

白术茯苓多糖复方对断奶仔猪生长性能和免疫功能的影响

陈丽玲^{1,2} 贺琴¹ 郭晓波¹ 罗博文¹ 王自蕊^{1*} 游金明^{1*}

(1.江西农业大学,江西省动物营养重点实验室,江西省优质安全畜禽生产产教融合重点创新中心,南昌 330045;

2.江西中医药大学,南昌 330004)

摘要: 本研究旨在探讨断奶仔猪饲料中添加白术茯苓多糖复方对其生长性能和免疫功能的影响。试验选用体重接近、健康状况良好的 23 日龄“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪 150 头,采用单因素试验设计,将仔猪随机分为 6 组,抗生素组(添加硫酸黏杆菌素 20 mg/kg+杆菌肽锌 40 mg/kg+噻乙醇 100 mg/kg)、空白组(既不添加任何抗生素也不添加白术茯苓多糖复方)和白术茯苓多糖复方添加组(分别添加 0.02%、0.04%、0.06%和 0.08%白术茯苓多糖复方),每组 5 个重复,每个重复 5 头猪。试验期 27 d。结果表明:1)与抗生素组和空白组相比,饲料中添加白术茯苓多糖复方显著提高了平均日增重($P<0.05$),并且显著降低了料重比($P<0.05$)。2)与空白组相比,抗生素组和 0.06%白术茯苓多糖复方组腹泻率显著降低($P<0.05$)。3)饲料添加 0.02%、0.04%、0.06%和 0.08%白术茯苓多糖复方后,血清免疫球蛋白(Ig)A、IgG 和 IgM 含量与空白组和对照组差异不显著($P>0.05$);4)与抗生素组相比,饲料添加 0.06%白术茯苓多糖复方显著降低了血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)的含量($P<0.05$),且添加 0.04%和 0.06%白术茯苓多糖复方显著提高了血清白细胞介素-10(IL-10)的含量($P<0.05$)。5)与抗生素组和空白组相比,0.06%和 0.08%白术茯苓多糖复方组空肠黏膜 Toll 样受体 4(TLR-4)、TNF- α 和 IL-6 mRNA 相对表达量显著降低($P<0.05$),而 IL-10 mRNA 相对表达量显著提高($P<0.05$)。由此可知,白术茯苓多糖复方可以提高断奶仔猪的生长性能,缓解断奶仔猪腹泻,提高仔猪免疫水平。在本试验条件下,仔猪饲料中白术茯苓多糖复方的适宜添加水平为 0.06%。

关键词: 白术多糖;茯苓多糖;断奶仔猪;生长性能;免疫功能

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)07-3394-09

断奶是仔猪生产过程中的重要阶段,也是仔猪遭受母子分离、饲料类型改变、被动免疫中断等应激的关键时期。断奶常常导致仔猪肠道屏障功能障碍、氧化应激等综合征,进而降低仔猪的生长性能,提高仔猪的死亡率,因此提高仔猪断奶期的生长性能和改善其肠道健康是养猪行业发展的重中之重^[1]。抗生素在饲料中的使用为解决这一问题发挥了积极作用。但随着我国促生长类饲料抗

生素的全面禁止使用,找寻替代方案成为了当前生猪生产和研究中亟待解决的焦点问题。白术和茯苓是药食同源的中药,常用于治疗人肠道疾病,张仲景在《伤寒杂病论》中提出的白术茯苓汤(由 15 g 白术和 15 g 茯苓组成)即为一例中草药经典复方^[2]。近年来,将白术和茯苓多糖应用于畜禽的研究也常有报道。研究表明,0.5%白术多糖可以显著提高 28 日龄断奶仔猪的平均日增重和饲

收稿日期:2020-02-10

基金项目:江西省生猪产业技术体系(JXARS-03-营养与饲料岗)

作者简介:陈丽玲(1983—),女,江西丰城人,博士研究生,研究方向为猪营养与饲料科学。E-mail: 465993116@qq.com

* 通信作者:王自蕊,副教授,硕士生导师,E-mail: wangzirui0406@163.com;游金明,教授,博士生导师,E-mail: youjinm@163.com

料转化率^[3-4]。中药多糖还可以提高机体的免疫力。将不同剂量的茯苓多糖饲喂小鼠后,血清免疫球蛋白(Ig)A、IgG和IgM的合成量获得显著提高,且其合成量与茯苓多糖剂量呈正相关^[5]。刘兴隆等^[6]考察了白术茯苓等比配伍不同剂量组对脾气虚克罗恩病(慢性非特异性炎症肠道病)大鼠肠“神经-免疫”相关递质及Th1/Th2型细胞因子的影响,结果显示,相比于血清白细胞介素(IL)-1、IL-6和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量升高的模型组,中剂量组大鼠血清IL-1、IL-6和TNF- α 含量显著降低,而IL-10含量显著提高。关于单一中药多糖的复合配伍研究已有较多报道,其中白术、茯苓配伍比例以1:1、1:2和2:1最为常见^[7]。但是,白术多糖和茯苓多糖(尤其是两者复配)应用于仔猪研究还鲜有报道。源自《伤寒杂病论》的启示,本文拟开展关于白术多糖和茯苓多糖复方对断奶仔猪生长性能和免疫功能的影响研究,旨在为分析白术茯苓多糖复方对断奶仔猪肠道应激、促生长及免疫水平的调节效果提供理论依据。

1 材料与方

1.1 试验材料

白术多糖和茯苓多糖中多糖的含量均为37.5%,剩余部分为糊精。白术多糖主要由水溶性多糖即葡萄糖、半乳糖、鼠李糖和甘露糖等组成,摩尔比为7.7:1.06:2.91:1.66;茯苓多糖主要由水溶性多糖即葡萄糖、半乳糖、甘露糖和木糖等组成,摩尔比为6.12:1.48:1.53:0.85。在加工仔猪饲料时,白术多糖和茯苓多糖按质量1:1预先混合后再逐级加入到饲料中。

1.2 试验动物和试验设计

试验选用体重接近、健康状况良好的23日龄“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪150头,采用单因素试验设计,将仔猪随机分为6组,抗生素组(添加硫酸黏杆菌素20 mg/kg+杆菌肽锌40 mg/kg+喹乙醇100 mg/kg)、空白组(既不添加任何抗生素也不添加白术茯苓多糖复方)和白术茯苓多糖复方添加组(分别添加0.02%、0.04%、0.06%和0.08%白术茯苓多糖复方),每组5个重复,每个重复5头猪。试验期27 d。

1.3 试验饲料

仔猪饲喂玉米-豆粕型基础饲料。基础饲料

配方参照NRC(2012)和我国《猪饲养标准》(NY/T 65—2004)配制,其组成及营养水平见表1。

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

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

项目 Items	%	
	23~35日龄 22 to 35 days of age	36~49日龄 36 to 49 days of age
原料 Ingredients		
膨化玉米 Expanded corn	41.00	44.50
面粉 Flour	13.50	13.50
米糠 Rice bran	2.00	2.00
大豆粕 Soybean meal (43% CP)		14.00
膨化大豆 Expanded soybean	10.00	11.00
去皮豆粕 DSBM	13.00	
进口鱼粉 Imported fish meal (64.5% CP)	5.00	3.00
葡萄糖 Glucose	1.50	
乳清粉 Whey powder	10.00	8.00
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.40	0.70
石粉 Limestone	0.95	1.00
氯化钠 NaCl	0.30	0.30
氯化胆碱 Choline chloride (60%)	0.10	0.10
赖氨酸盐酸盐 Lysine monohydrochloride	0.32	0.42
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.14	0.18
苏氨酸 Thr	0.13	0.18
预混料 Premix ¹⁾	1.00	1.00
沸石粉 Zeolite powder	0.66	0.12
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
消化能 DE/(MJ/kg)	14.57	14.48
粗蛋白质 CP	19.11	18.54
钙 Ca	0.83	0.83
总磷 TP	0.64	0.63
有效磷 AP	0.39	0.38
赖氨酸 Lys	1.42	1.41
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.81	0.81
苏氨酸 Thr	0.92	0.91

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kilogram of the diet: VA 6 450 IU, VD₃ 2 250 IU, VE 25 IU, VK 3 mg, VB₁ 1.8 mg, VB₁₂ 0.026 mg, 核黄素 riboflavin 8 mg, 叶酸 folic acid 0.9 mg, 生物素 biotin 4.5 mg, 烟酸 niacin 24 mg, 泛酸 pantothenic acid 20 mg, Zn 80 mg, Fe 150 mg, Cu 10 mg, I 0.6 mg, Se 0.5 mg, Co 0.8 mg。

2) 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.4 饲养管理

试验在江西省某牧业有限公司猪场进行。仔猪饲养于装有高床、漏缝地板、乳头式饮水器的保育舍。试验开始前对猪舍进行彻底清理消毒。试验过程中,每日饲喂 4~5 次。所有仔猪自由采食和饮水,其他饲养管理措施、免疫处理按猪场常规管理程序进行。

1.5 样品采集

1.5.1 血液样品采集

试验第 27 天,从每个重复中随机选取 1 头接近平均体重的仔猪,前腔静脉采血 10 mL 于真空采血管中,并编号。室温静置 1~2 h 后,3 000 r/min 离心 10 min,移取上层血清并分装,血清样于 -20 °C 保存待测。

1.5.2 肠道黏膜样品采集

试验结束时,从每个重复中随机选取 1 头仔猪,肌注 4% 戊巴比妥钠溶液进行麻醉。待麻醉完全后,颈静脉放血处死,沿腹中线剖开腹腔,用无菌手术剪剪取空肠和回肠中段各约 6 cm。用镊子轻轻挤出肠道内容物,并将冷焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理水灌入肠腔,小心冲洗肠内容物。沿肠段纵轴剪开肠壁,经干净滤纸吸水后,用载玻片小心刮取小肠黏膜,分装于 2 mL 无菌冻存管中,编号后立即放入液氮中速冻,最后转入 -80 °C 保存备用。

1.6 测定指标及方法

1.6.1 生长性能

观察并记录每天的仔猪数和采食量,淘汰或死亡仔猪及时称重并记录。试验第 1、27 天清晨

以每个重复为单位称重并做记录,仔猪称重前空腹 12 h。以每个重复为单位记录饲粮消耗量,并计算平均日增重、平均日采食量、料重比。

1.6.2 腹泻率

试验期间,每天定时观察仔猪腹泻情况并做好详细记录。腹泻率参考 Kelly 等^[8]的方法进行统计。

$$\text{腹泻率}(\%) = 100 \times \frac{\text{腹泻头次}}{\text{本组试验猪总数} \times \text{试验天数}}$$

1.6.3 血清免疫球蛋白和细胞因子含量

采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法进行血清 IgA、Toll 样受体-4 (TLR-4)、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 含量测定,试剂盒购自于南京建成生物工程研究所。血清 IgG、IgM 含量用贝克曼 AU480 全自动生化分析仪进行测定,试剂盒购自于伊普诺康生物技术有限公司。

1.6.4 空肠黏膜细胞因子 mRNA 相对表达量

根据 GenBank 提供的猪基因序列,用 Primer Express 5.0 软件设计 TLR-4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-10 的基因特异性扩增引物。引物序列见表 2,引物由上海生物工程有限公司合成。提取空肠黏膜总 RNA,以磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内参,按照 PrimeScript RT Reagent Kit with gDNA Eraser 反转录试剂盒说明进行反转录。以反转录产物为模板使用定量 PCR 仪 (伯乐 CFX96, 美国) 进行基因扩增,测定空肠黏膜 TLR-4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-10 mRNA 相对表达量。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 2 Primer sequences of RT-PCR

基因 Genes	序列号 Accession number	引物序列 Primer sequences (5'—3')
磷酸甘油醛脱氢酶 GAPDH	AF017079	F:GAAGTTCGGAGTGAACGGAT R:CATGGGTAGAATCATACTGGAACA
Toll 样受体-4 TLR-4	NM_001113039.1	F:TGTGGCCATCGCTGCTAAC R:GGGACACCACGACAATAACCTT
肿瘤坏死因子- α TNF- α	NM_214022.1	F:CCACGCTCTTCTGCCTACTGC R:GCTGTCCCTCGGCTTTGAC
白细胞介素-1 β IL-1 β	X74568.1	F:TCTGCATGAGCTTTGTGCAAG R:ACAGGGCAGACTCGAATTCAAC
白细胞介素-6 IL-6	M86722.1	F:TGGATAAGCTGCAGTCACAG R:ATTATCCGAATGGCCCTCAG
白细胞介素-10 IL-10	NM_214041.1	F:GCACTGCTCTATTGCCTGATC R:AACCCTTAAAGTCCTCCAGCA

1.7 数据处理与统计分析

所有数据用 Excel 2013 简单处理后,采用 SPSS 17.0 软件中单因素方差分析(one-way ANOVA)模型进行方差分析,用 Duncan 氏法进行多重比较,各组数据以“平均值±标准误”表示。以 $P < 0.05$ 为差异显著性判断标准。

2 结果

2.1 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响

由表 3 可知,与抗生素组和空白组相比,饲料中添加白术茯苓多糖复方显著提高了末重和平均日增重($P < 0.05$),其中 0.02%、0.04%、0.06% 和

0.08% 白术茯苓多糖复方组的平均日增重比抗生素组分别提高了 45.06%、46.46%、51.81% 和 47.04%,比空白组分别提高了 27.86%、29.10%、33.81% 和 29.61%;与抗生素组相比,饲料中添加白术茯苓多糖复方均显著降低了料重比($P < 0.05$),其中 0.02%、0.04%、0.06% 和 0.08% 白术茯苓多糖复方组的料重比比抗生素组分别降低了 25.71%、25.71%、25.24% 和 18.10%,空白组与抗生素组之间的料重比差异不显著($P > 0.05$);空白组仔猪腹泻率显著高于抗生素组和 0.06% 白术茯苓多糖复方组($P < 0.05$),添加 0.06% 的白术茯苓多糖复方可以使仔猪腹泻率降至抗生素组水平($P > 0.05$)。

表 3 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响

Table 3 Effects of AMP and PCP compound on growth performance and diarrhea rate of weaned piglets

项目 Items	抗生素组 Antibiotic group	空白组 Blank group	白术茯苓多糖复方添加水平 Supplemental levels of AMP and PCP compound/%				SEM	P 值 P-value
			0.02	0.04	0.06	0.08		
			初重 Initial weight/kg	7.16	7.19	7.12		
末重 Final weight/kg	12.64 ^a	13.27 ^a	15.08 ^b	15.22 ^b	15.38 ^b	15.21 ^b	0.27	0.001
平均日增重 ADG/g	203.21 ^a	230.55 ^a	294.78 ^b	297.63 ^b	308.50 ^b	298.81 ^b	9.72	<0.001
平均日采食量 ADFI/g	420.53	421.91	459.08	462.65	486.34	511.39	12.05	0.196
料重比 F/G	2.11 ^b	1.86 ^{ab}	1.56 ^a	1.56 ^a	1.58 ^a	1.72 ^a	0.06	0.010
腹泻率 Diarrhea rate/%	1.76 ^a	10.56 ^d	7.04 ^b	7.50 ^{bc}	3.52 ^a	9.72 ^{cd}	0.72	<0.001

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

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

2.2 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪血清免疫球蛋白含量的影响

由表 4 可知,与空白组和抗生素组相比,饲料添加 0.02%、0.04%、0.06% 和 0.08% 白术茯苓多糖

复方后,血清 IgA 和 IgM 含量无显著变化($P > 0.05$)。与抗生素组相比,白术茯苓多糖复方组血清 IgG 含量无显著差异($P > 0.05$),但比空白组提高了 30% 以上。

表 4 白术茯苓多糖复方对仔猪血清免疫球蛋白含量的影响

Table 4 Effects of AMP and PCP compound on serum immunoglobulin contents of weaned piglets

项目 Items	抗生素组 Antibiotic group	空白组 Blank group	白术茯苓多糖复方添加水平 Supplemental levels of AMP and PCP compound/%				SEM	P 值 P-value
			0.02	0.04	0.06	0.08		
			免疫球蛋白 A IgA	1.28	1.31	1.26		
免疫球蛋白 G IgG	3.24	2.60	3.79	3.84	3.47	3.91	0.17	0.184
免疫球蛋白 M IgM	0.29	0.41	0.45	0.37	0.34	0.46	0.02	0.221

2.3 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪血清细胞因子含量的影响

由表 5 可知,与空白组相比,抗生素组及 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%白术茯苓多糖复方组血清 TNF- α 和 IL-6 含量(除 0.02%白术茯苓多糖复方组)显著降低($P<0.05$)。0.02%白术茯苓多糖复方组血清 TNF- α 和 IL-6 含量显著高于抗生素组($P<0.05$),但随着白术茯苓多糖复方添加水平的提高,血清 TNF- α 和 IL-6 的含量呈先降低后升高的趋势,其中 0.04%、0.08%白术茯苓多糖复方组血清 TNF- α 和 IL-6 含量达抗生素组水平($P>0.05$),而 0.06%白术茯苓多糖复方组血清 TNF- α

和 IL-6 含量显著低于抗生素组($P<0.05$)。与空白组相比,抗生素组和 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%白术茯苓多糖复方组血清 IL-10 含量均获得显著提高($P<0.05$)。随着白术茯苓多糖复方添加水平的提高,血清 IL-10 含量均呈先升高后降低的趋势,其中 0.02%、0.08%白术茯苓多糖复方组血清 IL-10 含量与抗生素组差异不显著($P>0.05$),而 0.04%、0.06%白术茯苓多糖复方组血清 IL-10 含量显著高于抗生素组($P<0.05$)。饲料添加白术茯苓多糖复方后,仔猪血清 IL-1 β 含量呈先降低后升高的趋势,但与空白组和抗生素组的差异均不显著($P>0.05$)。

表 5 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪血清细胞因子含量的影响

Table 5 Effects of AMP and PCP compound on serum cytokine contents of weaned piglets

项目 Items	抗生素组 Antibiotic group	空白组 Blank group	白术茯苓多糖复方添加水平 Supplemental levels of AMP and PCP compound/%				SEM	P 值 P-value
			0.02	0.04	0.06	0.08		
			ng/L					
肿瘤坏死因子- α TNF- α	125.29 ^b	302.61 ^d	236.07 ^c	98.44 ^{ab}	75.67 ^a	113.16 ^b	15.74	<0.001
白细胞介素-1 β IL-1 β	13.23	16.28	15.08	14.13	9.87	12.32	0.80	0.253
白细胞介素-6 IL-6	24.67 ^b	43.32 ^c	36.24 ^c	23.77 ^b	15.21 ^a	23.85 ^b	1.97	<0.001
白细胞介素-10 IL-10	181.91 ^b	142.64 ^a	198.62 ^{bc}	219.53 ^{cd}	235.42 ^c	198.20 ^{bc}	6.73	<0.001

2.4 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪空肠黏膜局部免疫的影响

如图 1 所示,与空白组相比,饲料添加 0.02%、0.04%、0.06%和 0.08%白术茯苓多糖复方显著降低了空肠黏膜 TLR-4 mRNA 相对表达量($P<0.05$),且随着白术茯苓多糖复方添加水平的提高而降低。0.02%、0.04%白术茯苓多糖复方组空肠黏膜 TLR-4 mRNA 相对表达量与抗生素组差异不显著($P>0.05$),但当白术茯苓多糖复方添加水平达到 0.06%和 0.08%时,空肠黏膜 TLR-4 mRNA 相对表达量显著低于抗生素组($P<0.05$)。

如图 2 所示,与抗生素组和空白组相比,饲料添加 0.04%、0.06%和 0.08%白术茯苓多糖复方时,空肠黏膜 TNF- α mRNA 相对表达量显著降低($P<0.05$)。0.02%白术茯苓多糖复方组空肠黏膜 TNF- α mRNA 相对表达量与空白组差异不显著($P>0.05$),而 0.04%、0.06%和 0.08%白术茯苓多糖复方组 TNF- α mRNA 相对表达量显著低于空白组($P<0.05$)。

如图 3 所示,与空白组相比,饲料添加抗生素和添加 0.04%、0.06%、0.08%白术茯苓多糖复方均

显著降低了空肠黏膜 IL-1 β mRNA 相对表达量($P<0.05$)。0.04%、0.06%、0.08%白术茯苓多糖复方组之间以及这 3 组与抗生素组之间 IL-1 β mRNA 相对表达量差异不显著($P>0.05$)。

如图 4 所示,随着白术茯苓多糖复方添加水平由 0.02%逐渐增加到 0.08%,空肠黏膜 IL-6 mRNA 相对表达量呈先降低后升高的趋势。当白术茯苓多糖复方添加水平达到 0.06%、0.08%时,空肠黏膜 IL-6 mRNA 相对表达量显著低于空白组和抗生素组($P<0.05$),其中 0.06%白术茯苓多糖复方组空肠黏膜 IL-6 mRNA 相对表达量又显著低于 0.02%、0.04%、0.08%白术茯苓多糖复方组($P<0.05$),而 0.02%、0.04%、0.08%白术茯苓多糖复方组之间差异不显著($P>0.05$)。

如图 5 所示,与空白组相比,饲料使用抗生素后,空肠黏膜 IL-10 mRNA 相对表达量显著升高($P<0.05$),而添加 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%白术茯苓多糖复方后,空肠黏膜 IL-10 mRNA 相对表达量显著高于空白组和抗生素组($P<0.05$)。随着白术茯苓多糖复方添加水平由 0.02%增加到 0.08%,空肠黏膜 IL-10 mRNA 相对表达量呈先升

高后降低的趋势,但未达显著差异水平($P>0.05$)。

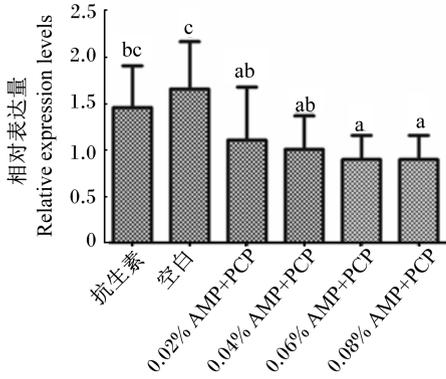


图1 白术茯苓多糖复方对仔猪空肠黏膜 *TLR-4* mRNA 相对表达量的影响

Fig.1 Effects of AMP and PCP compound on relative expression levels of *TLR-4* mRNA in jejunal mucosa of weaned piglets

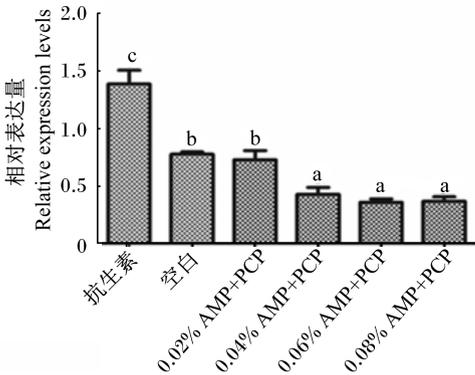


图2 白术茯苓多糖复方对仔猪空肠黏膜 *TNF-α* mRNA 相对表达量的影响

Fig.2 Effects of AMP and PCP compound on relative expression levels of *TNF-α* mRNA in jejunal mucosa of weaned piglets

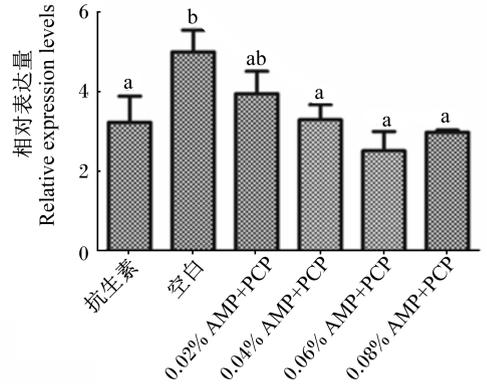


图3 白术茯苓多糖复方对仔猪空肠黏膜 *IL-1β* mRNA 相对表达量的影响

Fig.3 Effects of AMP and PCP compound on relative expression levels of *IL-1β* mRNA in jejunal mucosa of weaned piglets

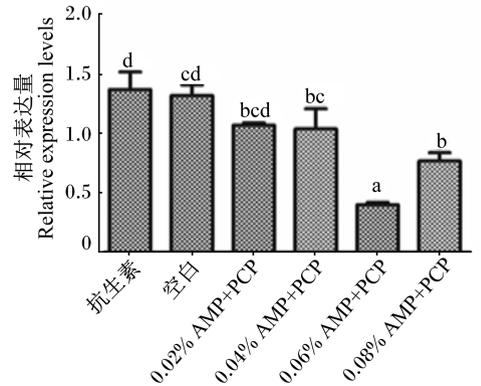


图4 白术茯苓多糖复方对仔猪空肠黏膜 *IL-6* mRNA 相对表达量的影响

Fig.4 Effects of AMP and PCP compound on relative expression levels of *IL-6* mRNA in jejunal mucosa of weaned piglets

3 讨论

3.1 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响

中草药多糖作为植物多糖家族中的重要一员,因其天然的免疫增强功能和代谢调节功能,使其不仅在人类临床医学上得到广泛应用,而且在畜牧生产上也逐渐受到关注。研究表明,0.4%白术多糖可以促进78日龄育成期海兰灰蛋雏鸡的生长发育^[9]。在28日龄断奶仔猪饲料中添加

0.5%^[4]或0.6%^[10]白术多糖后,与抗生素组相比,仔猪日增重显著提高,料重比显著降低。赵燕飞等^[11]在白术多糖研究中获得了改善断奶仔猪生长性能的结果。本试验采用白术多糖、茯苓多糖两者复配,结果显示其同样能显著提高断奶仔猪的平均日增重并降低仔猪料重比,其中0.06%白术茯苓多糖复方对断奶仔猪的促生长效果最佳。

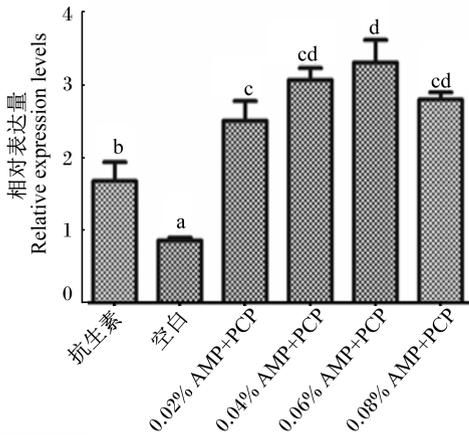


图5 白术茯苓多糖复方对仔猪空肠黏膜 *IL-10* mRNA 相对表达量的影响

Fig.5 Effects of AMP and PCP compound on relative expression levels of *IL-10* mRNA in jejunal mucosa of weaned piglets

白术多糖和茯苓多糖在调节肠道功能上发挥着积极作用,这主要归因于其可以保护肠上皮细胞的内质网、微绒毛和线粒体等,能调节肠黏膜修复因子转化生长因子-1 β (TGF-1 β)和表皮生长因子受体(EGFR),促进肠黏膜的修复,加快细胞恢复正常代谢的脚步^[12]。医学上的克罗恩病是由遗传及环境因素共同导致的终身性消化道疾病,主要表现为慢性、透壁性炎症,并伴有腹泻和腹痛等症状^[13]。而用白术茯苓汤中剂量能有效减轻脾虚型克罗恩病的炎症反应,以缓解腹泻症状^[7]。尚秋辰^[12]研究发现,白术多糖治疗由大肠杆菌攻毒后导致腹泻的小鼠,结果小鼠腹泻的初期症状得到有效减缓。本试验结果表明,饲料中不使用抗生素也不添加白术茯苓多糖复方,仔猪腹泻率显著高于抗生素组和0.06%白术茯苓多糖复方组,而0.06%的白术茯苓多糖复方可以使仔猪腹泻率降至抗生素组水平。

3.2 白术茯苓多糖复方对断奶仔猪免疫功能的影响

血清免疫球蛋白水平是反映动物抵抗外界病原菌或病毒侵袭能力的重要指标之一。研究表明,白术多糖可刺激小鼠产生特异性IgG抗体^[14],并提高大鼠血清IgG和IgA含量^[15]。张志军等^[16]使用茯苓多糖灌喂小鼠1周后,小鼠血清IgG、IgA和IgM含量均获显著提高,且存在剂量效应关系。本研究结果表明,与空白组和抗生素相比,饲料添加0.02%、0.04%、0.06%和0.08%白术茯苓多糖复方后,仔猪血清IgA和IgM含量差异不显著。尽管统计上差异不显著,但白术茯苓多糖复方使得仔猪血清IgG含量比空白组提高了30%以上。

细胞因子是一类由免疫细胞(T细胞、B细胞、自然杀伤细胞和单核/巨噬细胞等)分泌的具有调节机体免疫功能的多肽分子。当病原微生物入侵时,机体的免疫系统随即被激活,促使机体分泌细胞因子以清除病原微生物,TNF- α 、IL-1、IL-6等促炎细胞因子在此过程中发挥了关键作用^[17]。而IL-10具有抑制TNF- α 、IL-1和IL-6分泌的功能,是对机体起保护性抗炎作用的细胞因子之一。白术多糖和茯苓多糖对机体细胞免疫均具有调节作用^[18-19]。本试验中,抗生素组和白术茯苓多糖复方组仔猪血清TNF- α 和IL-6含量显著低于空白组,而0.04%、0.06%白术茯苓多糖复方组仔猪血清IL-10含量显著高于空白组和抗生素组,这与石振国等^[20]用茯苓多糖治疗急性胰腺炎SD大鼠时获得有效降低血清TNF- α 、IL-1 β 和IL-6含量的结果一致,说明适宜添加水平的白术茯苓多糖复方可以有效提高仔猪机体的细胞免疫水平,降低断奶应激带来的仔猪肠道炎症风险。

肠道黏膜的局部免疫主要通过改变细胞因子分泌,参与肠黏膜损伤的修复过程。仔猪早期断奶造成的免疫应激会影响淋巴细胞对促炎性细胞因子(如TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)的分泌,从而影响仔猪健康和生长性能。TLR-4是介导炎症反应及先天免疫的主要受体,它与先天性免疫系统关系密切,可通过特异性地识别病原微生物的保守分子序列,迅速激活信号转导途径,诱导炎症反应,促进抗原递呈细胞的活化,启动肠道固有免疫反应^[21]。白术多糖能通过TLR-4/髓样分化蛋白抗原88(MyD88)/核因子- κ B抑制物激酶 ϵ -核因

子- κ B抑制蛋白 α (IKK ϵ -I κ B α) 途径解除环磷酰胺对 TLR-4 信号通路的负性调节,从而提高免疫功能^[22]。多糖中的葡聚糖,一般有 α 和 β 型 2 种结构。 α 型葡聚糖由淀粉构成,不具有免疫活性。 β 型葡聚糖主要由 β -1-3D、 β -1-4D、 β -1-6D 等葡聚糖组成,其中 β -1-4D 葡聚糖单独使用没有免疫活性,只有和其他葡聚糖配合使用才有免疫活性,如木糖、甘露糖等^[23]。白术多糖以 β -1-4D 葡聚糖为主^[23],而茯苓多糖中的葡萄糖则以 β -1-3D 葡聚糖为主^[24]。本试验结果表明,与空白组相比,0.04%、0.06%、0.08% 白术茯苓多糖复方显著下调了仔猪空场黏膜 *TNF- α* 、*IL-1 β* 、*TLR-4* mRNA 相对表达量,并提高了 *IL-10* mRNA 相对表达量。而 0.06%、0.08% 白术茯苓多糖复方同时还下调了 *IL-6* mRNA 相对表达量。0.04%、0.06%、0.08% 白术茯苓多糖复方获得相当甚至超过抗生素的免疫调节效果。空肠黏膜 *TNF- α* 、*IL-1 β* 、*IL-6* 和 *IL-10* mRNA 相对表达量的结果与本试验仔猪血清 *TNF- α* 、*IL-1 β* 、*IL-6* 和 *IL-10* 含量的变化趋势一致。白术茯苓多糖复方之所以能够对仔猪发挥积极的免疫调节作用,可能归因于白术多糖以 β -1-4D 葡聚糖为主,并辅以茯苓多糖的甘露糖和木糖,这种结合方式也是免疫活性强且最容易被机体吸收的形式。

4 结 论

饲料中添加白术茯苓多糖复方可以提高断奶仔猪的生长性能,缓解腹泻,提高机体免疫水平。在本试验条件下,断奶仔猪饲料中白术茯苓多糖复方的适宜添加水平为 0.06%。

参考文献:

- [1] 冯江鑫,陈代文,余冰,等.菌酶协同发酵饲料对仔猪生长性能、养分消化率、血清生化指标和肠道屏障功能的影响[J].动物营养学报,2020,32(3):1099-1108.
- [2] 张仲景.伤寒杂病论[M].钱超尘,郝万山,译.北京:人民卫生出版社,2017
- [3] 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.
- [4] 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):45-48.
- [5] 柴艳,李琦华,贾俊静,等.白术多糖对断奶仔猪白细
- 胞介素-1 β 基因表达的影响[J].中国饲料,2017(6):10-14.
- [6] 刘兴隆,李晓红,贾波,等.白术茯苓等比配伍对脾气虚克罗恩病大鼠肠“神经-免疫”相关递质、Th1/Th2 型细胞因子及 TLR4/NF- κ B 的影响[J].陕西中医学院学报,2014,37(1):72-76.
- [7] 钟强.白术茯苓汤高中低剂量对脾气虚克罗恩病大鼠炎症因子的影响[D].硕士学位论文.成都:成都中医药大学,2014.
- [8] KELLY S M, HUNTER J O. Epidermal growth factor stimulates synthesis and secretion of mucus glycoproteins in human gastric mucosa[J]. Clinical Science, 1990,79(5):425-427.
- [9] 荆佳林,赵国先,龚建刚,等.白术多糖对育成期蛋鸡生长性能和血清免疫指标的影响[J].饲料研究,2019,42(2):35-37.
- [10] 彭慧珍,李丽立,张彬,等.白术粗多糖对断奶仔猪生产性能及血液生化指标的影响[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2006,32(6):648-651.
- [11] 赵燕飞,汪以真,王静华.白术、微米白术及白术多糖对断奶仔猪生长性能和免疫功能的影响[J].中国畜牧杂志,2012,48(13):56-59.
- [12] 尚秋辰.白术多糖对大肠杆菌腹泻模型小鼠肠道黏膜修复机理研究[D].硕士学位论文.扬州:扬州大学,2017.
- [13] LEMBERG D A, DAY A S. Crohn disease and ulcerative colitis in children; an update for 2014[J]. Journal of Paediatrics and Child Health, 2015,51(3):266-270.
- [14] 孙文平,李发胜,陈晨,等.白术多糖对小鼠免疫功能调节的研究[J].中国微生态学杂志,2011,23(10):881-882,886.
- [15] 胡晓蕾,胡迎利,汪以真.白术及白术多糖对 SD 大鼠生长性能和免疫功能的影响[J].中国兽药杂志,2006,40(1):2-6.
- [16] 张志军,冯霞,蒋娟,等.茯苓多糖对小鼠血清 IgA、IgG 和 IgM 生物合成水平的影响[J].中国免疫学杂志,2013,29(11):1213-1215.
- [17] DUSTIN M L, DE FOUGEROLLES A R. Reprogramming T cells: the role of extracellular matrix in coordination of T cell activation and migration[J]. Current Opinion in Immunology, 2001,13(3):286-290.
- [18] 李婉雁,曹楠,田允波,等.白术多糖通过 Toll 样受体 4/核因子- κ B 信号通路调控雏鸡脾脏淋巴细胞免疫功能[J].动物营养学报,2019,31(11):5192-5201.
- [19] 孙晓雨,崔子寅,张明亮,等.枸杞多糖和茯苓多糖对免疫抑制小鼠免疫增强及对肠道黏膜的免疫调节作用[J].中国兽医学报,2015,35(3):450-455.

- [20] 石振国,苏锦,任永乐,等.茯苓多糖对急性胰腺炎大鼠肠道屏障功能损伤和炎性反应的作用[J].海南医学,2017,28(3):356-359.
- [21] 杨秀珍.TLR2与胃肠道疾病关系的研究进展[D].硕士学位论文.重庆:重庆医科大学,2018.
- [22] 钱隆,刘洋,李冰心,等.白术多糖可能通过Toll样受体4信号通路缓解环磷酰胺诱导的雏鹅肝脏损伤[J].动物营养学报,2019,31(2):764-774.
- [23] 苏富琴,崔红霞,刘吉成.复合多糖的免疫协同作用[J].中药新药与临床药理,2004,15(5):317-319.
- [24] 张俐娜,丁琼,张平义,冯汉桥.茯苓菌核多糖的分离和结构分析[J].高等学校化学学报,1997(6):990-993.

Effects of *Atractylodes macrocephala* and *Poria cocos* Polysaccharide Compound on Growth Performance and Immune Function of Weaned Piglets

CHEN Liling^{1,2} HE Qin¹ GUO Xiaobo¹ LUO Bowen¹ WANG Zirui^{1*} YOU Jinming^{1*}

(1. Key Laboratory of Animal Nutrition in Jiangxi Province, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide (AMP) and *Poria cocos* polysaccharide (PCP) compound on growth performance and immune function of weaned piglets. A total of 150 piglets (Duroc×Landrace×Yorkshire) weaned at 23 days of age were assigned randomly to one of six groups (five replicates per group and five pigs per replicate): antibiotic group (20 mg/kg colistin sulfate + 40 mg/kg zinc bacitracin and 100 mg/kg olaquinox), blank group (without antibiotics and AMP and PCP compound), AMP+PCP compound groups (adding 0.02%, 0.04%, 0.06% and 0.08% AMP+PCP compound, respectively). The experiment lasted for 27 days. The results showed as follows: 1) compared with the antibiotic group and blank group, AMP+PCP compound significantly increased the average daily weight gain (ADG) of piglets and reduced the feed-to-weight ratio of weaned piglets ($P < 0.05$). 2) Compared with the blank group, the diarrhea rate of 0.06% AMP+PCP compound group reduced significantly ($P < 0.05$). 3) When adding 0.02%, 0.04%, 0.06% and 0.08% AMP+PCP compound, no significant differences were observed for serum immune globulin (Ig) A, IgG and IgM contents compared with the antibiotic group and blank group ($P > 0.05$). 4) Compared with antibiotic group, the serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin (IL)-6 contents significantly reduced when adding 0.06% AMP+PCP compounds in diets ($P < 0.05$), and the serum IL-10 content significantly increased when adding 0.04% and 0.06% AMP+PCP compounds in diets ($P < 0.05$). 5) Consistently, compared with antibiotic group and control group, the relative expression levels of *TLR-4*, *TNF- α* and *IL-6* mRNA significantly reduced ($P < 0.05$), and the relative expression level of *IL-10* mRNA significantly increased when adding 0.06% and 0.08% AMP+PCP compounds in diets ($P < 0.05$). These results indicate that the AMP+PCP compound can improve the growth performance of weaned piglets, alleviate diarrhea of weaned piglets and has beneficial effects on immune function of weaned piglets. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(7):3394-3402]

Key words: *Atractylodes macrocephala* polysaccharide; *Poria cocos* polysaccharide; weaned piglet; growth performance; immune function

* Corresponding authors: WANG Zirui, associate professor, E-mail: wangzirui0406@163.com; YOU Jinming, professor, E-mail: youjinm@163.com (责任编辑 陈鑫)