

## -1,3/1,6-葡聚糖对肉仔鸡生产性能和免疫功能的影响

刘影 郭于明 袁建敏 聂伟

(中国农业大学 动物科学技术学院,北京 100094)

**摘要** 研究肉仔鸡日粮中添加 -1,3/1,6-葡聚糖对生产性能、免疫器官重量、细胞免疫功能及体液免疫功能的影响。结果表明,饲喂 -葡聚糖能提高 21 日龄仔鸡法氏囊的重量 ( $P < 0.05$ ) 和 42 日龄外周血淋巴细胞 (PBL) 对脂多糖 (LPS) 的反应 ( $P < 0.05$ )。注射绵羊红细胞 (SRBC) 7 d 后,抗体水平和 IgG 含量达到峰值;与对照组相比,添加 -葡聚糖使其在长时间内维持较高水平,一免 11 d 后差异显著 ( $P < 0.05$ )。-葡聚糖提高了肉仔鸡对新城疫疫苗 (NDV) 的抗体水平,同时还增强了肉仔鸡对 NDV 的免疫应答,二免 9 d 后差异显著 ( $P < 0.05$ )。本研究认为,-1,3/1,6-葡聚糖能提高肉仔鸡的体液免疫和细胞免疫功能。

**关键词** -1,3/1,6-葡聚糖;肉仔鸡;免疫功能

**中图分类号** S 816.7

**文章编号** 1007-4333(2003)01-0091-04

**文献标识码** A

Effects of -1,3/1,6-glucan on performance and immune response of broilers

Liu Ying, Guo Yuming, Yuan Jianmin, Nie Wei

(College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract** The present study was conducted to determine the effects of -1,3/1,6-glucan supplementation in broiler diet on performance, lymphoid organ development, cellular and humoral immune response. The results showed that the relative weight of bursa of Fabricius on day 21 and proliferative response of peripheral blood lymphocytes (PBL) to lipopolysaccharides (LPS) on day 42 were increased significantly ( $P < 0.05$ ). Total antibody and IgG titers against SRBC were the highest on day 7 after the primary immunization and were still higher than control on day 11 after the primary immunization ( $P < 0.05$ ), which kept for longer time. The antibody titers to anti-NDV was higher ( $> 3$ ) than control. Moreover, the anamnestic response was strengthened by -glucan and the titer was different significantly ( $P < 0.05$ ) on day 9 post-secondary immunization. In conclusion, -1,3/1,6-glucan supplementation in broiler diet could stimulate immune competence.

**Key words** -1,3/1,6-glucan; broiler; immune response

-1,3/1,6-葡聚糖普遍存在于细菌、真菌、酵母和植物细胞壁中。有研究发现,酵母 -葡聚糖能提高小鼠对细菌、真菌、病毒和寄生虫的抵抗能力<sup>[1~3]</sup>;Buddle 等用 -葡聚糖降低了母羊乳房炎的发生率<sup>[4]</sup>;有研究认为 -葡聚糖中可能具有提高免疫功能的活性基团,对感染蠕虫病的猪有显著的保护作用<sup>[5]</sup>。研究结果表明 -葡聚糖可能是一种很好的天然免疫增强剂,而开发并使用免疫增强剂以提高疫苗免疫效果,是改善动物健康状况的重要途径。但是,目前把 -葡聚糖作为家禽免疫增强剂的研究还很少。因此,本试验研究了 -葡聚糖对肉仔鸡生产及免疫的影响,并探讨 -葡聚糖的作用机制。

### 1 材料与方法

#### 1.1 -葡聚糖

-葡聚糖是从酵母培养物中提取的、不溶于水、键型为 -1,3/1,6-葡聚糖,纯化率达 98%。

#### 1.2 试验动物、日粮和试验设计

试验使用 432 只 1 日龄艾维茵肉用仔鸡,采用 3 层笼养,饲养在人工控温的肉鸡舍。试验过程按常规的肉鸡免疫程序进行免疫。

参照 NRC 肉鸡营养需要配制试验日粮<sup>[6]</sup>,共设 3 个日粮处理组:A 为对照组,B、C 分别是在对照组日粮中添加了 -葡聚糖 12.5 和 25.0 mg·kg<sup>-1</sup>的 2

收稿日期:2002-12-31

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270967)

作者简介:刘影,博士研究生;郭于明,教授,导师,主要从事家禽营养研究, E-mail:guoym@public.bta.net.cn

个试验组。各处理组的日粮配方和营养水平完全相同(表1)。

表1 试验日粮配方及营养水平

Table 1 Composition and nutrient level of trail diet

原料组成/ %	0~3 周龄		营养水平	4~6 周龄	
	0~3 周龄	4~6 周龄		0~3 周龄	4~6 周龄
玉米	56.03	62.38	代谢能		
豆粕	37.22	31.47	Mcal kg <sup>-1</sup>	3.00	3.05
豆油	2.74	2.47	粗蛋白/ %	21.00	19.00
磷酸氢钙	1.94	1.65	赖氨酸/ %	1.10	1.00
石粉	1.17	1.13	蛋氨酸/ %	0.50	0.45
赖氨酸	0.04	0.08	钙/ %	1.00	0.90
蛋氨酸	0.18	0.15	有效磷/ %	0.45	0.40
抗氧化剂	0.02	0.02			
食盐	0.35	0.35			
50%氯化胆碱	0.10	0.10			
维生素预混料 <sup>1</sup>	0.02	0.02			
微量元素预混料 <sup>2</sup>	0.20	0.20			

注:1 维生素预混料(每 kg 饲料提供):VA 12 500 IU, VD<sub>3</sub> 2 500 IU;以下为 mg:VE 18.75、VK<sub>3</sub> 2.65、VB<sub>1</sub> 2、VB<sub>2</sub> 6、VB<sub>12</sub> 0.025、生物素 0.032 5、叶酸 1.25、泛酸 12、烟酸 50。

2 微量元素预混料(每 kg 饲料提供 mg):Cu 8、Zn 75、Fe 80、Mn 100、Se 0.15、I 0.35。

试验采用单因子完全随机设计。其中 324 只鸡分为 3 个处理组,每个处理设 6 个重复,每个重复 18 只鸡,研究 -葡聚糖对生产性能、免疫器官重量及细胞免疫功能的影响。另外的 108 只鸡分为 3 个处理组,分别采食以上 3 种试验日粮,每处理 36 个重复,每重复 1 只鸡(每只鸡都带着翅号)。这 108 只鸡除了按正常免疫程序免疫外,在 14、28 日龄还要翅静脉注射 0.2 mL SRBC(用 0.90% 无菌生理盐水新鲜配制,绵羊红细胞含量为 2%)。于 18、21、24、28、32、35、38 和 42 日龄采血,研究 -葡聚糖对体液免疫功能的调节作用。

### 1.3 测定指标

1.3.1 生产性能 包括 0~3 周龄、4~6 周龄及 0~6 周龄的日增重、阶段增重、采食量、耗料比和死亡率。

1.3.2 免疫器官重量 分别于 21 和 42 日龄从各个处理组中随机取 12 只鸡,空腹称重。屠宰后完整取下法氏囊、脾脏和左侧胸腺,称重,计算免疫器官指数。按以下公式计算:(免疫器官重量 × 1 000)/活重。

1.3.3 外周血淋巴细胞转化率 分别于 21 和 42 日龄从各个处理组中随意抓 6 只鸡,翅静脉无菌采集 2 mL 抗凝血(肝素抗凝,20 IU mL<sup>-1</sup>)。采用微量全血体外培养和<sup>3</sup>H 胸腺嘧啶(<sup>3</sup>H TdR)掺入法测定外周血淋巴细胞对刀豆素 A(ConA)和 LPS 的增生反应。用液体闪烁计数仪测定细胞内掺入 DNA 中的

<sup>3</sup>H TdR 的放射性相对数量(即每分钟的脉冲数 CPM)来反映转化率的高低<sup>[7]</sup>。结果用刺激指数(SI)表示。SI = (ConA(或 LPS)刺激管的 CPM 值 - 闪烁液本底值)/(对照管的 CPM 值 - 闪烁液本底值)

1.3.4 体液免疫指标 18、21、24、28、32、35、38 和 42 日龄时对 108 只鸡翅静脉采血,分离血清,-30 保存。试验结束后,从各个处理组中选出全期试样完整的 8 只鸡的血清样品进行测定。用红血球凝集法(HA)检测抗 SRBC 的总抗体效价和 IgG 含量<sup>[8]</sup>,用间接血凝法(HI)检测抗 NDV 抗体水平。

### 1.4 数据处理和统计分析

采用 SPSS(10.0)软件的 ONE-WAY ANOVA 先进行方差齐次性检验,再进行 F 检验和 LSD 多重比较。

## 2 结果与讨论

### 2.1 -葡聚糖对肉仔鸡生产性能的影响(表 2)

-葡聚糖对肉仔鸡的生产性能没有明显的影 响。但阶段增重、日增重和采食量随着 -葡聚糖添加剂量增加有提高的趋势。

### 2.2 -葡聚糖对免疫器官相对重量的影响(表 3)

在日粮中添加 -葡聚糖,21 日龄时免疫器官的相对重量都有增加的趋势,法氏囊相对重量差异显著( $P < 0.05$ )。而在 42 日龄时,免疫器官的相对重量均无差异。法氏囊是家禽特有的中枢免疫器官,是 B 淋巴细胞分化和成熟的场所。以上结果说明,法氏囊可能是 -葡聚糖调节家禽免疫功能的主要器官。来自骨髓的淋巴干细胞在法氏囊被诱导分化为成熟的 B 淋巴细胞,经淋巴和血液循环到外周淋巴器官参与体液免疫。法氏囊在 21 日龄以前良好的发育状况对增强肉仔鸡的体液免疫功能以及 B 淋巴细胞的免疫功能将起着关键的作用。

### 2.3 -葡聚糖对外周血淋巴细胞转化率的影响

ConA 和 LPS 是常用来检测淋巴细胞转化率的丝裂原。由于 T 细胞和 B 细胞表面的丝裂原受体不一样,ConA 主要刺激 T 细胞,而 LPS 只刺激 B 细胞。本试验用刀豆素 A(ConA)和大肠杆菌脂多糖(LPS)作为刺激原,通过体外培养以诱发外周血淋巴细胞发生增生反应。结果表明,日粮中添加 -葡聚糖能显著提高 42 日龄时外周血淋巴细胞对 LPS 的反应( $P < 0.05$ ,表 4)。国内主要研究不同来源的多糖对免疫功能的调节作用。杨晓林等发现褐藻糖胶对 B 淋巴细胞的分化起着显著的促进作用,因而认

为多糖类的免疫调节作用可能是通过激活 B 淋巴细胞的免疫功能而产生的<sup>[9]</sup>。Aakre 等发现 -葡聚糖对鲑鱼免疫功能有影响,其中淋巴细胞对 LPS 的

反应尤为显著<sup>[10]</sup>。本试验结果与上述研究相似,即日粮中添加 -葡聚糖,能提高肉仔鸡 B 淋巴细胞的免疫功能。

表 2 -葡聚糖对肉仔鸡生产性能的影响

Table 2 Effects of -glucan on performance of broilers

n = 6

日粮处理	阶段增重	日增重/(g·d <sup>-1</sup> )	采食量/(g·d <sup>-1</sup> )	耗料比	死亡率/%	
0~3 周龄	A	660.5 ±11.4	31.5 ±0.62	43.5 ±0.42	1.38 ±0.01	0.92 ±0.92
	B	667.0 ±6.78	32.0 ±0.36	44.6 ±0.49	1.42 ±0.02	2.78 ±1.24
	C	672.2 ±9.63	32.2 ±0.40	44.6 ±0.56	1.38 ±0.10	2.78 ±1.24
	P	NS	NS	NS	NS	NS
4~6 周龄	A	1 889.8 ±21.4	52.9 ±1.53	128.5 ±2.06	2.42 ±0.09	4.16 ±2.08
	B	1 904.4 ±24.8	51.8 ±2.37	133.2 ±5.00	2.49 ±0.15	9.38 ±2.67
	C	1 930.2 ±28.9	53.6 ±1.58	135.9 ±1.01	2.50 ±0.10	3.12 ±1.40
	P	NS	NS	NS	NS	NS
0~6 周龄	A	1 889.8 ±21.4	45.0 ±0.50	89.8 ±1.52	1.88 ±0.02	4.63 ±2.22
	B	1 904.4 ±24.8	45.4 ±0.60	94.0 ±3.88	1.92 ±0.06	11.11 ±3.20
	C	1 930.2 ±28.9	46.0 ±0.68	94.5 ±1.12	1.93 ±0.03	5.56 ±1.43
	P	NS	NS	NS	NS	NS

注:NS—没有显著差异。A 为 CK,B、C 为日粮添加 -葡聚糖 12.5 和 25.0 mg·kg<sup>-1</sup>。下同。

表 3 -葡聚糖对肉仔鸡免疫器官相对重量的影响

Table 3 Effects of -glucan on immune organs weight of broilers

n = 12

日粮处理	法氏囊指数	脾脏指数	胸腺指数	
21 日龄	A	2.37 ±0.20 b	1.15 ±0.07	3.33 ±0.20
	B	2.66 ±0.13 ab	1.20 ±0.06	3.45 ±0.30
	C	2.98 ±0.18 a	1.24 ±0.10	3.32 ±0.31
	P	0.016	NS	NS
42 日龄	A	1.46 ±0.20	1.98 ±0.18	2.55 ±0.29
	B	1.12 ±0.16	1.62 ±0.08	2.26 ±0.22
	C	1.36 ±0.14	1.86 ±0.19	3.14 ±0.22
	P	NS	NS	NS

注:a,b—同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

表 4 -葡聚糖对肉仔鸡外周血淋巴细胞转化率的影响

Table 4 Effects of -glucan on proliferative response of peripheral blood lymphocytes of broilers

n = 6

日粮处理	ConA 刺激的 SI	LPS 刺激的 SI	
21 日龄	A	1.03 ±0.30	1.16 ±0.41
	B	0.96 ±0.25	1.00 ±0.31
	C	1.98 ±0.66	1.63 ±0.64
	P	NS	NS
42 日龄	A	2.40 ±0.46	1.44 ±0.25 b
	B	4.57 ±0.95	1.95 ±0.22 b
	C	4.65 ±1.14	3.40 ±0.42 a
	P	NS	0.003

2.4 -葡聚糖对抗 SRBC 抗体总量和 IgG 含量的影响(表 5)

SRBC 是一种典型的胸腺依赖性抗原,在生产或

试验研究中常用于检测家禽的免疫能力。从本研究可看出,注射 SRBC 7 d 后,抗体水平就能达到峰值,与 van der Zijpp 等的研究一致<sup>[11]</sup>。日粮中添加 -葡聚糖,使血清中抗 SRBC 的抗体总量及 IgG 含量在长时间内保持较高水平,一免 11 d 后,二者都具有显著差异(P<0.05)。二免以后,抗体总量和 IgG 水平很快达到高峰,下降的幅度也相对较小。由以上结果可知,肉仔鸡日粮中添加 -葡聚糖能提高血清中抗 SRBC 的抗体总量及 IgG 含量,还能增强记忆应答,在长时间内维持着较高的抗体水平。这与 Benda 和 Madr 研究 -葡聚糖对山羊体液免疫的调节作用的结果很相似<sup>[12]</sup>。

2.5 -葡聚糖对新城疫疫苗抗体的影响(表 6)

本试验中所用疫苗的供应商提供的资料指出,当抗体滴度高于 3 时,肉仔鸡对新城疫就具有较高的保护率。本试验的肉鸡在整个饲养时期内抗新城疫的抗体水平见表 6。各处理组对新城疫疫苗产生免疫应答的反应速度各不一样,各组分别在二免后 12、9 和 1 d 才再次达到峰值,9 d 后抗体水平差异显著(P<0.05)。Chen 和 Ainsworth 认为 -葡聚糖的使用剂量、使用方式以及疫苗和 -葡聚糖使用的时间关系对疫苗的使用效果有很大影响<sup>[13]</sup>。由此可知,日粮中添加 -葡聚糖能增强肉仔鸡对 NDV 的记忆应答,抗体滴度在长时间内维持着较高的水平,对新城疫病毒会有较高的保护率。Alam 指出胸腺和法氏囊是家禽产生新城疫特异抗体的主要免疫器官<sup>[14]</sup>。因此,-葡聚糖提高肉仔鸡体内抗新城疫的

抗体可能与法氏囊良好的发育状况有密切关系。

表5  $\beta$ -葡聚糖对肉仔鸡抗 SRBC 的抗体总量和 IgG 含量的影响(log<sub>2</sub>)  
Table 5 Effects of  $\beta$ -glucan on total antibody and IgG against SRBC of broilers(log<sub>2</sub>) n=8

日粮处理	一免后天数/d				二免后天数/d				
	4	7	11	14	4	7	11	14	
抗体总量(log <sub>2</sub> )	A	1.2 ±0.5	5.4 ±0.6	3.3 ±0.5 b	2.2 ±0.5	10.0 ±1.0	10.2 ±1.2	7.0 ±0.7	5.4 ±0.5
	B	1.0 ±0.4	6.3 ±0.8	3.8 ±0.1 b	2.9 ±0.7	10.1 ±1.3	11.1 ±1.3	7.3 ±0.5	5.5 ±0.3
	C	0.5 ±0.1	5.8 ±0.4	5.8 ±0.3 a	2.9 ±0.6	11.2 ±0.9	10.0 ±1.0	7.8 ±0.1	6.2 ±0.6
	P	NS	NS	0.036	NS	NS	NS	NS	NS
IgG(log <sub>2</sub> )	A	0.6 ±0.1	4.1 ±0.8	2.2 ±0.4 b	1.8 ±0.4	7.9 ±0.6	5.8 ±0.5	5.5 ±0.6	3.9 ±0.6
	B	0.5 ±0.1	5.3 ±0.8	2.8 ±0.7 b	2.0 ±0.5	6.6 ±1.3	7.4 ±0.7	5.3 ±0.6	4.8 ±0.3
	C	0.3 ±0.1	4.7 ±0.5	4.2 ±0.4 a	2.0 ±0.5	7.9 ±1.0	6.9 ±0.5	6.1 ±0.3	4.5 ±0.3
	P	NS	NS	0.036	NS	NS	NS	NS	NS

表6  $\beta$ -葡聚糖对肉仔鸡抗 NDV 抗体水平的影响(log<sub>2</sub>)  
Table 6 Effects of  $\beta$ -glucan on antibody level to anti-NDV of broilers(log<sub>2</sub>) n=8

日粮处理	一免后天数/d		二免后天数/d					
	11	14	1	5	9	12	15	19
A	4.5 ±0.5	3.9 ±0.5	3.0 ±0.6	2.4 ±0.6	0.8 ±0.2 b	3.6 ±0.7	2.9 ±0.5	1.8 ±0.4
B	3.4 ±0.5	3.8 ±0.3	3.1 ±0.4	2.4 ±0.4	3.8 ±0.7 a	3.4 ±1.1	3.3 ±0.8	2.5 ±0.7
C	3.5 ±0.5	3.5 ±0.7	4.5 ±0.9	4.3 ±0.8	4.3 ±0.8 a	4.0 ±0.9	3.8 ±0.6	3.8 ±0.9
P	NS	NS	NS	NS	0.002	NS	NS	NS

### 3 结 论

在肉仔鸡日粮中添加 25.0 mg kg<sup>-1</sup>的  $\beta$ -1,3/1,6-葡聚糖能显著提高肉仔鸡的体液免疫和细胞免疫功能。

### 参 考 文 献

- [1] Reynold J A, Castello M D, Harrington D G, et al. Glucan induced enhancement of host resistance to selected infectious diseases [J]. *Infect Immun*, 1980, 30:51~57
- [2] Di Luzio N R. Immunopharmacology of glucan: a broad spectrum enhancer of host defense mechanisms [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1983, 4:344~347
- [3] Chihar G. Immunopharmacology of lentinan as the glucan [J]. *Immunol Immunopharmacol*, 1984, 4:85~96
- [4] Buddle B M, Pulford H D, Ralston M. Protect effect of glucan against experimentally induced staphylococcal mastitis in ewes [J]. *Vet Microbiol*, 1988, 16:67~76
- [5] Benkova M, Boroskova Z, Soltys J, et al. Effect of glucan preparation on immunocompetent cells and phagocytic ability of blood leucocytes in experimental ascariasis of pigs [J]. *Vet Parasitol*, 1992, 41:157~166
- [6] NRC. Nutrient requirements of poultry [H]. (9<sup>th</sup> ed). Washington D C: National Academy press, 1994
- [7] 吴建设,张日俊. 全血法鸡淋巴细胞转化试验最佳试验条件研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 1997, 28(3):212~216
- [8] Dellhangy J J, Solomon J B. The nature of antibodies to goat erythrocytes in the developing chicken [J]. *Immunology*, 1966, 11:103~113
- [9] 杨晓林,孙菊云,张邵伦. 褐藻糖胶的有丝分裂原效应 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1991, 11(5):282~284
- [10] Aakre R, Wergeland H I, Aasjord P M, et al. Enhanced antibody response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) to *Aeromonas salmonicida* cell wall antigens using a bacterin containing  $\beta$ -1,3-M $\beta$ glucan as adjuvant [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 1994, 4:47~61
- [11] Van der Zijpp, Scott T R, Gick B. The effect of different routes of antigen administration on the humoral immune response of the chick [J]. *Poultry Sci*, 1986, 65:809~811
- [12] Benda V, Madr P. Assessment of lymphocyte and phagocytic functions in goats treated with glucan [J]. *J Vet Med B*, 1991, 38:681~684
- [13] Chen D, Ainsworth A J. Glucan administration potentiates immune defence mechanisms of channel catfish *Ictalurus punctatus* Rafinesque [J]. *J Fish Dis*, 1992, 15:295~304
- [14] Alam K M T, Lslam M A, Rahman M M. Antibody response and pathological change in immunosuppressed chicks immunized and challenged against Newcastle disease [J]. *Bangladesh Vet J*, 1997, 31:23~27