

抗菌肽用作饲料添加剂代替抗生素的优势和效果

张 兵¹ 魏荣荣² 邢智华²

1. 宁夏中卫山羊选育场, 宁夏中卫 755006; 2. 宁夏大学农学院, 银川 750021

抗生素作为饲料添加剂应用于畜禽, 可抑制畜禽消化道内病原微生物的生长和繁殖, 增强畜禽的抗病能力; 但是, 长期、广泛、不加选择地使用抗生素, 导致很多病原微生物对现有的抗生素产生了耐药性, 新德里金属- β -内酰胺酶 1 (NDM-1) 超级细菌的出现, 更是引起了全世界对病菌耐药性问题的极大重视^[1]。因此, 抗生素被新型的无公害添加剂所替代是必然趋势。

抗菌肽 (Antibacterial Peptides, ABP), 也称肽类抗生素、抗微生物肽或天然抗生素, 是动物免疫防御系统在诱导条件下产生的一类对抗外源性病原体的防御性阳离子肽类活性物质, 是生物体天然免疫防御系统的一个重要组成部分^[2]。抗菌肽不仅具有广谱抗细菌的活性, 而且具有高效抗真菌、抗肿瘤、抗病毒的活性, 具备新型药物开发的巨大潜力^[3-5]。使用无毒无公害的抗菌肽代替抗生素已成为当前国内外饲料学科的一项重要研究内容。

1 抗菌肽的概况

1.1 抗菌肽的来源

关于抗菌肽的来源主要有以下几种说法^[6]: 一是 1965 年从蜜蜂毒液中分离得到^[7]; 二是来自植物的硫素 (Thionin)^[8]; 三是 1975 年 Steiner 等^[9]首次从蚕蛹中诱导分离出抗菌肽天蚕素 (Cecropin), 此后分离纯化出许多抗菌肽; 四是 1972 年瑞典科学家在果蝇中发现抗菌肽, 随后又从借古比天蚕蛹体内诱导分离出抗菌肽, 并将其命名为“Cecropin”。第 4 种说法是目前大家公认的。

1.2 抗菌肽的分类

有关抗菌肽的分类方法有很多, 本文主要从以

下几个方面进行分类。

1) 根据抗菌肽的来源分类。一般可分为 6 类, 即植物抗菌肽、哺乳动物抗菌肽、两栖动物抗菌肽、昆虫抗菌肽、细菌抗菌肽以及病毒抗菌肽^[10]。

2) 根据氨基酸的组成和结构特征分类。一般可分为 4 类, 即天蚕素、蛙皮素 (Maginins)、防御素 (Defensins) 及蜂毒素 (Melitins)。其中: 天蚕素是世界上第一个被发现的抗菌肽; 富含半胱氨酸残基的防御素类, 是洛杉矶 Leherer 实验室于 1980 年从兔肺巨噬细胞中分离纯化的 2 个极性很强的小分子阳离子抗菌肽, 随后又发现许多一级结构相似的小分子抗菌肽, 现已从不同种属的动物巨噬细胞中发现 20 多个防御素类抗菌肽, 防御素是最大的一类抗菌肽家族; 富含脯氨酸残基的蛙皮素, 是 1997 年费城 Zasloff 研究组在研究非洲爪蟾伤口始终不受感染的原因时, 在非洲爪蟾皮肤和胃黏膜腺体上皮细胞发现的抗菌肽; 富含甘氨酸残基的蜂毒素, 是从蜜蜂毒液中分离纯化得到的一种多肽^[11]。

3) 根据抗菌肽的化学组成、空间结构及功能分类^[12]。Hoffmann 等^[13]根据抗菌肽的空间结构将其分为线型抗菌肽和环型抗菌肽两类; Lee 等^[14]依据抗菌肽的基因研究成果将其分为三大类, 即不含半胱氨酸的线性抗菌肽 (如猪小肠抗菌肽^[14]、蛙类抗菌肽^[15]、昆虫抗菌肽、人的骨髓和生殖道防御素 Fall-39 等)、含等量半胱氨酸的抗菌肽及富含 1~2 种氨基酸的线性抗菌肽 (如蜜蜂的 Apidaecin、牛嗜中性粒细胞中的抗菌肽等^[16]); 另外, 还有一类被称为高突变防御肽。不含半胱氨酸的线性抗菌肽又可分为具有 α -螺旋和不具有 α -螺旋两类抗菌肽; 含

等量半胱氨酸的抗菌肽又可分为含有 1 个二硫键的抗菌肽(如蛙的 Brevinins、Esculentin 和 Ranalexin^[17])、含有 2 个二硫键的抗菌肽(如鳖的 Tachplexin 和猪的 Protegrin^[18])、含有 3 个二硫键的抗菌肽(又被细分为 α -防御素和 β -防御素^[19])和含有 4 个二硫键的抗菌肽(大多数为植物防御素)。

1.3 抗菌肽的结构特点

抗菌肽是一类能够对抗外界病原体感染的肽类活性物质,具有广谱、高效抗菌等优良特性,这些特性与其自身的结构特点密不可分。尽管抗菌肽的种类繁多,来源也不同,但其一级结构(即氨基酸序列)具有较强的保守性。这种一级结构的保守性主要体现在以下几个方面:一是 N 端含有许多带有正电荷的氨基酸,如赖氨酸、精氨酸等,呈强碱性,含有过剩的正电荷,使抗菌肽具有阳离子特性;二是大部分抗菌肽的第 2 位氨基酸为色氨酸,色氨酸在抗菌肽杀菌活性高低的方面扮演着非常重要的角色;三是 C 端富含缬氨酸、丙氨酸、甘氨酸等非极性氨基酸,并且 C 端通常酰胺化,呈中型疏水性,这可能与抗菌肽的广谱抗菌活性有关;四是中间富含脯氨酸,末端大多酰胺化,也直接影响抗菌肽的杀菌活性^[20]。另外,部分抗菌肽还具备抵抗胃蛋白酶或胰蛋白酶水解的能力。

1.4 抗菌肽的作用机制

众多学者认为,抗菌肽的作用机制主要有 2 种模式,即膜结构破坏模式和非膜结构破坏模式。

1)膜结构破坏模式。绝大多数抗菌肽的作用机制属于膜结构破坏模式,即带有正电荷的抗菌肽与表面带负电荷的靶细胞(如细菌等)通过静电作用相结合,二者相互作用使靶细胞的细胞膜形成不稳定区域,抗菌肽穿过此不稳定区域进入细胞膜的脂质双层中,导致细胞膜的脂质双层结构破坏,细胞膜通透性增加,进而使细胞膜破裂。这种膜结构破坏模式包括孔洞(Barrel stave)学说和地毯式(Carpet)模型 2 种^[21]。

2)非膜结构破坏模式。少数抗菌肽在不破坏细胞膜结构的情况下快速穿过细胞膜,与细胞内靶分子相互作用,进而影响细胞内核酸(DNA 和 RNA)合成与修复、蛋白质合成、胞内物质代谢以及细胞信号转导等生理过程,从而发挥抑菌、杀菌作用。如马蹄蟹体内的抗菌肽 Tachyplexins 可以结合细胞膜上的类脂,当细胞膜脂质进行翻转运动时,抗菌肽随

之进入细胞内并作用于胞内靶位点,而细胞膜却能保持完整^[22]。

2 抗菌肽用作饲料添加剂的优势

第一,抗菌肽不仅具有广谱的抗菌作用,而且具有抗原虫、病毒和肿瘤细胞的作用。第二,抗菌肽选择性作用于病原体和病变细胞,相对比较安全。如抗菌肽 Misgurin 具有广谱的抗细菌和抗真菌作用,却不会引起红细胞溶血^[23],主要原因是病原体表面带的负电荷比正常细胞所带的负电荷多。第三,抗菌肽不易诱导靶细胞产生耐药性。目前,随着抗生素的广泛应用,耐药菌株日益增多。而抗菌肽与抗生素的作用机制不同,抗菌肽对病原体选择性高而不易诱导病原体产生耐药性。第四,抗菌肽稳定性强。抗菌肽于 100 °C 加热 10 min 仍能保持一定活性,且对较低或较高 pH 值和较高的离子强度具有一定的耐受性^[24]。

3 抗菌肽用作饲料添加剂的效果

3.1 抑菌

温刘发等^[25]通过在断奶仔猪饲料中添加抗菌肽代替抗生素,对仔猪腹泻情况进行观察,发现抗菌肽可降低断奶仔猪的腹泻频率。陈晓生等^[26]比较了金霉素与抗菌肽对鸭盲肠 2 种微生物(大肠杆菌和乳酸菌)菌落数的影响情况,结果表明,抗菌肽对大肠杆菌和乳酸菌都有显著的抑制作用;而金霉素只对乳酸菌有显著的抑制作用,对大肠杆菌的抑制作用并不显著。显然,抗菌肽能显著地抑制动物大肠内有害菌的生长,在促进动物肠道微生物菌群平衡、提高其生长性能等方面发挥着重要作用。

3.2 提高动物生产性能

温刘发等^[25]通过饮水的方式让粤黄鸡摄入一定剂量的抗菌肽,研究抗菌肽在粤黄鸡养殖中的使用效果,结果表明,抗菌肽不但可以促进雏鸡生长,而且可以降低雏鸡排泄物中氮的含量,抗菌肽作为饲料添加剂的应用效果显著。陈晓生等^[27]在肉鸭日粮中添加液态的蚕抗菌肽 AD-1 酵母制剂发现,肉鸭的血清代谢激素活动显著增强,胰岛素样生长因子 IGF-1 浓度升高,营养物质合成加强;甲状腺素 T3 升高,甲状腺素 T4 降低;尿素氮浓度降低,体内氮排出减少。陈晓生等^[28]还发现,在日粮中添加抗菌肽制剂 2 mL/kg 能有效地提高肉鸭生产性能,

尤其是在 1~2 周龄的小鸭阶段,其效果显著;从总蛋白浓度和尿素氮的结果来看,添加抗菌肽能使机体在蛋白质合成量变化不大的情况下减少机体蛋白质的分解代谢,从而促进肉鸭生长。王广军等^[29]通过在饲料中添加抗菌蛋白,研究抗菌蛋白在南美白对虾养殖中的使用效果,结果表明,使用抗菌蛋白后南美白对虾不论是生长速度、相对增重率、饲料系数及成活率,还是抗病能力等,都有显著的提高。

3.3 绿色环保且经济

黄永彤等^[30]使用蚕抗菌肽 AD-1 酵母制剂、3 种中草药及 5 种抗生素饲喂肉鸡,发现抗菌肽组肉鸡的平均体重、料肉比、出栏率等主要生产指标与中草药组和抗生素组比较差异不显著,并且出栏率均达到 90% 以上,表明抗菌肽制剂代替抗生素饲喂肉鸡能够达到预期的效果;同时,对抗菌肽制剂进行毒理试验和“三致”试验,证实抗菌肽制剂饲喂肉鸡安全、无毒副作用和药物残留且不污染环境。黄自然等^[31]研究表明,抗菌肽成本低,与抗生素相比,抗菌肽可降低 40% 以上的饲养成本。

4 小 结

抗菌肽的发现和研发,为解决抗生素的耐药性问题提供了新思路。抗菌肽对细菌、真菌、病毒和肿瘤细胞的抑制作用以及免疫调节作用表明,抗菌肽是一种具有广阔发展前景的新型抗菌制剂,特别适合用于对耐药菌株感染的治疗。因此,抗菌肽用作饲料添加剂代替抗生素值得进行更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] YONG D, TOLEMAN M A, GISKE C G, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(12):5046-5054.
- [2] 赵蕾, 王志祥, 李占伟, 等. 抗菌肽的作用机制及作为饲料添加剂的应用[J]. *饲料研究*, 2007(11):12-14.
- [3] HOSKIN D W, RAMAMOORTHY A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778(2):357-375.
- [4] KOCZULLA A R, BALS R. Antimicrobial peptides: current status and therapeutic potential [J]. *Drugs*, 2003, 63(4):389-406.
- [5] MELO M N, DUGOURD D, CASTANHO M A. Omiganan pentahydrochloride in the front line of clinical applications of antimicrobial peptides [J]. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 2006, 1(2):201-207.
- [6] 郑加兰. 抗菌肽的研究与应用[J]. *江西饲料*, 2010(1):14-21.
- [7] PARK C B, KIM M S, KIM S C. A novel antimicrobial peptide from *Bufo bufo gargarizans* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 218(1):408-413.
- [8] FERNANDEZ DE CALEYA R, GONZALEZ-PASCUAL B, GARCÍA-OLMEDO F, et al. Susceptibility of phytopathogenic bacteria to wheat purothionins *in vitro* [J]. *Applied Microbiology*, 1972, 23(5):998-1000.
- [9] STEINER H, HULTMARK D, ENGSTRÖM A, et al. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity [J]. *Nature*, 1981, 292(5820):246-248.
- [10] 刘伶俐. 抗菌肽的研究进展[J]. *饲料广角*, 2004(19):35-36.
- [11] 石强, 刘飞鹏. 抗菌肽克隆基因的表达和转基因研究现状[J]. *生物工程进展*, 2000, 20(1):37-40.
- [12] 饶辉. 抗菌肽的研究现状及其在家禽生产中的应用[J]. *家禽科学*, 2008(6):46-48.
- [13] HOFFMANN J A, REICHHART J M, CHARLES H. Innate immunity in higher insects [J]. *Current Opinion in Immunology*, 1996, 8(1):8-13.
- [14] LEE J Y, BOMAN A, SUN C X, et al. Antibacterial peptides from pig intestine: isolation of a mammalian cecropin [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(23):9159-9162.
- [15] ERSPAMER V. Bioactive secretions of the amphibian integument [J]. *Amphibian Biology*, 1994(1):178-350.
- [16] ZHAO C, GANZ T, LEHRER R I. Structures of genes for two cathelin-associated antimicrobial peptides: prophenin-2 and PR-39 [J]. *FEBS Letters*, 1995, 376(3):130-134.
- [17] BARRAA D, SIMMACOB M, BOMAN H G. Gene-encoded peptide antibiotics and innate immunity: do “animalcules” have defence budgets [J]. *FEBS Letters*, 1998, 430(1-2):130-134.
- [18] MIYASAKI K T, IOFEL R, LEHRER R I. Sensitivity of periodontal pathogens to the bactericidal activity of synthetic protegrins, antibiotic peptides derived from porcine leukocytes [J]. *Journal of Dental Research*, 1997, 76(8):1453-1459.
- [19] ZIMMERMANN G R, LEGAULT P, SELSTED M E, et al. Solution structure of bovine neutrophil beta-defensin-12: the peptide fold of the beta-defensins is identical to that of the classical defensins [J]. *Biochemistry*, 1995, 34(41):13663-13671.
- [20] 郑加兰. 抗菌肽的研究与应用[J]. *江西饲料*, 2010(1):14-21.
- [21] 马文山, 廖富蘋, 范雪云, 等. 细菌抗菌肽的研究进展及其应用[J]. *生物技术通报*, 2008(3):39-49.
- [22] HIRAKURA Y, KOBAYASHI S, MATSUZAKI K. Specific interactions of the antimicrobial peptide cyclic beta-sheet tachyplesin I with lipopolysaccharides [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1562(1-2):32-36.

[23] PARK I Y, PARK C B, KIM M S, et al. Parasin I, an antimicrobial peptide derived from histone H2A in the catfish, *Parasilurus asotus* [J]. FEBS Letters, 1998, 437(3): 258-262.

[24] OHLSEN K, DANDEKAR G, SCHWARZ R, et al. New trends in pharmacogenomic strategies against resistance development in microbial infections [J]. Pharmacogenomics, 2008, 9(11): 1711-1723.

[25] 温刘发, 何丹林, 张常明, 等. 抗菌肽酵母制剂的生产及其作饲料添加剂应用价值的探讨[J]. 广东蚕业, 2001, 35(2): 34-36.

[26] 陈晓生, 张辉华, 周庆国, 等. 抗菌肽对肉鸭雏鸭期肠道主要微生物菌落的影响[J]. 兽药与饲料添加剂, 2006, 11(4): 1-2.

[27] 陈晓生, 温刘发, 张辉华, 等. 饲料中添加抗菌肽对肉鸭生产性能及免疫器官、内脏器官的影响[J]. 畜禽业, 2005(2): 12-13.

[28] 陈晓生, 刘为民, 温刘发, 等. 抗菌肽替代抗生素对肉鸭生产性能及血清代谢激素水平的影响[J]. 中国家禽, 2005, 27(5): 7-9.

[29] 王广军, 谢骏, 余德光. 抗菌蛋白在南美白对虾养殖中的应用试验[J]. 饲料工业, 2005, 26(8): 33-34.

[30] 黄永彤, 黄自然, 黄建清, 等. 抗菌肽与抗生素饲喂肉鸡的效果比较[J]. 广东饲料, 2004, 13(2): 24-25.

[31] 黄自然, 黄国庆, 黄水彤. 新型饲料添加剂抗菌肽饲喂肉鸡的效果[J]. 广东蚕业, 2006, 40(1): 30-34.

(责任编辑: 刘 娟)

冬季猪舍防寒增温措施

在冬季猪的实际饲养管理中, 要注意做好猪舍的防寒保温, 提高舍内温度, 减少猪体代谢的消耗, 这样不但不影响猪只生长和育肥, 而且还能促进其生长发育和增膘。

1) 增加饲养密度。一头猪就是一个“热源”, 即密度越大, 舍温就越高。产仔母猪, 每头占 4.0~4.5 m², 一圈养一窝; 空怀和妊娠母猪, 每头占 1.6 m², 4 m² 圈养 2~3 头; 6~8 月龄后备猪每头占 0.8 m², 4 m² 圈养 7~8 头。上述圈栏包括吃食、饮水及休息的地方。在休息的地方应采用“卧满圈”的方法, 即猪只在卧区内能卧满, 不留空隙, 而且要保持卧区清洁、干燥。

2) 降低猪舍湿度。猪舍的湿度愈大, 猪体散失的热量就愈大, 猪就愈感觉寒冷。为了防潮湿, 圈舍要勤换干草和干土, 还要让猪只定时、定点排粪尿, 一般每昼夜 4~5 次定时排粪尿, 可确保猪卧伏的地方无粪尿、干燥。由于冬天尿窝猪增多, 使舍内湿度加大。所以, 除训练猪“三点定位”(吃食、排粪尿、睡觉固定位置) 外, 饲喂的饲料不能太稀。

3) 防贼风。贼风是通过圈舍的缝隙进入猪舍内袭击猪体的, 在猪熟睡时, 可引起感冒、肺炎等疾病。因此, 要堵塞好圈舍破漏处和缝隙; 猪舍窗户或通风孔要距地面 1.5 m 以上。

4) 应用塑料暖棚。简易圈舍覆盖塑料薄膜, 可有效提高猪舍温度 7℃ 以上, 减少寒冷应激, 降低能量消耗。

5) 铺垫草。在增加密度的同时应用厚垫草铺圈, 是冬季防潮保温的有效办法, 可防止垫草四散及猪在卧区内拉屎撒尿。垫草(麦秸、稻草、锯末等) 来源较广, 而且用完的垫草可与猪粪一起发酵作有机肥料。使用垫草铺圈的方法是: 在猪趴卧区放 20~30 cm 的挡草板(最好用砖和水泥砌成, 将立砖放于地面下 5 cm, 余 19 cm 在地面上, 用水泥将面砖砌成高 20~22 cm 即可), 再将垫草置入趴卧区内。

来源: 华夏养猪网