

陈柯源, 宋向东, 程 峰, 等. 当归补血汤发酵产物对肉鸡免疫和抗氧化能力的影响[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(4): 992-999.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.04.026

当归补血汤发酵产物对肉鸡免疫和抗氧化能力的影响

陈柯源¹, 宋向东¹, 程 峰¹, 张玉珺², 梁剑平¹, 郝宝成¹

(1. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/农业农村部兽药创制重点实验室/甘肃省新兽药工程重点实验室, 甘肃 兰州 730050; 2. 甘肃农业大学, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 本研究拟通过明确当归补血汤(Danggui buxue tang, DBT)发酵产物对肉鸡生长性能、免疫功能、抗氧化能力以及十二指肠绒毛形态的影响,为新型中药发酵饲料添加剂的研发提供理论依据。试验选用1日龄健康白羽肉鸡210只,随机分成5组:饲喂基础日粮的对照组、在日粮中添加1.0% DBT药粉的未发酵组以及在日粮中分别添加0.5%、1.0%和2.0% DBT发酵物的发酵组。结果显示,与对照组和DBT未发酵组相比,1.0%和2.0% DBT发酵组在生产性能方面,可显著降低肉鸡日采食量($P<0.05$)和料肉比($P<0.05$),提高肉鸡平均日增质量($P<0.05$);在免疫性能方面,试验21d时,法氏囊指数、新城疫抗体效价以及白细胞介素2(IL-2)、白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和干扰素(INF- γ)含量均显著升高($P<0.05$);在抗氧化性能方面,血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)以及总抗氧化能力(T-AOC)显著升高($P<0.05$),血清中丙二醛(MDA)含量显著降低($P<0.05$)。在十二指肠绒毛形态方面,试验42d时,1.0% DBT发酵组的绒毛高度/隐窝深度比值同样显著高于对照组和DBT未发酵组($P<0.05$)。研究表明,日粮中添加1.0%的DBT发酵产物能够对白羽肉鸡的生长、免疫、抗氧化性能及十二指肠绒毛形态有显著的改善作用,且饲喂效果明显优于DBT未发酵组和空白对照组,DBT发酵产物可作为一种新型饲料添加剂应用于畜禽养殖业。

关键词: 当归补血汤; 发酵; 生产性能; 免疫功能; 抗氧化能力; 十二指肠绒毛形态

中图分类号: S831.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)04-0992-08

Effects of fermentation products of Danggui Buxue Tang on immune and antioxidant capacity in broilers

CHEN Ke-yuan¹, SONG Xiang-dong¹, CHENG Feng¹, ZHANG Yu-jun², LIANG Jian-ping¹, HAO Bao-cheng¹

(1. Key Lab of New Animal Drug Project Gansu Province/Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutical Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Lanzhou 730050, China; 2. Gansu Agricultural University, Lanzhou 730050, China)

Abstract: This study intends to provide theoretical basis for the research and development of new Chinese medicine fermented feed additives by clarifying the effects of fermentation products of Danggui Buxue Tang (DBT) on the growth performance, immune function, antioxidant capacity and duodenal villi morphology of broilers. In this study, a total of 210 healthy white feather broilers with similar initial body weight (one day old) were randomly divided into five groups. The control group was fed with the basic diet, the unfermented group was fed with basic diet and 1.0% DBT powder, and the fermentation group was fed with basic diet and 0.5%, 1.0% and 2.0% DBT fermentation products, respectively. The results showed that compared with the control and unfermented groups, 1.0% DBT and 2.0% DBT fermentation groups significantly reduced the daily feed intake ($P<0.05$) and feed to gain ratio (F/G) ($P<0.05$), and in-

收稿日期: 2020-01-07

基金项目: 甘肃省现代农业产业技术体系项目; 中国农业科学院重大产出科研项目(CAAS-ZDXT2018008)

作者简介: 陈柯源(1993-), 男, 河南洛阳人, 硕士研究生, 研究方向为基础兽医学。(E-mail) c18336733159@163.com

通讯作者: 郝宝成, (E-mail) haobaocheng@sina.cn

mentation group was fed with basic diet and 0.5%, 1.0% and 2.0% DBT fermentation products, respectively. The results showed that compared with the control and unfermented groups, 1.0% DBT and 2.0% DBT fermentation groups significantly reduced the daily feed intake ($P<0.05$) and feed to gain ratio (F/G) ($P<0.05$), and in-

creased the average daily gain ($P<0.05$) in growth performance. Moreover, the index of bursa of Fabricius, ND-HI immune globulin and contents of interleukin 2 (IL-2), interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α) and interferon- γ (INF- γ) were significantly increased in immune function ($P<0.05$). In addition, the contents of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and total antioxidant capacity (T-AOC) in antioxidant capacity were significantly improved ($P<0.05$), but the content of malondialdehyde (MDA) in serum was significantly reduced ($P<0.05$). In terms of duodenal villi morphology, the ratio of villus height to crypt depth of 42-day-old broilers in 1.0% DBT fermentation group was also significantly higher than that in control group and unfermented group ($P<0.05$). The results showed that the addition of 1.0% fermentation products of DBT could significantly promote the growth, immune and antioxidant capacity of white feather broilers, and had a significant effect on the duodenal villus morphology. The feeding effect of 1.0% DBT fermentation group is obviously better than that of unfermented group and control group, and fermentation products of DBT can be used in livestock and poultry breeding as a new type of feed additive.

Key words: Danggui Buxue Tang (DBT); fermentation; growth performance; immune function; antioxidant capacity; duodenal villus morphology

随着畜禽养殖业规模的逐渐扩大,减抗(减少使用抗生素)、限抗(限制使用抗生素)的呼声日益高涨,中药饲料添加剂将是畜禽养殖业未来发展的选择。中药具有抗菌、增强免疫等多种生物活性,作为畜禽饲料添加剂已被广泛使用。当归补血汤(Danggui buxue tang, DBT)是一种传统的中药复方,由黄芪和当归组成,干质量比例为1:5^[1],药理学研究结果表明,当归补血汤具有促进造血功能,刺激心血管循环,增加抗氧化及免疫活性的能力^[1-8]。然而与中药相比,益生菌发酵中药具有毒副作用小、无抗药性、功能多样等优点,对动物机体有着更为显著的积极作用。多项研究结果表明,发酵中药可显著提高肉鸡日增质量,降低料肉比并对机体相关免疫指标起到明显的积极调控作用^[9-11]。因此,研究和开发新型的绿色、无公害饲料添加剂已成当前的必然发展趋势。DBT作为经典中药复方,虽然在前期研究中发现其具有一定的促生长和提高免疫功能等作用,但效果并不显著,不能完全发挥DBT中药复方中有效成分的活性作用,且缺乏发酵DBT对肉鸡生长性能、免疫功能及抗氧化能力影响的系统研究。本研究拟采用枯草芽孢杆菌液体发酵DBT的方式制备DBT发酵产物,通过42 d的饲喂试验和相关指标测定,深入探讨并系统研究DBT发酵产物对肉鸡生产性能、免疫功能、抗氧化能力及十二指肠绒毛形态的影响,为DBT发酵产物用作新型饲料添加剂提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 菌种和试剂

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)购自中国工业

微生物菌种保藏管理中心;新城疫(Lasota株)、传染性法氏囊疫苗购自哈药集团有限公司。黄芪、当归均购自甘肃复兴厚生物医药科技有限公司;鸡IL-2、IL-6、INF- γ 和TNF- α 等试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司(生产批号:SBE221910);血清GSH-Px、SOD、T-AOC、MDA等试剂盒均购自南京建成生物工程研究所(生产批号:20190526)。

1.2 DBT药粉及发酵产物的制备

DBT药粉制备:将黄芪和当归洗净烘干后,按5:1的质量比准确称取2种药材混合粉碎,并过60目筛。DBT发酵产物制备:无菌条件下,取-70℃下保存的枯草芽孢杆菌接种于血平板上,于37℃恒温箱中过夜培养。挑取单菌落于5 ml LB肉汤中,在37℃,160 r/min条件下培养15 h,以2%的体积分数接种于100 ml LB肉汤中,相同条件下传代培养得到种子液。以2.92%的体积分数将种子液接种于发酵培养基(0.95%无水葡萄糖,1.52%蛋白胨,0.30%酵母浸出粉,0.05%磷酸氢二钾,0.07%无水硫酸镁,0.02%碳酸钙,6.00% DBT药粉,100 ml去离子水,初始pH为7.2)中,在37℃,160 r/min条件下培养35.8 h,冷冻干燥后得到DBT发酵产物,发酵产物中枯草芽孢杆菌活菌数约为 6.8×10^8 CFU/g)。

1.3 试验动物与日粮

试验动物为210只1日龄体质量相近、健康的白羽肉鸡,随机分成5个处理,每个处理6个重复,每个重复7只鸡,A1为对照组,饲喂基础日粮,A2为DBT未发酵组,在基础日粮中添加1.0%的DBT药粉,A3、A4、A5为DBT发酵组,在日粮中分别添

加 0.5%、1.0%、2.0% 的 DBT 发酵产物。试验期为 42 d, 1~21 d 为试验前期, 22~42 d 为试验后期。

试验饲料采用玉米-豆粕型基础饲料, 根据中国鸡饲养标准(2004) 营养需要量进行饲料配制, 组成

及营养水平见表 1。每个平养笼中饲养 7 只肉鸡, 试验期间所有肉鸡饲养管理条件一致, 环境温度从 36 ℃ 逐渐降至 22 ℃, 自由采食和饮水, 24 h 光照, 并按常规免疫程序进行疫苗接种。

表 1 基础饲料组成和营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)

原料	1~21 d	22~42 d	营养水平	1~21 d	22~42 d
玉米(%)	55.00	59.00	代谢能(MJ/kg)	12.60	12.77
大豆粕(%)	36.20	32.40	蛋白质(%)	21.27	19.94
豆油(%)	4.00	4.00	钙(%)	1.00	0.90
石粉(%)	1.21	1.14	有效磷(%)	0.45	0.40
磷酸氢钙(%)	1.91	1.65	赖氨酸(%)	1.15	1.14
赖氨酸(%)	0.07	0.18	蛋氨酸(%)	0.50	0.50
蛋氨酸(%)	0.31	0.33	蛋氨酸+半胱氨酸(%)	0.69	0.68
氯化胆碱(%)	0.05	0.05			
食盐(%)	0.25	0.25			
预混料(%)	1.00	1.00			

预混料为每 1 kg 饲料提供: 维生素 A 5 000 IU, 维生素 D 1 000 IU, 维生素 E 75.0 mg, 维生素 K 318.8 mg, 维生素 B1 9.8 mg, 维生素 B2 28.8 mg, 维生素 B6 19.6 mg, 维生素 B12 0.1 mg, 泛酸钙 58.8 mg, 烟酸 196.0 mg, 叶酸 4.9 mg, 生物素 2.5 mg, 铜(硫酸铜) 4.0 mg, 铁(硫酸亚铁) 40.0 mg, 锰(硫酸锰) 50.0 mg, 锌(硫酸锌) 37.6 mg, 碘(碘化钾) 0.2 mg, 硒(亚硒酸钠) 0.2 mg。

1.4 测定指标和方法

1.4.1 生长性能测定 分别在肉鸡 21 日龄和 42 日龄, 禁食 12 h, 对每个重复的供试肉鸡称质量, 并详细记录各个阶段的饲料消耗量, 计算 2 个阶段肉鸡的平均日增质量(ADG)、平均日采食量(ADFI) 以及料肉比(F/G)。

1.4.2 样品采集 分别在肉鸡 21 日龄和 42 日龄, 禁食 12 h, 从每个重复的供试肉鸡中随机抽取 2 只, 心脏采血 10 ml, 于 4 ℃ 过夜, 然后 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清于 -80 ℃ 中保存, 待测。

1.4.3 免疫器官脏器指数测定 分别在肉鸡 21 日龄和 42 日龄, 心脏采血后放血处死, 剖检, 采集脾脏、法氏囊并称重, 脏器指数=脏器湿质量/体质量×100%

1.4.4 十二指肠绒毛形态观察 分别在肉鸡 21 日龄和 42 日龄, 心脏采血后放血处死, 剖检, 在十二指肠的中间部位截取约 2~3 cm, 迅速浸入生理盐水中漂洗内容物, 然后置于 10% 甲醛固定液中, 将固定的标本经水洗、脱水、透明等步骤处理, 再用石蜡包埋, 冷却凝固后, 制作厚度 5 μm 的切片, 苏木精伊红染色, 树脂封片。在石蜡切片中选出典型视野, 采用生物显微镜及显微图像分析系统, 测量肠绒毛高

度(V)和隐窝深度(C), 并计算绒毛高度与隐窝深度比(V/C)。

1.4.5 新城疫抗体效价测定 用新城疫疫苗在 7 d 和 21 d 时对各组肉鸡进行点眼滴鼻免疫接种, 采用半微量血凝抑制实验法测定 HI 抗体效价。

1.4.6 细胞因子测定 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清白细胞介素 2(IL-2)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α) 和干扰素(INF-γ) 含量, 详细步骤参考试剂盒说明书。

1.4.7 抗氧化指标的测定 参照试剂说明书中的步骤进行血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px) 活性、血清超氧化物歧化酶(SOD) 活性、总抗氧化能力(T-AOC) 和丙二醛(MDA) 含量测定。

1.5 数据分析

试验数据采用 SPSS23.0 软件进行单因素(One-way ANOVA) 方差分析, 并采用 LSD 法进行组间差异显著性检验, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平, 数据分析结果用平均数±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 DBT 发酵产物对肉鸡生产性能的影响

由表 2 可知, 在生长前期和整个试验期(1~21

d 和 1~42 d) 中,各试验组肉鸡(A2~A5)的日增质量与对照组相比无显著差异,但 A4 和 A5 处理的日采食量与 A2 处理和对照组相比显著减少($P<0.05$),并且从整个试验期来看,DBT 发酵组的料肉比显著低于 A2 处理和对照组($P<0.05$)。而在试验后期(22~42 d),各试验组(A2~A5)肉鸡日增质

量均有显著提高($P<0.05$),其中,A4 和 A5 处理最为显著($P<0.05$),但两组之间无显著差异,同时,试验组 A2~A5 的日采食量、料肉比与对照组相比均显著减少($P<0.05$),其中,A4 和 A5 处理的料肉比与 A2 处理相比显著降低($P<0.05$),各试验组之间日采食量差异不显著。

表 2 DBT 发酵产物对肉鸡生长性能的影响

Table 2 Effects of Danggui Buxue Tang (DBT) fermentation products on growth performance of broilers

试验时间	项目	A1	A2	A3	A4	A5
1~21 d	日增质量 (g)	31.80±3.68a	31.56±3.40a	31.76±4.36a	32.18±3.09a	32.86±4.53a
	日采食量 (g)	49.50±2.15a	49.76±2.09a	49.93±2.13a	45.79±2.75b	45.78±2.92b
	料肉比	1.57±0.18a	1.59±0.17a	1.59±0.21a	1.43±0.12a	1.42±0.25a
22~42 d	日增质量 (g)	67.06±2.14c	70.14±1.37b	71.27±1.07b	74.92±1.64a	76.96±2.98a
	日采食量 (g)	138.44±2.98a	133.97±2.64b	131.59±3.23b	131.34±4.45b	131.09±1.99b
	料肉比	2.07±0.09a	1.91±0.07b	1.85±0.05b	1.75±0.06c	1.71±0.06c
1~42 d	日增质量 (g)	49.43±2.73a	50.85±1.84a	51.52±2.05a	53.55±2.68a	54.91±2.34a
	日采食量 (g)	93.97±2.75a	91.87±2.48a	90.76±2.51a	88.57±3.38b	88.44±2.36b
	料肉比	1.82±0.15a	1.75±0.12a	1.72±0.09b	1.59±0.08c	1.57±0.10c

A1 为对照组,饲喂基础日粮;A2 为 DBT 未发酵组,在基础日粮中添加 1% 的 DBT 药粉;A3、A4、A5 为 DBT 发酵组,在日粮中分别添加 0.5%、1.0%、2.0% 的 DBT 发酵产物。同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 DBT 发酵产物对肉鸡免疫器官指数的影响

由表 3 可知,在 21 d 时,A4 处理与 A2 相比脾脏指数显著增加($P<0.05$),其他各组之间差异不显著。A3~A5 处理的法氏囊指数与对照组和 A2 处理相比具有显著差异($P<0.05$),A2 处理与对照组差异不显著。

在 42 d 时,A3~A5 处理的脾脏指数与对照组

和 A2 处理相比具有显著差异($P<0.05$),A3~A5 处理之间以及对照组与 A2 处理之间差异不显著($P>0.05$)。A4 和 A5 处理的法氏囊指数与其他 3 组相比均显著增加($P<0.05$),但 A4 处理与 A5 处理间无显著差异,A3 处理和 A2 处理与对照组相比差异也不显著。

表 3 DBT 发酵产物对肉鸡免疫器官指数的影响

Table 3 Effects of DBT fermentation products on immune organ indices of broilers

试验时间	项目	A1	A2	A3	A4	A5
21 d	脾脏指数	0.86±0.06ab	0.84±0.13b	0.85±0.09ab	0.92±0.14a	0.91±0.1ab
	法氏囊指数	1.89±0.04c	1.94±0.04c	2.04±0.06b	2.08±0.05ab	2.12±0.03a
42 d	脾脏指数	1.42±0.09b	1.54±0.17b	1.61±0.05a	1.71±0.04a	1.70±0.05a
	法氏囊指数	0.56±0.05b	0.61±0.06b	0.61±0.05b	0.68±0.05a	0.71±0.08a

A1、A2、A3、A4、A5 见表 2 注;同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.3 DBT 发酵产物对肉鸡血清新城疫抗体效价的影响

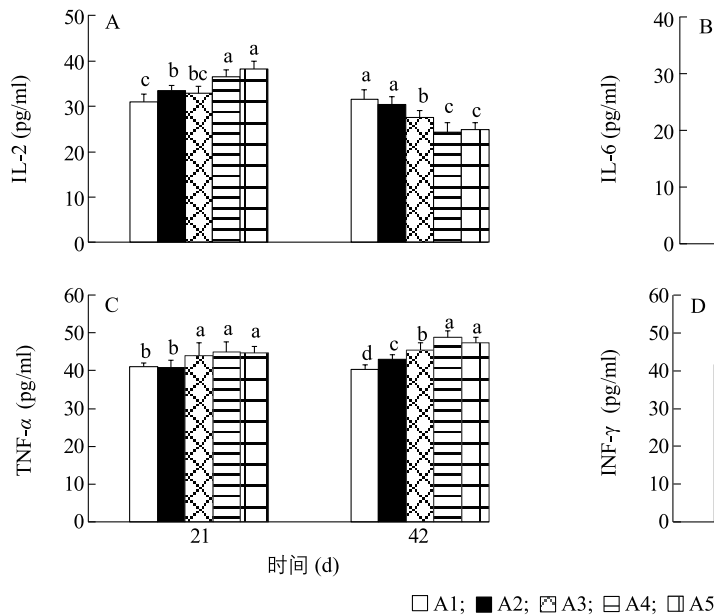
由图 1 可知,在 21 d 和 42 d,A4 和 A5 处理的抗体效价均比其他 3 组有显著提高($P<0.05$),且 A5 处理高于 A4。A2 处理与 A3 处理与对照组相比

较在 21 d 时均有一定水平提高($P<0.05$),但在 42 d 时差异不显著。

2.4 DBT 发酵产物对肉鸡血清细胞因子的影响

由图 2 可知,在 21 d 和 42 d 时,与 A2 处理和对照组相比,DBT 发酵组对于肉鸡血清中各个细胞因

子的影响具有显著差异,其中, A4 处理和 A5 处理影响较为突出 ($P<0.05$),但处理之间差异不显著。从整体上看,A4 处理可显著影响血清中 4 种细胞因子含量,与对照组相比,在 21 d 时,A4 和 A5 处理可使血清中 IL-2 (图 2A)、IL-6 (图 2B)、TNF- α (图 2C)、INF- γ (图 2D) 含量得到显著提高 ($P<0.05$)。A2 处理与对照组相比,IL-2 含量显著增加 ($P<0.05$),其他 3 个指标均无显著差异。在 42 d 时,与对照组相比,A4 处理血清中 IL-2、IL-6 含量显著降低 ($P<0.05$),而 TNF- α 、INF- γ 含量则显著提高 ($P<0.05$)。与对照组相比,A2 处理在 IL-2、IL-6 含量上差异不显著,但在 TNF- α 、INF- γ 含量上显著提高 ($P<0.05$)。



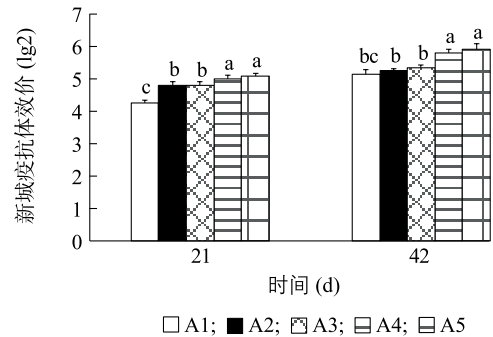
A1、A2、A3、A4、A5 见表 2 注;不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P<0.05$)。

图 2 DBT 发酵产物对肉鸡血清细胞因子的影响

Fig.2 Effects of DBT fermentation products on cytokine of serum in broilers

2.5 DBT 发酵产物对肉鸡血清抗氧化指标的影响

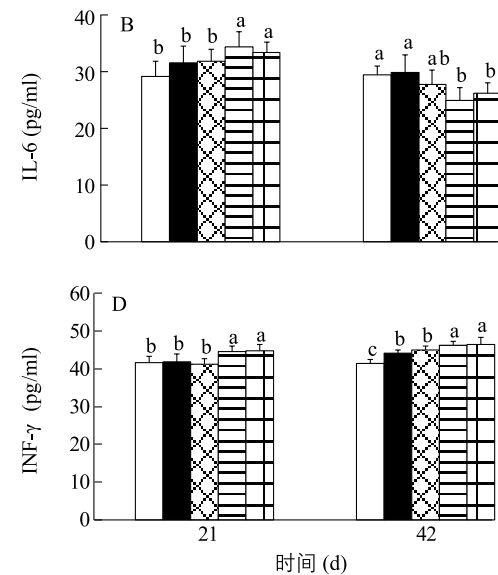
由图 3 可知,在 21 d 时,各组之间的超氧化物歧化酶及总抗氧化能力无显著性差异 ($P>0.05$),与对照组相比, A3、A4、A5 处理谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性均显著提高 ($P<0.05$),但各试验组之间差异不显著 ($P>0.05$)。A4 处理和 A5 处理与其他 3 组相比较,血清中丙二醛含量显著降低 ($P<0.05$),但 A4、A5 处理之间以及其他 3 组之间差异不显著。在 42 d 时,与 A2 处理和对照组相比,A4 处理和 A5 处理肉鸡血清中各抗氧化指标差异显著 ($P<0.05$),



A1、A2、A3、A4、A5 见表 2 注;不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P<0.05$)。

图 1 DBT 发酵产物对肉鸡血清新城疫抗体效价的影响

Fig.1 Effects of DBT fermentation products on ND-HI immune globulin of serum in broilers



但 A4 处理和 A5 处理之间差异不显著。

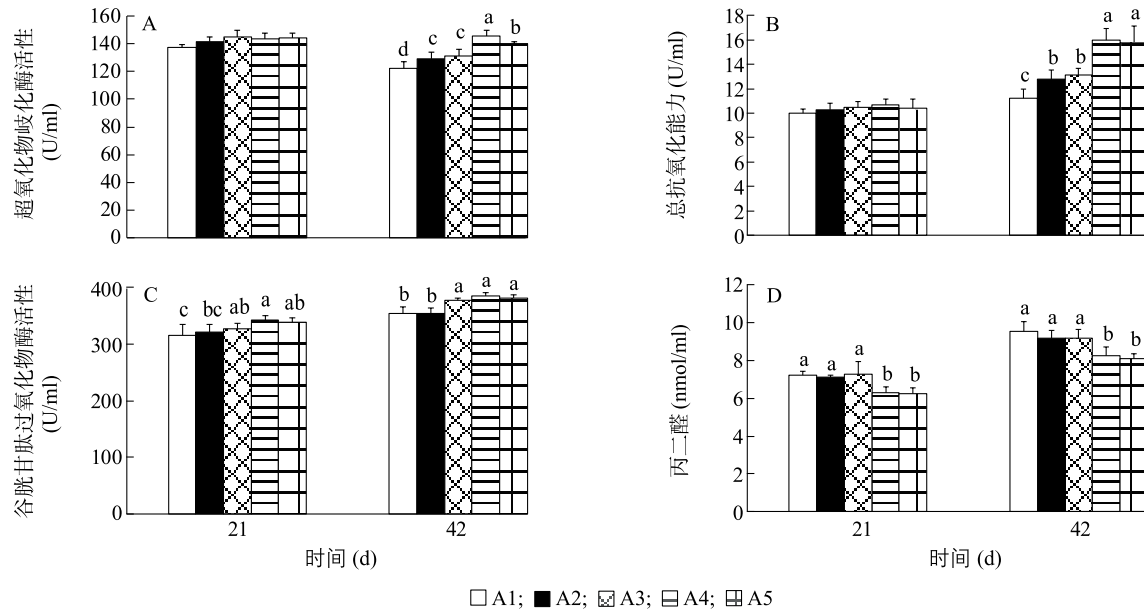
2.6 DBT 发酵产物对肉鸡十二指肠绒毛形态的影响

由表 4 可知,在 21 d,与对照组和 A2 处理相比较,A4 处理和 A5 处理的肉鸡十二指肠绒毛高度有所增加,且隐窝深度相对降低,同时,绒毛高度与隐窝深度比值增加,此外,A4 处理和 A5 处理与对照组相比,各指标也表现出相同的变化趋势,但各组之间无显著差异 ($P>0.05$)。

在 42 d,各试验组与对照组相比,绒毛高度都有所增加,且 DBT 发酵组高于 DBT 未发酵组,但各组

之间差异不显著($P>0.05$)。各试验组的隐窝深度与对照组相比都有所减少,A4处理的绒毛高度与隐

窝深度比值与对照组和A2处理相比均显著提高($P<0.05$)。



A1、A2、A3、A4、A5 见表 2 注;不同小写字母表示同一时间处理间差异显著($P<0.05$)。

图 3 DBT 发酵产物对肉鸡血清抗氧化能力的影响

Fig.3 Effects of DBT fermentation products on serum antioxidant capacity of broilers

表 4 DBT 发酵产物对肉鸡十二指肠绒毛形态的影响

Table 4 Effects of DBT fermentation products on duodenal villus morphology of broilers

项 目	A1	A2	A3	A4	A5
21 d					
绒毛高度 (μm)	140.48 \pm 76.68a	150.53 \pm 83.43a	155.25 \pm 103.28a	203.85 \pm 45.18a	185.61 \pm 62.51a
隐窝深度 (μm)	195.02 \pm 19.59a	190.65 \pm 11.43a	191.93 \pm 17.94a	184.18 \pm 18.38a	180.02 \pm 11.53a
绒毛高度/隐窝深度	6.01 \pm 0.49a	5.95 \pm 0.59a	6.28 \pm 0.71a	6.23 \pm 0.68a	6.24 \pm 0.61a
42 d					
绒毛高度 (μm)	202.61 \pm 50.04a	207.11 \pm 76.66a	219.74 \pm 66.40a	287.53 \pm 58.74a	273.65 \pm 63.79a
隐窝深度 (μm)	230.23 \pm 10.61a	224.24 \pm 9.56ab	223.23 \pm 6.62ab	214.72 \pm 8.54b	220.11 \pm 6.55ab
绒毛高度/隐窝深度	5.23 \pm 0.24c	5.39 \pm 0.39bc	5.58 \pm 0.44ac	6.00 \pm 0.37a	5.79 \pm 0.37ab

A1、A2、A3、A4、A5 见表 2;同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

本研究结果显示,日粮基础饲料中添加 1.0% 的 DBT 发酵产物(A4 处理)可有助于提高肉鸡的日增质量,降低料肉比和日采食量,并显著改善动物的免疫功能和抗氧化能力,同时对十二指肠绒毛形态的完整性也起到了保护作用,且效果优于 DBT 未发酵组。

益生菌发酵中药技术极大促进了畜牧养殖业的健康发展。传统中药可显著提高肉鸡的生长性能^[12],而发酵中药使中药药效在动物体内得到了更

好的发挥。相关研究报道显示,张晓静等通过在日粮中添加发酵黄芪-甘草水提物或黄芪发酵产物,可使肉鸡的日增质量和料肉比都分别显著升高和降低,且发酵中药的效果优于未发酵中药^[13-14]。本研究结果表明,发酵 DBT 可显著增加肉鸡日增质量,减少日采食量并降低料肉比,同时 DBT 发酵组的作用效果要优于 DBT 未发酵组,这与上述研究报道一致。这可能是由于中药发酵后有效成分含量增加,从而药效增强。同时,本试验中所采用的枯草芽孢杆菌是农业农村部允许作为饲料添加剂的益生菌菌种之一,其广谱的抗菌活性以及平衡肠道菌群的作用

用,可显著提高动物的生产性能^[15-16]。因此,DBT发酵产物对肉鸡的生长有显著的促进作用。

良好的免疫性能可平衡体内免疫相关活性物质的分泌,从而有效抵抗外界致病菌。IL-2和IL-6可分别通过细胞和体液免疫的调节来促进免疫球蛋白和抗体的产生^[17-19]。IFN- γ 可通过激活巨噬细胞达到促进对病原体的吞噬及杀伤的作用,同时还可诱导B细胞分化,促进抗体的产生。TNF- α 可对相关细胞因子的分泌和单核巨噬细胞的活化起到调控作用,进而发挥抗病毒功效^[20-21]。相关研究发现,肉鸡经饲喂中药发酵产物后,其脾脏、法氏囊指数、ND抗体效价以及血清中IgG和IL-2含量等免疫性能指标与未发酵组相比均有显著提高^[22-23]。作为禽类最重要的免疫器官,脾脏和法氏囊对体内免疫活性物质的产生起着重要作用。本研究中,1.0% DBT发酵组与DBT未发酵组和对照组相比,ND抗体效价、各细胞因子水平及免疫器官指数在21 d时均显著增加。这可能与发酵产物中多糖含量的增加有关^[24],因为多糖具有抗肿瘤和刺激机体免疫等功能,使免疫指标水平得到显著提高,此外,IL-2和IL-6作为促炎因子,若长期在体内维持高水平表达,则会导致相关免疫细胞消耗大量物质和能量来平衡免疫应答^[25]。本研究结果显示,在42 d时,DBT发酵组IL-2和IL-6的含量与其他组相比明显下降,而其他免疫指标则显著升高,说明1.0%的DBT发酵产物对肉鸡免疫性能具有良好的调节作用。

T-AOC、MDA、GSH-Px和SOD是评价机体抗氧化能力的重要指标^[26]。T-AOC可反映机体对外界刺激的代偿能力和机体自由基代谢状态,MDA含量与细胞的氧化损伤程度有关^[27-28],GSH-Px和SOD可分别清除细胞代谢过程中产生的多余脂质过氧化物和超氧阴离子自由基,从而使细胞的形态结构保持正常水平。多项研究报道显示,发酵中药可对肉鸡抗氧化性能起到显著的改善作用,安胜英等^[29]发现0.5%的中药复方发酵产物可使仔鸡血浆中GSH-Px的活性显著升高,同时明显降低了腿肌MDA含量。此外,给肉鸡饲喂1%的补中益气汤发酵制剂也可使其血清和肝脏中的T-SOD、GSH-Px活性等抗氧化指标得到显著改善,且功效优于未发酵组^[30]。本研究结果显示,1.0%的DBT发酵产物可显著增加肉鸡血清中T-AOC能力和GSH-Px、SOD活性,同时使血清MDA含量明显下降,这与上述研究报道相一致。DBT中含有黄芪

多糖、黄芪甲苷、阿魏酸等多种抗氧化成分,但在本试验中,DBT未发酵组对肉鸡的抗氧化指标并未起到十分显著的影响,推测可能由于本试验肉鸡品种对DBT药物敏感度较低所致,而DBT与枯草芽孢杆菌互作后,菌种的次级代谢产物可能与DBT的活性成分发生生物转化,合成新的抗氧化成分,从而对肉鸡的抗氧化性能的提高起到促进作用。

小肠绒毛形态间接反映了机体的生长发育状况,小肠绒毛高度和隐窝深度是评价动物消化吸收能力的重要指标,肠绒毛V/C值的高低与肠道净吸收量呈正相关^[31-32]。前人研究报道指出,发酵芪楂口服液药渣使仔猪空肠、回肠绒毛高度和V/C值明显大于未发酵组,且绒毛宽度和隐窝深度小于未发酵组^[33],这说明发酵中药对小肠绒毛形态有良好的改善作用。此外,益生菌对于维持肠绒毛形态的完整性也有显著影响。有研究报道,枯草芽孢杆菌E-8可对大肠杆菌性腹泻有显著的治疗效果,并对肉鸡小肠绒毛形态起到良好的修复作用^[34]。本试验采用枯草芽孢杆菌作为发酵菌种得到DBT发酵产物,与对照组和未发酵组相比,1.0% DBT发酵组可对小肠绒毛形态起到明显的改善作用,与上述研究报道相一致。

本研究中所用DBT经益生菌发酵后,DBT的有效活性成分种类及含量可能发生了某些改变,鉴于本次试验条件的局限性,仅对中药发酵产物的使用效果进行了研究,其作用机制尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] LI X T, WANG B, LI J L, et al. Effects of Dangguibuxue tang, a Chinese herbal medicine, on growth performance and immune responses in broiler chicks[J]. Biological Research, 2013, 46(2): 183-188.
- [2] 谢东杰,王爱迪,刘宝山.当归补血汤在血液疾病中作用机制的研究进展[J].中华中药杂志,2018,33(6):2488-2490.
- [3] 李爽,王海君,高博,等.当归补血汤清除DPPH自由基能力的测定[J].齐齐哈尔医学院学报,2018,39(8):916-917.
- [4] 曾宇,张三印,胡冠英.当归补血汤的研究进展[J].时珍国医国药,2016,27(2):422-424.
- [5] GONG A G W, LAU K M, ZHANG L M L, et al. Danggui buxue tang, Chinese herbal decoction containing astragali radix and angelicae sinensis radix, induces production of nitric oxide in endothelial cells; signaling mediated by phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase[J]. Planta Medica, 2016, 82(5):418-423.
- [6] AMY GUO-WEI G, NING L, KEI-MAN L, et al. Calycosin orches-

- trates the functions of Danggui buxue tang, a Chinese herbal decoction composing of astragali radix and angelica sinensis radix; an evaluation by using calycosin knock out herbal extract [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 168: 150-157.
- [7] ZHANG Y W, XIE D, XIA B, et al. Suppression of transforming growth factor-beta1 gene expression by Danggui buxue tang, a traditional Chinese herbal preparation, in retarding the progress of renal damage in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Hormone and Metabolic Research, 2006, 38(2): 82-88.
- [8] ZHENG K Y Z, CHOI R C Y, CHEUNG A W H, et al. Flavonoids from radix astragali induce the expression of erythropoietin in cultured cells: a signaling mediated via the accumulation of hypoxia-inducible factor-1 α [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2011, 59(5): 1697-1704.
- [9] SONNENBURG J L, BÄCKHED F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism [J]. Nature, 2016, 535(7610): 56-64.
- [10] 李宗杰. 复方发酵中药对肉鸡生产性能的影响 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2019(4): 36.
- [11] 韩春杨, 刘翠艳, 牛钟相. 中药制剂发酵前后成分的变化及对肉鸡部分免疫指标和生长的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(11): 1223-1227.
- [12] 董永军, 王丽荣, 王宪文, 等. 甘草多糖的提取及其对肉仔鸡免疫功能的影响 [J]. 江苏农业学报, 2008, 24(5): 158-162.
- [13] 张晓静, 史洪涛, 牛湘楠, 等. 发酵黄芪-甘草水提物对 817 肉鸡生长性能、免疫器官指数和肉品质的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2018, 5(4): 933-939.
- [14] 乔宏兴, 史洪涛, 宋予震, 等. 发酵黄芪对肉鸡生长性能、抗氧化功能的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(3): 705-711.
- [15] HMANI H, DAOUD L, JLIDI M, et al. A *Bacillus subtilis* strain as probiotic in poultry: selection based on *in vitro* functional properties and enzymatic potentialities [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2017, 44(8): 1157-1166.
- [16] RHAYAT L, JACQUIER V, BRINCH K S, et al. *Bacillus subtilis* strain specificity affects performance improvement in broilers [J]. Poultry Science, 2017, 96(7): 2274-2280.
- [17] 刘晓婷, 朱晓庆, 杨莉, 等. 中药复方多糖对不同 MHC B-1 β II 基因型蛋鸡免疫活性的影响 [J]. 西北农业学报, 2018, 27(9): 35-42.
- [18] 孙跃博, 罗瑞卿, 陈洁, 等. 中药对围产期奶牛血液免疫及抗氧化活性指标的影响 [J]. 西北农业学报, 2015, 24(11): 22-27.
- [19] MAROUFYAN E. Omega-3 polyunsaturated fatty acids enrichment alters performance and immune response in infectious bursal disease challenged broilers [J]. Lipids in Health & Disease, 2012, 11(1): 15.
- [20] ZHANG Q, LIN Z. Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides B on TNF α and IFN γ production and their mRNA expression [J]. Journal of Beijing Medical University, 1999, 31(2): 179-183.
- [21] 刘燕, 袁律峰, 季权安, 等. 冷应激对兔波氏杆菌感染传播的影响 [J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(2): 121-128.
- [22] 乔宏兴, 史洪涛, 王永芬, 等. 黄芪-枯草芽孢杆菌复合发酵制剂对肉鸡生产性能及免疫功能的影响 [J]. 中国兽医学报, 2015, 35(7): 1181-1186.
- [23] 谢全喜, 张建梅, 于佳民, 等. 鼠李糖乳杆菌发酵中草药复合枯草芽孢杆菌对黄羽肉鸡生长后期免疫性能及大肠杆菌感染的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(6): 1523-1529.
- [24] 李晴晴, 王承民, 静罗, 等. 饲料中添加苜蓿多糖对肉鸡生长性能和免疫功能的影响 [J]. 中国家禽, 2017, 39(9): 24-28.
- [25] LOCHMILLER R L, DEERENBERG C. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? [J]. Oikos, 2000, 88(1): 87-98.
- [26] 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.
- [27] 萨仁娜, 佟建明, 何春年, 等. 海带岩藻聚糖及其级分在氧化应激条件下对肉鸡巨噬细胞免疫功能的影响 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3256-3263.
- [28] 马绍伟, 邱其华, 叶文林, 等. “芪苓散”超微粉对河田鸡血清抗氧化性能及免疫生化指标的影响 [J]. 中国家禽, 2016, 38(10): 21-26.
- [29] 安胜英, 马学会, 刘观忠. 发酵中药添加剂对肉仔鸡免疫机能和抗氧化机能的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(5): 863-867.
- [30] 张桂枝, 靳双星, 王学强, 等. 补中益气汤发酵制剂对肉鸡血清生化指标及抗氧化性能的影响 [J]. 中国家禽, 2019, 41(7): 55-57.
- [31] GHAYOUR-NAJAFABADI P, KHOSRAVINIA H, GHEISARI A, et al. Productive performance, nutrient digestibility and intestinal morphometry in broiler chickens fed corn or wheat-based diets supplemented with bacterial- or fungal-originated xylanase [J]. Italian Journal of Animal Science, 2017, 17(1): 1-10.
- [32] 黄婧溪, 李忠良, 臧旭鹏, 等. 不同来源木聚糖酶及其组合对肉鸡肠道黏膜形态与二糖酶活性及其基因表达的影响 [J]. 动物营养学报, 2018, 30(6): 2271-2280.
- [33] 苏家宜, 孔祥峰, 李华伟, 等. 芪楂口服液药渣对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29(5): 1730-1738.
- [34] 徐丽娜, 郭小军, 刘若楠, 等. 枯草芽孢杆菌 E-8 对大肠杆菌感染肉鸡生产性能和免疫功能的影响 [J]. 中国家禽, 2017, 39(24): 18-22.

(责任编辑:陈海霞)