

魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’免疫功能及盲肠菌群的影响

郭云贵,胡燕梅,鲍伟

(武汉生物工程学院生物工程系,武汉 430415)

摘要:为探明甘露寡糖对‘三黄鸡’免疫功能和盲肠菌群的影响及替代抗生素的可行性,选用1日龄‘三黄鸡’216只,随机分为6组,每组3个重复,每重复12只鸡,分别饲喂6种不同日粮,自由采食和饮水,第I组为空白对照组,第II、III、IV、V、VI组为试验组,在基础日粮的基础上分别添加600 mg/kg林可霉素、1 g/kg甘露寡糖、2 g/kg甘露寡糖、4 g/kg甘露寡糖和8 g/kg甘露寡糖。结果表明:(1)添加4 g/kg甘露寡糖,可显著提高胸腺指数($P<0.05$),有提高脾脏和法氏囊指数的趋势,但差异不显著($P>0.05$);(2)饲料中添加600 mg/kg林可霉素或4 g/kg甘露寡糖,均能显著提高血清溶菌酶活性($P<0.05$),而8 g/kg甘露寡糖组血清新城疫抗体滴度均显著高于对照组和林可霉素组($P<0.05$);(3)添加甘露寡糖,可显著提高盲肠乳酸杆菌的数量,降低沙门氏菌的数量($P<0.05$),大肠杆菌的数量有增加的趋势但差异不明显($P>0.05$);(4)甘露寡糖可替代林可霉素在‘三黄鸡’养殖中的应用。

关键词:甘露寡糖;‘三黄鸡’;免疫功能;盲肠菌群

中图分类号:S 831.5

文献标志码:A

论文编号:2011-0043

Effects of Konjac Mannose-oligosaccharides in Diets on Immunity Function and Mecum Microflora of ‘Three-yellow Broilers’

Guo Yungui, Hu Yanmei, Bao Wei

(Department of Bioengineering, Wuhan Bioengineering Institute, Wuhan Hubei 430415)

Abstract: To study the effects of konjac mannose-oligosaccharides in diet on the immunity function and mecum microflora of ‘three-yellow broilers’ and the possibility of substitutes for antibiotics, two hundred sixteen one-day ‘three-yellow broilers’ were divided randomly into 6 treatments with three replicates. There were twelve broilers per replicate with feed and water provided ad libitum. The basic diet of the six groups was the same and treatments are as follows: control (no MOS and no lincomycin), 600 mg/kg lincomycin, 1 g/kg MOS, 2 g/kg MOS, 4 g/kg MOS and 8 g/kg MOS. The results showed: (1) 4 g/kg MOS level of the diet significantly improves the index of thymus ($P<0.05$), and had a tendency of increasing the index of spleen and bursa but not significantly ($P>0.05$). (2) 600 mg/kg lincomycin and 4 g/kg MOS of the diet both increased serum lysozyme level significantly ($P<0.05$), however, 8 g/kg MOS of the diet had the higher serum antibody titres to new castle disease virus than the control group and lincomycin group ($P<0.05$). (3) Compared to the control group, MOS significantly increased the concentration of lactobacillus and decreased the number of salmonellae ($P<0.05$), in addition the number of *E. coli* had a higher tendency but not significantly ($P>0.05$). (4) MOS could substitute for the lincomycin in the ‘three-yellow broilers’ feeding.

Key words: mannose-oligosaccharides; ‘three-yellow broilers’; immunity function; mecum microflora

0 引言

甘露寡糖(MOS)是一种从酵母细胞壁中提取的

磷酸化葡萄糖甘露寡糖复合物,它广泛存在于魔芋粉、瓜儿豆胶、田菁胶及多种微生物细胞壁内。甘露寡糖

基金项目:武汉市高校科学研究资助项目“甘露寡糖在肉鸡养殖中的应用”(2008K078)。

第一作者简介:郭云贵,女,1977年出生,湖北新洲人,讲师,硕士,研究方向为营养与免疫。通信地址:430415 武汉市阳逻开发区汉施路1号武汉生物工程学院生物工程系, E-mail: guoyungui2004@126.com。

收稿日期:2011-01-07,修回日期:2011-02-28。

可以通过与肠绒毛免疫细胞表面蛋白受体相互作用或通过干预存在于淋巴结和粘膜固有层记忆细胞上的信号系统进行免疫调节^[1]。经研究表明,甘露寡糖具有与有害细菌的受体竞争结合的能力,从而阻止细菌与动物肠道上皮细胞的结合,加速细菌从肠道排出,促进肠道正常微生物区系的平衡,同时调节机体免疫机能,进而达到促生长与增强抗病力的营养作用^[2]。笔者为系统深入研究甘露寡糖的上述功能,特展开了魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’免疫功能及盲肠菌群影响的研究。

1 材料与方

1.1 材料

魔芋甘露寡糖由武汉华扬生物有限公司提供,含

量20%;‘三黄鸡’由武汉佳禽种鸡有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 实验动物与分组 采用单因子随机化设计,将216只1日龄‘三黄鸡’随机分成I~VI 6个处理组,每组设3个重复,每个重复12只鸡,其中I组为对照组,饲喂基础日粮;II组为抗生素组,在基础日粮中添加林可霉素600 mg/kg;III~VI组为甘露寡糖组,分别在基础日粮中添加甘露寡糖1 g/kg、2 g/kg、4 g/kg、8 g/kg。基础日粮配方及营养水平见表1。

1.2.2 饲养管理及免疫程序 1~21日龄鸡采用网上平养,22~46日龄鸡采用3层笼养,自由采食,自由饮水。免疫程序为:第5天新支二联苗首免滴鼻,第10天法氏

表1 试验基础日粮配方及营养水平

原料组成	营养成分	
	0~28日龄	29~46日龄
玉米/%	60.3	65.0
豆粕/%	33.0	28.6
鱼粉/%	2.0	1.0
豆油/%	1.0	1.5
石粉/%	1.5	1.5
磷酸氢钙/%	1.2	1.4
预混料/%	1.0	1.0
	CP/%	20.68
	ME/(MJ/kg)	13.23
	DE/(MJ/kg)	14.14
	Ca/%	1.00
	AP/%	0.38
	Met/%	0.46
	Lys/%	1.25

注:1)每千克全价料提供:VA 12 000 IU;VD₃ 3 000 IU;VE 19.5 mg;VK₃ 3 mg;VB₁ 2.4 mg;VB₂ 7.5 mg;VB₆ 3.6 mg;VB₁₂ 18 μg;烟酸 36 mg;泛酸钙 12 mg;叶酸 0.9 mg;生物素 0.12 mg;胆碱 750 mg;铜 10 mg;铁 99 mg;锰 121 mg;硒 0.4 mg;碘 0.7 mg;锌 105 mg;2)表中营养水平均为计算值。

囊首免滴口,第14天饮水除球虫,第18天新支二联苗二免点眼,第23天法氏囊二免滴鼻。

1.2.3 检测指标

(1)样品采集。在46日龄时,每个处理每重复随机抽取4只鸡(雌雄各2只),无菌心脏采血3 mL,3000 r/min离心分离血清混合并分装,-20℃保存待测。

(2)免疫器官指数的测定。颈静脉采血后将鸡只屠宰,剥离脾脏、法氏囊和胸腺,称重,计算免疫器官指

数。免疫器官指数=免疫器官重(g)/体重(kg)。

(3)血清溶菌酶活性测定。采用南京建成生物工程有限公司试剂盒检测;抗体滴度:采用红细胞凝集与红细胞凝集抑制实验测定。

(4)盲肠菌群测定。内容物悬液制备采用宋智娟等^[3]方法进行,大肠杆菌采用伊红美兰培养基检测;乳酸菌采用MRS培养基检测;沙门氏菌采用SS琼脂检测。

$$\text{每克盲肠内容物菌落数} = \lg \frac{\text{菌落数} \times \text{稀释倍数} \times \text{每次稀释取样毫升数}}{\text{接种用样品毫升数} \times \text{样品克数}}$$

1.2.4 数据分析 实验数据均采用SPSS13.0统计软件的邓肯氏新复极差检验法进行差异显著性检验,实验数据采用平均值±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’免疫器官指数的影响

由表2可以看出,随着甘露寡糖添加量的增加,胸腺指数有先升高后降低的趋势,其中4 g/kg甘露寡糖组胸腺指数显著高于对照组和林可霉素组($P<0.05$);而甘露寡糖和林可霉素均有提高脾脏指数和法氏囊指数的趋势,但差异均不显著($P>0.05$)。

表2 魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’免疫器官指数的影响

组别	胸腺指数	脾脏指数	法氏囊指数
I	0.327±0.031 ^a	0.163±0.023	0.095±0.003
II	0.339±0.043 ^a	0.183±0.035	0.101±0.013
III	0.321±0.007 ^a	0.188±0.041	0.097±0.017
IV	0.344±0.064 ^a	0.193±0.015	0.111±0.004
V	0.449±0.052 ^b	0.190±0.035	0.104±0.015
VI	0.392±0.043 ^{ab}	0.155±0.035	0.102±0.012

注:同列数据肩标字母不同者表示差异显著($P<0.05$),字母相同者或未标者差异不显著($P>0.05$),下表同。

2.2 魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’血清免疫分子的影响

魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’血清溶菌酶活性和抗体水平的影响见表3。分析表明,林可霉素组和4 g/kg甘露寡糖组血清溶菌酶活性均显著高于对照组($P<0.05$);抗体滴度以8 g/kg甘露寡糖组最高,显著高于其他各组($P<0.05$),林可霉素组抗体滴度与对照组间差异不显著($P>0.05$)。

表3 魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’溶菌酶活性及抗体水平的影响

组别	溶菌酶/(U/mL)	抗体滴度
I	229.33±22.14 ^a	4.33±0.58 ^a
II	320.33±33.50 ^b	5.00±0.00 ^{ab}
III	210.33±5.86 ^c	5.33±0.58 ^{ab}
IV	219.67±11.68 ^c	5.67±0.58 ^b
V	303.33±24.58 ^b	5.33±0.58 ^{ab}
VI	224.67±47.91 ^a	6.67±0.85 ^c

2.3 魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’盲肠菌群的影响

魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’盲肠菌群的影响见表4。由表4可以看出:大肠杆菌数以林可霉素组最低,1 g/kg甘露寡糖组最高,且显著高于对照组($P<0.05$),其他各组间差异均不显著($P>0.05$);各甘露寡糖组乳酸菌的数量均显著高于对照组和林可霉素组,林可霉素组乳酸菌数量低于对照组但差异不显著;4 g/kg甘露寡糖组沙门氏菌数量显著低于对照组($P<0.05$),其他各组间差异均不显著($P>0.05$)。综合考虑,4 g/kg甘露寡糖添加效果较好。

表4 魔芋甘露寡糖对‘三黄鸡’盲肠菌群的影响

组别	大肠杆菌 (lg CFU/g) [*]	乳酸菌 (lg CFU/g)	沙门氏菌 (lg CFU/g)
I	5.686±0.074 ^a	6.154±0.035 ^a	4.598±0.133 ^b
II	5.548±0.098 ^{ab}	5.994±0.109 ^{ab}	4.463±0.260 ^{ab}
III	5.986±0.032 ^b	6.311±0.051 ^b	4.533±0.050 ^b
IV	5.873±0.084 ^{ab}	6.216±0.027 ^b	4.279±0.134 ^b
V	5.730±0.240 ^{ab}	6.298±0.132 ^b	4.268±0.051 ^a
VI	5.848±0.095 ^{ab}	6.320±0.164 ^b	4.639±0.042 ^b

注:^{*}表示CFU为克隆形成单位。

3 讨论

3.1 甘露寡糖对‘三黄鸡’免疫功能的影响

免疫是机体的一种特异性生理反应,禽类的免疫系统包括免疫器官、免疫细胞及免疫分子三大类,是抵抗病原体入侵的综合性防御体系。家禽免疫器官(法氏囊、脾脏、胸腺等)的重量是评价营养素对家禽免疫

力影响的重要指标^[4],抗体和溶菌酶都是免疫分子,分别执行特异性和非特异性免疫功能。宋智娟等报道, β -甘露聚糖酶对肉鸡免疫器官指数有增加的趋势但不显著^[5];马志红等也指出,免疫功能低下的小鼠灌服MOS溶液后,体质量、脾指数及胸腺指数均显著提高^[6];袁缨等在1日龄肉仔鸡日粮中添加0.015%的MOS,研究对肉仔鸡免疫器官指数的影响,结果表明:MOS可明显提高42日龄时肉仔鸡胸腺指数和脾指数^[7]。该实验结果表明,饲料中添加4 g/kg甘露寡糖可显著提高‘三黄鸡’胸腺指数,有提高脾脏指数和法氏囊指数的趋势但差异不显著。Upendra发现采食添加MOS饲料的肉鸡其新城疫抗体滴度提高了2~3倍^[8];周映华等(2003)研究指出,添加MOS 1~1.5 g/kg,血清中新城疫抗体效价较对照组提高了15.16%和12.70%^[9]。该实验表明,饲料中添加一定量的甘露寡糖可显著提高血清新城疫抗体效价,与前人的研究结果较为一致。甘露寡糖对肉鸡血清溶菌酶活性的影响研究者较少,该实验发现,4 g/kg甘露寡糖可显著提高‘三黄鸡’血清溶菌酶活性,其机理有待进一步研究。

3.2 甘露寡糖对‘三黄鸡’盲肠菌群的影响

动物体对致病菌或潜在致病菌定植和繁殖的抵抗力是受宿主和正常菌群的双重影响,但正常菌群的影响尤为重要,是动物的自然生物屏障,具有拮抗外来致病菌的作用^[10]。甘露寡糖在动物消化道被微生物发酵,产生挥发性脂肪酸,调节肠道pH,促进肠道内双歧杆菌和乳酸杆菌的生长繁殖;通过降低肠道pH或通过双歧杆菌、乳酸杆菌对有害菌在空间、营养上的屏蔽竞争作用来抑制有害菌在肠道的定植和生长。甘露寡糖对肉鸡肠道乳酸菌的影响不同研究者结果较为一致^[11-12],但对大肠杆菌的影响存在分歧。宋智娟等研究发现, β -甘露聚糖酶可以提高肠道中乳酸杆菌和双歧杆菌的数量,显著降低肉鸡盲肠大肠杆菌数量^[5];于桂阳等也报道甘露寡糖能促进盲肠和回肠中双歧杆菌和乳酸杆菌的增殖,抑制盲肠大肠杆菌增殖,但差异不显著^[13];而Stanley等报道,在肉鸡饲料中添加甘露寡糖,盲肠中大肠杆菌数并没有减少^[14],周映华等同样指出,与对照组相比,添加不同水平的甘露寡糖不同程度地提高了盲肠中乳酸杆菌的数量,但对盲肠中大肠杆菌数量没有明显降低趋势^[9]。该实验结果表明,饲料中添加一定量的甘露寡糖,可提高盲肠中乳酸菌的数量,降低沙门氏菌的数量,但对大肠杆菌的数量反而有提高的趋势,其中对乳酸菌的作用最明显;林可霉素在抑制大肠杆菌和沙门氏菌增殖的同时也降低了乳酸菌的数量,说明抗生素在杀死有害菌的同时,也会

杀死有益菌,破坏肠道微生态平衡,且长期使用抗生素会产生耐药性。肠道微生物菌群的组成和活性,会对宿主的健康和生长产生积极或消极的影响^[15],该实验结果表明,盲肠中乳酸杆菌和双歧杆菌数量较多,沙门氏菌数量较少的组,其机体的免疫状态也处于较高水平。

参考文献

- [1] 李路胜,周响艳.甘露聚糖酶对肉鸡肠道微生物和免疫机能的影响[J].饲料工业,2010,31(6):15-18.
- [2] Grieshop C M, Flickinger E A, Bruce K J, et al. Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides[J]. Archives of Animal Nutrition,2004,58(6):483-493.
- [3] 宋智娟,张艳铭,廖智慧.β-甘露聚糖酶对肉鸡肠道内微生物菌群及pH值的影响[J].饲料工业,2007,28(22):14-17.
- [4] 李振,李萍.蛋白质营养与家禽免疫[J].中国饲料,2002(18):22-23.
- [5] 宋智娟,张艳铭,季妍.β-甘露聚糖酶对肉鸡免疫机能的影响[J].饲料工业,2008,29(14):37-40.
- [6] 马志红,张庆波,史相国,等.甘露寡糖对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J].安徽农业科学,2009,37(16):7462-7463.
- [7] 袁纛,闫际平,陈立华,等.不同寡糖对肉仔鸡肠道主要菌群和免疫器官指数的影响[J].中国饲料,2007(15):15-17.
- [8] Peter Spring.酵母细胞壁在家禽营养中的作用[J].饲料工业,2001,22(11):48-50.
- [9] 周映华,张石蕊.甘露寡糖对肉鸡生产性能和肠道微生物以及免疫机能的影响[J].湖南农业大学学报,2003,29(3):250-253.
- [10] 周淑琴.不同抗生素替代品控制肉鸡大肠杆菌感染的效果[J].畜牧与兽医,2001,41(11):87-88.
- [11] 邵良平,周伦江,李国平,等.不同剂量甘露寡聚糖对鸡细胞免疫和肠道微生态的影响[J].福建农业大学学报,1999,28(1):86-89.
- [12] 张建斌,车向荣,杨华.甘露寡糖替代抗生素对蛋雏鸡肠道菌群的影响[J].饲料博览,2010,(5):29-30.
- [13] 于桂阳,张昊,郑春芳.甘露寡糖对肉鸡肠道微生物的影响[J].兽药与饲料添加剂,2004,9(5):7-9.
- [14] Stanley V G, Chukwu H, Gray C, et al. Effects of lactosanBio-MOS in dietary application on growth and total coliform bacteria reduction in broiler chicks[J]. Poultry Sci,1996,75(11):61.
- [15] 刘焕良,昌捷,潘雪男.译.肉仔鸡肠道微生物的日粮调控[J].国外畜牧学-猪与禽,2010,30(3):43-49.