

山银花对黄羽肉鸡血液生化指标及免疫功能的影响*

周小雪¹, 杨 究¹, 陈义娟¹, 史沁芳¹, 张 雪²

(1. 重庆师范大学 生命科学学院 活性物质生物技术教育部工程研究中心, 重庆 401331;

2. 重庆医药高等专科学校 药学院, 重庆 401331)

摘要:为评估山银花(*Lonicerae flos*)作为饲料添加剂对黄羽肉鸡(*Gallus gallus domesticus*)血液生化指标、免疫功能的影响,将150只2日龄的健康黄羽肉鸡随机平均分为5个组进行为期42 d的实验,其中第1 d到第10 d为环境适应期,第11 d到第26 d(12~27日龄)为实验Ⅰ期,从第27 d到第42 d(28~43日龄)为实验Ⅱ期。5组肉鸡每日均饲喂相同基础日粮;对照组(CK组)每日饲喂不含山银花成分的饮用水;4个山银花处理组即T1、T2、T3和T4组在环境适应期饲喂不含山银花成分的饮用水,在实验Ⅰ、Ⅱ期饲喂原药材质量分数分别为1.0%、1.5%、2.0%和3.0%的山银花水提物稀释液以代替饮用水。分别在实验Ⅰ、Ⅱ期结束时检测黄羽肉鸡血清总蛋白、白蛋白和球蛋白的质量浓度,丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶和 γ -谷氨酰基转移酶的活性,总胆汁酸、肌酐、尿酸、总胆固醇、甘油三酯和葡萄糖浓度,以及免疫球蛋白IgG和IgA的质量浓度;并测定法氏囊、脾脏及胸腺质量和计算免疫器官指数。研究结果显示:5组黄羽肉鸡血清总蛋白、球蛋白的质量浓度和 γ -谷氨酰基转移酶活性没有明显差异;与CK组相比,饲喂原药材质量分数分别为1.0%、1.5%和3.0%的山银花水提物稀释液可使黄羽肉鸡血清总胆汁酸浓度和天门冬氨酸氨基转移酶活性明显下降,饲喂原药材质量分数分别为1.5%、2.0%和3.0%山银花水提物稀释液可使黄羽肉鸡血清尿酸浓度明显下降,饲喂山银花水提物稀释液使黄羽肉鸡免疫器官指数升高并使血清IgA、IgG的质量浓度明显升高。饲喂原药材质量分数为1.5%的山银花水提物稀释液可有效地促进黄羽肉鸡生长并改善该鸡种的血液生化指标以及免疫功能。

关键词:山银花;饲料添加剂;黄羽肉鸡;血液生化指标;免疫功能

中图分类号:Q95-3;S831.5

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2023)04-0038-09

近些年来,含抗生素、激素的饲料添加剂越来越普遍地被应用到家禽养殖业中;这不仅影响禽肉和副产品的品质,而且还使禽类产品安全难以保证,并严重影响人类健康^[1]。为了解决上述问题,富含各种营养成分的中药材越来越多地被作为促进动物生长发育的饲料添加剂,即将中草药加入畜禽饲料或日常饮水中,使中草药中所含的有效物质作用于畜禽,从而达到防病治病、提升免疫力、提高饲料利用率以及减少畜牧业对环境污染的效果^[2-5]。Rajput等人^[6]报道,在肉鸡(*Gallus gallus domesticus*)日粮中添加万寿菊(*Tagetes erecta*)提取物不仅可以提高肉鸡的生长性能和对新城疫病毒(newcastle disease virus)、禽流感病毒(avian influenza virus)的抗体滴度,同时还可以改善肉鸡的胴体性状。还有研究表明,使用中药作为饲料添加剂可以提高家禽的抵抗力和免疫力,从而减少抗生素和其他添加剂的使用^[7-8],达到提高禽肉安全性的目的。然而,尽管中草药可以在家禽养殖业中发挥重要作用,但它们在作为饲料添加剂用于家禽养殖时的具体功效、作用方式和安全性仍不十分清楚^[9-11]。

山银花(*Lonicerae flos*)为大花忍冬(*Lonicera macrantha*)、华南忍冬(*Lonicera confusa*)或红腺忍冬(*Lonicera hypoglauca*)的干燥花蕾或初开的花(一般在花朵发育前采收并干燥),是主要产于四川、广东、湖南和广西的早夏花,且产量巨大^[12]。此外,山银花是一种较为安全的中药,在规定的使用范围和剂量内使用时,既可入药又可食用。与畜禽养殖中经常使用的抗生素和化学药品相比,山银花具有毒性小、安全性高、成本低、用量要求低等优点。为了进一步验证山银花对家禽的影响,本研究选择黄羽肉鸡作为研究对象并将山银花提取物加

* 收稿日期:2022-09-09 修回日期:2023-06-23 网络出版时间:2023-06-20T09:47

资助项目:国家自然科学基金面上项目(No. 11572063);重庆市科学技术局基础研究与前沿探索项目(No. cstc2018jcyjAX0816);重庆市卫生健康委员会中医药科技项目(No. ZY201802053);重庆市教育委员会科学技术研究项目(No. KJQN202100545)

第一作者简介:周小雪,女,研究方向为生物化学与分子生物学,E-mail:2310525051@qq.com;通信作者:张雪,女,副教授,E-mail:181587343@qq.com

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/50.1165.n.20230616.1846.006

入到它的日常饮水中,经过一定时间的饲喂后分析山银花对黄羽肉鸡主要血液生化指标及免疫功能指标变化的影响,明确不同剂量山银花饲料添加剂的效果,并探讨山银花对肉鸡机体功能的影响机理,为以山银花为基础开发新的饲料添加剂提供理论依据和基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

实验用2日龄且体质量接近一致的黄羽肉鸡混合雏共150只,购自重庆市璧山区大路镇大竹村养殖场。

1.1.2 仪器

BS-180全自动生化分析仪购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,T6新世纪紫外可见分光光度计购自北京普析通用仪器有限责任公司,DR-3518酶标分析仪购自无锡华卫德朗仪器有限公司,DW-86L626超低温冰箱购自青岛海尔股份有限公司,TG16MW台式高速离心机购自湖南赫西仪器装备有限公司,ZH-2涡旋振荡器购自天津药典标准仪器厂。

1.1.3 试剂

双缩脲试剂和免疫球蛋白(包括IgG和IgA)鸡专用酶联免疫分析(ELISA)试剂盒购自上海羽朵生物有限公司,标准结晶牛血清蛋白、硫酸铜、溴甲酚绿应用液、白蛋白标准液、叠氮化钠防腐剂($w(\text{NaN}_3)=0.02\%$)和葡萄糖标准母液购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.1.4 山银花饲料添加剂的制备

实验用山银花购自重庆中药材专业市场,用真空干燥箱在 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘烤直至其中水分的质量分数不超过 15.0% 。处理后的山银花样品中水分、总灰分、酸不溶性灰分和绿原酸的质量分数分别为 6.80% 、 5.55% 、 0.17% 和 4.85% ,符合2020年版《中华人民共和国药典》对山银花品质标准的规定^[12]。随后将200g上述山银花样品倒入锅中,然后加入4L超纯水浸泡1h后置于电磁炉煎煮;煎煮30min后过滤,剩余药渣加2L超纯水后再次煎煮30min后过滤;合并两次滤液,浓缩成800mL的山银花水提物原液,在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存备用。山银花水提物原液中含有绿原酸、咖啡酸、异绿原酸A等大量有机酸类化合物,并含有槲皮素、芦丁、木犀草素等黄酮类化合物,且含有川续断皂苷乙、灰毡毛忍冬皂苷甲,灰毡毛忍冬乙等三萜类化合物,另外还含有大量挥发油成分、甾体类化合物等^[13-14]。在进行正式实验时,将山银花水提物原液按一定比例稀释后使用。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组和基础饲养条件

将实验用黄羽肉鸡随机分成5组,每组3个重复,每个重复10只肉鸡;将它们转移到重庆师范大学生物园鸡舍内首先进行10d的适应喂养,此时期为环境适应期。之后从第11d到第26d(12~27日龄)为实验I期,从第27d到第42d(28~43日龄)为实验II期,整个实验持续为42d。在此期间,5组肉鸡每日均饲喂相同基础日粮;对照组(CK组)每日饲喂不含山银花成分的饮用水;4个山银花处理组即T1、T2、T3和T4组在环境适应期饲喂不含山银花成分的饮用水,在实验I、II期饲喂原药材质量分数分别为 1.0% 、 1.5% 、 2.0% 和 3.0% 的山银花水提物稀释液以代替饮用水。

在肉鸡进舍前,首先对鸡舍进行全面打扫和消毒,并将舍内相对湿度应控制在 $60\%\sim 70\%$,且保证舍内拥有良好的通风和自然光照条件。基础日粮为重庆特曲饲料有限公司生产的531V型肉鸡饲料,该饲料为肉鸡饲养的常用饲料,符合肉鸡饲养标准。实验期间保证各组肉鸡采食和饮水自由,并对肉鸡的状态进行定期监测,且对各组肉鸡居住的鸡笼定期进行清洁和消毒。

1.2.2 疫苗接种

肉鸡在7、14、22和27日龄时接种基础疫苗。免疫程序如下:对于7日龄的肉鸡,通过滴眼方式接种联合活疫苗以预防新城疫和传染性支气管炎;对于14日龄的肉鸡,通过饮水方式接种具有中等毒力的活疫苗以预防传染性法氏囊病;对于22日龄的肉鸡,通过颈部皮下注射方式接种四联灭活疫苗以预防禽流感(H5+H7亚型)、新城疫、传染性支气管炎、禽流感(H9亚型)和法氏囊病;对于27日龄的肉鸡,通过饮水方式进行双向活疫苗接种以预防新城疫和传染性6型支气管炎。

1.2.3 血样采集和血液生化指标测定

在 27、43 日龄时,从每个组中随机选择 6 只黄羽肉鸡并测定体质量。采用气体麻醉法将选取的每只肉鸡进行麻醉,拔除翅下静脉处羽毛,用浸泡有体积分数为 75%乙醇的棉球对鸡翅下方区域进行消毒,采集 5 mL 静脉血样。在没有抗凝处理的情况下,将血样放在 37 °C 的水浴中 10 min,然后以 $1\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,采集上层血清;采用双缩脲试剂法测定血清总蛋白的质量浓度,采用溴甲酚绿法测定血清白蛋白的质量浓度,并以此计算血清球蛋白质量浓度^[15-16];按照鸡专用酶联免疫分析试剂盒说明书对血清 γ -谷氨酰基转移酶、丙氨酸氨基转移酶和天门冬氨酸氨基转移酶的活性进行测定;血清中其他成分如总胆固醇、总胆汁酸、肌酐、尿酸、甘油三酯、葡萄糖等物质的浓度均采用相应试剂盒测定。

1.2.4 免疫功能指标的测量

在 27、43 日龄,另从每个组中随机选择 6 只黄羽肉鸡,仍采用上文提到的方法对肉鸡进行麻醉和血样采集,并从每只肉鸡身上采集 5 mL 静脉血样。将血样在 25 °C 条件下放置 30 min,再以 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,采集上层血清。此外,从上述每只肉鸡体内获取法氏囊、脾脏和胸腺样品,并除去器官周围的脂肪,用生理盐水($\omega(\text{NaCl})=0.9\%$)清洗后,计算某一免疫器官的质量与体质量的比值,由此得到免疫器官指数,包括法氏囊指数、脾脏指数和胸腺指数。血清 IgG 和 IgA 水平参照对应的鸡专用 ELISA 试剂盒附带说明书进行测定。

1.2.5 数据分析与处理

采用 Excel 2007 软件对实验数据进行整理,各项指标数据以“平均值±标准差”表示。用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析,并用 Duncan 法对各组指标数据进行多重比较。当 $p<0.05$ 时,统计结果具有统计学意义。

2 结果

2.1 对血液生化指标的影响

山银花饲料添加剂对黄羽肉鸡血液生化指标的影响如表 1 所示。

在实验 I 期,T1、T2 和 T4 组与 CK 组相比血清总胆汁酸浓度均有统计学意义上的降低($p<0.01$)。T3 组与 CK 组相比血清天门冬氨酸氨基转移酶活性上升了 16.68%,且组间数据差异具有统计学意义($p<0.05$)。T3 组血清肌酐浓度明显比 CK 组血清肌酐浓度更高,且组间数据差异具有统计学意义($p<0.05$),T1、T2 和 T4 组的血清肌酐浓度相较于 CK 组而言也有所增加,但与后者的数据差异不具有统计学意义。T2 组与 CK 组相比血清尿酸、总胆固醇的浓度均有统计学意义上的上升($p<0.05$)。此外与 CK 组相比,T1、T2、T3 和 T4 组血清葡萄糖浓度都有明显上升,与前者的数据差异具有统计学意义($p<0.05$)。总蛋白质量浓度、丙氨酸氨基转移酶活性、 γ -谷氨酰基转移酶活性和甘油三酯浓度方面,5 个组的数据差异均无统计学意义。

在实验 II 期,与 CK 组相比,T1、T2 和 T4 组血清天门冬氨酸氨基转移酶活性有统计学意义上的下降($p<0.05$)。T2、T3 和 T4 组与 CK 组相比,前三者血清尿酸浓度都有统计学意义上的降低($p<0.01$)。此外,T1、T2 组血清总胆固醇浓度与 CK 组相比有所上升,但与后者的数据差异不具有统计学意义;而 T4 组的与 CK 组相比该项指标则有统计学意义上的上升($p<0.05$)。对血清甘油三酯浓度进行比较,可知 T1 组相对于 CK 组而言该项指标有统计学意义上的上升($p<0.01$)。T1、T2 和 T3 组与 CK 组相比血清葡萄糖浓度均有统计学意义上的上升($p<0.01$),但 T4、CK 组的该项指标差异没有统计学意义。此外,5 个组血清总蛋白质量浓度、总胆汁酸浓度、丙氨酸氨基转移酶活性、 γ -谷氨酰基转移酶活性和肌酐浓度的数据差异均无统计学意义。

2.2 对免疫功能的影响

由图 1a 可知:在实验 I 期,与 CK 组相比,其他 4 组的法氏囊指数值均有统计学意义上的增大($p<0.01$)。在实验 II 期,T2 组的法氏囊指数明显比 CK 组的法氏囊指数更高且组间数据差异具有统计学意义($p<0.01$),而 T4 组的该项指标值与 CK 组相比则有统计学意义上的减小($p<0.01$)。

图 1b 显示:在实验 I 期,T1、T2 和 T3 组的脾脏指数值相较于 CK 组而言有统计学意义上的增大($p<0.05$),T4 组的脾脏指数值与 CK 组相比略有减小,但组间数据差异不具有统计学意义。在实验 II 期,T2 组的脾脏指数值比 CK 组的脾脏指数值增大了 44.70%,组间数据差异具有统计学意义($p<0.05$);而 T1、T3 和 T4 组的脾脏指数值虽然也比 CK 组的脾脏指数值更大,但与后者的数据差异不具有统计学意义。

在实验 I 期,T2 组胸腺指数值相对于 CK 组而言有统计学意义上的增大($p<0.01$),而 T1、T3 和 T4 组的

胸腺指数值与CK组的胸腺指数值相比差异不具有统计学意义。在实验Ⅱ期中,T1、T2、T3和T4组的胸腺指数值相对于CK组而言均无统计学意义上的增大或减小(图1c)。

表1 山银花饲料添加剂对黄羽肉鸡血液生化指标的影响

Tab. 1 Effects of *L. flos* feed additive on blood biochemical indexes of yellow-feather broilers

项目	实验Ⅰ期				
	CK组	T1组	T2组	T3组	T4组
总蛋白质质量浓度/(g·L ⁻¹)	27.24±1.89 ^a	29.54±6.01 ^a	32.52±4.30 ^a	31.32±3.56 ^a	29.04±5.25 ^a
白蛋白质质量浓度/(g·L ⁻¹)	8.87±1.80 ^a	8.36±1.09 ^a	10.01±1.65 ^a	9.41±1.01 ^a	8.56±1.24 ^a
球蛋白质量浓度/(g·L ⁻¹)	18.37±1.30 ^a	21.18±5.02 ^a	22.51±2.66 ^a	21.91±2.65 ^a	20.48±4.23 ^a
总胆汁酸浓度/(μmol·L ⁻¹)	7.27±3.92 ^A	1.81±0.74 ^B	1.91±0.35 ^B	5.28±0.27 ^A	1.46±0.42 ^B
丙氨酸氨基转移酶活性/(U·L ⁻¹)	2.35±0.78 ^a	2.73±1.87 ^a	1.75±0.41 ^a	3.15±1.35 ^a	2.29±0.91 ^a
天门冬氨酸氨基转移酶活性/(U·L ⁻¹)	218.76±0.92 ^a	212.84±5.83 ^a	214.30±8.19 ^a	262.55±21.10 ^b	225.36±7.92 ^a
γ-谷氨酸转移酶活性/(U·L ⁻¹)	16.77±4.55 ^a	17.97±4.59 ^a	16.93±2.98 ^a	19.93±5.42 ^a	22.65±1.67 ^a
肌酐浓度/(μmol·L ⁻¹)	2.22±1.39 ^a	3.29±1.21 ^{ab}	4.11±1.11 ^{ab}	4.46±1.24 ^b	4.05±0.65 ^{ab}
尿酸浓度/(μmol·L ⁻¹)	305.90±1.28 ^{ab}	317.31±2.30 ^{bc}	325.66±1.95 ^c	294.07±4.56 ^a	288.20±5.49 ^a
总胆固醇浓度/(mmol·L ⁻¹)	2.76±0.29 ^a	3.23±0.21 ^{ab}	3.87±0.28 ^b	3.70±0.55 ^b	3.21±0.54 ^{ab}
甘油三酯浓度/(mmol·L ⁻¹)	0.26±0.07 ^a	0.38±0.12 ^a	0.32±0.07 ^a	0.38±0.04 ^a	0.33±0.12 ^a
葡萄糖浓度/(mmol·L ⁻¹)	11.05±1.09 ^a	12.87±1.38 ^b	13.97±1.01 ^b	13.33±0.55 ^b	14.32±0.42 ^b
项目	实验Ⅱ期				
	CK组	T1组	T2组	T3组	T4组
总蛋白质质量浓度/(g·L ⁻¹)	33.33±1.65 ^a	31.23±3.33 ^a	35.04±2.59 ^a	34.41±6.09 ^a	32.74±2.00 ^a
白蛋白质质量浓度/(g·L ⁻¹)	9.98±0.98 ^{ab}	7.50±0.53 ^b	9.56±0.60 ^{ab}	9.82±1.64 ^{ab}	10.45±2.19 ^a
球蛋白质量浓度/(g·L ⁻¹)	23.36±2.54 ^a	23.73±3.79 ^a	25.48±2.50 ^a	24.59±4.58 ^a	22.29±1.00 ^a
总胆汁酸浓度/(μmol·L ⁻¹)	5.23±1.71 ^{ab}	7.00±4.55 ^{ab}	2.35±0.98 ^{Bb}	5.40±2.33 ^{ab}	9.76±2.28 ^{Aa}
丙氨酸氨基转移酶活性/(U·L ⁻¹)	3.20±0.79 ^a	2.92±1.34 ^a	2.24±1.43 ^a	2.58±0.54 ^a	2.69±0.86 ^a
天门冬氨酸氨基转移酶活性/(U·L ⁻¹)	277.87±2.57 ^a	211.30±3.40 ^b	195.19±13.02 ^c	265.44±9.55 ^a	209.78±8.82 ^{bc}
γ-谷氨酸转移酶活性/(U·L ⁻¹)	22.72±6.58 ^a	18.31±1.86 ^a	22.30±4.53 ^a	22.95±4.14 ^a	23.65±5.30 ^a
肌酐浓度/(μmol·L ⁻¹)	2.85±0.29 ^a	2.51±0.93 ^a	2.48±0.15 ^a	3.26±0.20 ^a	2.36±1.26 ^a
尿酸浓度/(μmol·L ⁻¹)	241.03±0.69 ^A	329.52±11.13 ^B	164.93±4.41 ^C	139.65±6.27 ^D	161.83±8.31 ^C
总胆固醇浓度/(mmol·L ⁻¹)	3.11±0.03 ^a	3.36±0.42 ^{ab}	3.38±0.37 ^{ab}	2.97±0.08 ^a	3.71±0.12 ^b
甘油三酯浓度/(mmol·L ⁻¹)	0.24±0.04 ^A	0.61±0.25 ^B	0.25±0.06 ^A	0.24±0.03 ^A	0.27±0.05 ^A
葡萄糖浓度/(mmol·L ⁻¹)	12.24±0.89 ^A	16.39±1.16 ^B	15.38±0.73 ^{BCa}	15.34±1.67 ^{BCa}	12.98±0.40 ^{ACb}

注:不同大写、小写字母分别表示某一指标的组间数据差异在 $p < 0.01$ 、 $p < 0.05$ 水平上具有统计学意义,下同。

在实验Ⅰ期,与CK组相比,T1、T2组血清IgG质量浓度上升而T3、T4组血清IgG质量浓度下降。在实验Ⅱ期,与CK组相比,T2组血清IgG质量浓度上升了65.16%,组间数据差异具有统计学意义($p < 0.01$);与CK组相比,T3、T4组血清IgG质量浓度也有上升趋势,然而它们和前者的数据差异均不具有统计学意义(图2a)。图2b则显示:在实验Ⅰ期,与CK组相比T1组血清IgA质量浓度有统计学意义上的上升($p < 0.05$);T2、T3和T4组血清IgA质量浓度相对于CK组而言也有所上升但与后者的该项指标差异均无统计学意义。在实验Ⅱ

期, T1、T2 组血清 IgA 质量浓度相对于 CK 组血清 IgA 质量浓度分别上升了 54.05% 和 98.84%, 且与后者的数据差异均具有统计学意义($p < 0.01$)。

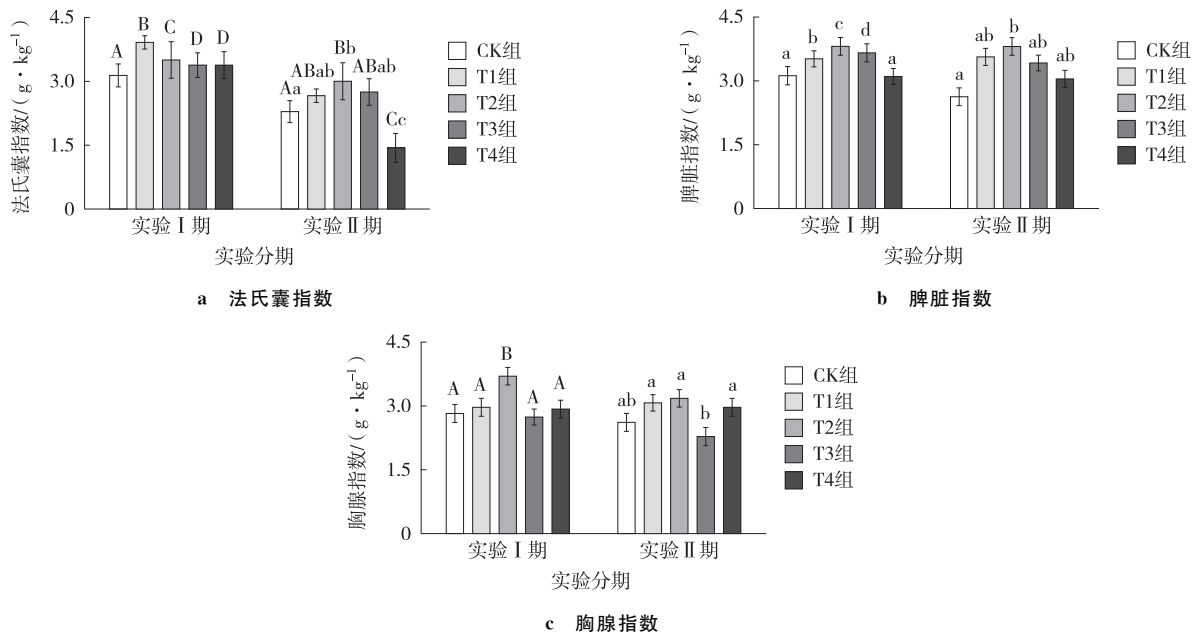


图 1 免疫器官指数

Fig. 1 The immune organ index

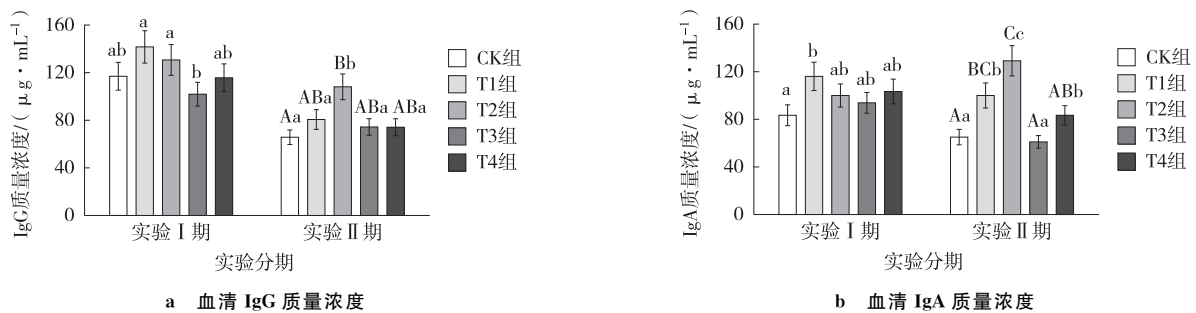


图 2 血清 IgG 和 IgA 水平

Fig. 2 The level of IgG and IgA in serum

3 讨论

血清中的总蛋白、白蛋白和球蛋白水平反映了机体内部蛋白质代谢的总体水平^[17]。此外,白蛋白还能维持体内和血管之间的渗透压平衡。白蛋白水平的降低和球蛋白水平的升高反映出肝脏或肾脏可能出现了炎症^[18]。在本研究的整个实验期间,5 组黄羽肉鸡血液中总蛋白、白蛋白和球蛋白的质量浓度均无统计学意义上的差异,说明本研究设置的山银花水提物添加剂量对黄羽肉鸡的蛋白质代谢的总体水平无明显影响。

丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶和 γ -谷氨酰基转移酶在氨基酸降解过程中起重要作用。通过评估血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶和 γ -谷氨酰基转移酶的活性可以来检查机体的肝肾功能。天门冬氨酸氨基转移酶主要分布在心肌中,其次是肝、肾等组织;丙氨酸氨基转移酶主要分布于肝脏,它在氨基酸的分解和合成中发挥重要作用^[19-20]。在肝细胞受损时,血清中这 3 种酶的活性就会上升,由此可以评估肝脏受损害的程度^[21]。何云等人^[22]利用四氯化碳诱导的急性肝损伤大鼠(*Rattus norvegicus*)模型探索了金银花(*Lonicerae japonica*)的保肝作用,发现金银花的水提物和醇提物都可以防止大鼠肝肿大,在发挥护肝作用的同时还可以减轻肝功能损害^[22]。本研究中,实验 II 期 T1、T2 和 T4 组的天门冬氨酸氨基转移酶活性均明显低于 CK 组的天门冬氨酸氨基转移酶活性,表明饲喂原药材质量分数分别为 1.0%、1.5% 和 3.0% 的山银花水提物稀

释液可有效降低黄羽肉鸡血清中天门冬氨酸氨基转移酶活性,且不会对肉鸡造成严重肝细胞损伤,因而对肉鸡的健康也有一定的保护作用。

肌酐和尿酸是反映肾脏功能的最常用指标。肌酐和尿酸水平升高反映出肾小球滤过功能可能受损并由此引起了肾功能下降^[23]。尿酸是禽类蛋白质代谢的最终产物,并经肾脏排泄,能反应禽类的蛋白质代谢水平。尿酸水平过高会导致机体组织受损。本研究结果显示:实验Ⅱ期结束后,5组黄羽肉鸡血清肌酐浓度无统计学意义上的差异,且T2、T3和T4组血清尿酸浓度相较于CK组而言明显更低。这说明饲喂原药材质量分数分别为1.5%、2.0%、3.0%的山银花水提物稀释液能维持黄羽肉鸡血清肌酐水平,且对肉鸡肾功能影响不大,同时还能促进肉鸡蛋白质合成并降低蛋白质分解代谢,提高饲料蛋白质利用率。

葡萄糖是动物新陈代谢最有效的营养物质,也是中枢神经系统、肌肉组织和胎儿发育代谢活动的唯一能量来源。因此,葡萄糖水平的变化可以反映葡萄糖在体内的吸收、运行和代谢的动态状态^[24]。在27日龄时,T1、T2、T3和T4组血清葡萄糖浓度均有比CK组该项指标更高的趋势。在43日龄时,T1、T2和T3组血清葡萄糖浓度明显比CK组的该项指标更高。这说明饲喂原药材质量分数分别为1.0%、1.5%和2.0%的山银花水提物稀释液可有效提高黄羽肉鸡的葡萄糖代谢能力。

法氏囊、脾和胸腺是家禽最重要的免疫器官。其中法氏囊是鸟类特有的体液免疫器官,是B细胞分化的主要场所。胸腺是细胞免疫的中枢,其中含有T细胞、单核巨噬细胞、少量B细胞和其他细胞,是T细胞分化和发育的主要场所。脾是家禽最大的外周免疫器官,参与全身细胞和体液免疫^[25]。免疫器官的发育和功能直接决定了机体的免疫水平。Chen等人^[26]建议用胸腺、法氏囊和脾的质量来评价雏鸡的免疫状态。这些器官的绝对质量和相对质量越大,细胞免疫和体液免疫功能就越强。人们还普遍认为:免疫器官指数的下降由免疫抑制引起;免疫器官指数的增加则表明免疫力增强,即免疫器官质量的增加表明免疫系统的快速生长、发育和成熟^[27]。此外,雷晓军等人^[28]的研究表明,在肉鸡日粮中添加由黄芪(*Astragali radix*)、党参(*Codonopsis radix*)、山楂(*Crataegi fructus*)以及其他成分,可以促进免疫器官的正常发育,延缓胸腺、脾脏和法氏囊的萎缩,还能增强细胞免疫功能。在本研究中,27日龄的T1、T2、T3和T4组黄羽肉鸡的法氏囊指数均明显比CK组肉鸡的该项指标更高;在43日龄黄羽肉鸡群体中,T2组与CK组相比法氏囊指数仍然明显更高。在27日龄时,试验组T1、T2和T3组脾脏指数均明显比CK组脾脏指数更高;在43日龄时,T2组的该项指标与CK组相比仍然有明显的提升。此外在27、43日龄,T2组胸腺指数也为最高。由此可见,添加原药材质量分数为1.5%的山银花水提物稀释液可以有效提高黄羽肉鸡的法氏囊指数、脾脏指数和胸腺指数,促进有关免疫器官的发育,增强机体免疫力,促进肉鸡的生长发育。

IgG、IgA是家禽体内的免疫球蛋白。IgG在血清中的浓度远高于其他免疫球蛋白,它主要参与抗肿瘤、抗寄生虫、某些变态反应等免疫过程;IgA具有抗病毒、抗菌、抗毒素等免疫活性^[29-30]。段纲等人^[31]制备和加工了2种基于中药的饲料添加剂并将这2种添加剂加入当地杂交鸡的饲料中,然后比较了它们与抗生素对供试鸡免疫功能的影响,结果发现中药饲料添加剂可以明显提高鸡的IgG水平,且与抗生素相比效果更好。王林青等人^[32]用山银花提取物中的有效成分体外培养鸡脾脏淋巴细胞,观察到山银花提取物中的有效成分可以促进脾脏淋巴细胞的分裂和增殖,并与脂多糖和伴刀豆球蛋白A共同作用引起免疫反应。赵国一^[33]用山银花水提物中重要组分绿原酸作为饲料添加剂喂养AA肉鸡,观察到IgM、IgA、IgG等免疫球蛋白水平都有所提高,说明绿原酸作为山银花的活性成分可以提高肉鸡的免疫功能和免疫力。而本研究结果则显示,饲喂原药材质量分数为1%和1.5%的山银花水提物稀释液可以提高黄羽肉鸡血清中IgA和IgG的质量浓度,提高了肉鸡体液免疫能力,增强了肉鸡抗菌、抗病毒能力。

综上所述,本研究采用山银花提取物作为饲料添加剂可有效提升黄羽肉鸡的血液生化指标和免疫功能,其中饲喂原药材质量分数为1.5%的山银花水提物稀释液对上述有关指标的提升效果最为明显。值得一提的是,山银花的分布范围较广,目前种植范围基本遍布全国,且市场上对山银花的年需求量在7 700 t左右^[34];再结合最近几年的相关研究^[35-37]及本研究所得结果可以推断,山银花在作为畜禽类饲料添加剂或直接作为饲料配方组分方面有着极大的潜力和应用前景。

参考文献:

[1] HAJIAGHAPOUR M, REZAEIPOUR V. Comparison of two herbal essential oils, probiotic, and mannan-oligosaccharides on

- egg production, hatchability, serum metabolites, intestinal morphology, and microbiota activity of quail breeders[J]. *Livestock Science*, 2018, 210: 93-98.
- [2] ZOTTE D A, CELIA C, SZENDRÖ Zs. Herbs and spices inclusion as feedstuff or additive in growing rabbit diets and as additive in rabbit meat; a review[J]. *Livestock Science*, 2016, 189: 82-90.
- [3] ELGHANDOUR M M M Y, POONOORU R K R, SALEM A Z M, et al. Plant bioactives and extracts as feed additives in horse nutrition[J]. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2018, 69: 66-77.
- [4] 陆文总, 高玉鹏, 李丽莉. 鸡用中草药饲料添加剂应用研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2005, 32(4): 16-18.
LU W Z, GAO Y P, LI L L. Research progress in application of Chinese herbal medicine feed additives[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2005, 32(4): 16-18.
- [5] 祝耀德, 胡庆平, 刘兴隆. 中草药饲料添加剂的作用与开发[J]. *中国兽药杂志*, 2005, 39(10): 28-30.
ZHU Y D, HU Q P, LIU X L. Function and exploitation of feed additive of Chinese herbal medicine[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2005, 39(10): 28-30.
- [6] RAJPUT N, NAEEM M, ALI S, et al. Effect of dietary supplementation of marigold pigment on immunity, skin and meat color, and growth performance of broilers chickens[J]. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2012, 14(4): 233-304.
- [7] KOLBADINEJAD A, REZAEIPOUR V. Efficacy of ajwain (*Trachyspermum ammi* L.) seed at graded levels of dietary threonine on growth performance, serum metabolites, intestinal morphology and microbial population in broilers chickens[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2020, 104(5): 1333-1342.
- [8] HAZRATI S, REZAEIPOUR V, ASADZADEH S. Effects of phytogetic feed additives, probiotic and mannan-oligosaccharides on performance, blood metabolites, meat quality, intestinal morphology, and microbial population of Japanese quail[J]. *British Poultry Science*, 2020, 61(2): 132-139.
- [9] LIU H W, TONG J M, ZHOU D W. Utilization of Chinese herbal feed additives in animal production[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10(8): 1262-1272.
- [10] ZHAI J F, GUO D X, TIAN H. Research and application of Chinese herbal feed additives in animal production[J]. *Pratacultural Science*, 2013, 7(7): 1131-1134.
- [11] HASHEMI S R, DAVOODI H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition[J]. *Veterinary Research Communications*, 2011, 35(3): 169-180.
- [12] 国家药典委员会, 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [13] 史颖珠, 侯建波, 谢文, 等. 液相色谱-串联质谱法测定山银花中有机酸和黄酮类化合物的含量[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(3): 275-285.
SHI Y Z, HOU J B, XIE W, et al. Simultaneous determination of organic acids and flavonoids in *Lonicerae flos* by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(3): 275-285.
- [14] 周枝. 基于血清药物化学和多组学的金银花与山银花的成分差异性分析研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2020.
ZHOU Z. Analysis of differences in compositions of *Lonicera japonica* Thunb. and *Lonicera flos* based on serum chemistry and multiomics[D]. Guiyang: Guizhou University, 2020.
- [15] 张军, 郭亮, 梁如意, 等. 仔猪血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量测定[J]. *畜牧与饲料科学*, 2009, 30(9): 10-11.
ZHANG J, GUO L, LIANG R Y, et al. Determination of total protein, albumin and globulin from serum in pigs[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2009, 30(9): 10-11.
- [16] 翟明, 李妍, 李岩. 多肽菌素对肉鸡血清生化指标、血清抗体水平及免疫器官指数的影响[J]. *中国家禽*, 2018, 40(7): 23-26.
ZAI M, LI Y, LI Y. Effects of Polypeptide on serum biochemical index, serum antibody level and immune organ index of broilers[J]. *China Poultry*, 2018, 40(7): 23-26.
- [17] 李振. 中草药抗热应激剂对蛋鸡生产性能、蛋品质及血液生化指标的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2011, 39(9): 48-52.
LI Z. Effects of Chinese herbal medicine additives of anti-heat stress on production performance, egg quality and blood biochemical indexes of laying hens[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2022, 39(9): 48-52.
- [18] 孙焕林, 孙新文, 李洪, 等. 枯草芽孢杆菌发酵棉粕对黄羽肉鸡血液生化指标、免疫性能影响的研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(9): 5-9.
SUN H L, SUN X W, LI H, et al. Effect of cottonseed meal fermented with *Bacillus subtilis* on blood biochemical indexes and

- immune performance in yellow-feathered broilers[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2015(9):5-9.
- [19] WANG J,JI H F,HOU C L, et al. Effects of *Lactobacillus johnsonii* XS4 supplementation on reproductive performance, gut environment, and blood biochemical and immunological index in lactating sows[J]. Livestock Science, 2014, 164:96-101.
- [20] 何娇娇,王萍,冯建,等. 玉米蛋白粉替代鱼粉对大黄鱼生长、血清生化指标及肝脏组织学的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3):506-515.
- HE J J,WANG P,FENG J, et al. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on the growth, serum biochemical indices and liver histology of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(3):506-515.
- [21] 豆腾飞,胡文元,佟荟全,等. 盐津乌骨鸡血液生理生化指标的测定[J]. 中国家禽, 2016, 38(13):58-60.
- DOU T F,HU W Y,TONG H Q, et al. Determination of blood physiological and biochemical parameters of Yanjin black bone chicken[J]. China Poultry, 2016, 38(13):58-60.
- [22] 何云. 黔产金银花和山银花抗炎、免疫和保肝作用药效学对比研究[D]. 贵阳:贵州大学, 2019.
- HE Y. Comparative study on pharmacodynamics of anti-inflammatory immunity and hepatoprotective of *Lonicerae japonica* Thunb. and *Lonicerae flos* in Guizhou Province[D]. Guiyang:Guizhou University, 2019.
- [23] 王坚,杜捷夫,董振超,等. 大鼠重症急性胰腺炎相关性肾损伤动物模型的建立[J]. 中华胃肠内镜电子杂志, 2017, 4(2):70-74.
- WANG J,DU J F,DONG Z C, et al. Establishment of an animal model of severe acute pancreatitis related renal injury in rats [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Endoscopy (Electronic Edition), 2017, 4(2):70-74.
- [24] 李尚民,王克华,曲亮,等. 成年徐海鸡血液生理生化指标分析[J]. 中国家禽, 2016, 38(11):65-67.
- LI S M,WANG K H,QU L, et al. Analysis of blood physiological and biochemical indexes of adult Xuhai chickens[J]. China poultry, 2016, 38(11):65-67.
- [25] 彭西. 日粮硒对雏鸡免疫功能影响的机理研究[D]. 成都:四川农业大学, 2009.
- PENG X. Mechanisms of the immune functional impairment caused by dietary selenium in chickens[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2009.
- [26] CHEN F,ZHANG H,DU E C, et al. Supplemental magnolol or honokiol attenuates adverse effects in broilers infected with *Salmonella pullorum* by modulating mucosal gene expression and the gut microbiota[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2022, 13(1):288-302.
- [27] 蔡治华,龚争,程郁昕,等. 大蒜素对AA肉鸡免疫器官生长发育的影响[J]. 安徽科技学院学报, 2018, 32(04):20-24.
- CAI Z H,GONG Z,CHENG Y X, et al. Effects of allicin on AA broiler's growth and development of immune organs[J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 2008, 32(4):20-24.
- [28] 雷晓军,段小卫. 中草药饲料添加剂对肉仔鸡生长性能和免疫器官指数的影响[J]. 畜牧与饲料科学, 2010, 31(5):42-45.
- LEI X J,DUAN X W. Effects of Chinese herbal feed additive on growth performance and immune organ index of broiler chickens[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2010, 31(5):42-44.
- [29] 易中华,计成,王晓霞,等. 水苏糖对肉仔鸡免疫器官指数和血清免疫球蛋白的影响[J]. 养禽与禽病防治, 2009(2):4-8.
- YI Z H,JI C,WANG X X, et al. Effects of stachyose on immune organ index and serum immunoglobulin in broilers[J]Poultry Husbandry and Disease Control, 2009(2):4-8.
- [30] WOLF C J,WHEELER R J. A critical review of histopathological findings associated with endocrine and non-endocrine hepatic toxicity in fish models[J]. Aquatic Toxicology, 2018, 197:60-78.
- [31] 段纲,杨林富,代飞燕,等. 中草药添加剂对土杂鸡补体 C3, C4 和 IgG 的影响研究[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(3):400-404.
- DUAN G,YANG L F,DAI F Y, et al. Study on effects of herb compound additive on C3, C4, IgG in local-breeding chickens[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2005, 20(3):400-404.
- [32] 王林青. 金银花、山银花体外抗病毒与免疫增强活性研究[D]. 郑州:河南农业大学, 2008.
- WANG L Q. Study on antiviral effect and immunopotentiating activity of *Lonicerae japonica* Thunb. and *Flos lonicerae* in vitro[D]. Zhengzhou:Henan Agricultural University, 2008.
- [33] 赵国一. 山银花黄芩提取物散对无抗养殖肉鸡免疫抗病力的影响及机理研究[D]. 辽宁:沈阳农业大学, 2020.
- ZHAO G Y. Study on the effect and mechanism of *Lonicerae flos* and *Scutellariae radix* on immune resistance of non resistant broilers[D]. Liaoning:Shenyang Agricultural University, 2020.
- [34] 文庆,舒毕琼,丁野,等. 金银花与山银花的资源分布和种植技术发展概况[J]. 中国药业, 2018, 27(2):1-5.
- WEN Q,SHU B Q,DING Y, et al. General situation of resource distribution and development of planting technique of *Lonicera japonica flos* and *Lonicera flos*[J]. China Pharmaceuticals, 2018, 27(2):1-5.

- [35] 葛昕,王元智,龙美贞,等. 山银花和姜黄提取物对蛋鸡输卵管组织形态、抗氧化指标和炎症因子的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2022,58(9):1-11.
GE X, WANG Y Z, LONG M Z, et al. Effects of *Lonicera flos* and *Carcuma longa* L. extracts on oviduct tissue morphology, antioxidant indexes and inflammatory factors in laying hens[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2022, 58(9): 1-11.
- [36] 朱香梅,李晴,石雨荷,等. 山银花的研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 世界中医药, 2022,17(13):1860-1868.
ZHU X M, LI Q, SHI Y H, et al. Research progress in *Flos lonicerae* confusae and prediction of the Q-marker[J]. World Chinese Medicine, 2022, 17(13): 1860-1868.
- [37] 刘燕,朱金凤. 山银花和黄芩提取物对母猪生产性能、繁殖性能及免疫机能的影响[J]. 饲料研究, 2021,44(8):22-25.
LIU Y, ZHU J F. Effect of *Lonicera flos* extract and *Scutellariae radix* extract on production performance, reproductive performance and immune function of sows[J]. Feed Research, 2021, 44(8): 22-25.

Animal Sciences

Effect of *Lonicerae flos* on the Blood Biochemical Parameters and Immunologic Function of Yellow-Feather Broilers

ZHOU Xiaoxue¹, YANG Xian¹, CHEN Yijuan¹, SHI Qinfang¹, ZHANG Xue²

(1. Engineering Research Center for Biotechnology of Active Substances (Ministry of Education),

College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331;

2. College of Pharmacy, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China)

Abstract: In order to evaluate the effect of *Lonicerae flos* as a feed additive on blood biochemical indexes and immune function of yellow-feather broilers (*Gallus gallus domesticus*), a total of 150 two-day-old healthy yellow-feather broilers were randomly divided into 5 experimental groups for a 42-day experiment. The 1st day to the 10th day was the environmental adaptation period, the 11th day to the 26th day (12~27 days old) was the experimental phase I, and the 27th day to the 42nd day (28~43 days old) was the experimental phase II. Yellow-feather broilers in the 5 groups were fed the same basal diet every day, the control group (CK group) was fed with drinking water without *L. flos* components every day, the four *L. flos* treatment groups, namely T1, T2, T3, and T4 groups, were fed with drinking water without *L. flos* components during the environmental adaptation period, and were fed with *L. flos* water extract diluents with the mass fractions of 1.0%, 1.5%, 2.0%, and 3.0% of the original medicinal materials in the experimental I and II periods to replace drinking water. The mass concentrations of total protein, albumin and globulin, the activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and γ -glutamyl transferase, the concentrations of total bile acid, creatinine, uric acid, total cholesterol, triglyceride and glucose, and the concentrations of immunoglobulin IgG and IgA in the blood samples of yellow-feather broilers were measured at the end of phases I and II, respectively. And the weight of bursa of fabricius, spleen and thymus was measured and the immune organ index was calculated. The results obtained showed that there was no significant difference in the mass concentration of total protein, globulin and γ -glutamyltransferase activity in the blood samples of the five groups of yellow-feather broilers. Compared with the CK group, the total bile acid concentration and aspartate aminotransferase activity in the blood samples of yellow-feather broilers were significantly decreased by feeding the water extract diluents of *L. flos* with the mass fractions of 1.0%, 1.5%, and 3.0% of the original medicinal materials. The uric acid concentration in the blood samples of yellow-feather broilers was significantly decreased by feeding the water extract diluents of *L. flos* with the mass fractions of 1.5%, 2.0%, and 3.0% of the original medicinal materials. The water extract diluent of *L. flos* increased the immune organ index of yellow-feather broilers and increased the mass concentration of serum IgA and IgG. The results indicated that feeding the water extract diluents of *L. flos* with the mass fractions of 1.5% of the original medicinal materials could effectively promote the growth of yellow-feather broilers and improve the blood biochemical indexes and immune function of yellow-feather broilers.

Keywords: *Lonicerae flos*; feed additive; yellow-feather broilers; blood biochemical indexes; immune function

(责任编辑 方 兴)