

高祎欣, 贺晚秋, 宋素泉. 植物乳杆菌 9-4 的分离鉴定及其对小鼠结肠炎缓解作用的研究 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (2): 40-47.

GAO Y X, HE W Q, SONG S Q. Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* 9-4 and its effect on alleviating mice colitis [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (2): 40-47.

## 植物乳杆菌 9-4 的分离鉴定及其对小鼠结肠炎缓解作用的研究

高祎欣, 贺晚秋, 宋素泉\*

(南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为开发能够调节动物氧化应激、缓解肠道炎症的益生菌制剂, 通过体外抗氧化试验, 从野猪新鲜粪便中分离筛选到 1 株植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), 菌株编号为 9-4。采用牛津杯扩散法检测该菌株的抑菌能力, 并评估其对人工胃液和胆盐的耐受能力; 动物试验以 3% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 构建小鼠结肠炎模型, 分析 *L. plantarum* 9-4 干预对结肠炎小鼠临床症状、血清氧化应激水平和肠道炎症的影响。结果: *L. plantarum* 9-4 对大肠杆菌、沙门菌和金黄色葡萄球菌均有抑制作用, 并具有良好的耐酸、耐胆盐特性。动物试验表明, *L. plantarum* 9-4 可显著提高结肠炎小鼠体重 ( $P < 0.001$ ), 极显著降低疾病活动指数 (DAI) ( $P < 0.001$ ), 并有效抑制结肠长度缩短 ( $P < 0.05$ ); 干预后小鼠血清丙二醛 (MDA) 含量极显著降低 ( $P < 0.01$ ), 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 水平有升高趋势; 结肠组织中肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) 和白细胞介素 6 (IL-6) 的 mRNA 表达量均显著下降 ( $P < 0.05$ )。综上, *L. plantarum* 9-4 能发挥抗氧化和抗炎效果, 具有开发为益生菌制剂用于畜禽养殖的潜力。

**关键词:** 植物乳杆菌; 肠道炎症; 氧化应激; 畜禽养殖

中图分类号: S815 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2026)02-0040-08

## Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* 9-4 and its effect on alleviating mice colitis

GAO Yixin, HE Wanqiu, SONG Suquan\*

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** To develop probiotic products capable of regulating oxidative stress and alleviating intestinal inflammation in animals, *Lactobacillus plantarum* strain 9-4 was isolated and screened from fresh wild boar feces through *in vitro* antioxidant tests. Antibacterial activity of the strain was detected via the Oxford cup method, and its tolerance to artificial gastrointestinal fluids and bile salts was evaluated. Then, a mouse colitis model was established using 3% dextran sulfate sodium (DSS), and the effects of *L. plantarum* 9-4 intervention on clinical symptoms, intestinal inflammation, and serum oxidative stress levels in colitis mice were analyzed. The results were as follows: *L. plantarum* 9-4 exhibited inhibitory effects on *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Staphylococcus aureus*, and maintained a high survival rate in artificial gastric juice, artificial intestinal fluid, and 0.3% bile salt. Intervention with *L. plantarum* 9-4 significantly increased the body weight of the colitis mice ( $P < 0.001$ ), reduced the disease activity index (DAI) ( $P < 0.001$ ) in the rodents, and attenuated their colon length shortening ( $P < 0.05$ ). Additionally, *L. plantarum* 9-4 intervention significantly decreased the serum malondialdehyde (MDA) levels in the mice ( $P < 0.01$ ), while the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels in them showed an upward trend. Moreover, the mRNA expression levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), and interleukin-6 (IL-6) in the colon tissue of the mice were significantly downregulated ( $P < 0.05$ ). In conclusion, *L. plantarum* 9-4 possessed antioxidant and anti-inflammatory effects and promised a potential to be developed into probiotic preparation for use in livestock and poultry farming.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum*; intestinal inflammation; oxidative stress; livestock and poultry breeding

现代集约化养殖虽然能提升畜禽的生产效率, 但也会使动物长期处于应激状态, 引发持续性应激综合

征。氧化应激是机体产生活性氧 (ROS) 与抗氧化系统去除 ROS 之间存在不平衡的情况。ROS 的过度积累会导致细胞损伤, 包括脂质过氧化、蛋白质变性和 DNA 损伤<sup>[1]</sup>。肠道是营养物质消化吸收的主要部位, 由于其复杂的内环境, 导致肠道极易受到氧化应激的影响。例如, 仔猪容易遭受断奶应激, 引起肠道消化吸收能力和黏膜免疫功能被破坏, 最终导致仔猪采食

收稿日期: 2025-04-11; 修回日期: 2025-11-19

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC2105005)

第一作者: 高祎欣, 女, 硕士研究生

\* 通信作者: 宋素泉, 教授, 主要从事动物营养代谢病和动物食

品安全方面的研究, E-mail: suquan.song@njau.edu.cn。

量减少, 并易发生断奶后腹泻<sup>[2]</sup>。

此外, 氧化应激与肠道炎症的发展有关, 它可以激活肠道免疫系统并产生大量促炎细胞因子, 这些细胞因子的过量产生会引发肠道损伤, 最终导致动物腹泻率上升, 从而增加抗生素在畜禽生产上的使用<sup>[3]</sup>。低于治疗剂量的抗生素被用作生长促进剂添加到动物饲料中, 以促进动物生长和预防疾病发生。然而, 由于耐药菌的增加以及抗生素残留对食品安全的影响, 抗生素在许多国家逐渐被禁止使用<sup>[4]</sup>。因此, 新型抗生素替代品的研发工作日益紧迫。益生菌因具有绿色、安全、抑菌等优势, 是抗生素的理想替代品。益生菌能够促进营养物质的消化和吸收, 提高畜禽生长性能, 并调节肠道微生物群的结构和组成, 提高机体免疫力<sup>[5]</sup>。此外, 益生菌尤其是乳酸菌可以清除机体内 ROS, 调节宿主抗氧化酶水平, 从而缓解氧化应激并减轻对机体的损伤<sup>[6]</sup>。例如, 源自仔猪的 3 株乳酸菌通过增强肠道物理屏障, 提高了超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 等抗氧化酶活性, 能够减轻敌草快引起的小鼠肠道氧化应激损伤<sup>[7]</sup>。

本研究从野猪粪便中通过抗氧化试验筛选出 1 株具有抗氧化效果的植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), 对其益生性能进行了检测。此外, 通过构建葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导小鼠结肠炎模型, 初步评估了该菌株在改善肠道损伤、调节肠道氧化应激和炎症反应中的作用。本研究为开发微生态制剂及其在畜禽养殖中的应用提供了菌种来源和理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要菌株、试剂和仪器

益生菌菌株从野猪新鲜粪便中分离; 鼠伤寒沙门菌 CVCC542、肠炎沙门菌 ATCC19585、大肠杆菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC43300 由实验室保存; MRS 培养基、LB 培养基购自青岛海博生物技术有限公司; DPPH、人工模拟胃液、猪胆盐、人工小肠液、5-氨基水杨酸 (5-ASA) 购自上海源叶生物技术有限公司; 邻苯三酚购自天津大茂化学试剂厂; DSS 购自大连美仑生物技术有限公司; 丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、SOD、CAT 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒、2×Taq Master Mix (Dys Plus) PCR 试剂, 购自南京诺唯赞生物科技有限公司。

PCR 仪、凝胶成像系统购自伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司; 酶标仪购自美国伯腾仪器有限公司; 荧光定量 PCR 仪购自罗氏诊断产品 (上海) 有限公司。

### 1.2 实验动物

8 周龄 C57BL/6J 小鼠购自江苏集萃药康公司。

### 1.3 益生菌分离与纯化

用无菌 PBS 将采集的野猪粪便进行 10 倍梯度稀释, 将稀释后的 100 μL 菌悬液涂布到 MRS 平板上, 37 °C 孵育 48 h。挑取形态大小有明显差异的菌株, 放置于 37 °C 培养箱培养, 并采用三区划线法对挑取的菌进行纯化, 获得单菌落。

### 1.4 抗氧化试验

益生菌发酵上清液的制备: 将活化后的益生菌按 1% 接种量接种至 MRS 液体培养基中, 于 37 °C 恒温摇床 (150 r/min) 培养 24 h, 获得益生菌菌液。通过平板计数法测定菌液浓度, 将菌悬液浓度调整至  $1 \times 10^9$  CFU/mL, 并同步测定其  $OD_{600}$  值。将上述浓度菌液按 1% 接种量转接至新鲜 MRS 培养基中, 于 37 °C 继续培养至  $OD_{600}$  值达到对应  $1 \times 10^9$  CFU/mL 时停止。取培养液于离心管中 12 000 r/min 离心 3 min, 弃去菌体沉淀, 收集上清液经 0.22 μm 滤膜过滤除菌, 获得益生菌发酵上清液, 分装后 -80 °C 保存备用。

DPPH 自由基清除能力测定: 吸取 500 μL 益生菌上清液, 加入 500 μL 的 DPPH 无水乙醇溶液 (0.6 mmol/L) 混匀, 室温避光静置 30 min, 12 000 r/min 离心 3 min, 测定样品在 517 nm 波长处的吸光度。空白组将样品替换为蒸馏水, 对照组将 DPPH 无水乙醇溶液替换为无水乙醇, 用 0.2 mg/mL 的维生素 C (VC) 作为试验的阳性对照。DPPH 自由基清除率计算公式:

$$\text{清除率} = [1 - (A1 - A2) / A0] \times 100\%$$

式中:  $A0$  为空白组吸光度,  $A1$  为试验组吸光度,  $A2$  为对照组吸光度。

超氧阴离子自由基清除能力测定: 取 2.8 mL Tris-HCL 溶液 (0.05 mol/L, pH = 8.2), 500 μL EDTA 溶液 (1 mmol/L), 800 μL 益生菌上清液, 加 150 μL 邻苯三酚溶液 (0.05 mmol/L) 混匀, 室温避光静置 30 min, 随后加 150 μL 8 mol/L HCl 终止反应。检测样品在 325 nm 波长处的  $OD$  值。空白组用蒸馏水代替样品, 对照组用蒸馏水代替邻苯三酚, 用 0.2 mg/mL 的 VC 作为试验的阳性对照。超氧阴离子自由基清除率计算公式同上。

### 1.5 形态观察

肉眼观察菌株在 MRS 平板上的菌落形态, 包括颜色、大小、质地等。吸取菌液制作涂片并进行革兰染色, 使用光学显微镜观察菌体形态。

### 1.6 菌种鉴定

提取细菌 DNA, 以其为模板, 采用通用引物 27F

(5′-AGAGTTTGATCCATGGCTCAG-3′) 和 1492R (5′-GGTACCTTGTACGACTT-3′) 对菌株的 16S rDNA 基因序列进行 PCR 扩增。扩增体系 (20 μL): 2×*Taq* PCR Master Mix 10 μL, 上下游引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, DNA 模板 3 μL, 双蒸水 (ddH<sub>2</sub>O) 5 μL。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 30 个循环; 72 °C 延伸 5 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序。得到的序列提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 同源性比对, Mega 11.0 软件用于构建菌株系统进化树。

### 1.7 生长曲线和产酸曲线测定

取 30 μL 菌液按 1% 接种量接种到 3 mL MRS 液体培养基中, 以未接种细菌的 MRS 液体培养基为对照, 在 37 °C、150 r/min 摇床中培养 24 h, 每隔 2 h 取培养液测定 *OD*<sub>600</sub> 值及 pH 值。以时间为横坐标、*OD*<sub>600</sub> 值和 pH 值分别为纵坐标绘制生长曲线和产酸曲线。

### 1.8 抗逆性试验

将益生菌浓度调整为 1×10<sup>9</sup> CFU/mL, 取 1 mL 益生菌悬浮液分别添加 9 mL 0.3% 胆盐, 9 mL 人工胃液 (胃蛋白酶浓度 3.2 g/L, pH=3) 和 9 mL 人工肠液 (胰蛋白酶浓度 0.464 g/L, pH=8), 在 37 °C 下进行孵育。分别在 0、2、4 h 时取适量混悬液进行平板计数, 计算存活率。

### 1.9 抑菌试验

将鼠伤寒沙门菌 CVCC542、肠炎沙门菌 ATCC19585、大肠杆菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC43300 浓度调整到 1×10<sup>7</sup> CFU/mL, 取 100 μL 菌悬液涂布到 LB 平板上, 放置牛津杯中。牛津杯中加入 200 μL 益生菌菌株的发酵上清液, 同时以 200 μL 0.1 mg/mL 氨苄西林 (AMP) 作为阳性对照, 200 μL MRS 肉汤作为阴性对照。将平板放入 4 °C 冰箱扩散 4 h, 37 °C 培养 12 h, 测量并记录抑菌圈直径。

### 1.10 动物试验分组和设计

8 周龄的 C57BL/6J 小鼠经适应性饲养 1 周后随机分为 4 组 (*n*=6): 空白对照组 (CON), DSS 模型组 (DSS), *L. plantarum* 9-4 治疗组 (DSS+9-4) 和 5-ASA 治疗组 (DSS+5-ASA)。为了诱导结肠炎, 除 CON 组外, 其他组小鼠自由饮用 3% DSS 溶液持续 7 d。在 DSS 造模期间, *L. plantarum* 9-4 治疗组的小鼠每日灌胃 0.2 mL 5×10<sup>9</sup> CFU/mL *L. plantarum* 9-4。5-ASA 治疗组的小鼠每日灌胃 0.2 mL 10 mg/mL 5-ASA。CON 组和 DSS 组每日灌胃等量的 PBS。每

日对小鼠称重以计算体重变化, 观察小鼠粪便性状和血便情况以统计疾病活动指数 (DAI)。试验结束后将小鼠禁食 12 h 并脱颈处死<sup>[8]</sup>。

### 1.11 小鼠结肠长度及脾脏指数测定

小鼠处死后取结肠、脾脏, 用生理盐水清洗血迹后, 测定结肠长度和脾脏重量, 计算脾脏指数。

脾脏指数 = 脾脏重量 (mg) / 全身重量 (g) × 100%。

### 1.12 血清氧化应激指标测定

小鼠处死前进行眼球取血以收集血清。使用 MDA、CAT、SOD 和 GSH-Px 检测试剂盒, 参考说明书的要求, 将血清稀释后加入 96 孔板进行检测, 根据规定波长使用酶标仪测定结果。

### 1.13 结肠炎性因子检测

使用 TRIzol 试剂从结肠组织中提取总 RNA, 反转录成 cDNA, 取 cDNA 与 Mix、上下游引物、ddH<sub>2</sub>O 配制成 10 μL 体系。设置仪器反应程序: 预变性 95 °C, 30 s; 变性 95 °C, 10 s, 退火延伸 60 °C, 30 s, 30 个循环。用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法进行结果分析。引物序列如表 1 所示。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

目的基因	引物序列 (5′→3′)
白细胞介素 1β (IL-1β)	F: GAAATGCCACCTTTTGACACTG R: TGGATGCTCTCATCAGGACAG
白细胞介素 6 (IL-6)	F: GTCCGGAGAGGAGACTTCAC R: CTGCAAGTGCATCATCGTTGT
肿瘤坏死因子 α (TNF-α)	F: CCTCTCATGCACCACCATCA R: GCATTGCACCTCAGGGAAGA
干扰素 γ (IFN-γ)	F: AGCAAGCGAAAAAGGATGC R: TCATTGAATGCTTGGCGCTG
白细胞介素 10 (IL-10)	F: CAGGGATCTTAGCTAACGGAAA R: GCTCAGTGAATAAATAGAATGGGAAC
β-actin	F: CGTTGACATCCGTAAGACC R: TAGGAGCCAGACCACTAATC

### 1.14 数据统计与分析

使用 SPSS 20.0 软件对数据进行单因素方差 (One-way ANOVA) 分析, 采用 Tukey 法进行多重比较, 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行作图, 数据以“平均值±标准差”表示, *P*<0.05 表示具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗氧化益生菌的筛选

从野猪新鲜粪便中分离纯化出 18 株形态大小差

异较大的潜在益生菌菌株，并对其进行编号。为了筛选出具有抗氧化作用的益生菌，检测了这 18 株益生菌对超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基的清除率。结果如图 1 所示，在超氧阴离子自由基清除试验中，菌株 9-4 和 10-1 的清除率虽然低于阳性对照 (0.2 mg/mL VC) 的清除率，但显著高于其余菌株 ( $P < 0.05$ , 图 1A)。在 DPPH 自由基清除试验中，菌株 9-4 和 10-4 对 DPPH 自由基的清除率显著高于阳性对照和其余菌株 (图 1B)。综合上述结果，菌株 9-4 同时具有良好的清除 DPPH 自由基和超氧阴离子自由基的能力，因此筛选出菌株 9-4 进行后续试验。

## 2.2 菌株形态学观察和菌种鉴定

菌株 9-4 在 MRS 固体培养基上生长为边缘整齐，表面光滑的乳白色球状菌落。革兰染色显示 9-4 为杆状的革兰阳性菌 (图 2A)，用 16S rRNA 基因通用引物进行 PCR 扩增后获得大小约 1 500 bp 的条带 (图 2B)。将 PCR 产物送去测序并进行序列比对，发现 9-4 与 *L. plantarum* CE28.20 (GenBank 登录号: MH899354.1) 相似性为 100%。使用 Mega 11.0 软件绘制系统进化树，结果显示菌株 9-4 与 *L. plantarum* CE28.20 在同一分支 (图 2C)。

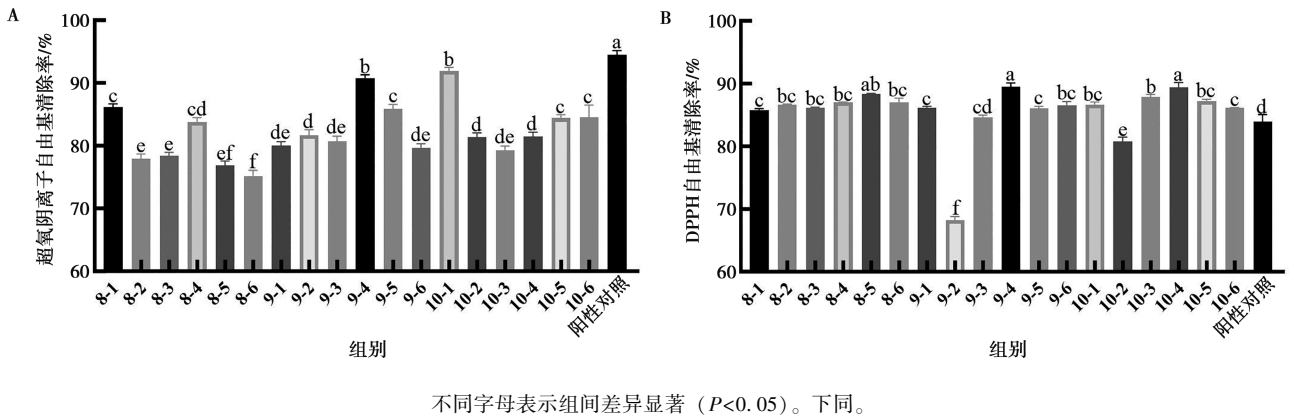
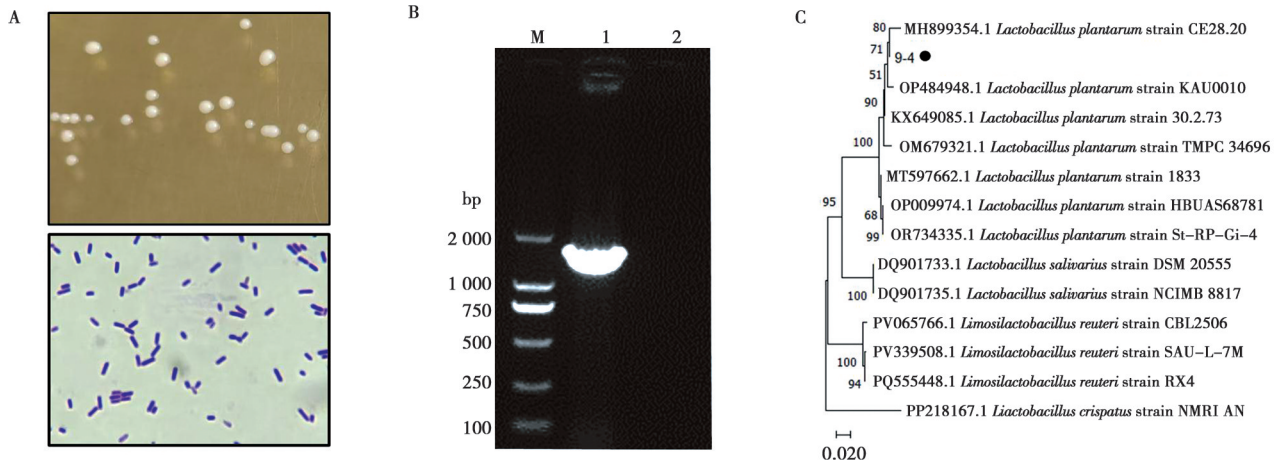


图 1 益生菌对超氧阴离子自由基 (A) 和 DPPH 自由基 (B) 的清除能力



A. 9-4 菌落形态及革兰染色镜检 (100×); B. 16S rRNA 基因 PCR 扩增; M. DL2000 DNA Marker; 1. 菌株 9-4; 2. 阴性对照; C. 菌株 9-4 系统进化树, ● 表示本试验分离株。

图 2 菌株 9-4 的鉴定

## 2.3 益生菌益生性能

*L. plantarum* 9-4 的生长曲线和产酸曲线如图 3A 所示，接种后 0~6 h 菌株生长缓慢，处于迟缓期；6~18 h 菌株快速生长处于对数期；接种 18 h 后菌株生长基本平缓，进入平台期。pH 值的变化反映了菌

株的产酸能力，*L. plantarum* 9-4 菌液 pH 值从 0 h 开始稳定下降，培养 24 h 后，菌液的 pH 值从最初的 6.0 下降到 3.3，下降幅度大，说明 *L. plantarum* 9-4 有较强的产酸能力。抑菌试验结果显示，*L. plantarum* 9-4 对鼠伤寒沙门菌 CVCC542、肠炎沙门

菌 ATCC19585、大肠杆菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC43300 的抑菌圈直径均在 20 mm 左右, 其中 *L. plantarum* 9-4 对 ATCC19585 的抑菌圈直径与 AMP 的抑菌圈直径相比差异不显著 ( $P>0.05$ , 图 3B)。此外, *L. plantarum* 9-4 在 0.3% 胆盐中处理 2 h 存活率为 94.5%, 4 h 存活率为 86.9% (图 3C); 在

人工胃液中处理 2 h 后存活率为 70.2%, 4 h 的存活率为 60.1% (图 3D); 在人工肠液中处理 2 h 后存活率为 95.7%, 4 h 时存活率变化不大, 存活率为 92.7% (图 3E)。这些结果说明 *L. plantarum* 9-4 能够在胃肠道中存活, 具有良好的抗逆性和抑菌效果。

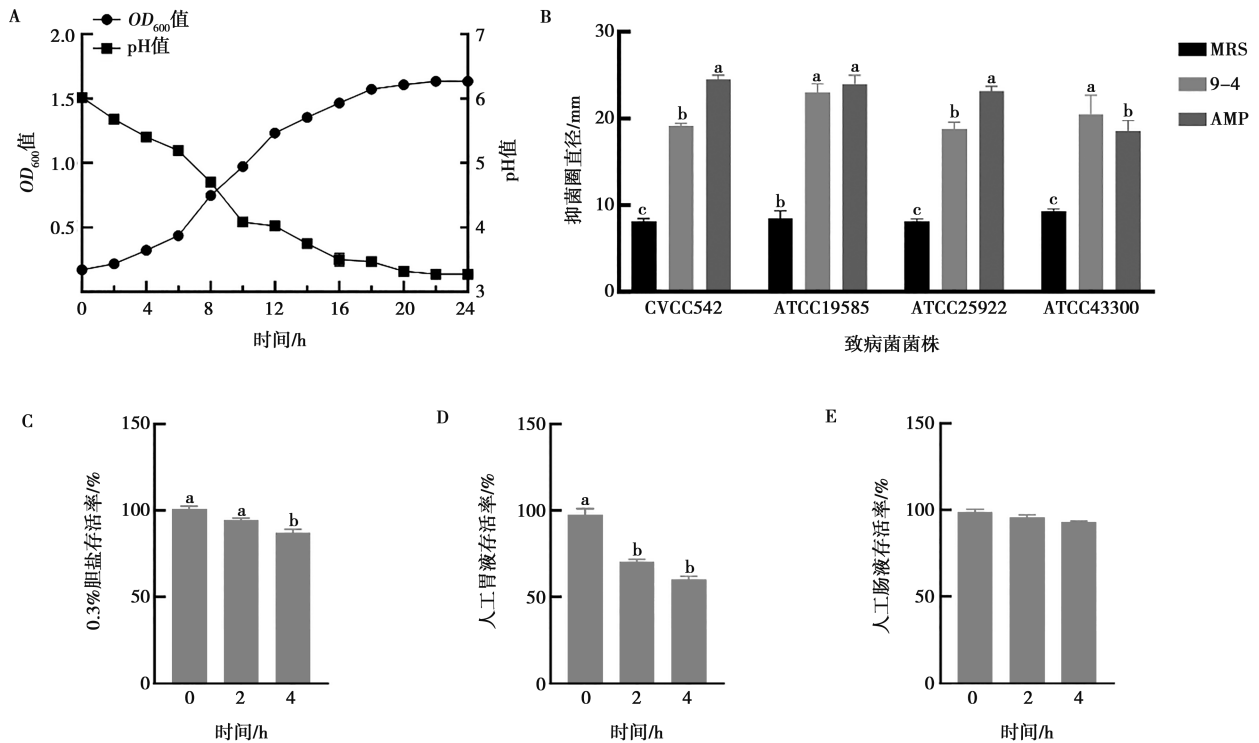


图 3 *L. plantarum* 9-4 益生性能检测

## 2.4 益生菌对小鼠结肠炎的缓解作用

为了进一步评估 *L. plantarum* 9-4 在体内的抗氧化和抗炎作用, 本研究构建了 DSS 诱导小鼠结肠炎模型。试验过程中, DSS 可引起小鼠死亡, 最终导致 50% 的死亡率, 而 *L. plantarum* 9-4 和 5-ASA 干预后小鼠没有死亡 (图 4A)。与 CON 组相比, DSS 组小鼠体重极显著降低 ( $P<0.001$ ), DSS+9-4 组小鼠体重较 DSS 组极显著升高 ( $P<0.001$ , 图 4B)。同时, DSS 组小鼠 DAI 评分与 CON 组相比极显著升高 ( $P<0.001$ ); DSS+9-4 组小鼠 DAI 评分较 DSS 组极显著降低 ( $P<0.001$ , 图 4C)。此外, 与 CON 组相比, DSS 组的结肠长度显著缩短 ( $P<0.05$ ), DSS+9-4 组的小鼠结肠长度显著高于 DSS 组 ( $P<0.05$ , 图 4D、4E)。DSS 组的脾脏指数与 CON 组相比极显著增加 ( $P<0.01$ ), DSS+9-4 组与 CON 组相比无显著差异 ( $P>0.05$ , 图 4F、4G)。这些结果说明, *L. plantarum* 9-4 能够缓解 DSS 诱导的小鼠结肠炎。

## 2.5 益生菌对小鼠血清氧化应激水平的影响

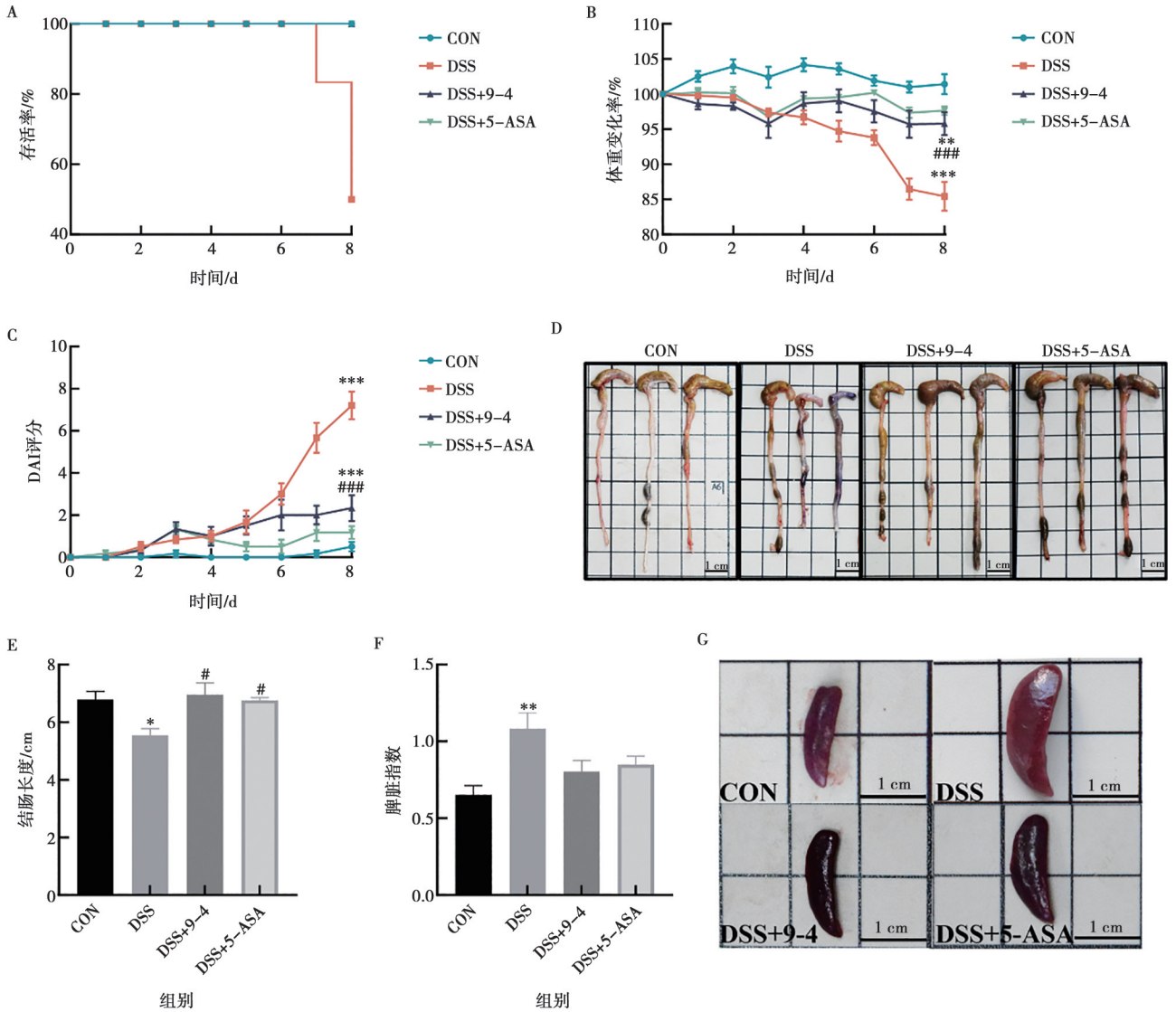
由图 5 可知, 与 CON 组相比, DSS 组小鼠 MDA

水平显著上升 ( $P<0.05$ ), CAT 和 GSH-Px 活力显著下降 ( $P<0.05$ ), SOD 活力有降低趋势但变化不显著 ( $P>0.05$ )。与 DSS 组相比, *L. plantarum* 9-4 干预极显著降低了小鼠 MDA 含量 ( $P<0.01$ ), CAT、GSH-Px 和 SOD 活力有升高趋势但变化不显著 ( $P>0.05$ )。以上结果说明, *L. plantarum* 9-4 可以抑制氧化产物的含量, 在不同程度上促进 CAT、GSH-Px 和 SOD 等抗氧化酶的活力, 从而避免机体氧化应激的发生。

## 2.6 益生菌对小鼠结肠炎性因子水平的影响

细胞炎性因子的水平变化与机体炎症程度密切相关。小鼠结肠组织中细胞炎性因子表达如图 6 所示。DSS 组中促炎细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IFN- $\gamma$  的转录水平相比于 CON 组极显著增高 ( $P<0.001$ ); *L. plantarum* 9-4 干预后, 结肠组织中 TNF- $\alpha$  ( $P<0.05$ )、IL-1 $\beta$  ( $P<0.01$ )、IL-6 ( $P<0.001$ ) 的转录水平与 DSS 组相比显著降低, IFN- $\gamma$  的转录水平有降低, 但变化不显著 ( $P>0.05$ )。抑炎细胞因子 IL-10 的转录水平在 4 组间无显著性差异 ( $P>0.05$ )。这些结果说明, *L. plantarum* 9-4 可以通过抑

制促炎细胞因子的表达来调控肠道炎症。



与 CON 组相比, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ , \*\*\* 表示  $P < 0.001$ ; 与 DSS 组相比, # 表示  $P < 0.05$ , ## 表示  $P < 0.01$ , ### 表示  $P < 0.001$ 。下同。

A. 小鼠存活率; B. 小鼠体重; C. DAI 评分; D. 结肠形态; E. 结肠长度; F. 脾脏指数; G. 脾脏形态。

图 4 *L. plantarum* 9-4 对小鼠结肠炎的缓解作用

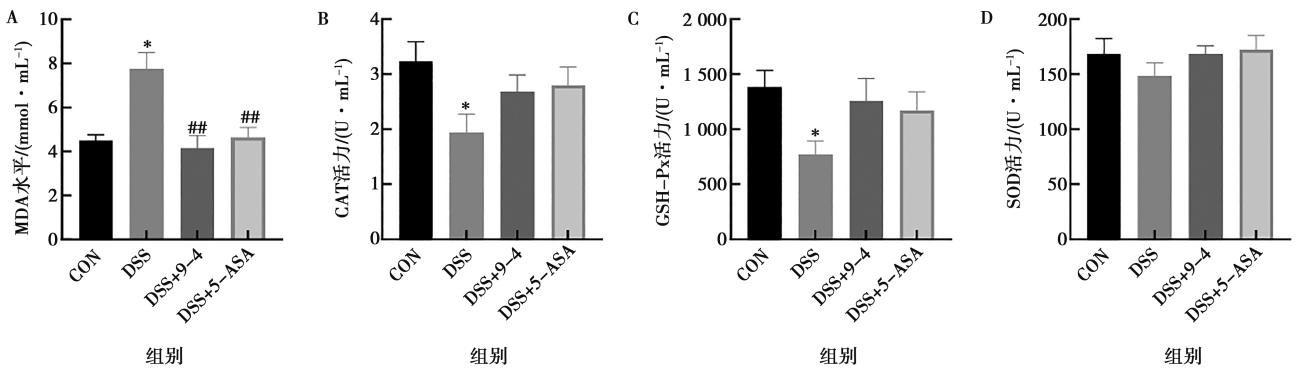


图 5 *L. plantarum* 9-4 对小鼠血清氧化应激指标含量的影响

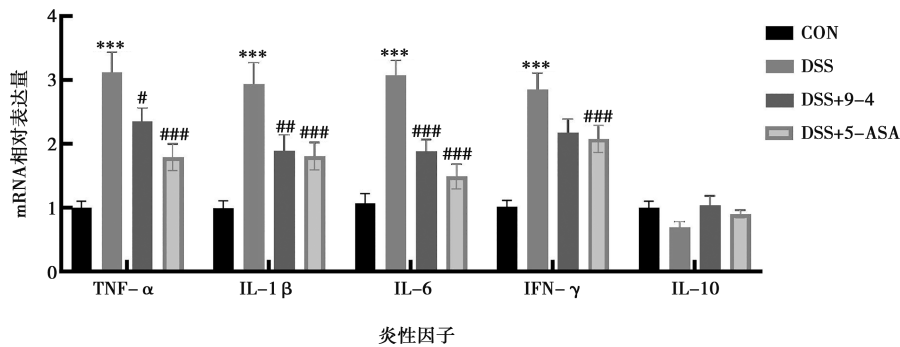


图6 *L. plantarum* 9-4 对小鼠结肠炎性因子基因转录水平的影响

### 3 讨论

随着技术进步和市场需求的变化,我国养殖行业正逐步向规模化、集约化、智能化方向发展。集约化养殖具有饲养规模大、养殖密度高、生产周期短、常年均衡生产等优点。但同时,集约化养殖会限制畜禽自然行为,使畜禽长期处于应激状态,导致生理机能降低,容易引起疾病的发生<sup>[9]</sup>。益生菌能够增强动物免疫功能,提高机体抗氧化水平,抵御外来病原体的侵袭,从而改善肠道健康并降低疾病发生,并能促进动物生长发育<sup>[10]</sup>。有研究报道,经常应用微生物生态益生菌的养殖场中,动物的发病率明显低于常规治疗用户<sup>[11]</sup>。因此,为了开发能够调节动物氧化应激,降低肠道炎症的益生菌制剂,本试验通过体外抗氧化试验进行了益生菌筛选。

自由基清除能力是评估益生菌以及其他抗氧化剂是否具有抗氧化活性的重要检测方法。DPPH 是一种稳定的氮中心自由基,可以与抗氧化剂反应,使得溶液颜色由深紫色变成浅黄色<sup>[12]</sup>。邻苯三酚可以发生自氧化,并生成有色产物,而抗氧化剂可以抑制自氧化发生速率,抑制有色产物的产生<sup>[13]</sup>。本研究检测了 18 株益生菌发酵上清液对 DPPH 自由基以及邻苯三酚自由基的清除率,发现 *L. plantarum* 9-4 对这两种自由基的清除效果最好,说明 *L. plantarum* 9-4 具有抗氧化作用。Gao 等<sup>[14]</sup>在发酵卷心菜中分离的野生 *L. plantarum* FC225 同样表现出一定程度的 DPPH 清除能力和超氧阴离子自由基清除活性。此外,益生菌在体内发挥益生作用不仅需要良好的生长性能,还需在胃肠道中定植。因此,本研究评估了 *L. plantarum* 9-4 对胃肠道的耐受性,结果显示 *L. plantarum* 9-4 可以在人工胃液、人工肠液和 0.3% 胆盐中存活,具有良好的抗逆性。有研究证实,植物乳杆菌本身就存在于动物肠道中,比其他乳杆菌在人和动物肠道中定植更具有优势<sup>[15]</sup>。Xie 等<sup>[16]</sup>从鸡中筛选

出 1 株罗伊氏乳杆菌不仅具有强耐酸性和耐胆盐性,还对大肠杆菌和鼠伤寒沙门菌表现出抑制作用,并有增强雏鸡肠道黏膜屏障功能。本研究结果与其类似,*L. plantarum* 9-4 能抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门菌等多种致病菌的生长,表现出广谱抑菌活性。

为了评估 *L. plantarum* 9-4 是否能在动物体内发挥抗氧化和抗炎作用,本研究构建了 DSS 诱导小鼠结肠炎模型并饲喂 *L. plantarum* 9-4 进行干预。研究发现,*L. plantarum* 9-4 能够缓解 DSS 诱导的小鼠体重减轻并降低 DAI 评分,还能够恢复小鼠结肠长度,有效缓解小鼠结肠炎症状。DSS 不仅对小鼠结肠有影响,还会涉及脾脏等免疫器官,引起脾脏肿大。脾脏中有多种免疫细胞,包括巨噬细胞、树突状细胞、T 和 B 淋巴细胞以及自然杀伤细胞,在先天免疫、细胞免疫和体液免疫中起着重要作用<sup>[17]</sup>。在本研究中,*L. plantarum* 9-4 可以将 DSS 诱导后的脾脏指数增加恢复到正常水平。此外,DSS 可诱导小鼠发生氧化应激,高水平 ROS 的产生可对细胞的膜磷脂产生细胞毒作用,并形成 MDA 等有毒产物。MDA 的变化反映了炎症条件下受阻组织中氧化应激的严重程度<sup>[18]</sup>。抗氧化酶 SOD 可以催化超氧阴离子歧化成  $H_2O_2$ ,  $H_2O_2$  可进一步通过 CAT 转化为  $H_2O$  和  $O_2$ ,从而实现 ROS 的清除。GSH 也是一种内源性自由基清除剂,受到 GSH-Px 的调控<sup>[19]</sup>。据报道,动物双歧杆菌乳杆菌亚种 A6 能够降低 DSS 模型小鼠结肠 MDA 水平并提高 SOD 和 GSH 活性<sup>[20]</sup>。在本研究中,*L. plantarum* 9-4 增加了血清 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性并降低 MDA 含量,以减少 DSS 诱导的氧化损伤。此外,促炎细胞因子的增加会加剧肠道炎症,引起免疫细胞的活化<sup>[21]</sup>。而 *L. plantarum* 9-4 可以降低 DSS 诱导的促炎细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IFN- $\gamma$  的转录水平。这说明 *L. plantarum* 9-4 能成为缓解肠道炎症和维持肠道氧化应激平衡的有效潜力菌株。但目前本研究仅以小鼠为模型评估了 *L. plantarum* 9-4

的抗氧化抗炎活性，仍缺少在畜禽机体上的功能验证，后续试验可以进一步验证 *L. plantarum* 9-4 在畜禽上的有益作用，为开发调节动物健康的微生态制剂奠定基础。

## 4 结论

本研究从野猪新鲜粪便中成功筛选出 1 株具有多种益生功能的 *L. plantarum* 9-4。该菌株不仅表现出显著的自由基清除能力和抗氧化特性，同时兼具优良的抗逆性及广谱抑菌活性。动物试验表明，*L. plantarum* 9-4 对 DSS 诱导的小鼠结肠炎模型具有显著缓解作用。一方面，*L. plantarum* 9-4 能有效缓解结肠炎小鼠的体重下降，改善 DAI 评分，并抑制结肠长度缩短；另一方面，*L. plantarum* 9-4 可显著降低血清 MDA 含量，同时下调结肠组织中关键促炎因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IFN- $\gamma$ ) 的转录水平。综上，*L. plantarum* 9-4 通过其抗氧化和抗炎双重作用机制发挥肠道保护功能，其优良特性为开发新型畜禽用益生菌制剂提供了重要的菌种资源。

## 参考文献：

[1] 宋立莉. 畜禽养殖中氧化应激对肠道功能的影响 [J]. 中国动物保健, 2022, 24 (2): 70-71.

[2] WEI M, HE Y, WU H, et al. Effects of fecal sewage and antibiotic exposure stress on the intestinal microflora of weaned Tibetan piglets [J]. Microb Pathog, 2025, 202: 107135.

[3] MA X, ZHANG Y, XU T, et al. Early-life intervention using exogenous fecal microbiota alleviates gut injury and reduce inflammation caused by weaning stress in piglets [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 671683.

[4] GRESSE R, CHAUCHEYRAS-DURAND F, FLEURY M A, et al. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health [J]. Trends Microbiol, 2017, 25 (10): 851-873.

[5] WANG K, CHEN G, CAO G, et al. Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, intestinal structure, and inflammation in lipopolysaccharide-challenged weaned piglets [J]. J Anim Sci, 2019, 97 (10): 4140-4151.

[6] SUDAN S, ZHAN X, LI J. A novel probiotic *Bacillus subtilis* strain confers cytoprotection to host pig intestinal epithelial cells during enterotoxic *Escherichia coli* infection [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10 (4): e01257-21.

[7] FENG S, LIU Y, XU J, et al. Three strains of *Lactobacillus* derived from piglets alleviated intestinal oxidative stress induced by diquat through extracellular vesicles [J]. Nutrients, 2023, 15

(19): 4198.

[8] LI Z Y, LIN L H, LIANG H J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide alleviates DSS-induced chronic ulcerative colitis by restoring intestinal barrier function and modulating gut microbiota [J]. Ann Med, 2023, 55 (2): 2290213.

[9] 侯庆同. 浅谈集约化养殖场动物的应激与控制 [J]. 中国畜牧兽医文摘, 2012, 28 (11): 105.

[10] 祝倩, 李宸健, 程雅婷, 等. 母猪饲料添加益生菌和合生元对子代巴马香猪肌肉氨基酸组成及生长发育相关基因表达的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2024, 47 (6): 1149-1158.

[11] 刘磊, 王亚宾, 蔡京雷, 等. 从当前的猪病流行趋势看益生菌的免疫作用 [J]. 今日畜牧兽医, 2010, 26 (9): 8-10.

[12] MORITA M, NAITO Y, YOSHIKAWA T, et al. Assessment of radical scavenging capacity of antioxidants contained in foods and beverages in plasma solution [J]. Food Funct, 2015, 6 (5): 1591-1599.

[13] WANG Y, LIU X J, CHEN J B, et al. Citrus flavonoids and their antioxidant evaluation [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62 (14): 3833-3854.

[14] GAO D, GAO Z, ZHU G. Antioxidant effects of *Lactobacillus plantarum* via activation of transcription factor Nrf2 [J]. Food Funct, 2013, 4 (6): 982-989.

[15] VAN DEN NIEUWBOER M, VAN HEMERT S, CLAASSEN E, et al. *Lactobacillus plantarum* WCFS1 and its host interaction: a dozen years after the genome [J]. Microb Biotechnol, 2016, 9 (4): 452-465.

[16] XIE S, ZHAO S, JIANG L, et al. *Lactobacillus reuteri* stimulates intestinal epithelial proliferation and induces differentiation into goblet cells in young chickens [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67 (49): 13758-13766.

[17] ZHANG Y, FENG X, LIN H, et al. Tieguanyin extracts ameliorated DSS-induced mouse colitis by suppressing inflammation and regulating intestinal microbiota [J]. Food Funct, 2022, 13 (24): 13040-13051.

[18] ZUO T, YUE Y, WANG X, et al. Luteolin relieved DSS-induced colitis in mice via HMGB1-TLR-NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Inflammation, 2021, 44 (2): 570-579.

[19] WU Y, JHA R, LI A, et al. Probiotics (*Lactobacillus plantarum* HNU082) supplementation relieves ulcerative colitis by affecting intestinal barrier functions, immunity-related gene expression, gut microbiota, and metabolic pathways in mice [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10 (6)

[20] LI M, HAN X, SUN L, et al. Indole-3-acetic acid alleviates DSS-induced colitis by promoting the production of R-equol from *Bifidobacterium pseudolongum* [J]. Gut Microbes, 2024, 16 (1): 2329147.

[21] WANG H, SUN Y, MA X, et al. The *Lactobacillus plantarum* P-8 probiotic microcapsule prevents DSS-induced colitis through improving intestinal integrity and reducing colonic inflammation in mice [J]. Nutrients, 2024, 16 (7): 1055.