doi:10.3969/j.issn.1006-267x.2019.08.037

富硒胞外多糖对断奶仔猪生长、抗氧化功能、 肠道形态结构和抗菌肽表达的影响

路则庆 胡喻涵 黄向韵 张 煜 王凤芹 汪以真*

(浙江大学饲料科学研究所,生物饲料安全与污染防控国家工程实验室,农业部华东动物营养与饲料重点实验室, 浙江省饲料与动物营养重点实验室,杭州 310058)

摘 要:本试验旨在探究阴沟肠杆菌(Enterobacter cloacae) Z0206 所产胞外多糖(EPS)和富码胞外多糖(Se-EPS)对断奶仔猪生长性能、抗氧化功能、肠道形态结构和抗菌肽表达的影响。选择体重相近的 28 日龄"杜×长×大"三元杂交断奶仔猪 150 头,随机分为 5 组,每组 3 个重复,每个重复 10 头猪。对照(CON)组饲喂基础饲粮,亚硒酸钠(Na2SeO3)组饲喂基础饲粮+0.30 mg/kg Na2SeO3+黄芪多糖(APS)组饲喂基础饲粮+0.30 mg/kg Na2SeO3+560 mg/kg Na2SeO3+560 mg/kg APS,Na2SeO3+EPS 组饲喂基础饲粮+0.30 mg/kg Na2SeO3+560 mg/kg EPS,Se-EPS 组饲喂基础饲粮+560 mg/kg Se-EPS。试验期 39 d。结果表明:与 Na2SeO3 组相比,饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了断奶仔猪的平均日增重(P<0.05),显著降低料重比(P<0.05),显著提高了血清总抗氧化能力(P<0.05),显著降低了血清两二醛含量(P<0.05)。与对照组相比,饲粮中添加 Na2SeO3+EPS、Se-EPS 显著提高了断奶仔猪空肠的绒毛高度以及绒毛高度/隐窝深度(V/C)(P<0.05),饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了十二指肠中猪 β -防御素 1(β -防御素 2(β -D)的 mRNA 相对表达量(β -O)的。由此可见,饲粮中添加 Se-EPS 可提高断奶仔猪生长性能、抗氧化功能以及促进肠道内源抗菌肽的表达。

关键词: 富硒胞外多糖:生长性能:抗氧化:抗菌肽:断奶仔猪

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)08-3755-08

饲用抗生素具有提高畜禽存活率、促进生长和提高饲料转化率等功能,但长期使用抗生素会引发药物残留、环境污染和食品安全等问题。欧盟已于2006年全面禁止使用饲用抗生素,我国也正在采取措施逐步加快限制饲料中添加预防性抗生素,2017年至今已先后停止硫酸黏菌素、喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂作为药物添加剂在畜禽动物中的使用。2019年3月13日,农业部发布《药物饲料添加剂退出计划(征求意见稿)》,计划2020年底退出除中药外的所有促生长类药物饲料添加剂品种。如何在"禁抗"的大背景下保障动物

健康、维持正常生长性能已成为畜牧养殖业关注的热点,寻求安全、绿色、有效的抗生素替代品迫在眉睫。

多糖作为一种具有增强免疫功能的绿色保健生物制品,在一定程度上可以替代抗生素。目前黄芪多糖(APS)、灵芝多糖等已广泛应用于畜牧和水产养殖业[1],但其生产周期长、提取工艺相对复杂且成本较高;而微生物多糖较于其他多糖具有生产周期短、成本相对较低且不易受外界条件限制等优势。硒具有抗氧化、促生长和提高机体免疫力等功能,是动物机体所必需的一种微量元

收稿日期:2019-01-31

基金项目:国家现代生猪产业技术体系岗位科学家项目(CARS-35);浙江省重点研发计划项目(2015C02022)

作者简介: 路则庆(1986—), 男, 山东泰安人, 博士, 动物营养与饲料科学专业。 E-mail: zqlu2012@ zju.edu.cn

^{*}通信作者:汪以真,教授,博士生导师,E-mail: yzwang321@zju.edu.cn

素。不同来源及状态的硒在生物活性和效价上存在差异,与无机硒相比,有机硒具有更高的生物活性和更低的毒性^[2],通过微生物进行硒的有机化可有效提高硒的活性和利用率。本课题组前期筛选得到新型高产多糖耐硒菌株阴沟肠杆菌(Enterobacter cloacae) Z0206,不仅可以分泌大量的胞外多糖(EPS),而且可以将无机的亚硒酸钠(Na₂SeO₃)高效转化为有机的富硒胞外多糖(Se-EPS)^[3]。在克氏原螯虾^[4]、肉仔鸡^[5]上应用研究表明,Se-EPS 能显著提高其生长性能、抗氧化能力和免疫功能,而 Se-EPS 在断奶仔猪为试验对象,以生猪养殖中常用的 Na₂SeO₃、APS 作为参考,旨在研究 Enterobacter cloacae Z0206 所产 EPS 和Se-EPS 对断奶仔猪生长性能、抗氧化功能、肠道形

态结构及抗菌肽表达的影响,同时探究 Se-EPS 是否具有多糖和硒的协同作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

Na₂SeO₃、EPS、Se-EPS 由浙江大学饲料研究 所实验室制备^[3],EPS 和 Se-EPS 中多糖实测含量 均为 69.40%, Se-EPS 中硒含量为 535.7 mg/kg; APS 由北京生泰尔科技股份有限公司提供,多糖 实测含量为 69.75%。试验仔猪由宁波振宁牧业 有限公司养猪场提供,饲粮由浙江科盛饲料股份 有限公司加工,基础饲粮组成及营养水平见表 1。 血清抗氧化指标检测试剂盒购自南京建成生物工 程研究所。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

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

0%

| 原料 Ingredients 含量 Content | | 营养水平 Nutrient levels ²⁾ | 含量 Content |
|----------------------------------|-------|------------------------------------|------------|
| 玉米 Corn | 59.3 | 消化能 Digestible energy/(MJ/kg) | 14.43 |
| 去皮豆粕 Decorticated soybean meal | 8.0 | 粗蛋白质 Crude protein | 19.50 |
| 膨化大豆 Extruded soybeans | 6.0 | 钙 Calcium | 0.79 |
| 发酵豆粕 Fermented soybean meal | 7.0 | 总磷 Total phosphorus | 0.60 |
| 乳清粉 Whey powder | 6.0 | 赖氨酸 Lys | 1.50 |
| 血浆蛋白粉 Spray-dried plasma protein | 2.5 | 苏氨酸 Thr | 0.98 |
| 鱼粉 Fish meal | 3.0 | 蛋氨酸 Met | 0.52 |
| 豆油 Soybean oil | 2.5 | 色氨酸 Try | 0.18 |
| 磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$ | 0.9 | 硒 Selenium/(mg/kg) | 0.09 |
| 石粉 Limestone | 0.8 | | |
| 预混料 Premix1) | 4.0 | | |
| 合计 Total | 100.0 | | |

 $^{^{1)}}$ 预混料为每千克饲粮提供 Premix provided the following per kg of the diet; Fe (FeSO₄) 80 mg, Zn (ZnSO₄) 80 mg, Cu (CuSO₄) 5 mg, Mn (MnSO₄) 3 mg, I (CaI₂) 0.14 mg, VA 2 250 IU, VD₃ 220 IU, VE 16 IU, VK₃ 0.5 mg, VC 20 mg, VB₁ 2 mg, VB₂ 4.5 mg, VB₆ 7 mg, VB₁₂ 0.03 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, 叶酸 folic acid 0.3 mg, 烟酸 nicotinic acid 30 mg, 泛酸 pantothenic acid 25 mg。

1.2 试验设计

试验选择 28 日龄"杜×长×大"三元杂交断奶仔猪 150 头,按照品种、胎次、体重相近原则,将仔猪随机分成 5 组,每组 3 个重复,每个重复 10 头猪。对照(CON)组饲喂基础饲粮,Na₂SeO₃组饲喂基础饲粮+0.30 mg/kg Na₂SeO₃,Na₂SeO₃+APS组 饲喂基础 饲粮 + 0.30 mg/kg Na₂SeO₃+

 $560 \text{ mg/kg APS}, \text{Na}_2 \text{SeO}_3 + \text{EPS}$ 组饲喂基础饲粮+ $0.30 \text{ mg/kg Na}_2 \text{SeO}_3 + 560 \text{ mg/kg EPS}, \text{Se-EPS}$ 组饲喂基础饲粮+ 560 mg/kg Se-EPS。试验期 39 d,试验期间仔猪自由采食和饮水,试验结束后每组随机选取 6 头仔猪屠宰取样,用于后续试验分析。

1.3 生长性能测定

记录试验开始和结束时的仔猪体重并记录采

²⁾粗蛋白质、钙、总磷和硒为实测值,其余营养水平为计算值。Crude protein, calcium, total phosphorus and selenium were measured values, while others nutrient levels were calculated values.

食量,计算平均日采食量、平均日增重、料重比以 及腹泻率。

1.4 血清抗氧化指标

空腹 12 h 后采集仔猪静脉血液,于 4 $^{\circ}$ $^{\circ}$ 3 000×g离心 15 min,收集上清于-80 $^{\circ}$ 保存,用于测定血清总抗氧化力(T-AOC)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量。

1.5 肠道苏木精-伊红(HE)染色

取 1 cm 左右的完整十二指肠和空肠,用生理 盐水轻轻冲洗肠内容物,于 Bouins 液中固定,然后 进行 HE 染色并观察比较肠黏膜形态结构变化,记 录绒毛高度、隐窝深度并计算绒毛高度/隐窝深度 (V/C)。

1.6 抗菌肽基因表达

采集十二指肠、空肠、回肠组织,置液氮速冻后于-80 ℃超低温冰箱保存,用 Trizol Reagent 提取肠道组织中的总 RNA,检测总 RNA 的浓度以及光密度(OD)₂₆₀/OD₂₈₀值,反转为 cDNA,再用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR) 法检测抗菌肽猪 β-防御素 1(pBD-1)、猪 β-防御素 2(pBD-2)的 mRNA相对表达量。pBD-1、pBD-2 引物自行设计合成,内参基因 18S rRNA 参考 Yang 等^[6]进行合成,引物序列见表 2。

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

| 基因 Genes | 产物大小 Product size/bp | Product Primer sequence Anneal | | GenBank 登录号 GenBank accession number |
|--------------------|----------------------------|---|----|--|
| 猪 β-防御素 1 pBD-1 | 83 | F: TGCCACAGGTGCCGATCT R:CTGTTAGCTGCTTAAGGAATAAAGGC | 60 | NM_213838.1 |
| 猪β-防御素 2 pBD-2 | 88 | F:CCAGAGGTCCGACCACTACA R:GGTCCCTTCAATCCTGTTGAA | 60 | AY506573.1 |
| 18S rRNA | 122 | F: CCCACGGAATCGAGAAAGAG R: TTGACGGAAGGGCACCA | 60 | AY265350.1 |

1.7 统计分析

利用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), P<0.05 为差异显著水平,采用最小显著差数(LSD)法进行多重比较。数据结果以平均值±标准差(mean±SD)表示。

2 结 果

2.1 Se-EPS 对断奶仔猪生长性能的影响

由表 3 可知,与对照组相比,饲粮中添加 Na_2SeO_3 、 Na_2SeO_3 +APS、 Na_2SeO_3 +EPS、Se-EPS 均未对断奶仔猪的平均日采食量有显著影响(P>0.05);饲粮中添加 Na_2SeO_3 +APS、 Na_2SeO_3 +EPS、Se-EPS 均显著提高了断奶仔猪的平均日增重和末重(P<0.05),且 Se-EPS 组显著高于 Na_2SeO_3 组(P<0.05);饲粮中添加 Na_2SeO_3 、 Na_2SeO_3 +APS、 Na_2SeO_3 +EPS、Se-EPS 均显著降低了断奶仔猪的料重比(P<0.05),且 Na_2SeO_3 +APS、Se-EPS 组显著低于 Na_2SeO_3 组(P<0.05)。 Se-EPS 在提高断

奶仔猪平均日增重、降低料重比方面稍优于Na₂SeO₃+EPS,但无显著差异(*P*>0.05)。

2.2 Se-EPS 对断奶仔猪血清抗氧化指标的影响

由表 4 可知,与对照组相比,饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了断奶仔猪的血清 T-AOC 及GSH-Px、SOD 活性(P<0.05),显著降低了血清MDA 含量(P<0.05)。与 Na₂SeO₃组相比, Se-EPS 组断奶仔猪的血清 T-AOC 显著提高(P<0.05),血清 MDA 含量显著降低(P<0.05)。与 Na₂SeO₃+APS 和 Na₂SeO₃+EPS 组相比, Se-EPS 组 断奶仔猪的血清抗氧化指标没有显著差异(P>0.05)。

2.3 Se-EPS 对断奶仔猪肠道形态结构的影响

由表 5 可知,与对照组相比,饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了断奶仔猪的十二指肠 V/C(P<0.05),有增加十二指肠绒毛高度及降低十二指肠隐窝深度的趋势(P>0.05);饲粮中添加 Na_2SeO_3+EPS 、Se-EPS 显著提高了断奶仔猪的空肠绒毛高

度和 V/C(P<0.05),且 Na₂SeO₃+EPS 组和Se-EPS 组之间无显著差异(P>0.05)。

表 3 Se-EPS 对断奶仔猪生长性能的影响

Table 3 Effects of Se-EPS on growth performance of weaned piglets

| 项目 | 组别 Groups | | | | |
|----------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
| Items | 对照 CON | $\mathrm{Na_{2}SeO_{3}}$ | Na ₂ SeO ₃ +APS | Na ₂ SeO ₃ +EPS | Se-EPS |
| 初重 Initial weight/kg | 8.08±0.06 | 8.12±0.10 | 8.12±0.20 | 8.12±0.16 | 8.13±0.10 |
| 末重 Final weight/kg | 23.75 ± 0.49^{a} | 24.17 ± 0.76^{ab} | 25.17 ± 0.72^{bc} | 25.34 ± 0.91^{bc} | $25.72 \pm 0.83^{\circ}$ |
| 平均日采食量 ADFI/g | 668.36±18.37 | 654.17 ± 37.64 | 657.18 ± 21.87 | 674.35 ± 36.43 | 679.23 ± 49.77 |
| 平均日增重 ADG/g | 401.71±11.56 ^a | 411.54 ± 20.63^{ab} | 437.35 ± 13.22^{bc} | 441.54 ± 24.33^{bc} | 451.03±23.97° |
| 料重比 F/G | 1.67 ± 0.03^{a} | 1.59 ± 0.01^{b} | $1.50 \pm 0.06^{\circ}$ | 1.53 ± 0.03^{bc} | $1.50 \pm 0.03^{\circ}$ |
| 腹泻率 Diarrhea rate/% | 2.14±1.16 | 1.11±1.07 | 1.71±0.82 | 1.37±0.65 | 1.88±1.07 |

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),相同或无字母表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

表 4 Se-EPS 对断奶仔猪血清抗氧化指标的影响

Table 4 Effects of Se-EPS on serum antioxidant indexes of weaned piglets

| 项目 | 组别 Groups | | | | | |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|--|
| Items | 对照 CON | $\mathrm{Na_{2}SeO_{3}}$ | Na ₂ SeO ₃ +APS | Na ₂ SeO ₃ +EPS | Se-EPS | |
| 总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL) | 2.26±0.11 ^a | 2.51±0.16 ^{ab} | 2.76±0.11 ^{bc} | 2.84±0.11 ^{bc} | 2.93±0.14° | |
| 谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mL) | 219.00±11.72 ^a | 238.56±13.07 ^{ab} | 258.58±16.55 ^{ab} | 253.00±17.41 ^{ab} | 275.05±15.54 ^b | |
| 超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL) | 138.68±4.54 ^a | 147.94 ± 5.89^{ab} | 152.60 ± 9.17^{ab} | 160.26 ± 8.39^{ab} | 164.48 ± 6.00^{b} | |
| 丙二醛 MDA/(nmol/mL) | 3.53 ± 0.14^{a} | 3.31 ± 0.10^{ab} | $3.08 \pm 0.22^{\mathrm{abc}}$ | $2.84 \pm 0.15^{\text{bc}}$ | 2.73±0.10 ^c | |

表 5 Se-EPS 对断奶仔猪肠道形态结构的影响

Table 5 Effects of Se-EPS on intestinal morphology of weaned piglets

| 项目 | | 组别 Groups | | | | |
|-----------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|--|
| Items | 对照 CON | Na ₂ SeO ₃ | Na ₂ SeO ₃ +APS | Na ₂ SeO ₃ +EPS | Se-EPS | |
| 十二指肠 Duodenum | | | | | | |
| 绒毛高度 Villus height/μm | 429.01±43.89 | 398.14 ± 29.21 | 425.76 ± 13.30 | 457.95 ± 17.74 | 454.01 ± 19.36 | |
| 隐窝深度 Crypt depth/μm | 307.41 ± 29.22 | 295.13 ± 24.53 | 278.80 ± 2.56 | 265.21 ± 5.47 | 242.97±31.41 | |
| 绒毛高度/隐窝深度 V/C | 1.40 ± 0.10^{a} | 1.38 ± 0.16^{a} | 1.53 ± 0.05^{ab} | 1.73 ± 0.08^{ab} | 1.91 ± 0.18^{b} | |
| 空肠 Jejunum | | | | | | |
| 绒毛高度 Villus height/μm | 291.18±30.00 ^a | 364.35 ± 20.39^{ab} | 369.25 ± 14.52^{ab} | 428.51 ± 24.45^{b} | 430.83±51.95 ^b | |
| 隐窝深度 Crypt depth/μm | 224.90 ± 8.59 | 218.86 ± 29.33 | 193.91±8.26 | 193.34 ± 13.43 | 209.23 ± 11.62 | |
| 绒毛高度/隐窝深度 V/C | 1.31 ± 0.18^{a} | 1.74 ± 0.29^{ab} | 1.91 ± 0.06^{ab} | 2.22 ± 0.06^{b} | 2.09 ± 0.31^{b} | |

2.4 Se-EPS 对断奶仔猪抗菌肽基因表达的影响

由图 1 可知,与对照组相比,饲粮中添加Na₂SeO₃、Na₂SeO₃+APS、Na₂SeO₃+EPS、Se-EPS 均可提高断奶仔猪十二指肠、空肠和回肠中抗菌肽基因 *pBD*-1、*pBD*-2 的 mRNA 相对表达量。其中,

Se-EPS 组十二指肠中 pBD-1 和空肠、回肠中 pBD-2的 mRNA 相对表达量显著高于对照组(P<0.05); Na₂SeO₃+EPS 组空肠中 pBD-2 的 mRNA 相对表达量显著高于对照组(P<0.05); Na₂SeO₃+APS、Na₂SeO₃+EPS 组回肠中 pBD-2 的 mRNA 相

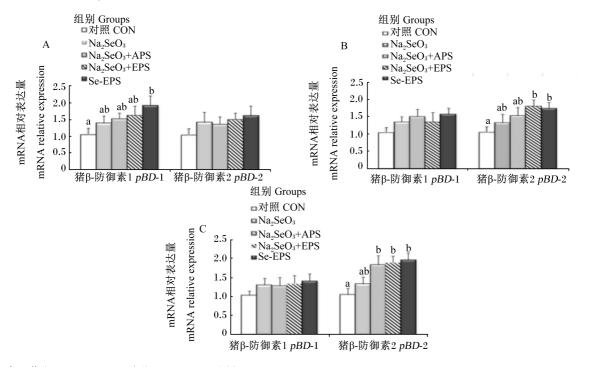
对表达量显著高于对照组(P<0.05)。

3 讨论

3.1 Se-EPS 对断奶仔猪生长性能的影响

多糖作为一种天然、绿色、无药残和无耐药性添加剂,具有提高幼龄动物平均日增重及饲料转化率、促进动物生长等功效。田允波等[7]研究表明,白术多糖可显著提高"杜×长×大"三元杂交断奶仔猪的平均日增重,并降低料重比。许丹宁等[8]

研究表明,饲粮中添加 0.50%的白术多糖,不仅能提高仔猪平均日增重,降低料重比,还影响仔猪的内分泌系统,促进其生长。APS 也被广泛应用于养猪生产中,APS 可抑制肠道有害菌群增殖^[9],降低仔猪腹泻发生率^[10],增强仔猪免疫力^[11],提高断奶仔猪成活率以及断奶重。骆先虎等^[12]研究发现,饲粮中添加 APS 显著提高了断奶仔猪的平均日增重及养分消化率,降低了料重比和腹泻率。



A:十二指肠 duodenum;B:空肠 jejunum;C:回肠 ileum。

数据柱标相同小写字母表示差异不显著(P>0.05),不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

Value columns with the same small letter mean no significant difference (P>0.05), while with different small letters mean significant difference (P<0.05).

图 1 抗菌肽 pBD-1、pBD-2 的 mRNA 相对表达量

Fig.1 mRNA relative expression of antimicrobial peptides pBD-1 and pBD-2

本研究发现,饲粮中添加 Se-EPS 未显著影响 断奶仔猪平均日采食量,提示饲粮中添加 Se-EPS 并不影响断奶仔猪饲粮的适口性。平均日增重方面,饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了断奶仔猪平均日增重,且 Se-EPS 组优于 $Na_2SeO_3 \setminus Na_2SeO_3 +$ APS、 $Na_2SeO_3 +$ EPS 组,提示在促进仔猪平均日增重方面,Se-EPS 较 APS 和 EPS 效果更优。料重比方面,饲粮中添加 $Na_2SeO_3 \setminus Na_2SeO_3 +$ APS、 $Na_2SeO_3 +$ EPS、Se-EPS 均显著降低了断奶仔猪的料重比,且 $Na_2SeO_3 +$ APS、Se-EPS 组显著低于

Na₂SeO₃组,提示 Se-EPS 和 APS 在降低料重比方面作用效果相当。综上结果表明, Se-EPS 可提高断奶仔猪平均日增重,降低料重比,这为 Se-EPS 在断奶仔猪上的进一步应用提供了可能。

3.2 Se-EPS 对断奶仔猪血清抗氧化指标的影响

机体中的活性氧自由基增多会造成机体氧化损伤甚至导致疾病^[13-14]。因此,使用抗氧化剂以减少活性氧自由基含量,从而减轻其对机体的损伤极为重要。硒作为 GSH-Px 和硫氧还蛋白还原酶(TrxR)等含硒酶的组成部分发挥抗氧化功

能^[15-16]。然而,无机硒和有机硒在抗氧化作用方面存在明显差异,且有研究表明有机硒(如硒多糖)具有更高的抗氧化活性。岳丽红等^[17]在体外比较了黑木耳硒多糖和黑木耳多糖的氧化能力,发现黑木耳硒多糖较黑木耳多糖抗氧化能力更佳。此外,本课题组前期研究发现,添加400 μ g/mL Se-EPS 可显著提高 RAW264.7 细胞内 SOD 和 GSH-Px 的活性,抑制活性氧、MDA 的产生和乳酸脱氢酶(LDH)的释放,从而缓解过氧化氢(H_2O_2)诱导的氧化损伤^[18]。本研究发现,与Na₂SeO₃组相比,Se-EPS 组断奶仔猪血清T-AOC显著提高,血清 MDA 含量显著降低,表明 Se-EPS 具有更好的抗氧化功能。

硒在机体内最基本、最重要的功能是发挥抗氧化作用、维持机体氧化还原稳态,主要沉积在动物肝脏、肾脏、胰脏中,较少沉积于血液、骨骼和肌肉中。目前硒沉积的研究热点是富硒畜产品的开发,如富硒猪肉、鸡蛋和牛奶等,主要集中在育肥猪、蛋鸡和奶牛上,而在仔猪上的沉积研究较少。本试验重点关注了 Se-EPS 在断奶仔猪上的抗氧化功能,而其在动物组织中的沉积有待进一步研究。

3.3 Se-EPS 对断奶仔猪肠道形态结构的影响

肠道作为机体最大的消化器官,可以阻止病原菌等的入侵^[19],而断奶应激会严重影响肠屏障结构和功能的完整性^[20-21]。研究表明,饲粮中添加多糖能够改善仔猪小肠黏膜形态结构,提高肠道对养分的消化吸收能力,促进断奶仔猪的生长^[22-23]。宋德广^[24]研究发现,生物纳米单质硒可缓解小肠上皮细胞氧化应激损伤,抑制细胞凋亡,从而维持肠绒毛形状的完整及肠道屏障结构和功能。本研究中,在断奶仔猪饲粮中添加 Na₂SeO₃+EPS、Se-EPS 在一定程度上可提高十二指肠绒毛高度,降低十二指肠隐窝深度,且饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了空肠绒毛高度。这表明 Se-EPS 可缓解断奶应激造成的肠道形态结构损伤,从而维护肠道对养分的正常消化吸收。

3.4 Se-EPS 对断奶仔猪抗菌肽基因表达的影响

抗菌肽作为机体先天免疫的重要组成成分之一,能帮助机体抵抗有害细菌或病毒等的人侵。哺乳动物体内的抗菌肽主要包括 defensins 和 cathehcidins 两大家族^[25-26]。pBD-1 是组织表达型抗菌肽,主要分布于猪的呼吸道、消化道、胸腺和

脾脏等组织中。研究表明,pBD-1 的表达可能受到 病原菌的调控,如当机体受到病毒或有害细菌的 侵袭,pBD-1 的含量会增加,从而降低病原菌(如 沙门氏菌等)对机体的伤害^[27]。pBD-2 作为诱导 型防御素,其表达受多种因素影响,如锌离子 (Zn²⁺)、L-异亮氨酸^[28]、支链氨基酸^[29]以及罗伊 氏乳杆菌等[30]。Wan等[31]研究表明,表没食子儿 茶素-3-没食子酸酯(EGCG)可促进肠道分泌抗 菌肽 pBD-1 和 pBD-2,减少细菌易位,从而更有效 地抵抗大肠杆菌感染。本研究发现,饲粮中添加 Se-EPS 显著提高了十二指肠中 pBD-1 的 mRNA 相对表达量;饲粮中添加 Na,SeO,+EPS、Se-EPS 显 著提高了空肠中 pBD-2 的 mRNA 相对表达量;对 于回肠中抗菌肽基因的表达,饲粮中添加 Na₂SeO₃+APS、Na₂SeO₃+EPS、Se-EPS 显著提高了 回肠中 pBD-2 的 mRNA 相对表达量。结果提示, Se-EPS 可提高肠道抗菌肽基因的表达,而不同肠 段存在一定差异。

4 结 论

饲粮中添加 Se-EPS 可提高断奶仔猪生长性能、抗氧化功能以及促进肠道内源抗菌肽的表达。

参考文献:

- [1] 杨玉红,张帆.中药多糖的生物学活性及其在畜牧兽 医中的应用[J].中国兽医杂志,2013,49(9):94-96.
- [2] 张红兵,胡云霞,赵士豪,等.微生物多糖提取、分离和纯化方法的技术策略[J].中国老年学杂志, 2014,34(11):3210-3213.
- [3] XU C L, WANG Y Z, JIN M L, et al. Preparation, characterization and immunomodulatory activity of selenium-enriched exopolysaccharide produced by bacterium *Enterobacter cloacae* Z0206 [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(6):2095–2097.
- [4] WANG X X, LU Z Q, ZHU L N, et al. Innate immune response and related gene expression in red swamp crayfish [*Procambarus clarkii* (Girard)], induced by selenium-enriched exopolysaccharide produced by bacterium *Enterobacter cloacae* Z0206 [J]. Aquaculture Research, 2010, 41(11); e819-e827.
- [5] LUZQ, JIN ML, HUANGM, et al. Bioactivity of selenium-enriched exopolysaccharides produced by *Enterobacter cloacae* Z0206 in broilers [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 96(1):131–136.

- [6] YANG X Q, JIN M L, XU C L, et al. Immunoregulatory effect of the enriched-selenium polysaccharide Z0206 on mice[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2009, 17(5):813-819.
- [7] 田允波,周家容,李琦华,等.白术多糖对仔猪生长性能和血清生化参数的影响[J].中国畜牧杂志,2009,45(9):43-48.
- [8] 许丹宁,田允波,周家容,等.白术多糖促仔猪生长的 内分泌机制[J].中国畜牧兽医,2010,37(3):18-21.
- [9] 谢红兵,邹云,刘丽莉,等.植物多糖对断奶仔猪生长性能及肠道内环境的影响[J].动物营养学报, 2018,30(7):2662-2671.
- [10] 边传周,王老七.黄芪多糖对断奶仔猪免疫功能及腹泻的影响[J].畜牧与兽医,2005,37(1):10-12.
- [11] 李同洲,侯伟革,臧素敏,等.黄芪多糖对断奶仔猪生产性能的影响[J].中国饲料,2007(12);36-38.
- [12] 骆先虎,倪以祥.黄芪多糖对断奶仔猪生产性能的影响[J].中国饲料,2012(3):22-24.
- [13] CHOUDHARI S K, CHAUDHARY M, GADBAIL A R, et al. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer; a review [J]. Oral Oncology, 2014,50(1);10-18.
- [14] SAN MIGUEL S M, OPPERMAN L A, ALLEN E P, et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense mechanisms in the oral cavity: a literature revie [J]. Compendium of Continuing Education in Dentistry, 2011, 32(1):E10–E15.
- [15] FLOHE L, GÜNZLER W A, SCHOCK H H. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme [J]. FEBS Letters, 1973, 32(1):132-134.
- [16] LU J, HOLMGREN A. The thioredoxin antioxidant system [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2014, 66:75-87.
- [17] 岳丽红,王玉俊,李晶,等.黑木耳硒多糖体外抗氧化作用的研究[J].畜牧与饲料科学,2016,37(8):18-20.
- [18] 徐春兰. Enterobacter cloacae Z0206 富硒多糖的制备、结构分析及其主要生物学功能研究[D]. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [19] 夏耀耀,任文凯,黄瑞林,等.仔猪肠道微生物研究进展[J].中国实验动物学报,2017,25(6):681-688.
- [20] 张明海.仔猪断奶腹泻疾病的防制措施[J].畜牧兽 医杂志,2002,21(4):40-41.
- 「21】 张莉,朱雯,吴跃明.断奶仔猪腹泻成因及其综合防

- 治措施[J].饲料工业,2010,31(9):48-51.
- [22] 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.
- [23] 张飞,许静波,沈国顺.黄芪多糖对早期断奶仔猪血清中 SOD、MDA 及 NO 的影响[J].饲料工业,2010,31(15):22-23.
- [24] 宋德广.Z0206 生物纳米单质硒的制备及其抗肠道 氧化应激的研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大 学,2017.
- [25] HANEY E F, MANSOUR S C, HANCOCK R E W. Antimicrobial peptides: an introduction [M]//HANSEN P.Antimicrobial peptides. New York, NY: Humana Press, 2017, 1548: 3–22.
- [26] HOLLY M K, DIAZ K, SMITH J G. Defensins in viral infection and pathogenesis [J]. Annual Review of Virology, 2017, 4(1):369-391.
- [27] VELDHUIZEN E J A, VAN DIJK A, TERSTEEG M H G, et al. Expression of β-defensins pBD-1 and pBD-2 along the small intestinal tract of the pig:lack of upregulation *in vivo* upon *Salmonella typhimurium* infection [J]. Molecular Immunology, 2007, 44 (4): 276–283.
- [28] MAO X B, QI S, YU B, et al.Zn²⁺ and 1-isoleucine induce the expressions of porcine β-defensins in IPEC-J2 cells[J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(2): 1547–1552.
- [29] REN M, ZHANG S H, LIU X T, et al. Different lipopolysaccharide branched-chain amino acids modulate porcine intestinal endogenous β-defensin expression through the Sirt1/ERK/90RSK pathway [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64 (17):3371–3379.
- [30] LIU H B, HOU C L, WANG G, et al. *Lactobacillus* reuteri I5007 modulates intestinal host defense peptide expression in the model of IPEC-J2 cells and neonatal piglets [J]. Nutrients, 2017, 9(6):559-565.
- [31] WAN M L Y, LING K H, WANG M F, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate improves epithelial barrier function by inducing the production of antimicrobial peptide pBD-1 and pBD-2 in monolayers of porcine intestinal epithelial IPEC-J2 cells [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2016, 60 (5): 1048-1058.

Effects of Selenium-Enrich Exopoly Saccharide on Growth Performance, Antioxidant Function, Intestinal Morphology and Antibacterial Peptide Expression of Weaned Piglets

LU Zeqing HU Yuhan HUANG Xiangyun ZHANG Yu WANG Fengqin WANG Yizhen*

(National Engineering Laboratory of Biological Feed Safety and Pollution Prevention and Control, Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in Eastern China, Zhejiang Provincial Laboratory of Feed and

Animal Nutrition, Ministry of Agriculture, Institute of Feed Science,

Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects exopoly saccharides (EPS) and seleniumenriched exopoly saccharides (Se-EPS) produced by Enterobacter cloacae Z0206 on growth performance, antioxidant function, intestinal morphology and antibacterial peptide expression of weaned piglets. A total of 150 piglets (Landrace×Yorkshire×Duroc) weaned at 28 days of age with similar body weight were randomly allocated into 5 groups with 3 replicates per group and 10 pigs per replicate. Pigs in the control (CON) group were fed a basal diet, pigs in the sodium selenite (Na₂SeO₃) group fed the basal diet+0.30 mg/kg Na₂SeO₃, pigs in the Na₂SeO₃ + astragalus polysaccharides (APS) group fed the basal diet + 0.30 mg/kg Na₂SeO₃ + 560 mg/kg APS, pigs in the Na₂SeO₃+EPS group fed the basal diet+0.30 mg/kg Na₂SeO₃+560 mg/kg EPS, and pigs in the Se-EPS group fed the basal diet+560 mg/kg Se-EPS. The experiment lasted for 39 days. The results showed that compared with Na₂SeO₃ group, dietary supplemented with Se-EPS significantly increased the average daily gain of weaned piglets (P < 0.05), significantly decreased the ratio of feed to gain (P < 0.05) (0.05), significantly increased the serum total antioxidant capacity (P<0.05), and significantly decreased the serum malondialdehyde content (P < 0.05). Compared with the control group, dietary supplemented with Na₂SeO₃+EPS and Se-EPS significantly increased the villus height and villus height/crypt depth (V/C) in jejunum of weaned piglets (P < 0.05), and dietary supplemented with Se-EPS significantly increased the mRNA relative expression of porcine β -defensin 1 (pBD-1) in duodenum and porcine β -defensin 2 (pBD-2) in jejunum and ileum (P < 0.05). In conclusion, dietary supplemented with Se-EPS can improve the growth performance and antioxidant function, and promote intestinal endogenous antimicrobial peptide expression of weaned piglets. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(8):3755-3762]

Key words: Se-EPS; growth performance; antioxidant; antimicrobial peptide; weaned piglets