

## 合生素对肉用鹌鹑免疫功能和肠道菌群的影响

王书全

(辽宁医学院畜牧兽医学院, 辽宁锦州 121001)

**摘要:**为了探讨日粮中添加合生素对肉用鹌鹑免疫功能和肠道菌群的影响,将120只1日龄法国莎维麦脱肉鹌鹑随机分为对照组和合生素组,每组60只。对照组饲喂基础日粮,合生素组在基础日粮中添加0.05%合生素。试验期35天。结果表明,合生素显著提高肉用鹌鹑免疫器官指数、ND抗体水平和E-玫瑰花环的转化率,且28~35日龄差异显著( $P<0.05$ );明显地降低了空肠大肠杆菌和沙门氏菌的数量( $P<0.05$ ),提高了21日龄乳酸杆菌的数量( $P<0.05$ )。说明合生素能显著增强鹌鹑机体非特异性免疫功能和改善肠道正常菌群结构的作用。

**关键词:**合生素;肉用鹌鹑;免疫器官指数;ND抗体水平;E-玫瑰花环形成率;肠道菌群

中图分类号:S839

文献标志码:A

论文编号:2011-0033

### Effects of Synbiotics on Immune Function and Intestinal Microflora of Meat-type Quails

Wang Shuquan

(Liaoning Medical University, College of Animal Husbandry and Veterinary, Jinzhou Liaoning 121001)

**Abstract:** In order to study the effects of dietary synbiotics on immune function of meat-type quails, one hundred and twenty one-day-old meat-type quails were allocated to control group and synbiotics group. 60 meat-quails in each group. Control group was fed with basal diet, the other was experimental group fed with basal diet supplemented 0.05% synbiotics. The experiment period is 35 days. The results showed that synbiotics increased significantly immune organ indexes, antibody level against ND and E-rosette formation rate, significant difference in 28-35-day-old. Supplementation of synbiotics decreased significantly the of *Escherichia coli* and *Salmonella* ( $P<0.05$ ), but increased obviously the numbers of *Lactobacillus* in the jejunum of meat quails ( $P<0.05$ ) 21 day-old. The results indicated that synbiotics enhances significantly innate immunity and improve intestinal microflora composition.

**Key words:** synbiotics; meat-type quails; immune organ indexes; antibody level against ND; E-rosette formation rate; intestinal microflora

### 0 引言

近几年来,随着养禽业的迅速发展,特别是大规模集约化饲养,各种禽病的发生与流行越来越严重,给养殖业带来重大的经济损失。传统抗生素的使用不仅造成耐药菌株的大量产生,而且药物残留危害了食品安全。因此,绿色饲料添加剂的开发就成为当前急需解决的问题。合生素作为抗生素的替代体,具有改善动物肠道菌群的构成,调节消化道微生态,提高免疫能力的作用。同时合生素具有成本低、无药物残留等优点<sup>[1]</sup>。试验通过在基础日粮中添加含寡糖和益生菌的

合生素,研究其对肉用鹌鹑免疫功能的影响,为合生素在肉用鹌鹑生产中的应用提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

1.1.1 药品与试剂 新城疫(ND) *La Sota*、油佐剂疫苗(山东泰丰生物技术有限公司);新城疫抗原,新城疫阳性血清(中国兽医药品监察所);肝素钠(天津生物化学制药有限公司);Hank's液,小牛血清(Sigma公司)。

1%绵羊红细胞(SRBC)悬液的制备:用 Alsever's液保存新鲜的绵羊血, Hank's液洗3次,前两次

**作者简介:**王书全,男,1968年出生,辽宁凌海人,副教授,硕士,研究方向:动物微生物学与免疫学。通信地址:121001 锦州市古塔区人民街五段48号辽宁医学院畜牧兽医学院, Tel: 0416-2625942, E-mail: lnmcsq1968@126.com。

**收稿日期:**2011-01-07, 修回日期2011-02-11。

1500 r/min, 离心 10 min, 第三次 2500 r/min, 离心 10 min, 洗涤后, 用生盐水配成 1% 的红细胞悬液。

1.1.2 试验仪器 水平离心机(北京离心机厂生产), 双目显微镜(德国 Olympus 公司), 微量移液器(上海求精仪器厂), 电子天平(常州市衡正电子仪器有限公司)。

## 1.2 实验动物及分组

选择体重相近、健康的 1 日龄法国莎维麦脱肉鹌鹑 120 只, 随机分成两组, 每组 60 只, 一组为合生素组, 另一组为对照组。合生素组为基础日粮中添加 0.05% 合生素<sup>[2]</sup>(爱保生 601, 北京都润科技有限公司)。基础日粮营养水平见表 1。

表 1 试验日粮组成及营养水平

项目	0~2 周龄	3~6 周龄
日粮组成/%		
玉米	51	56
豆粕	33	30.5
玉米蛋白粉	7	5
鱼粉	2	1.5
麸皮	2	2
大豆油	1	1
预混料	4	4
合计	100	100
营养水平		
粗蛋白/%	23.98	21.87
代谢能/kJ/kg	12.29	12.76
有机物/%	91.47	94.28
粗脂肪/%	3.74	3.65
粗纤维/%	5.62	5.89
粗灰份/%	6.89	6.57

注: 每千克预混料提供营养成分: VA 120 000 IU; VD<sub>3</sub> 40 000 IU; VE 500 mg; VB<sub>1</sub> 60 mg; VB<sub>2</sub> 30 mg; VB<sub>6</sub> 400 mg; 叶酸 20 mg; 泛酸钙 300 mg; Fe 1600 mg; Cu 200 mg; Mn 1500 mg; Zn 1200 mg; Se 5 mg; Ca 20%; P 4%; NaCl 8%; Met 2.5%; Lys 1.5%; 各营养成分含量为实测各原料营养成分含量后的计数值。

试验鹌鹑按常规饲养管理, 饲养于带光照自动控温的试验笼内, 人工喂料, 自由饮水, 自然通风。免疫程序为: 3 日龄 clone30 点眼, 7 日龄 *La Sota* 疫苗点眼, 同时新城疫油苗肌肉注射。

## 1.3 检测指标

分别在 21、28、35 和 42 日龄时, 每组随机取 15 只鹌鹑, 无菌心脏采血, 2 mL/只, 注入装有肝素钠真空采血管中摇匀, 放入冰盒, 立即送检做 E-花环试验。同时颈静脉采血 1.0 mL 置入 1.5 mL 离心管中, 倾斜放

置, 待血液自然凝固, 析出血清。置于 -20℃ 冰箱保存, 测定新城疫(HI)抗体效价。最后将鹌鹑宰杀, 取脾脏、法氏囊和胸腺称重。

1.3.1 免疫器官指数的测定 免疫器官指数的测定按照公式<sup>[3-4]</sup>计算:

$$\text{免疫器官指数} = \frac{\text{免疫器官鲜重(g)}}{\text{宰前空腹活体重(kg)}}$$

1.3.2 ND 抗体测定 用 V 型血凝板采用反向间接血凝抑制试验方法<sup>[5]</sup>测定抗体水平。

1.3.3 外周血液中 T 淋巴细胞 E-玫瑰花环形成率的测定 取抗凝血 1 mL, 加入 37℃ 预温的生理盐水 1 mL, 混匀后加在 1 mL 淋巴细胞分离液上, 2500 r/min 离心 10 min, 用毛细滴管尖伸入单核细胞层, 轻轻吸出全部细胞悬液。用 37℃ 生理盐水洗 2 次, 第 1 次 2500 r/min 15 min、第 2 次 10 min。弃上清, 将沉积细胞用 pH 7.4 含 10% 小牛血清和 5.0 g/L 水解乳蛋白的 Hank's 液配成  $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$  个/mL 的细胞悬液。取 0.1 mL 淋巴细胞悬液, 加 0.1 mL SRBC(白细胞总数为  $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ , SRBC 约为  $2 \times 10^7$  个), 置 37℃ 水浴 5 min, 150 g 离心 5 min, 置 4℃ 1~2 h。从冰箱取出后, 轻轻摇匀细胞, 加入 0.1 mL 0.8% 戊二醛混匀, 4℃ 固定 15 min。取干净的载玻片, 先用 Hank's 液冲洗, 再滴一滴混悬液, 自然干燥。用姬姆萨-瑞氏液染色, 水洗, 干燥镜检。凡吸附 3 个或 3 个以上的 SRBC 的淋巴细胞为 E-花环形成细胞(ERFC)。计数 200 个淋巴细胞, 计算其 ERFC 形成率<sup>[6-7]</sup>。

$$\text{E-花环形成率} = \frac{\text{形成花环的淋巴细胞数}}{\text{淋巴细胞总数}} \times 100\%$$

1.3.4 肠道菌群的测定 21、42 日龄屠宰后, 分别取出空肠内容物, 无菌对空肠内容物进行  $10^{-5} \sim 10^{-8}$  倍比稀释, 每个样品 4 个稀释度, 采用平板菌落计数法测定空肠内容物中大肠杆菌、沙门氏杆菌及乳酸杆菌的数量, 用每克肠道内容物中细菌个数的对数 lg(CFU/g) 表示<sup>[8]</sup>。

## 1.4 数据分析

数据统计采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析, 试验数据值以平均值±标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 合生素对肉用鹌鹑 NDV 抗体水平的影响

合生素组能提高肉用鹌鹑 NDV 抗体效价。与对照组相比较, 合生素组 21~35 日龄均高于对照组, 28~35 日龄差异显著 ( $P < 0.05$ )。详见表 2。

### 2.2 合生素对肉用鹌鹑免疫器官发育的影响

合生素对肉用鹌鹑的胸腺、脾脏及法氏囊均有一定的促生长作用, 在 28~35 日龄, 合生素组的胸腺、脾

表2 合生素对ND抗体水平的影响( $\bar{x}\pm S$ ,  $n=15$ )

组别	21日龄	28日龄	35日龄	42日龄
合生素组	7.39±0.56	9.41±0.38*	10.66±0.42*	10.13±0.17
对照组	7.12±0.97	8.29±0.74	9.31±0.68	9.42±0.33

注:\*表示与对照组相比差异显著( $P<0.05$ ),以下同。

脏和法氏囊指数明显的高于对照组,且差异显著( $P<0.05$ );21日龄和42日龄与对照组相比虽有升高,但差异不显著( $P>0.05$ ),详见表3。

表3 合生素对免疫器官指数的影响( $\bar{x}\pm S$ ,  $n=15$ )

脏器	组别	21日龄	28日龄	35日龄	42日龄
胸腺	合生素组	2.12±1.56	2.31±1.36*	2.54±4.32*	2.26±0.78
	对照组	1.96±3.43	2.04±5.21	2.24±2.59	2.20±1.46
脾脏	合生素组	0.76±2.37	0.99±3.26*	1.17±1.11*	1.09±1.41
	对照组	0.64±3.76	0.76±6.12	0.88±5.37	0.81±3.66
法氏囊	合生素组	1.16±4.34	1.38±2.54*	1.48±0.91*	1.36±2.47
	对照组	1.09±3.19	1.18±4.48	1.25±2.77	1.22±1.95

表4 合生素对外周血液中T淋巴细胞E-花环形成率的影响( $\bar{x}\pm S$ ,  $n=15$ )

组别	21日龄	28日龄	35日龄	42日龄
合生素组	21.17±1.81	23.47±0.41*	24.82±2.16*	22.49±1.36
对照组	19.67±1.31	19.97±1.01	20.93±2.22	20.18±0.97

0.05),乳酸菌的数量提高了14.83%( $P<0.05$ ),42日龄大肠杆菌和沙门氏菌数量分别减少了22.11%( $P<0.05$ )和23.66%( $P<0.05$ ),乳酸菌的数量提高了3.87%( $P>0.05$ )(见表5)。

表5 合生素对肉用鹌鹑肠道菌群的影响 lg(CFU/g)

项目	21日龄		42日龄	
	对照组	合生素组	对照组	合生素组
大肠杆菌	7.11±0.72	5.69±0.35*	6.74±0.11	5.25±0.19*
沙门氏菌	6.39±0.54	4.76±0.62*	5.79±0.09	4.42±0.27*
乳酸杆菌	4.45±0.24	5.11±0.24*	6.71±0.36	6.97±0.40*

### 3 小结

日粮中添加合生素可提高肉用鹌鹑免疫器官指数,促进抗体的分泌和T淋巴细胞的转化,从而非特异的增强了机体的免疫功能。

肉用鹌鹑日粮中添加合生素能有效的降低肠道中大肠杆菌、沙门氏菌的数量,提高乳酸菌的数量,从而改善肠道正常菌群结构。

### 4 讨论

#### 4.1 合生素对肉用鹌鹑免疫器官指数的影响

胸腺为中枢免疫器官,是T淋巴细胞成熟分化的

#### 2.3 合生素对外周血液中T淋巴细胞E-花环形成率的影响

合生素组在21~42日龄淋巴细胞E-花环形成率均高于对照组,与对照组相比,28日龄差异显著( $P<0.05$ ),21日龄和42日龄差异不显著( $P>0.05$ )。详见表4。

#### 2.4 合生素对肉用鹌鹑肠道菌群的影响

21日龄、42日时合生素组肉用鹌鹑空肠中大肠杆菌、沙门氏菌数量明显减少,其中21日龄大肠杆菌和沙门氏菌数量分别减少了19.97%( $P<0.05$ )和22.26%( $P<$

场所,法氏囊为禽类所特有中枢免疫器官,是禽类B淋巴细胞发育成熟的地方。脾脏是体内产生抗体的主要器官,参与体液免疫的同时也参与细胞免疫。Rivas<sup>[9]</sup>等认为,免疫器官重量可用于评价雏鸡的免疫状态。免疫器官指数反映免疫器官的发育,间接指示机体的免疫状态<sup>[10]</sup>。丁轲<sup>[11]</sup>的研究表明合生素可提高AA肉鸡的免疫功能,提高免疫器官指数。张春杨等<sup>[12]</sup>研究表明,用益生菌剂饲喂肉鸡,能明显促进免疫器官的生长发育,可显著提高免疫器官(脾脏、法氏囊、胸腺)指数( $P<0.05$ )。试验结果表明日粮中添加合生素对肉用鹌鹑的胸腺、法氏囊和脾脏指数在21~42日龄都有明显提高,28~35日龄与对照组相比差异显著( $P<0.05$ )。表明合生素在一定程度上提高肉用鹌鹑免疫功能。

#### 4.2 合生素对NDV抗体水平和E-玫瑰花环形成率的影响

体液免疫是由B淋巴细胞介导通过分泌抗体而进行的免疫应答。而抗体效价的变化反映了机体的体液免疫状态<sup>[13]</sup>。T淋巴细胞是介导机体细胞免疫的重要细胞,E-玫瑰花环形成试验能敏感地反映机体细胞免疫水平和动态变化,是目前鉴定和计算外周血液中各种淋巴组织中T淋巴细胞的常用方法。T淋巴细胞百

分率的高低,可以反映药物对T淋巴细胞水平和机体细胞免疫状态<sup>[14]</sup>。合生素作为良好的免疫激活剂,能提高抗体水平和巨噬细胞的活性,通过产生抗体和提高噬菌作用刺激免疫,激发机体免疫和细胞免疫,增强机体的免疫力和抗病力。试验结果证明合生素能明显的提高肉用鹌鹑ND抗体水平和外周血液中E-玫瑰花环的形成率,而且在28~35日龄差异显著( $P < 0.05$ ),表明合生素对肉用鹌鹑有明显的免疫增强作用。

#### 4.3 合生素对肉用鹌鹑肠道菌群的影响

合生素由枯草芽孢杆菌和低聚糖配伍而成,研究表明芽孢杆菌可使胃肠道内有益菌(如乳酸杆菌和链球菌)数量增加,这些细菌会产生大量的有机酸,使肠道内pH下降,从而抑制胃肠道内病原菌的繁殖。而低聚糖不能被单胃动物体内分泌的消化酶分解,只能以未降解的形式进入后段肠道被乳酸杆菌和双歧杆菌等有益微生物分解利用,使肠道有益微生物得到大量繁殖。试验结果表明,在日粮中添加合生素在一定程度上减少肉用鹌鹑肠道中大肠杆菌和沙门氏菌的数量,同时增加了乳酸菌的数量,从而证实了合生素能有效的抑制有害菌的生长,促进肠道有益菌的生长和定植。此结果也与孙鸣<sup>[15]</sup>、李路胜<sup>[16]</sup>等前人的研究相一致。

#### 参考文献

[1] 苗晓微,李娜,吴健,等.合生素的研究进展[J].饲料工业,2005,26(14):6-9.  
 [2] 宋青龙,孙冬岩,潘宝海,等.合生素对白羽肉鸡生产性能及胴体品

质的影响[J].饲料研究,2007(8):51-53.  
 [3] 王凤霞,李清艳,张洪德,黄芪茎叶粉对雏鸡生长性能及免疫器官指数的影响[J].中国家禽,2009,31(9):53-54.  
 [4] 王俊峰,陈雁南,温超,等.合生素对肉鸡生长性能、免疫器官指数、血清免疫指标及肠道菌群的影响[J].动物营养学报,2010,22(1):163-168.  
 [5] 姚火春.兽医微生物学实验指导(2版)[M].北京:中国农业出版社,2002:105-107.  
 [6] 王学斌,陈功义,魏战勇,等.黄芪多糖粉剂和注射剂对雏鸡免疫功能 and 生长的影响比较[J].中国家禽,2007,29(3):21-23.  
 [7] 王德云,胡云亮,孙峻岭,等.复方中药成分对新城疫疫苗免疫雏鸡外周血T淋巴细胞转化和血清抗体效价的影响[J].中国兽医学报,2006,26(2):194-196.  
 [8] 王冉,邵春荣,胡来根,等.酸化剂对肉鸡肠道微生物数量的影响研究[J].饲料工业,2001,22(7):31-33.  
 [9] Rivas A, Fabricant J. Indication of immunodepression in chicken infected with various strain of Marek's disease virus[J]. Avian Disease,1985,32:1-8.  
 [10] Steve leeson. 家禽营养研究及其未来策略[J].中国家禽,2008,30(18):7-10.  
 [11] 丁轲.益生乳酸菌的筛选及中草药协同作用的研究[D].成都:四川农业大学,2003:23.  
 [12] 张春扬,牛钟相,常堆山,等.益生菌剂对肉用仔鸡的营养、免疫促进作用[J].中国预防兽医学报,2002,24(1):51-54.  
 [13] 邢玉娟,陈玉库,蔡丙彦,等.氧化苦参碱—黄芪多糖复方防治鸡新城疫的效果观察[J].畜牧与兽医,2009,41(1):91-93.  
 [14] 陈瑞生.黄芪多糖对新城疫疫苗免疫增强作用的研究和推广研究[D].兰州:甘肃农业大学,2005:26.  
 [15] 孙鸣,孙冬岩,潘宝海,等.合生素对肉鸡肠道菌群数量的影响[J].饲料研究,2008(6):62-63.  
 [16] 李路胜,刘志彦,种永常.合生素对肉杂鸡生产性能和肠道菌群数量的影响[J].广东饲料,2010,19(3):16-18.