

杨 兵, 李晓凤, 夏先林. 牛膝多糖对断奶仔猪氧化应激和免疫功能的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(3): 618-623.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.03.019

牛膝多糖对断奶仔猪氧化应激和免疫功能的影响

杨 兵¹, 李晓凤², 夏先林³

(1. 铜仁职业技术学院饲料与动物营养实验室, 贵州 铜仁 554300; 2. 铜仁职业技术学院护理学院, 贵州 铜仁 554300; 3. 贵州大学动物科学学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 选取体质量和遗传基础相近的 25 日龄杜长大 (DLY) 断奶仔猪 36 头, 随机分成对照组和 2 个试验组, 每组 3 个重复, 每个重复 4 头仔猪 (公母比为 1:1)。分别饲喂添加 0 mg/kg 牛膝多糖 (ABPS) (对照组)、600 mg/kg ABPS (试验组 1) 和 1 200 mg/kg ABPS (试验组 2) 的日粮。血样生化指标测定结果表明: 添加牛膝多糖对仔猪血清超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性无影响 ($P>0.05$), 试验组 2 的谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性和总抗氧化能力 (T-AOC) 显著高于对照与试验组 1 ($P<0.05$); 试验组 1 的丙二醛 (MDA) 含量显著低于对照组 ($P<0.05$), 而血清免疫球蛋白 IgA 浓度显著高于对照 ($P<0.05$), 血清免疫球蛋白 IgG 浓度显著高于对照和试验组 2 ($P<0.05$); 试验组 2 的血清免疫球蛋白 IgM 浓度和血清球蛋白浓度显著高于对照和试验组 1 ($P<0.05$), 而白蛋白/球蛋白比例显著低于对照和试验组 1 ($P<0.05$); 试验组 1、2 的血清总蛋白浓度显著高于对照组 ($P<0.05$), 但血清溶菌酶活性显著低于对照 ($P<0.05$)。综上, 牛膝多糖能够显著改善断奶仔猪氧化应激反应及免疫力, 改善仔猪健康状态。

关键词: 牛膝多糖; 免疫; 氧化应激; 断奶仔猪

中图分类号: S816.75 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)03-0618-06

Oxidative stress and immunity of weaned piglets in response to *Achyranthes bidentata* polysaccharide

YANG Bing¹, LI Xiao-feng², XIA Xian-lin³

(1. Lab of Feedstuff and Animal Nutrition, Tongren Vocational and Technical College, Tongren 554300, China; 2. College of Nursing, Tongren Vocational and Technical College, Tongren 554300, China; 3. College of Animal Science and Technology, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: A total of thirty-six 25-day-old DLY weaned piglets with similar genetic background and weight were divided into three groups with three replicates per group and 4 pigs per replicate in a randomized complete block. The control was fed on basal diet, and the other two groups were fed on basal diet supplemented with 600 mg/kg *Achyranthes bidentata* polysaccharide (ABPS) (group 1) and 1 200 mg/kg ABPS (group 2), respectively. The results showed that ABPS did not affect the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in serum ($P>0.05$). Serum glutathione peroxidase (GSH-Px) activities and total antioxidant capacity (T-AOC) of the piglets in group 2 were significantly higher than those in control and group 1 ($P<0.05$). The concentrations of malondialdehyde (MDA) in the piglets of group 1 was significantly decreased compared to control ($P<0.05$), however, the immunoglobulin A (IgA) concentration was increased ($P<0.05$), and serum IgG in group 1 was higher than those in control and group 2 ($P<0.05$).

收稿日期: 2016-12-30

基金项目: 贵州省农业科技基金项目 [黔科合 NZ(2014)3044]; 铜仁市科技计划项目 [铜市科研(2016)17号-4]

作者简介: 杨 兵 (1986-), 男, 安徽安庆人, 博士研究生, 讲师, 研究方向为生物技术与动物育种。(E-mail) bingyang19860919@163.com

通讯作者: 夏先林, (E-mail) xiaxl1952@sina.com

Sera IgM globulin concentrations in group 2 was higher than those in control and group 1 ($P < 0.05$), however, the ratio of albumin to globulin was lower. Total protein in groups 1 and 2 were boosted compared to those in control, but serum lysozyme activity was lowered ($P < 0.05$). In conclusion, *A. bidentata* polysaccharide can significantly improve the oxidative stress and immunity, thereby enhancing the state of health in weaned piglets.

Key words: *Achyranthes bidentata* polysaccharide; immunity; oxidative stress; weaned piglet

牛膝为苋科类植物牛膝的干燥根^[1],始载于《神农本草经》,主要分布于河北、山东、河南、山西和四川等地。牛膝具有强筋骨、补肝肾、引血下行和逐瘀通经之功效^[2]。根据产地的不同,牛膝分为川牛膝和怀牛膝,其中川牛膝以祛风利湿、活血祛痛见长,怀牛膝以补肝肾见长^[2]。大量研究结果表明,中药牛膝提取物—牛膝多糖(ABPS)具有提高免疫力^[3-4]、抗肿瘤^[5-7]、抗衰老^[8]、抗凝血^[9]、降糖^[10]和抑菌^[11]等作用。目前,关于牛膝多糖的研究主要集中在人类医学等研究领域,在断奶仔猪中的应用报道相对较少。

早期断奶技术的应用使得仔猪断奶应激更加严重,特别是饲养环境和营养条件改变,会引起仔猪体内血液、神经系统和内分泌等发生一系列变化,导致仔猪生长发育受阻甚至死亡^[12]。另外,随着人们健康和环保意识的增强,开发无残留、无污染和多功能的天然促生长剂已成为畜牧业可持续发展的必然趋势^[13]。本研究旨在探究牛膝多糖对断奶仔猪氧化应激状态和免疫功能的影响,为牛膝多糖作为绿色饲料添加剂改善仔猪健康、提高仔猪免疫性能提供理论依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 36头遗传基础和体质量[(6.0±0.2) kg]相近、(25±1)日龄的杜洛克×长白×大白(DLY)断奶仔猪选自于贵州省贵阳市台农种养殖有限公司种猪场。

1.1.2 主要试剂 牛膝多糖(ABPS)购自陕西慈缘生物技术有限公司,纯度为99%;溶菌酶试剂盒、乳酸试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒、总蛋白(TP)试剂盒、白蛋白试剂盒、免疫球蛋白A(IgA)试剂盒、免疫球蛋白M(IgM)试剂盒、免疫球蛋白G(IgG)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、总抗氧化力(T-AOC)试剂盒和丙二醛(MDA)均购自南京建成生物技术有限公司。

1.1.3 主要仪器 酶标仪(华东电子 DG5033A)购自济南奥新自动化设备有限公司,紫外可见分光光度计(CN61M/UV-9100)购自北京莱伯泰科仪器股份有限公司,微型振荡器(HG223-MH-1)购自北京百万电子科技中心,单道移液器(100 μl)购自上海奥陆生物科技有限公司,低速离心机(DT5-1)购自北京时代北利离心机有限公司,移液器(Thermo Fisher Scientific, 50 μl, 8道)购自北京平利洋公司。

1.2 试验设计

采用单因素完全随机试验设计,将供试36头仔猪随机分成对照组、试验组1和试验组2,每组12头仔猪,每组3个重复,每个重复4头仔猪(公母各占一半),3组分别饲喂添加牛膝多糖0 mg/kg、600 mg/kg和1 200 mg/kg的日粮。试验结束当天清晨,每组每个重复随机选取1头仔猪进行空腹前腔静脉采血,采集的血样置于10 ml离心管中,室温静置20 min,3 000 r/min离心15 min,取上清液,备用。

1.3 饲养管理

试验在贵州省贵阳台农种养殖有限公司种猪场进行。试验猪只自由饮水、采食,消毒免疫程序按照猪场常规方法进行。以处理为单位进行饲喂,并做好饲喂记录。预试期5 d,正试期28 d。在预试期,逐渐改变日粮,直至全部转换,以减少饲料变换引起的应激。按猪的采食量大小随时调整给料量。转入正试期后,按试验设计对各组猪进行处理,饲喂制度和方式不变,每天观察和记录试验猪的采食、饮水、健康状况以及环境温度和湿度等。

1.4 试验日粮

基础日粮配制参照中国猪饲养标准(2004)和猪的营养需要(NRC, 1998),由贵阳市台农种养殖有限公司饲料厂提供。基础日粮的组成及营养水平见表1。

1.5 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性、总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、丙二醛(MDA)含量采用分光光度法测定,过氧化氢酶

(CAT)活性采用可见光法测定。

表1 基础日粮的组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutritional levels of the basal diets (air-dried basis)

组分	含量(%)	营养成分	水平(%)
熟玉米	53.50	干物质	87.80
豆粕	5.00	消化能	14.30
膨化大豆	18.00	粗蛋白	21.16
大豆蛋白	3.00	粗纤维	4.50
超级鱼粉	3.50	粗脂肪	4.14
全脂奶粉	6.00	灰分	12.86
葡萄糖	5.00	钙	0.71
色拉油	2.00	磷	0.49
磷酸二氢钙	1.50	赖氨酸	1.13
石粉	1.10		
食盐	0.40		
预混料	1.00		

预混料为每1 kg 饲料提供维生素 A 1 500 IU、维生素 D 3 200 IU、维生素 E 10 IU、维生素 K 30.50 mg、维生素 B₁ 1.00 mg、维生素 B₂ 3.60 mg、维生素 B₆ 1.50 mg、生物素 0.05 mg、叶酸 0.30 mg、D-泛酸 10.00 mg、烟酸 10.00 mg、胆碱 500.00 mg、铜 6.00 mg、铁 100.00 mg、锌 100.00 mg、锰 4.00 mg、硒 0.30 mg 和碘 0.14 mg。

总蛋白质浓度采用双缩脲比色法测定,白蛋白浓度采用溴甲酚绿比色法测定,乳酸脱氢酶活性采

用二硝基苯肼法测定,溶菌酶活性采用比色法测定,免疫球蛋白 IgA、IgG 和 IgM 浓度均采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定,乳酸浓度采用比色法测定,球蛋白浓度由总蛋白与白蛋白浓度差值计算而得。

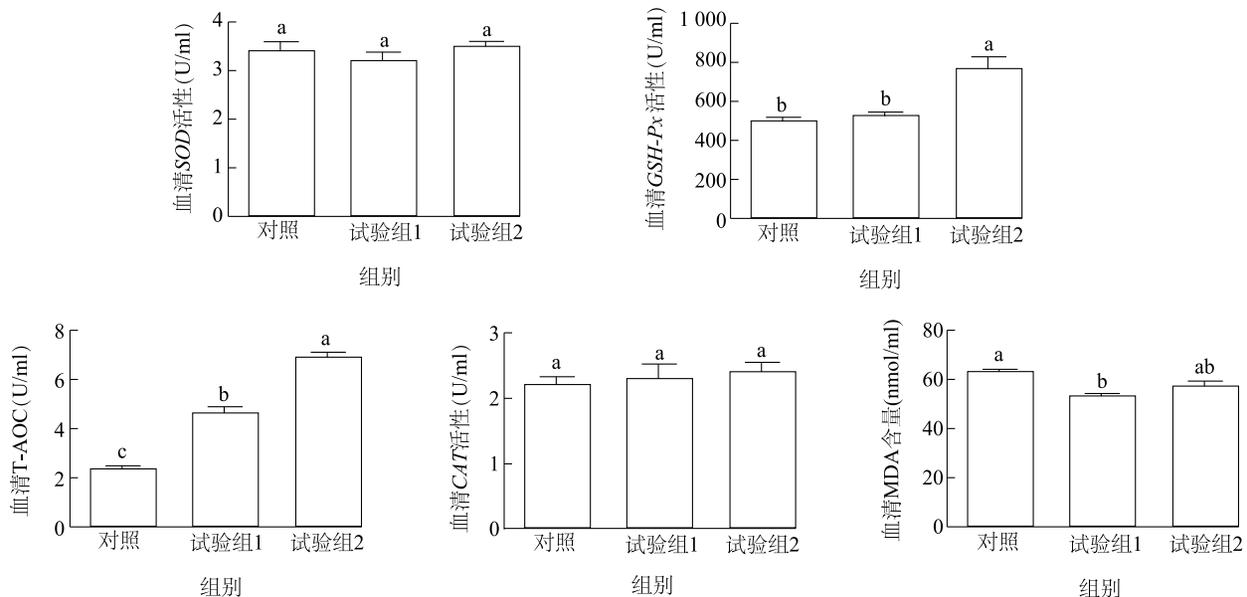
1.6 数据分析

利用 Excel 2016 整理试验数据,采用统计软件 SPSS20.0 进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 牛膝多糖对断奶仔猪氧化应激状态的影响

基础日粮中添加不同水平的牛膝多糖可提高仔猪血清 GSH-Px 活性和总抗氧化能力(T-AOC) ($P < 0.05$),降低血清 MDA 浓度($P > 0.05$),但对血清 SOD 和 CAT 活性无显著影响($P > 0.05$) (图1)。对照组、试验组1、试验组2仔猪的血清 SOD 和 CAT 组间差异不显著($P > 0.05$);试验组2仔猪的 GSH-Px 活性显著高于对照组与试验组1 ($P < 0.05$),但对照组与试验组1 差异不显著($P > 0.05$);试验组2 仔猪的 T-AOC 显著高于试验组1 ($P < 0.05$),且试验组1 显著高于对照($P < 0.05$);试验组1 仔猪的 MDA 浓度显著低于对照($P < 0.05$),但试验组2 与对照组差异不显著($P > 0.05$)。



对照、试验组1和试验组2分别饲喂添加牛膝多糖0 mg/kg、600 mg/kg和1 200 mg/kg的日粮。不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

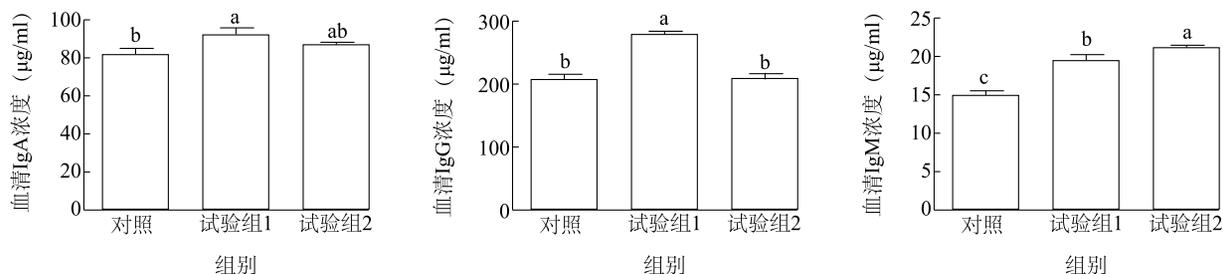
图1 牛膝多糖对断奶仔猪氧化应激状态的影响

Fig.1 Effects of *Achyranthes bidentata* polysaccharide on oxidative stress in weaned piglets

2.2 牛膝多糖对断奶仔猪血清免疫球蛋白浓度的影响

日粮中添加一定量的牛膝多糖提高了仔猪血清免疫球蛋白 IgA、IgG 和 IgM 浓度 ($P < 0.05$) (图 2)。试验组 1 仔猪的血清 IgA、IgG 浓度显著高于对照和

试验组 2 ($P < 0.05$), 但后两者间差异不显著 ($P > 0.05$); 试验组 2 仔猪的血清 IgM 浓度显著高于对照和试验组 1 ($P < 0.05$), 且试验组 1 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。



各试验组处理见图 1 注。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

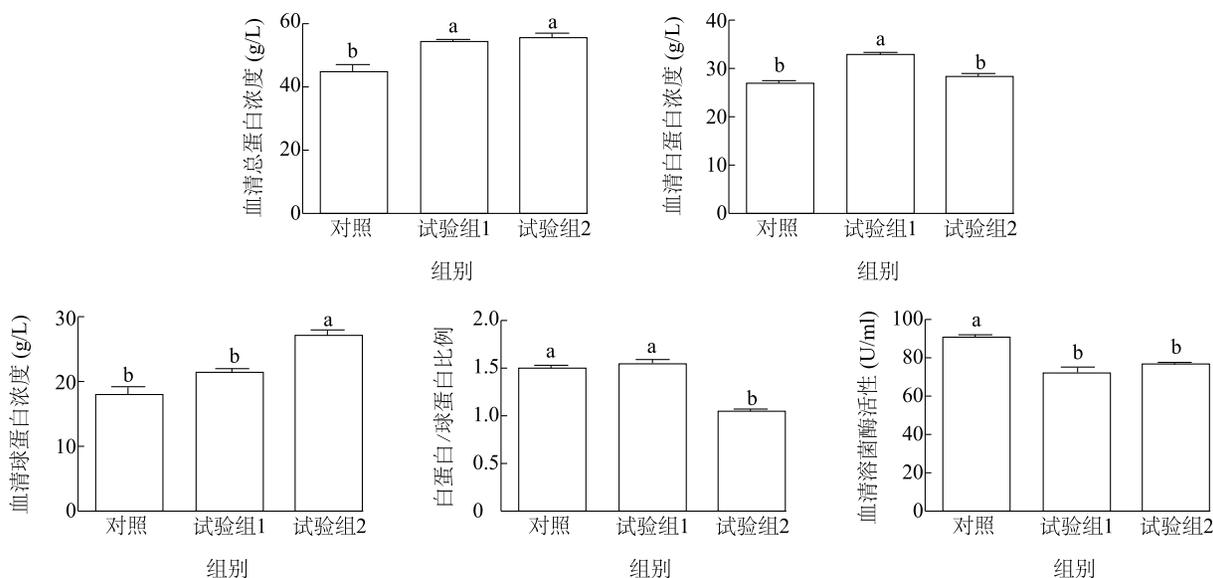
图 2 牛膝多糖对断奶仔猪血清免疫球蛋白浓度的影响

Fig.2 Effects of *A. bidentata* polysaccharide on serum immunoglobulin concentration in weaned piglets

2.3 牛膝多糖对断奶仔猪血清总蛋白、白蛋白、球蛋白浓度以及溶菌酶活性的影响

从图 3 可见,牛膝多糖可提高断奶仔猪血清总蛋白、白蛋白和球蛋白浓度,同时降低血清溶菌酶活性和白蛋白/球蛋白比例 ($P < 0.05$)。试验组 1 仔猪和试验组 2 仔猪的血清总蛋白浓度显著高于对照 ($P < 0.05$), 但试验组间差异不显著 ($P > 0.05$); 试验组 1 仔猪的血清白蛋白浓度显著高于对照和试验组

2 ($P < 0.05$), 但后两者差异不显著 ($P > 0.05$); 试验组 2 仔猪的血清球蛋白浓度显著高于对照和试验组 1 ($P < 0.05$), 但后两者差异不显著 ($P > 0.05$)。试验组 2 仔猪的白蛋白/球蛋白比例显著低于对照和试验组 1 ($P < 0.05$), 但后两者差异不显著 ($P > 0.05$); 试验组 1 和试验组 2 仔猪的血清溶菌酶活性显著低于对照 ($P < 0.05$), 但试验组间差异不显著 ($P > 0.05$)。



各试验组处理见图 1 注。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 牛膝多糖对断奶仔猪血清总蛋白、白蛋白、球蛋白浓度及溶菌酶活性的影响

Fig.3 Effects of *A. bidentata* polysaccharide on concentrations of total protein, albumin and globulin, and lysozyme activity in the serum of weaned piglets

3 讨论

氧化应激是指机体氧化与抗氧化作用失衡而引起自由基含量在体内升高,进而损害蛋白质、DNA和脂质等生物大分子的生物学反应过程^[14-15]。生物体内的自由基包括单线态氧、氢过氧基、超氧阴离子自由基、羟自由基、一氧化氮、氢过氧化物和过氧化氢等^[14],机体抗氧化系统包括酶类抗氧化剂和非酶类抗氧化剂。酶类抗氧化剂,主要有谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、超氧化物歧化酶(SOD)及过氧化氢酶(CAT)等;非酶类抗氧化剂,主要有维生素A、维生素C、维生素E、一氧化氮、谷胱甘肽和β-胡萝卜素等^[16]。本试验中,基础日粮中添加不同水平的牛膝多糖可显著提高血清GSH-Px活性和T-AOC,降低血清MDA浓度,但对血清SOD和CAT活性无显著影响,说明牛膝多糖可显著改善断奶仔猪氧化应激状态,促进机体健康生长。王红权等^[17]在饲料中添加牛膝多糖,观察血清SOD活性和MDA含量的变化,结果表明添加0.20%和0.40%ABPS显著增加草鱼血清SOD活性,随着饲料中ABPS添加量的增加血清MDA含量先下降后上升,与本试验结果相近。

杨兵等^[18]观察发现,熟地黄多糖可显著降低断奶仔猪血清MDA含量,显著升高GSH-Px和SOD活性,且血清T-AOC随着熟地黄多糖添加量增加而逐渐升高。张圣方等^[19]研究表明,泰山蛹虫草多糖可显著提高红细胞SOD、CAT活性,并降低红细胞MDA含量。Zhang等^[20]在大鼠饲料中添加ABPS,观察其对氧化应激的影响,发现ABPS可显著提高血清SOD、CAT和GSH-Px活性,降低血清MDA浓度。

本试验中,日粮中添加ABPS显著提高了仔猪血清IgA、IgG和IgM浓度。Guo等^[21]在仔猪日粮中添加ABPS后观察生长性能、免疫、肾上腺激素和生长激素的变化,结果为ABPS对于血清IgG无显著影响。Kang等^[22]研究表明ABPS能显著提高仔猪血浆IgG浓度。杨兵等^[18]等研究结果表明,日粮中添加熟地黄多糖后仔猪血清免疫球蛋白IgA、IgM和IgG含量变化不显著。这些报道与本试验结果不一致,可能是由多糖的结构和剂量差异、环境因素等造成的。

血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)及白/球蛋白

比值(A/G)系肝功能检查的常规项目,对疾病的诊断和治疗、病情随访及预后判断有重要意义^[23]。本试验中,牛膝多糖显著提高断奶仔猪血清总蛋白、白蛋白和球蛋白浓度,同时降低血清溶菌酶活性和白蛋白/球蛋白比例,说明牛膝多糖能显著改善机体特异性免疫、非特异性免疫和健康状态。张圣方等^[19]研究表明,泰山蛹虫草多糖可显著提高血清总蛋白、球蛋白和白蛋白含量,与本试验结果相符。综上所述,牛膝多糖作为绿色、无残留、无污染、多功能的天然促生长剂,可改善断奶仔猪的氧化应激状态和免疫功能,具有在畜牧生产中应用、推广的价值。

参考文献:

- [1] 时春娟,周永达,张剑波,等.牛膝多糖研究进展[J].中国新药杂志,2006,15(16):1330-1334.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:北京化学工业出版社,2005.
- [3] LIU C M, CHEN H J, CHEN K, et al. Sulfated modification can enhance antiviral activities of *Achyranthes bidentata* polysaccharide against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) *in vitro* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 52: 21-24.
- [4] ZHU X T, PAN Y Y, ZHENG L, et al. Polysaccharide from the Chinese medicinal herb *Achyranthes bidentata* enhance anti-malarial immunity during *Plasmodium yoelii* 17XL infection in mice [J]. Malaria Journal, 2012, 11: 49.
- [5] 陈红,刘友平.川牛膝多特抗肿瘤作用初探[J].成都中医药大学学报,2001,24(1):49-50.
- [6] CHEN X M, ZHANG J, TIAN G Y. Studies on synthesis and anti-tumor activity of phosphorylated *Achyranthes bidentata* polysaccharide (P-AbPS) [J]. Chinese Journal of Chemistry, 2002, 20(11): 1406-1410.
- [7] JIN L Q, ZHENG Z J, PENG Y, et al. Opposite effects on tumor growth depending on dose of *Achyranthes bidentata* polysaccharide in C57BL/6 mice [J]. International Immunopharmacology, 2007, 7: 568-577.
- [8] TAN F, DENG J. Analysis of the constituents and anti-senile function of *Achyranthes bidentata* polysaccharide [J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(7): 795-798.
- [9] 毛平,夏卉莉,袁秀荣,等.怀牛膝多糖抗凝血作用实验研究[J].时珍国医国药,2000,11(12):1075-1076.
- [10] 李海泉.牛膝多糖降糖作用实验研究[J].安徽医药,2004,8(5):326-327.
- [11] 彭颖,吕建新.牛膝多格抑制大肠埃希菌细胞黏附的实验研究[J].微生物学杂志,2002,14(5):262-263.
- [12] 马玉芳,张中桥,黄一帆.断奶应激对仔猪生理功能的影响及中草药防治断奶仔猪应激的现状[J].福建畜牧兽医,2004,26

- (5):14-15.
- [13] 燕富永,印遇龙,孔祥峰,等.刺五加提取物抗仔猪断奶应激的效用[J].中国农业科学,2010,43(21):4490-4496.
- [14] 杨郁菡,白 明.乳酸菌抗氧化机理的初步探讨[J].中国乳业,2011(7):68-73.
- [15] 刘 晶,黄珊珊,赵 征.乳酸菌抗氧化能力研究进展[J].中国乳品工业,2010(5):38-41.
- [16] 张克烽,张子平,陈 芸,等.动物抗氧化系统中主要抗氧化酶基因的研究进展[J].动物学杂志,2007,42(2):153-160.
- [17] 王红权,赵玉蓉,王小娜,等.牛膝多糖对草鱼免疫和抗氧化功能的影响[J].水生生物学报,2013,37(2):193.
- [18] 杨 兵,夏先林,施晓丽,等.熟地黄多糖对断奶仔猪抗氧化性能和免疫性能的影响[J].江苏农业学报,2012,28(4):787-791.
- [19] 张圣方,赵龙玉,王 雪,等.泰山蛹虫草多糖对免疫抑制小鼠血清蛋白含量和体内抗氧化能力的影响[J].食品工业科技,2015(11):332-336.
- [20] ZHANG Z Y, LIN J Y. The influence of polysaccharide from the roots of *Achyranthes bidentata* on biochemical parameters related to oxidative stress induced by exhaustive exercise of rats [J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012, 11(24): 4693-4696.
- [21] GUO G L, LIU Y L, FAN W, et al. Effects of *Achyranthes bidentata* polysaccharide on growth performance, immunological, adrenal, and somatotrophic responses of weaned pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide [J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 2008, 21(21): 1189-1195.
- [22] KANG P, XIAO H L, HOU YQ, et al. Effects of *Astragalus polysaccharide*, *Achyranthes bidentata* polysaccharide, and *Acanthopanax senticosus saponin* on the performance and immunity in weaned pigs [J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 2010, 23(6): 750-756.
- [23] 张建忠,刘群德,朱 晶,等.某地区健康成人血清总蛋白、清蛋白以及白/球蛋白比值的参考值范围调查[J].国际检验医学杂志,2012,33(13):1603-1605.

(责任编辑:张震林)