用经过灭菌的3层滤布(纱布、80目滤布、150目滤布)分别进行过滤, 最后取均一的10 mL混悬液。将混悬液以500 μ L/只经口灌胃给盲肠内容物移植组。

感染后1~7 d, 每日随机无菌采集新鲜对照组粪便50 g, 加入无菌生理盐水至500 mL, 并搅拌均匀。将混悬液经2.0 mm的滤网过滤, 2 000 r/min离心滤液10 min。将离心后的悬液用经过灭菌的3层滤布(纱布、80目滤布、150目滤布)分别进行过滤, 最后取均一的10 mL混悬液, 以500 μ L/只经口灌胃给粪便菌移植组。

感染后1~7 d, 每日以500 μ L/只无菌生理盐水经口灌胃生理盐水移植组。

1.4.3 效果判定

感染后第8天, 剖杀盲肠内容物移植组、粪菌移植组、生理盐水移植组所有鸡以及对照组20只鸡, 称重、观察肠道病变并记分、收集盲肠内容物, 计算每克肠内容物的卵囊数(oocysts per gram content, OPG)。根据增重率、存活率、病变记分、卵囊扣分

等计算抗球虫指数(anti-coccidial index, ACI)^[8]来评估效果, 公式为: $ACI = (\text{存活率} + \text{相对增重率}) - (\text{病变值} + \text{卵囊值})$ 。

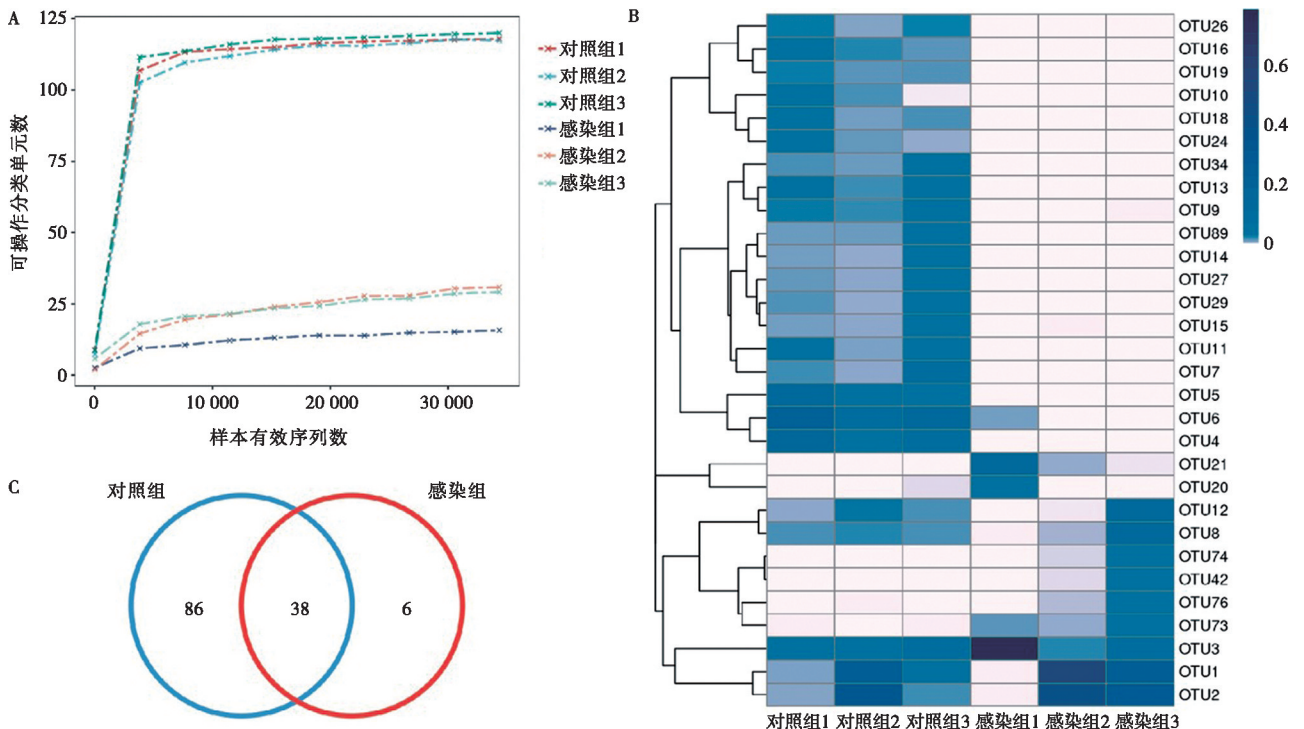
1.5 统计学分析

计量资料采用R软件Version 3.5.3进行数据分析及处理。独立样本正态分布数据且方差齐时采用*t*检验统计分析, 非正态分布数据或方差不齐时采用*U*检验统计分析, 在单纯方差不齐时, *P*值首选矫正值, 只在非正态时选择*U*检验, *P*<0.05认为有统计学意义。采用SPSS 18.0对数据进行组间方差分析, Duncan's多重比较法进行差异显著性检验, *P*<0.05表示差异显著, *P*>0.05表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 可操作分类单元的聚类分析

稀释曲线出现平台期提示样本测序深度达标, 当序列接近30 000时再增加序列产生很少新的可操作分类单元(图1A), 提示试验测序深度足够, 能反映样本中绝大多数微生物信息。可操作分类单元的丰度聚类热图(图1B)可以看出, 与对照组相比, 感染组的可操作分类单元聚类丰度明显变少。通过两组样本聚类得到的可操作分类单元差异韦恩图看出(图1C), 对照组和感染组共有38个相同可操作分类单元, 对照组有86个特征可操作分类单元的, 感染组有6个特征可操作分类单元。表明球虫感染后, 鸡盲肠内菌群丰度降低, 鸡盲肠内菌群紊乱。



A. 样本稀释曲线; B. 丰度聚类热图; C. 韦恩图。

图1 对照组和感染组的可操作分类单元聚类分析

2.2 组间 α 多样性指数分析

α 多样性反映单个样品内部的物种多样性。goods Coverage 表示各样本文库的覆盖率，其数值越高，样本中序列没有被测出的概率越低，本研究中 goods Coverage 未见差异 ($P>0.05$)，表明测序深度充分。ACE 指数用来估计群落中含有可操作分类单元数目，Chao1 指数是用 Chao1 算法估计样本中所含

可操作分类单元数目，Shannon 用来估算样本中微生物多样性，Simpson 在生态学中常用来定量的描述一个区域的生物多样性，这些指数数值越大，说明样品物种多样性越高。与对照相比，感染组 ACE、Chao1、Simpson 显著降低 ($P<0.05$)，Simpson 下降但差异不显著，表明感染球虫后，鸡盲肠中菌群丰度和多样性降低 (表 1)。

表 1 对照组和感染组的 α 多样性比较

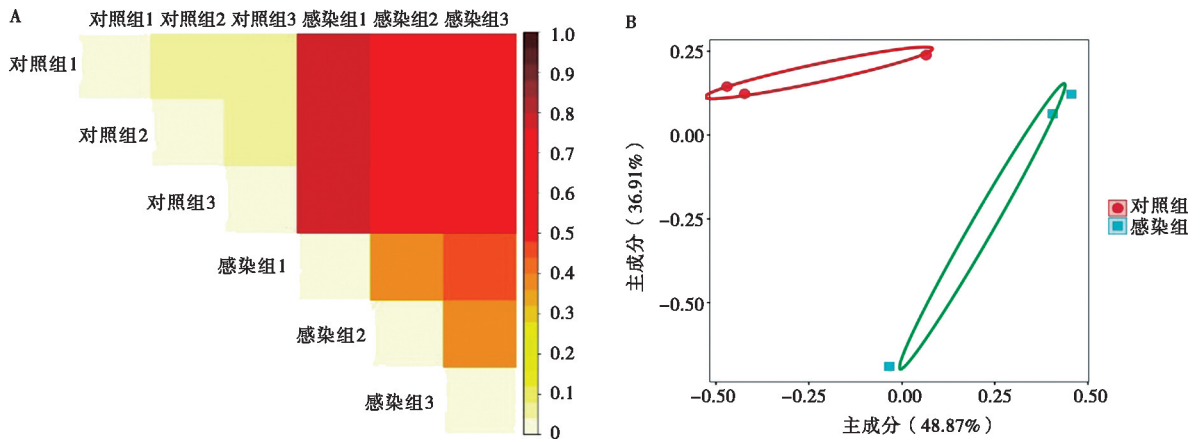
组别	ACE	Chao1	Shannon	Simpson	goods Coverage
对照	119.69±1.08 ^a	119.19±0.99 ^a	5.10±0.79 ^a	0.93±0.06 ^a	1.00±0.00 ^a
感染	40.85±21.08 ^b	38.54±18.49 ^b	1.88±1.13 ^b	0.59±0.23 ^a	1.00±0.00 ^a

注：同一指标组间数据比较，肩标字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)，字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$)。下同。

2.3 组间 β 多样性指数分析

β 多样性是通过各样本的物种组成及丰度信息来反映样本间的关系。非加权距离矩阵热图中颜色深浅代表了样本两两之间的相异程度，颜色越浅表示两个样本相异系数越小，物种多样性的差异越小。本研究中对照组和感染组颜色差异较大 (图 2A)。主坐标

分析中颜色相同的点表示同一分组，点间距离越近提示群落构成差异越小，样品群落组成越相似。本研究中对照组样本点和感染组样本点完全分开，两组内菌群明显聚集，而不同组间样本存在显著差异 (图 2B)，可见球虫感染后，鸡盲肠菌群的整体结构与组成发生了较大的变化。



A. 非加权距离矩阵热图; B. 主坐标分析。

图 2 对照组和感染组的 β 多样性分析

2.4 盲肠菌群组成分析

用可操作的分类单元聚类分析物种相对丰度。在门水平上，对照组和感染组的优势菌门均为厚壁菌、变形菌和放线菌。球虫感染后，厚壁菌门丰度下降，变形菌门、放线菌门的丰度上升，差异显著 ($P<0.05$)，感染组出现了拟杆菌门 (表 2)。在属水平上，对照组和感染组的优势菌属如表 3 所示。与对照组相比，感染组鸡盲肠粪便菌群中乳杆菌属、埃希菌-志贺菌属、拟杆菌属、罗姆布茨菌属、棒状杆菌属、肠球菌属、变形杆菌属丰度增加但差异不显著 ($P>0.05$)；而毛螺菌科未定属、瘤胃球菌属、梭菌

UCG-014、瘤胃球菌科未定属丰度显著降低 ($P<0.05$)、GCA-900066575 丰度下降但差异不显著 ($P>0.05$)。

表 2 门水平上盲肠微生物丰度

菌门	对照组	感染组
厚壁菌门	93.49±1.70 ^a	62.17±14.09 ^b
变形菌门	4.66±1.33 ^b	30.01±3.11 ^a
放线菌门	1.85±0.68 ^b	3.30±2.01 ^a
拟杆菌门	0.00±0.00 ^b	4.52±1.66 ^a

表 3 属水平上盲肠微生物组丰度

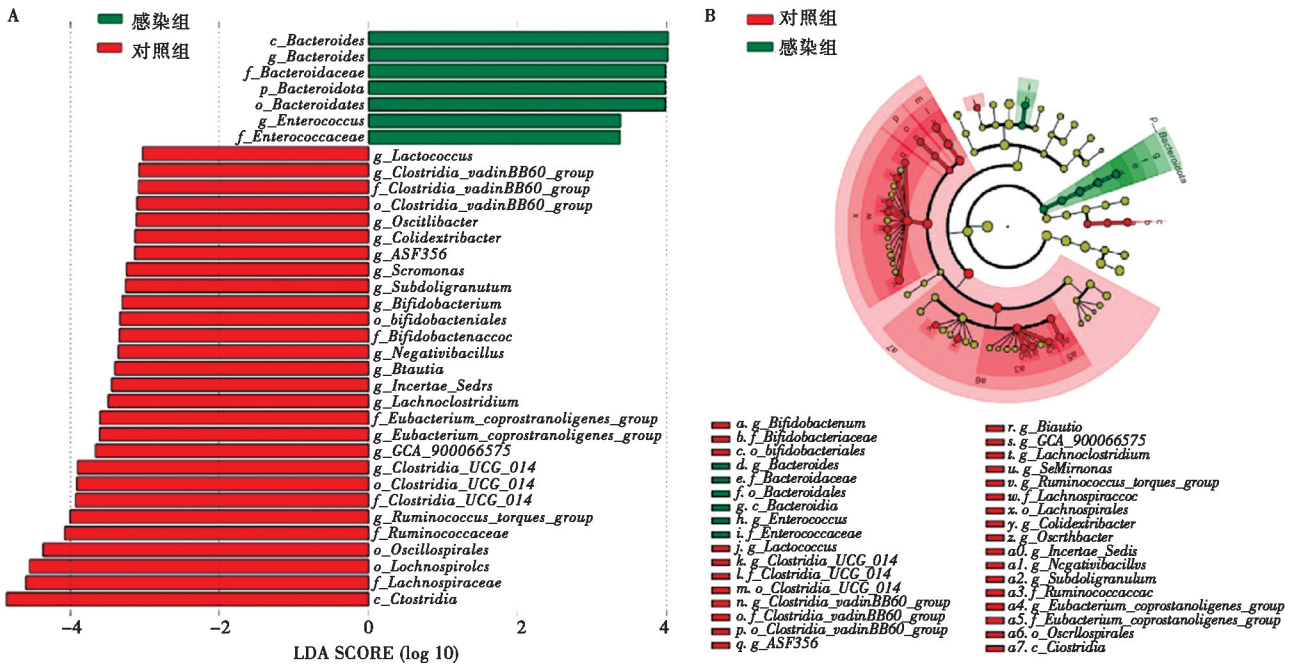
菌属	对照组	感染组
乳杆菌属	18.85±27.56 ^a	51.50±48.84 ^a
毛螺菌科未定属	11.81±4.60 ^a	0.01±0.01 ^b
瘤胃球菌属	9.88±3.72 ^a	0.26±0.45 ^b
梭菌 UCG-014	7.70±3.66 ^a	0.00±0.00 ^b
瘤胃球菌科未定属	6.95±4.29 ^a	0.00±0.00 ^b
GCA-900066575	4.71±3.50 ^a	0.00±0.00 ^a
埃希菌-志贺菌属	4.64±1.32 ^a	28.56±41.34 ^a
拟杆菌属	0.00±0.00 ^a	4.52±7.61 ^a
罗姆布茨菌属	1.17±1.06 ^a	3.46±5.98 ^a
棒状杆菌属	0.00±0.00 ^a	3.29±5.54 ^a
肠球菌属	0.01±0.00 ^a	1.94±2.27 ^a
变形杆菌属	0.01±0.02 ^a	1.45±2.51 ^a

用线性判别分析 (LDA Effect Size, LEfSe) 软件来寻找组间具有统计学差异的物种。感染组的优势物

种有拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和肠球菌属 (*Enterococcus*)，对照组的优势物种有梭菌 (*Clostridia*)、毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) (图 3A)，并根据差异物种绘制物种进化分支图 (图 3B)。两种分析方法的结果一致。

2.5 增重变化

用宰杀时重、平均增重、增重率和相对增重率来评估攻虫后不同的粪菌移植方法对鸡的体重增重影响。与对照组相比，3个试验组的宰杀时重、平均增重均显著降低 ($P<0.05$)，增重率和相对增重率也下降，说明盲肠内容物移植组、粪便菌移植组、生理盐水移植组的球虫感染成功。与生理盐水组相比，盲肠内容物移植组和粪菌移植组的宰杀时重、平均增重均显著升高 ($P<0.05$)，增重率和相对增重率也升高，表明盲肠内容物移植和粪菌移植均能减轻球虫感染后鸡增重降低的影响 (表 4)。



A. 线性判别分析分析 LDA 值分布柱状图 (图中展示了 LDA Score>2 的物种，即组间具有统计学差异的物种，柱状图的长度代表差异物种的影响大小)；B. LEfSe 分析进化分支图 (由内至外的圆圈代表了由门至属 (或种) 分类级别，在不同分类级别上的每一个小圆圈代表该水平下的一个分类，小圆圈直径大小与相对丰度大小呈正比)。

图 3 对照组和感染组的盲肠菌群组成分析

表 4 鸡体重变化测定结果

组别	攻虫时重/g	宰杀时重/g	平均增重/g	增重率/%	相对增重率/%
对照	363.60±10.37 ^a	501.68±28.15 ^a	138.08±23.96 ^a	27.52	100.00
盲肠内容物移植	360.72±15.24 ^a	481.49±30.79 ^b	120.76±26.00 ^b	25.08	91.12
粪便菌移植	361.96±18.82 ^a	472.73±22.32 ^b	110.77±20.60 ^b	23.43	85.13
生理盐水移植	361.82±14.24 ^a	435.55±22.38 ^c	73.73±14.27 ^c	16.93	61.50

2.6 OPG 和盲肠病变记分

与对照组相比, 3 个试验组的 OPG、平均病变记分显著升高 ($P < 0.05$), 说明说明盲肠内容物移植组、粪便菌移植组、生理盐水移植组的球虫感染成功。与生理盐水移植组相比, 盲肠内容物移植组和粪菌移植组的 OPG 显著下降 ($P < 0.05$), 病变记分也显著下降 ($P < 0.05$), 说明盲肠内容物移植和粪菌移植都能降低卵囊产量, 减轻鸡盲肠损伤, ($P < 0.05$) 可以对抗球虫的入侵 (表 5)。

2.7 ACI 结果

盲肠内容物移植组、粪便菌移植组组的 ACI 分

别为 173.12 和 164.38, 均大于 160, 说明盲肠内容物移植和粪菌移植对球虫感染有一定的抵抗力 (表 6)。

表 5 鸡肠道 OPG 和病变记分

组别	OPG/ ($\times 10^5$ 个)	病变记分
对照	0.00 \pm 0.00 ^e	0.00 \pm 0.00 ^e
盲肠内容物移植	9.30 \pm 1.06 ^b	1.70 \pm 0.66 ^b
粪便菌移植	9.62 \pm 1.27 ^b	1.98 \pm 0.79 ^b
生理盐水移植	23.64 \pm 5.00 ^a	3.18 \pm 0.67 ^a

表 6 鸡抗球虫指数分析

组别	存活率/%	相对增重率/%	病变值	卵囊值	ACI
对照	100	100.00	0.00	0	200.00
盲肠内容物移植	100	91.12	17.00	1	173.12
粪便菌移植	100	85.13	19.75	1	164.38
生理盐水移植	95	61.50	31.84	10	114.66

3 讨论

柔嫩艾美耳球虫入侵鸡体后, 迅速进入盲肠部位生成滋养体, 滋养体通过裂殖生殖产生大量裂殖子, 破坏盲肠上皮细胞, 引起肠管发炎, 从而引发盲肠内的微生物菌群失调, 使机体的稳态环境遭到破坏, 最终导致鸡发病死亡。因此, 鸡的肠道菌群在防止病原入侵、参与免疫应答、维持机体生长发育等方面起着重要作用^[9-10]。崔宁^[11]、Kley 等^[12]的研究发现艾美耳球虫感染后鸡的肠道微生物群落丰度降低, 只有少数优势菌群存在。本研究也得到了同样的结果, 与对照组相比, 球虫感染鸡的盲肠内微生物菌群丰度和多样性显著降低, 菌群稳态失衡。

16S rDNA 测序结果表明, 在门水平上, 感染组厚壁菌门占比下降、变形菌门和拟杆菌门占比显著上升。变形菌门是胃肠道中一类适应性强、具有潜在致病性的常见菌, 其丰度变化可直接对宿主健康产生影响^[13-14], 变形菌门中肠杆菌被证实可加剧球虫的感染程度^[15], 本研究也证实了球虫感染后肠杆菌比例增加。拟杆菌中有些是有益菌, 有些是有害菌, 其可长期定殖在宿主肠道中, 与宿主共同进化, 从而建立一种稳定、相互共生的关系^[16]。拟杆菌被认为是一类缓解肠道疾病的重要候选益生菌株, 例如脆弱拟杆菌可通过诱导机体产生抗炎性的 IL-10 来缓解肠道炎症^[17]。有研究发现, 拟杆菌能够调节肠道内的氧化还原水平, 为其增长和定殖创造有利的环境^[18]。在

本研究中, 感染组鸡盲肠中拟杆菌门占比显著上升, 推测为抑制球虫在肠道中的定殖而拟杆菌增加。在属水平上, 感染组盲肠中埃希菌-志贺菌属、乳杆菌属、拟杆菌属、棒杆菌属、肠球菌属丰度增加, 瘤胃球菌属、梭菌 UCG-014、GCA-900066575、瘤胃球菌科相关属丰度降低。志贺菌作为一种致病菌可迅速侵入结肠上皮, 引起炎症反应、破坏结肠上皮细胞, 减退肠道功能, 使机体对水、离子和营养物质吸收不良^[19]。乳杆菌属可以产生大量的有机酸抑制肠道菌群生长, 还可以通过产生胞外多糖、过氧化氢和细菌素等抑菌蛋白来抑制或杀伤肠道菌群, 乳杆菌属在厌氧或兼性厌氧的环境下大量繁殖, 与鸡肠道黏膜上皮细胞紧密结合形成“占位”, 破坏肠道上皮, 易于柔嫩艾美耳球虫入侵肠上皮细胞^[20]。拟杆菌属、棒杆菌属、肠球菌属作为常见致病菌, 通过产生并释放胶原酶、产荚膜多糖、溶血素、趋化因子等, 进一步促进腹腔脓肿和感染的发生发展, 引起血便、腹泻和黏液样粪便等柔嫩艾美耳球虫感染的典型临床症状, 与本研究中鸡感染柔嫩艾美耳球虫后所表现的临床症状一致^[21]。瘤胃球菌属、毛螺菌科相关菌属具有能量物质代谢、稳定肠道屏障、产短链脂肪酸盐发挥抗炎的作用, 感染组鸡此类有益菌群丰度降低, 进一步促进了感染进程。Tian 等^[22]研究表明, GCA-900066575 和 *Akkermansia* 及双歧杆菌具有一定的正相关性, 推测其可维持试验鸡肠道稳态, 且 Mohamed 等^[23]研究结果表明, GCA-900066575 作为厚壁菌,

可以通过增加营养物质吸收,进而促进鸡的体重增长,本研究中各粪菌移植组动物体重变化也得到了同样的结果。

本研究利用粪菌移植,将健康鸡群的盲肠菌群和粪便菌群移植给感染了柔嫩艾美耳球虫的鸡群,通过增重率、存活率、病变记分、卵囊扣分等计算 ACI,结果表明健康鸡群的盲肠内容菌和粪便菌移植对球虫感染有一定的抵抗力,推测健康鸡的肠道菌群内可能存在益生菌,能对机体产生一定的保护效果。

综上,柔嫩艾美耳球虫感染降低了鸡盲肠菌群丰度和多样性,破坏了正常的肠道菌群稳态。鸡盲肠的组成和结构被改变,促使了以埃希菌-志贺菌为代表的致病菌快速生长和定殖,而正常鸡盲肠内存在着有益菌。设计以这些有益菌为基础的微生态制剂,刺激特定微生物的生长,抑制或降低寄生虫毒力、寄居或繁殖,可为鸡球虫病的防控提供新的方向和技术,对减少抗寄生虫药物使用、促进畜牧业发展、保障食品安全和人畜健康具有重要意义。

参考文献:

[1] CHAPMAN H D. Milestones in avian coccidiosis research: a review [J]. *Poult Sci*, 2014, 93 (3): 501-511.

[2] BLAKE D P, JATAU I D, TOMLEY F M, et al. Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens [J]. *Vet Res*, 2020, 51 (1): 115-129.

[3] LOZUPONE C A, STOMBAUGH J I, GORDON J I, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota [J]. *Nature*, 2012, 489 (7415): 220-230.

[4] 周永春,王坤轮,闫亚群,等. 肠道寄生虫与菌群互作关系研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2019, 46 (10): 2876-2881.

[5] 陈伟琦,马天,秦元华,等. 寄生虫与肠道微生物群落的相互作用 [J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32 (2): 246-249.

[6] SHANMUGASUNDARAM R, SIFRI M, SELVARAJ R K. Effect of yeast cell product (CitriStim) supplementation on broiler performance and intestinal immune cell parameters during an experimental coccidial infection [J]. *Poult Sci*, 2013, 92 (2): 358-363.

[7] AWAIS M M, JAMAL M A, AKHTAR M, et al. Immunomodulatory and ameliorative effects of *Lactobacillus* and *Saccharomyces* based probiotics on pathological effects of eimeriasis in broilers [J]. *Microb Pathog*, 2019, 126: 101-108.

[8] 刘剑华,袁橙,张光际,等. 鸡柔嫩艾美耳球虫顶膜抗原 1

(AMA1) 的免疫保护效果评估 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2020 (23): 127-131.

[9] RYCHLIK I. Composition and function of chicken gut microbiota [J]. *Animals (Basel)*, 2020, 8; 10 (1): 103-123.

[10] WILLSON N L, NATTRASS G S, HUGHES R J, et al. Correlations between intestinal innate immune genes and cecal microbiota highlight potential for probiotic development for immune modulation in poultry [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102 (21): 9317-9329.

[11] 崔宁. 禽白血病病毒和柔嫩艾美耳球虫共感染致病机制研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.

[12] KLEY M V, OVIEDO-RON E O, DOWD S E, et al. Effect of *Eimeria* infection on cecal microbiome of broilers fed essential oils [J]. *Int J Poult Sci*, 2012, 11 (12): 747-755.

[13] 郭仕辉,余永涛,万佳宏,等. 变形菌门与哺乳动物结肠肠道菌群失调相关研究进展 [J]. *中国微生态学杂志*, 2022, 34 (4): 479-484.

[14] BRADLEY P H, POLLARD K S. *Proteobacteria* explain significant functional variability in the human gut microbiome [J]. *Microbiome*, 2017, 5 (1): 36-59.

[15] CUI N, WANG X, WANG Q, et al. Effect of dual infection with *Eimeria tenella* and subgroup J avian leukosis virus on the cecal microbiome in specific-pathogen-free chicks [J]. *Front Vet Sci*, 2017, 25 (4): 177-187.

[16] FAITH J J, GURUGE J L, CHARBONNEAU M, et al. The long-term stability of the human gut microbiota [J]. *Science*, 2013, 341 (6141): 1237439.

[17] RUBTSOV Y P, RASMUSSEN J P, CHI E Y, et al. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces [J]. *Immunity*, 2008, 28 (4): 546-558.

[18] WEXLER A G, GOODMAN A L. An insider's perspective: *Bacteroides* as a window into the microbiome [J]. *Nat Microbiol*, 2017, 2 (5): 17026.

[19] 王硕. 鸡源多重耐药志贺氏菌病的流行病学调查 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.

[20] 汪雪,陈颖,崔省委,等. 乳杆菌属益生菌在家畜疾病防治中的应用 [J]. *甘肃畜牧兽医*, 2022, 52 (6): 17-20.

[21] ISENMAN H, FISHER D. Advances in prevention and treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus* infection [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2016, 29 (6): 577-582.

[22] TIAN T, MAO Q, XIE J, et al. Multiomics data reveals the disturbance of glycerophospholipid metabolism caused by disordered gut microbiota in depressed mice [J]. *J Adv Res*, 2022, 39: 135-145.

[23] MOHAMED T M, SUN W, BUMBIE G Z, et al. Feeding *Bacillus subtilis* ATCC19659 to broiler chickens enhances growth performance and immune function by modulating intestinal morphology and cecum microbiota [J]. *Front Microbiol*, 2022 (12): 798350.