

# 不同硒源和水平对蛋鸡脾硒含量及免疫功能的影响

潘翠玲, 黄克和\*, 赵玉鑫, 陈甫, 焦森, 饶静静

(南京农业大学动物医学院 畜禽营养代谢病研究室, 南京 210095)

**摘要:** 将富硒益生菌(Se-enriched probiotics, SP)和亚硒酸钠(Sodium selenite, SS)2种硒源分别以3个硒水平0.2、0.5和1.0 mg/kg添加到蛋鸡基础日粮,进行为期35 d的饲养试验。结果表明,日粮添加SP或SS均能显著提高脾硒含量,随着硒添加水平的升高,脾硒含量也显著升高,且添加SP较SS能显著提高脾硒含量;在试验的第14天,添加SS或SP均能显著促进蛋鸡外周血T淋巴细胞转化,且随着硒添加水平的升高,T淋巴细胞的转化增加;在试验的第14和第28天,添加SS或SP均能显著提高蛋鸡血浆IL-2的水平,随着硒添加水平的升高和试验时间的延长,血浆IL-2均升高,且在试验的第28天,添加SP较添加SS能显著提高蛋鸡血浆IL-2的水平。结论:日粮添加SS或SP均能提高蛋鸡的免疫能力,且随硒添加水平的升高效果愈好;随着试验时间的延长,添加SP的效果优于SS。

**关键词:** 富硒益生菌;亚硒酸钠;蛋鸡;脾脏;硒含量;淋巴细胞转化;IL-2

**中图分类号:** S816.7;S858.310

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0366-6964(2008)11-1523-07

## Effect of Selenium Source and Level in Diets on Spleen Selenium Content and Immune Function of Laying Hen

PAN Cui-ling, HUANG Ke-he\*, ZHAO Yu-xin, CHEN Fu, JIAO Miao, RAO Jing-jing

(Institute of Nutritional and Metabolic Disorders in Domestic Animals and Fowls, College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Se sources (Se-enriched probiotics, SP and sodium selenite, SS) were added into basal diet at 0.2, 0.5 and 1.0 mg/kg of Se. Feeding test lasted for 35 days. The results showed that the addition of either SS or SP significantly increased Se content in spleen. With an increase of the supplemental Se level, the Se content in spleen had a significant increase. Supplemental SP had a more significant action to increase Se content in spleen than SS. On days 14, supplemental Se from either SS or SP significantly promoted the T lymphocyte transformation in hen peripheral blood. With supplemental Se level increase, the T lymphocyte transformation were increased. On days 14 and 28, supplemental Se from either SS or SP significantly increased the plasma IL-2 level of hen. With supplemental Se level increase and the extension of experiment duration, the plasma IL-2 level also significantly increased. On days 28, there was a more significant increase in the plasma IL-2 level of hens fed by SP than that of hens fed by SS. The conclusion is that supplemental Se from either SS or SP significantly increased Se content in spleen, significantly promoted immune function of hen. With supplemental Se level increase, the effect was better. With the extension of experiment duration, supplemental SP had a better effect than SS.

收稿日期: 2007-11-26

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(30371060;30671547);博士点科学基金项目资助(20070307005)

作者简介: 潘翠玲(1967-),女,内蒙古包头人,博士,讲师,主要从事动物营养与免疫以及神经内分泌方面的研究, E-mail: pancuilin@yahoo.com.cn

\* 通讯作者: 黄克和,教授,博导, E-mail: khhuang@njau.edu.cn

**Key words:** Se-enriched probiotics (SP); sodium selenite (SS); laying hen; spleen; selenium content; lymphocyte transformation; IL-2

硒是人和动物体必需的微量元素,对动物的免疫、生长、繁育和抗衰老等具有重要的作用<sup>[1-2]</sup>。缺硒会导致人和动物多种疾病的发生,如动物的甲状腺机能减退和免疫功能低下<sup>[3]</sup>、人的克山病和大骨节病<sup>[4]</sup>、禽的渗出性素质<sup>[5]</sup>、胰腺坏死<sup>[6]</sup>以及种蛋的受胎和孵化率降低<sup>[7]</sup>等。因此,日粮补硒已成了畜禽养殖业用来预防硒缺乏症、提高动物抗病力和繁殖性能等所采取的一种重要措施。目前应用于畜禽生产的硒主要是无机硒(如亚硒酸钠),而无机硒的使用会带来诸多弊端。与无机硒相比,来源于植物或富硒酵母的有机硒则具有许多优势,如在饲料中添加应用毒性较小、具有抗氧化特性、有高的组织沉积率和生物利用率,从而减少对环境的污染<sup>[8]</sup>,故提倡在饲料中添加应用有机硒源的硒。

近几年,虽然对有机硒源硒的应用研究较多,但涉及到硒与动物体免疫功能关系方面的研究还主要是针对牛、羊、猪等较大的动物<sup>[9-12]</sup>,而关于有机硒源和无机硒源硒(富硒益生菌和亚硒酸钠)对鸡免疫器官及细胞免疫功能影响的研究还未见报道。本研究通过比较不同硒源和补硒水平对蛋鸡脾脏硒含量、外周血 T 淋巴细胞转化以及对血液 IL-2 的影响,旨在为环保型的以有机硒为主的免疫调节剂在蛋鸡生产中的应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 硒源

亚硒酸钠(Sodium selenite, SS),硒含量为 45.5%,天津市化学试剂研究所产品;富硒益生菌(Se-enriched probiotics, SP),南京农业大学动物医学院畜禽营养代谢病研究室研制(专利号为 ZL 2005 100409902),硒含量为 50 mg/kg,其中有机硒含量在 90%以上,含产朊假丝酵母  $10^9$  CFU/g、嗜酸乳杆菌  $10^{11}$  CFU/g;益生菌(Probiotics, P),南京农业大学动物医学院畜禽营养代谢病研究室研制,含产朊假丝酵母  $10^9$  CFU/g、嗜酸乳杆菌  $10^{11}$  CFU/g。

### 1.2 主要仪器

AF-610A 原子荧光光谱仪,北京瑞利分析仪器有限公司;Thermo Forma 3111 型水套式 CO<sub>2</sub> 培养箱,

杭州宝诚科技有限公司;722 型分光光度计,上海第三分析仪器厂;FMJ-182 放射免疫  $\gamma$ -计数器,上海原子核研究所产品。

### 1.3 主要试剂

高氯酸、硝酸、盐酸、铁氰化钾均为优级纯;标准硒(GBW(E)080215),国家标准物质研究中心提供;所用水均为超纯水(电阻为  $18\text{M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ )。

RPMI1640 完全培养液(最终 pH 为 7.2),青霉素、链霉素(终浓度均为 100 U/mL),小牛血清(终浓度为 10%);植物血凝素(PHA);淋巴细胞分离液;MTT 溶液(浓度为 5 mg/mL, pH 7.2);10%的 SDS-0.04 mol 盐酸溶液。

IL-2 放射免疫试剂盒,北京解放军总医院放射免疫所产品。

### 1.4 日粮配制

试验采用玉米豆粕型基础日粮,其营养组成除了硒之外,均按照 NRC<sup>[13]</sup>关于产蛋母鸡所需营养进行配比(表 1)。将富硒益生菌(SP)和亚硒酸钠(SS)2种硒源分别以 3个硒水平 0.2、0.5和 1.0 mg/kg 添加到基础日粮中,配制成 6种试验日粮,益生菌试验组的日粮是在基础日粮中添加益生菌(P)。

### 1.5 试验动物分组及样品采集

选用南京地区 58 周龄的健康罗曼蛋鸡 800 羽(产蛋率约为 85%),随机分成 8 组,每组 5 个重复,每重复 5 个鸡笼,每笼 4 羽,分别接受 7 种试验日粮和 1 种基础日粮的处理。1 组为空白对照组饲以基础蛋鸡日粮;2 组为益生菌组,在基础日粮中添加益生菌(益生菌添加量与添加 1.0 mg/kg 硒的富硒益生菌组的一致);3、4、5 组分别为基础日粮中添加 0.2、0.5 和 1.0 mg/kg 硒的富硒益生菌(SP);6、7、8 组分别为基础日粮中添加 0.2、0.5 和 1.0 mg/kg 硒的亚硒酸钠(SS);所有组均均饲喂基础日粮预试 2 周后,开始饲喂相应的试验日粮,自由采食和饮水,试验期为 35 d。于试验的第 14 天每重复随机无菌采取 2 羽的翅静脉血 10 mL,肝素抗凝,部分用于淋巴细胞转化的研究,部分制备血浆, -20 °C 保存备用;于第 28 天每重复随机宰杀 2 羽取脾脏和分离血浆样,并将样品于 -20 °C 保存备用。

表 1 基础日粮组成和营养水平  
Table 1 Ingredients and nutrient levels of basal diet

%

成分 Ingredient	含量 Content	营养水平 Nutrient level	
玉米 Corn	65.0	代谢能/(MJ/kg) ME	11.59
大豆 Soybean meal	9.0	粗蛋白 Crude protein(CP)	15.4
麸皮 Bran	2.0	粗纤维 Crude fibre	3.6
苜蓿 Clover	5.6	赖氨酸 Lysine	0.75
鱼粉 Fish meal(55.5% CP)	8.0	蛋氨酸 Methionine	0.31
骨粉 Bone powder	1.0	胱氨酸 Cystine	0.24
食盐 Salt	0.35	钙 Calcium	3.54
维生素 <sup>1</sup> Vitamin <sup>1</sup>	0.05	磷 Phosphorus	0.74
微量元素 <sup>2</sup> Trace mineral <sup>2</sup>	1.0	硒/(mg/kg) Selenium	0.15
石灰石 Limestone	8.0		

<sup>1</sup>. 维生素以每 kg 日粮添加:维生素 A 12 000 IU, 维生素 D<sub>3</sub> 3 000 IU, 维生素 E 20 IU, 维生素 K 2 mg, 维生素 B<sub>12</sub> 0.015 mg, 维生素 B<sub>1</sub> 1.5 mg, 核黄素 4.5 mg, 维生素 B<sub>6</sub> 3.0 mg, 维生素 H 0.1 mg, 叶酸 0.5 mg, 烟酸 20 mg, 泛酸 10.0 mg; <sup>2</sup>. 微量元素以每 kg 日粮添加:锰 60.0 mg, 锌 50.0 mg, 铁 25.00 mg, 铜 5.0 mg, 碘 0.5 mg

<sup>1</sup>. The vitamins provided(per kg diet): VA 12 000 IU, VD<sub>3</sub> 3 000 IU, VE 20 IU, menadione 2 mg, VB<sub>12</sub> 0.015 mg, VB<sub>1</sub> 1.5 mg, riboflavin 4.5 mg, pyridoxine 3.0 mg, biotin 0.1 mg, folacin 0.5 mg, niacin 20 mg, pantothenic acid 10.0 mg; <sup>2</sup>. The trace minerals provided(per kg diet): Mn 60.0 mg, Zn 50.0 mg, Fe 25.00 mg, Cu 5.0 mg, I 0.5 mg

## 1.6 测定指标

参照 Pan 等<sup>[14]</sup>的方法处理脾样并定容,同时用超纯水和硒标准参照物(GBW 08551 猪肝,国家商业局食品检测科学院)做空白对照和标准参照物对照,利用氢化物发生-原子荧光光谱法测定脾脏硒含量。

采用 MTT 比色法<sup>[15-16]</sup>在 570 nm 的波长下测定 T 淋巴细胞增殖的 OD 值。

用放射免疫法测定蛋鸡血清中 IL-2 的水平。

## 1.7 数据统计

采用 SPSS 13.0 软件进行数据统计分析,所有数据均以平均值±标准误( $\bar{x} \pm SE$ )表示。用 One-way ANOVA 比较各组间相关指标的差异;用 Two-way ANOVA 检验硒源和水平的主效应以及两者间的交互效应。采用最小显著极差法(LSD)对差异显著的数据进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同硒源和水平对蛋鸡脾脏硒含量的影响

硒源和硒水平对蛋鸡脾脏硒含量均有极显著影响( $P < 0.01$ ),而硒源和水平之间的交互作用对脾脏硒含量没有显著影响( $P > 0.05$ )。由表 2 可见,添加 SP 或 SS 的蛋鸡脾脏硒含量分别较对照组的

高 36.85% ( $P < 0.01$ ) 和 28.60% ( $P < 0.01$ ), 分别较益生菌组的高 35.29% ( $P < 0.01$ ) 和 27.13% ( $P < 0.01$ ), 且添加 SP 的蛋鸡脾脏硒含量较 SS 的高 6.42% ( $P < 0.05$ )。随着硒添加水平的升高,添加 SP 的蛋鸡脾脏硒含量依次较前一水平组的高 9.80% ( $P < 0.05$ ) 和 11.90% ( $P < 0.05$ ), 而添加 SS 的蛋鸡脾脏硒含量依次较前一水平组的高 9.24% ( $P < 0.05$ ) 和 17.85% ( $P < 0.01$ )。

### 2.2 不同硒源和水平对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的影响

硒源和硒水平对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞增殖均有极显著的影响( $P < 0.01$ ), 且硒源和水平的交互效应对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞增殖有极显著的影响( $P < 0.01$ ), 见表 3。

不考虑硒的添加水平, 在试验的第 14 天, 当日粮中添加 0.2 mg/kg 或以上的硒时, 添加 SP 和 SS 的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的 OD 值分别比对照组和益生菌组的高 27.10% ( $P < 0.01$ )、22.52% ( $P < 0.01$ ) 和 49.53% ( $P < 0.01$ )、44.14% ( $P < 0.01$ ), 且添加 SS 的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的 OD 值较添加 SY 的高 17.65% ( $P < 0.05$ ); 而添加益生菌的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的 OD 值略比对照组的高 3.74% ( $P > 0.05$ )。

表 2 不同硒源和水平对蛋鸡脾脏硒含量的影响 (n=10)

Table 2 Effect of Se source and level on Se of spleen in hen (wet weight basis) (n=10)

处理 Treatment	硒源 Se source	硒添加水平/(mg/kg) Supplemental Se level	脾脏硒含量/(mg/kg) Se content in spleen	
			硒源和水平 <sup>1</sup>	硒源 <sup>2</sup>
			Se source and level <sup>1</sup>	Se source <sup>2</sup>
1	—	0	0.521±0.013 <sup>Aa</sup>	0.521±0.013 <sup>Aa</sup>
2	添加 P	0	0.527±0.008 <sup>Aa</sup>	0.527±0.008 <sup>Aa</sup>
3	添加 SP	0.2	0.643±0.009 <sup>Bcc</sup>	
4	添加 SP	0.5	0.706±0.005 <sup>CDe</sup>	
5	添加 SP	1.0	0.790±0.006 <sup>Df</sup>	0.713±0.017 <sup>Be</sup>
6	添加 SS	0.2	0.595±0.009 <sup>ABb</sup>	
7	添加 SS	0.5	0.650±0.012 <sup>Bc</sup>	0.670±0.019 <sup>Bb</sup>
8	添加 SS	1.0	0.766±0.008 <sup>Dd</sup>	
	硒源 Se source		<i>P</i> =0.000	
	硒水平 Se level		<i>P</i> =0.000	
	硒源×硒水平 Se source × Se level		<i>P</i> =0.081	

同一列的数值肩标小写字母不同者差异显著 ( $P<0.05$ ), 肩标大写字母不同者差异极显著 ( $P<0.01$ ), 下表同。<sup>1</sup>. 每组 5 个重复的平均值, 每重复在试验的第 28 天时宰杀 2 只鸡取脾脏;<sup>2</sup>. 每个硒源在试验第 28 天时所有样品的平均值

The value within a column with different lowercases superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ), with different capital cases superscripts are significantly different ( $P<0.01$ ), The same as below. <sup>1</sup>. The data are means of five replicates, two hens per replicate were slaughtered on day 28 of the experiment, and then spleens sampled;<sup>2</sup>. The data are means of all samples in each source

表 3 不同硒源和水平对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的影响

Table 3 Effect of selenium source and level on the T lymphocyte transformation of hen peripheral blood

处理 Treatment	硒源 Se source	硒添加水平/(mg/kg) Supplemental Se level	T 淋巴细胞的 OD 值 The OD of the T lymphocyte	
			硒源和水平 <sup>1</sup>	硒源 <sup>2</sup>
			Se source and level <sup>1</sup>	Se source <sup>2</sup>
1	—	0	0.107 ± 0.003 <sup>Aa</sup>	0.107 ± 0.003 <sup>Aa</sup>
2	添加 P	0	0.111 ± 0.003 <sup>Aa</sup>	0.111 ± 0.003 <sup>Aa</sup>
3	SP	0.2	0.115 ± 0.002 <sup>ABa</sup>	
4	SP	0.5	0.126 ± 0.002 <sup>Bb</sup>	0.136 ± 0.004 <sup>Bb</sup>
5	SP	1.0	0.168 ± 0.005 <sup>De</sup>	
6	SS	0.2	0.153 ± 0.006 <sup>Cc</sup>	
7	SS	0.5	0.163 ± 0.005 <sup>CDde</sup>	0.160 ± 0.003 <sup>Bc</sup>
8	SS	1.0	0.164 ± 0.003 <sup>CDde</sup>	
	硒源 Se source		<i>P</i> =0.000	
	硒水平 Se level		<i>P</i> =0.000	
	硒源×水平 Se source × Se level		<i>P</i> =0.000	

<sup>1</sup>. 每组 5 个重复的平均值, 每重复在试验的第 14 天时取 2 只鸡血样;<sup>2</sup>. 每个硒源在试验第 14 天时所有样品的平均 OD 值

<sup>1</sup>. The data are means of five replicates, the bloods of two hens per replicate were collected on day 14 of the experiment;<sup>2</sup>. The data are means of all samples' OD values in each source

随着硒添加水平的升高, 添加 SP 的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的 OD 值依次较前一水平组高 13.51% ( $P<0.05$ ) 和 33.33% ( $P<0.01$ ); 而添加

SS 的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的 OD 值依次较前一水平组高 6.54% ( $P<0.05$ ) 和 0.61% ( $P>0.05$ )。

### 2.3 不同硒源和水平对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响

经统计分析,硒源、硒水平和试验时间对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响结果如下:硒源,  $P=0.000$ ; 硒水平  $P=0.000$ ; 试验时间,  $P=0.000$ ; 硒源 $\times$ 硒水平,  $P=0.014$ ; 硒源 $\times$ 试验时间,  $P=0.000$ ; 硒水平 $\times$ 试验时间,  $P=0.000$ ; 硒源 $\times$ 硒水平 $\times$ 试验时间,  $P=0.140$ 。

不考虑硒的添加水平,硒源和试验时间对蛋鸡血浆 IL-2 水平均有极显著影响 ( $P<0.01$ ),且硒源与试验时间对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响存在着交互效应 ( $P<0.01$ )。在试验的第 14 天,与对照组相比,添加 SS 组和添加 SP 组蛋鸡血浆 IL-2 的水平分别比对照组高 23.7% ( $P<0.01$ ) 和 17.44% ( $P<0.05$ ),而添加益生菌的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平略比对照组高 2.37% ( $P>0.05$ );与益生菌组相比,添加 SS 的组和添加 SP 的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平分别比益生菌组高 20.85% ( $P<0.01$ ) 和 14.72% ( $P<0.05$ ),添加 SS 的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平较添加 SP 的组高 5.34% ( $P>0.05$ )。而在试验的第 28 天,与对照组相比,添加 SS 的组和添加 SP 的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平分别比对照组高 40.82% ( $P<0.01$ ) 和 58.69% ( $P<0.01$ ),添加益生菌的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平比对照组高 11.90% ( $P<0.05$ );与益生菌组相比,添加 SS 的组和添加 SP 的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平分别比益生菌组高 25.84% ( $P<0.01$ ) 和 41.82% ( $P<0.01$ ),而添加 SS 的组蛋鸡血浆 IL-2 的水平较添加 SP 的组低 11.27% ( $P<0.05$ )。且除对照组外,其余 3 组(益生菌组、添加 SS 的组和添加 SP 的组)在试验第 28 天时的蛋鸡血浆 IL-2 水平均较试验第 14 天时相应各组的 IL-2 水平高 10.64% ( $P<0.05$ )、15.21% ( $P<0.01$ ) 和 36.77% ( $P<0.01$ ),见图 1。

不考虑硒源,硒的添加水平和试验时间对蛋鸡血浆 IL-2 水平均有极显著的影响 ( $P<0.01$ ),且硒添加水平与试验时间对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响存在着交互效应 ( $P<0.01$ )。当硒在 0.2、0.5、1.0 mg/kg 的添加水平时,在试验的第 14 天,蛋鸡血浆 IL-2 的水平分别比不加硒组的高 8.53% ( $P<0.05$ )、18.80% ( $P<0.01$ ) 和 30.05% ( $P<0.01$ );而在试验的第 28 天,蛋鸡血浆 IL-2 的水平分别比不加硒组的高 18.52% ( $P<0.01$ )、33.35% ( $P<0.01$ ) 和 72.24% ( $P<0.01$ ),且除不加硒组外,蛋鸡血浆 IL-2 的水平在试验的第 28 天均较第 14 天

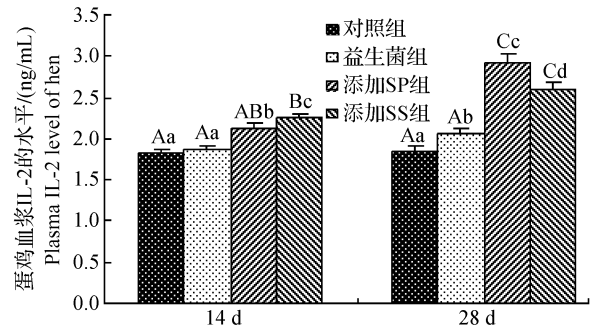


图 1 不同硒源对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响  
Fig. 1 Effect of selenium source in hen diets on the plasma IL-2 level of hen

时的相应硒添加水平组的高 15.67% ( $P<0.01$ )、18.89% ( $P<0.01$ ) 和 40.28% ( $P<0.01$ )。另外,随着硒添加水平的升高,在试验的第 14 天,蛋鸡血浆 IL-2 的水平依次显著升高 ( $P<0.05$ ),而在第 28 天,蛋鸡血浆 IL-2 的水平依次极显著升高 ( $P<0.01$ ),见图 2。

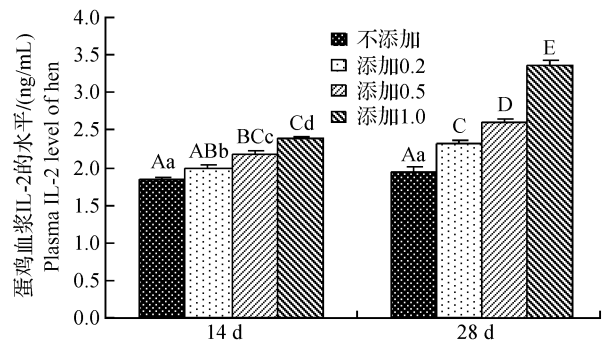


图 2 不同硒水平对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响  
Fig. 2 Effect of selenium level in hen diets on the plasma IL-2 level of hen

## 3 讨论

### 3.1 不同硒源和水平对蛋鸡脾脏硒含量的影响

本研究首次发现,无论添加 SS 硒还是 SP 硒均能显著提高蛋鸡脾脏硒含量,随着硒添加水平的升高,脾脏硒含量也显著升高,且添加 SP 的效果显著优于 SS。根据禽类的脾脏贮血功能很小而主要发挥免疫功能的特点<sup>[17]</sup>提示,脾脏的硒可能主要存在

于脾脏组织细胞和有关的免疫细胞而不是存在于血液中的红细胞,当然这有待于进一步的研究证实。

### 3.2 不同硒源和水平对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化的影响

淋巴细胞分裂增殖转化的能力在一定程度上反映了机体细胞免疫功能的强弱。本研究发现,当日粮中添加 0.2 mg/kg 或以上的 SS 或 SP 硒时,在试验的第 14 天均能极显著地促进经 PHA 诱导的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞的转化,这一结果进一步证实了 Chang<sup>[18]</sup>、黄克和<sup>[19]</sup>和 Biswas<sup>[20]</sup>等人关于缺硒影响外周血淋巴细胞的成熟、分化和增殖,而补硒能刺激禽外周血淋巴细胞转化的观点。同时发现,硒源和水平对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞增殖均有显著的影响。添加 SS 较 SP 能显著地促进试验第 14 天时的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞增殖,且随着硒添加水平的升高,蛋鸡外周血 T 淋巴细胞的转化增加。这一结果与 Schumacher 等<sup>[12]</sup>报道的硒源和水平能显著影响淋巴细胞在 PHA 抗原刺激下的转化的结果基本一致。本研究结果提示:在较短的试验时间内, T 淋巴细胞对 SS 的刺激反应较对 SP 的敏感,而对益生菌的刺激反应最弱,这其中最主要的原因可能与机体对 SP 的消化吸收以及益生菌在体内的适应、定植所需时间较长有关。

另外,本研究还发现,硒源和水平对蛋鸡外周血 T 淋巴细胞增殖的影响存在着显著的交互效应。在试验的第 14 天,当添加 SP 时,随着硒添加水平的每一次升高,蛋鸡外周血 T 淋巴细胞转化均增加;而当添加 SS 时,随着硒添加水平的每一次升高,只有 0.5 mg/kg 添加水平较 0.2 mg/kg 添加水平的蛋鸡外周血 T 淋巴细胞的转化显著增加。这提示,在一定的试验时间内,SS 刺激淋巴细胞的转化只在低(0.2 mg/kg)和中(0.5 mg/kg)添加水平时,才具有明显的量效关系,在高添加水平(1.0 mg/kg)时,似乎存在着一个平台效应。其可能的机理有待进一步的探索。

### 3.3 不同硒源和水平对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响

IL-2 水平的高低可以反映机体的免疫机能,特别是细胞免疫水平<sup>[21]</sup>。本研究发现硒源、硒水平和试验时间对蛋鸡血浆 IL-2 水平均有极显著的影响,且其两两因素间对蛋鸡血浆 IL-2 水平的影响均存在着显著的交互效应。

当日粮中添加 0.2 mg/kg 或以上的 SS 或 SP 硒时,均能显著地提高蛋鸡血浆 IL-2 的水平,这与

高建忠等<sup>[21]</sup>报道的 SS 和 SP 均能提高仔猪血浆中 IL-2 水平的结果基本一致。且随着硒添加水平的每一次升高,蛋鸡血浆 IL-2 的水平也均有显著地升高,同时随着试验时间的延长,在硒的每一个添加水平,蛋鸡血浆 IL-2 的水平也均有显著地升高,且升高的幅度随着硒添加水平的升高而增大。其可能的机理是硒通过促进 T 淋巴细胞的活化增殖,从而增加了 IL-2 的分泌。

本研究还发现,在试验的前 2 周,SS 对蛋鸡血浆 IL-2 的影响较 SP 占优势,这一规律与 SS 和 SP 对蛋鸡外周血淋巴细胞转化的影响规律相一致,而在试验的后 2 周,其优势地位渐渐被 SP 所取代。这提示,随着试验时间的延长,添加 SP 较添加 SS 能显著地提高蛋鸡血浆 IL-2 的水平,这可能主要与机体对 SP 的消化吸收的需时性有关。

另外,在试验的 2 个阶段,添加 SS 或 SP 均较添加益生菌能显著提高蛋鸡血浆的 IL-2 水平,而添加益生菌只在试验的后 2 周时才显著提高蛋鸡血浆 IL-2 的水平,在试验的前 2 周对蛋鸡血浆 IL-2 的水平没有显著影响,这一变化趋势与它们在试验的前 2 周对外周血 T 淋巴细胞转化的影响结果相一致,这提示:① T 淋巴细胞在受到抗原刺激的同时,在有较高浓度硒的存在下,可大量分化增殖,从而释放出更多的 IL-2;② 益生菌对 IL-2 水平的影响可能需要更长一段时间,这主要与益生菌在体内的适应和定植的需时有关。其发挥作用的机理可能是通过促进免疫组织和器官的发育和/或促进淋巴细胞的转化,从而促进机体 IL-2 水平的提高。③ 硒对 IL-2 水平的影响要优于益生菌。这几点在秦顺义<sup>[22]</sup>的相关研究中也体现。

本研究结果的可能机理是:在一定时间里,机体对 SS 硒的吸收较快,对其的利用似乎受硒饱和度的限制,而对 SP 硒的消化吸收较慢,对其的利用似乎不受硒饱和度的限制,而是存在着“硒池”样的效应,这可能主要与 SS 和 SP 硒在脾脏组织的分布有关(前期研究发现,在试验的第 28 天,添加 SP 较 SS 能显著地提高硒在脾脏的沉积)。日粮添加的 SP 和 SS 硒渐渐被机体吸收并且沉积在有关组织(脾脏),在试验的第 14 天时,SP 和 SS 均能促进经 PHA 刺激后的 T 淋巴细胞的转化,也均能提高血浆 IL-2 的水平,且 SS 的作用要优于 SP,但是随着试验时间的延长,到试验的第 28 天时,来源于 SP 的硒在脾脏的沉积显著高于来源于 SS 的硒,这样

当机体受到抗原的刺激时,寄居在脾脏的 T 细胞在脾脏“硒池”较高水平硒的促进下即可大量被活化,从而释放出更多的 IL-2,结果表现为添加 SP 较 SS 能更显著提高 IL-2 的水平。

#### 4 结 论

日粮添加 SS 和 SP 均能显著提高脾硒含量、提高蛋鸡免疫功能;随着硒添加水平的升高,效果更好;且随着试验时间的延长,添加 SP 的效果要显著优于 SS。

#### 参考文献:

- [1] KOHRL J, BRIGELIUS-FLOHE R, BOCK A, et al. Selenium in biology: facts and medical perspective [J]. *Biol Chem*, 2000, 381(9-10): 849-864.
- [2] DODIG S, CEPELAK I. The facts and controversies about selenium [J]. *Acta Pharm*, 2004, 54(4): 261-276.
- [3] COMBS G F Jr. Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: The case for selenium [J]. *Biofactors*, 2000, 12(1-4): 39-43.
- [4] Research team of environment and endemic diseases. Studies on low selenium belt in China and pathogeny of Keshan and Kaschin-beck diseases[J]. *Chin J Environ Sci*, 1986, 7: 89-93.
- [5] HASSAN S, HAKKARAINEN J, JONSSON L, et al. Histopathological and biochemical changes associated with selenium and vitamin E deficiency in chicks [J]. *Zentralbl Veterinarmed A*, 1990, 37(9): 708-720.
- [6] AVANZO J L, de MENDONCA C X Jr, de CERQUEIRA C M. Role of antioxidant systems in induced nutritional pancreatic atrophy in chicken [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 2002, 131(4): 815-823.
- [7] CANTOR A H, SCOTT M L. The effect of selenium in the hen's diet on egg production, hatchability, performance of progeny and selenium concentration in eggs [J]. *Poult Sci*, 1974, 53(5): 1 870-1 880.
- [8] WANG C, LOVELL R T. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Zctalurus punctatus*) [J]. *Aquaculture*, 1997, 152, 223-234.
- [9] 黄志坚,林藩平,邱承亮,等. 富硒酵母对奶牛抗氧化能力和免疫功能的影响 [J]. *营养学报*, 2004, 26(1): 27-30.
- [10] 高建忠. 不同硒源对仔猪和羔羊免疫功能和抗氧化能力的影响及机理研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2005.
- [11] 仲崇华. 不同硒源对断奶仔猪生产性能、免疫指标及硒利用率的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2006.
- [12] SCHUMACHER L K, ROY M, WISHE H I, et al. Selenium and immune cell functions. I. Effect on lymphocyte proliferation and production of interleukin 1 and interleukin 2 [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 1990, 193(2): 136-142.
- [13] 美国国家研究委员会家禽营养分会. 家禽营养需要 [M]. 第 9 修订版. 蔡辉益, 译. 北京: 中国农业科技出版社, 1994: 19-37.
- [14] PAN C L, HUANG K H, ZHAO Y X, et al. Effect of selenium source and level in hen's diet on tissue selenium deposition and egg selenium concentrations [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 1 027-1 032.
- [15] 刘华忠, 黄银燕, 陈绍红. 谷氨酰胺对雏鸡外周血 T 淋巴细胞转化作用的影响 [J]. *中国饲料*, 2004, 24: 23-25.
- [16] SANDER I, BRAUNE S, VOLKMANN C, et al. Application of the leukocyt transformation test (LTT) in different avian species employing MTT as a alternative to the use of isotope [J]. *Poultry Immunology*, 1996, 24: 437.
- [17] 杜念兴. 兽医免疫学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989: 12-29, 78-87.
- [18] CHANG W P, HOM J S, DIETERT R R, et al. Effect of dietary vitamin E and selenium deficiency on chicken splenocyte proliferation and cell surface marker expression [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 1994, 16(2): 203-223.
- [19] 黄克和, 陈万芳. 硒对雏鸡 T 淋巴细胞转化和自然杀伤细胞活力的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 1999, 22(2): 76-79.
- [20] BISWAS A, MOHAN J, SASTRY K V. Effect of higher levels of dietary selenium on production performance and immune responses in growing Japanese quail [J]. *Br Poult Sci*, 2006, 47(4): 511-515.
- [21] 高建忠, 秦顺义, 黄克和. 富硒益生菌对仔猪抗氧化和免疫功能的影响 [J]. *营养学报*, 2006, 28(2): 132-134.
- [22] 秦顺义. 一种富含有机硒的益生菌制剂的研制与作用机理研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2007.