

树舌发酵浸膏多糖对肉鸡肠黏膜组织结构及肠道免疫细胞的影响

邢亚丽¹ 宋慧^{1,2*} 姜云瑶¹ 牛姝力¹ 丁国栋¹ 尚红梅¹

(1. 吉林农业大学 生命科学学院, 长春 130118;
2. 食药菌教育部工程研究中心, 长春 130118)

摘要 为研究肉鸡日粮中添加树舌发酵浸膏多糖(Polysaccharides from the fermentation concentrate of *Ganoderma applanatum* (Pers. ex Gray.), GAP)对肉鸡肠黏膜结构及上皮内淋巴细胞和杯状细胞数量的影响,选用1日龄健康AA肉鸡225只,随机分成5个处理组,每组3次重复,每次重复15只。5个处理组分别为空白对照组(基础日粮)、抗生素阳性对照组(基础日粮+5 mg/kg 黄霉素)和3个GAP组(基础日粮中分别添加0.05%、0.10%和0.20% GAP),试验期42 d。结果表明:1)与对照组相比,日粮中添加0.10%和0.20%的GAP可显著增加肉鸡肠绒毛高度($P<0.05$),降低隐窝深度($P<0.05$),提高肠绒毛高度和隐窝深度的比值(V/C)($P<0.05$);2)与对照组相比,日粮中添加0.10%和0.20%GAP显著升高小肠各段的上皮内淋巴细胞和杯状细胞数量($P<0.05$);3)小肠各段上皮内淋巴细胞和杯状细胞数量随年龄增长而逐渐增多;4)同一日龄各试验组的上皮内淋巴细胞数量从十二指肠到回肠递减,而杯状细胞则呈递增趋势。以上结果提示:在肉鸡日粮中添加GAP可显著改善肉鸡小肠黏膜结构,维持肠道黏膜的正常屏障结构,促进肉鸡健康生长。其中以0.10%GAP添加量效果最好。

关键词 肉鸡;树舌;多糖;肠黏膜;上皮内淋巴细胞;杯状细胞

中图分类号 S 831.5 文章编号 1007-4333(2015)03-0126-07 文献标志码 A

Effects of the polysaccharides from the fermentation extract of *Ganoderma applanatum* on the mucosal structure and intestinal immunocyte of broilers

XING Ya-li¹, SONG Hui^{1,2,*}, JIANG Yun-yao¹, NIU Shu-li¹, DING Guo-dong¹, SHANG Hong-mei¹

(1. School of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, Changchun 130118, China)

Abstract Experiment was conducted to study the effects of dietary polysaccharides from the fermentation concentrate of *Ganoderma applanatum* (Pers. ex Gray.) pat on the mucosal structure and number of intraepithelial lymphocytes and goblet cell in the small intestine of broilers. A total of 225 one-day-old healthy AA broilers were randomly divided into 5 groups with 3 replicates of 15 broilers each. The 5 groups were fed with the basal diet or diets added 5 mg/kg Flavomycin or three concentrations of GAP (0.05%, 0.10% and 0.20%) during the 42 days study. The results showed that: 1) Dietary supplemented with 0.10% and 0.20% level of GAP significantly increased villus height ($P<0.05$) and V/C ($P<0.05$), decreased the depth of crypt ($P<0.05$); 2) Dietary supplemented with 0.10% and 0.20% level of GAP significantly increased the number of intraepithelial lymphocyte and goblet cell in each segment of small intestine ($P<0.05$); 3) the number of lymphocytes and goblet cells increased in each segment of small intestine with increasing of age; 4) The number of intraepithelial lymphocytes was gradually reduced from duodenum to ileum in the same age, but the Goblet cell number exhibited an increasing trend. It could conclude that dietary supplementation with GAP could improve the structure of small intestinal mucosa, maintain intestinal mucosal barrier function, and promote the healthy growth of broilers. and the best additive amount in the diet was 0.10%.

Key words broiler; *Ganoderma applanatum*; polysaccharide; mucosal epithelium; intraepithelial lymphocytes; goblet cell

收稿日期: 2014-08-09

基金项目: 吉林省世行贷款农产品质量安全项目(2011-Y18)

第一作者: 邢亚丽, 硕士研究生, E-mail: 15844089450@163.com

通讯作者: 宋慧, 教授, 博士生导师, 主要从事菌物生物化学研究, E-mail: songhuinongda@163.com

随着生态学的迅速发展,家禽的肠道健康已引起国内外学者的广泛关注。肠道是机体的重要组成部分,其主要作用是对营养物质的消化和吸收,除此之外,肠黏膜是病原微生物的主要入侵门户,也是保护机体的第一道防线^[1-2]。因此,维持健康的肠道结构和功能与家禽的快速生长及抗病防病有密不可分的关系^[3]。

抗生素作为抑菌药物和促生长剂已在畜禽养殖业中广泛应用了半个多世纪。然而,长期使用抗生素引起的抗药性、二重感染及药物残留等问题虽然尚未有足够的证据加以证实,却一直使消费者心存忧虑^[4]。因而,积极寻求能改善畜禽健康,安全无毒的免疫增强剂已成为目前研究的热点之一。越来越多的研究报道表明,多糖作为一种免疫促进和调节剂,具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化和抗病毒等生物学活性^[5-7]。树舌(*Ganoderma applanatum* (Pers. ex Gray.) Pat., GAP)是隶属于真菌门担子菌纲的食药真菌。一些研究显示,树舌多糖对治疗胃溃疡、消化性胃炎及病毒性肝炎,提高机体免疫力有良好功效^[8-10]。本试验选用工厂化生产的 GAP 作为试

验材料,以 AA 肉鸡为试验材料,研究日粮中添加 GAP 对肉鸡肠黏膜结构及上皮内淋巴细胞和杯状细胞数量的影响,旨在为 GAP 在肉鸡生产中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

树舌发酵浸膏由吉林大学白求恩医大制药厂提供。试验用 AA 肉鸡购自吉林省梅河口市德坤禽类食品有限公司。

1.2 试验分组及管理

试验选取 1 日龄健康、体重相近的 AA 肉鸡 225 只。随机分成 5 个处理组,每组 3 次重复,每次重复 15 只。5 个处理组分别为对照组(玉米-豆粕型基础日粮),抗生素组(基础日粮+5 mg/kg 黄霉素)和 GAP 组(基础日粮中分别添加 0.05%、0.10% 和 0.20% 的 GAP),试验期 42 d。自由采食和饮水,按常规免疫程序进行免疫接种,每日观察肉鸡采食情况及其生长状况。试验用舍为吉林农业大学中药材学院经济动物研究育雏室。基础日粮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 Compostion and nutrient levels of basal diets (Air dry basis)

指标 Index	0~21 日龄 0 to 21 days old	22~42 日龄 22 to 42 days old
<i>w</i> (原料)/% Ingredients		
玉米 Corn	54.69	58.70
豆粕 Soybean meal	37.40	33.90
玉米油 corn oil	3.50	3.50
蛋氨酸 Met	0.20	0.10
磷酸氢钙 CaHPO ₄ · 2H ₂ O	1.90	1.30
食盐 NaCl	0.21	0.20
石粉 Limestone	1.10	1.30
预混料 Premix ^①	1.00	1.00
营养水平* Nutrient levels		
<i>w</i> (粗蛋白)/% Crude protein	21.18	19.97
<i>w</i> (钙)/% Calcium	0.97	0.89
<i>w</i> (有效磷)/% Available phosphorusP	0.45	0.35
代谢能/(MJ/kg) AME	12.45	12.64

注: * 为计算值。① 预混料为每 kg 基础日粮含有:维生素 A 1500 IU,维生素 B1 1.8 mg,维生素 B2 3.6 mg,维生素 B6 3.5 mg,维生素 B12 0.01 mg,维生素 D3 200 IU,维生素 E 10 mg,维生素 K 0.5 mg,泛酸 10 mg,烟酸 35 mg,叶酸 0.55 mg,生物素 0.15 mg,胆碱 1 300 mg,锰 60 mg,锌 40 mg,铁 80 mg,铜 8 mg,碘 0.35 mg,硒 0.15 mg。

Note: * Calculated values. ① Premix provided per kg of diet: vitamin A 1500 IU, vitamin B1 1.8 mg, vitamin B2 3.6 mg, vitamin B6 3.5 mg, vitamin B12 0.01 mg, vitamin D3 200 IU, vitamin E 10mg, vitamin K 0.5 mg, pantothenic acid 10 mg, niacin 35 mg, folic acid 0.55 mg, biotin 0.15 mg, choline chloride 1 300 mg, Mn 60 mg, Zn 40 mg, Fe 80 mg, Cu 8 mg, I 0.35 mg, Se 0.15 mg.

1.3 样品采集及制备

分别于试验第21和42天采样,每个重复随机选取3只鸡,称重后,颈动脉放血致死,剖开腹腔,剪取十二指肠、空肠和回肠各3 cm,用冰生理盐水冲洗肠内部食糜,用40 g/L多聚甲醛磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)固定48 h,常规石蜡包埋,连续切片(厚6 μm),每隔10张取1张,进行常规HE和糖原及多糖高碘酸-Schiff氏剂(PAS)染色。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 肠绒毛的形态观察及测量

经HE染色后,用Leica-DFC450.C显微镜观察小肠黏膜结构,各段小肠取不相邻的5张切片,每张切片选取绒毛完整,走向平直处拍照,照片应用Image-Pro Plus 5.0图像分析系统进行分析,每张照片分别选取5根最长的绒毛高度和最深的隐窝深度进行测量。

1.4.2 肠道免疫细胞的观察及计数

用Leica-DFC450.C显微镜分别观察HE和PAS染色切片,各肠段选择5张染色较好的切片,在40 \times 10倍光镜下观察并拍照计数,照片应用Image-Pro Plus 5.0图像分析系统进行分析,每张照片选取5根最长绒毛统计每100个肠黏膜柱状细胞间的上皮内淋巴细胞和杯状细胞数量。

1.5 数据统计分析

采用SPSS 17.0统计软件进行统计学处理,方差分析使用One-way ANOVA,采用最小显著差异法(LSD)进行多重比较,数据以平均值 \pm 标准差表示, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 GAP对肉鸡肠绒毛形态的影响

由表2中可见,21日龄时,与对照组相比,0.05%和0.10%的GAP能够显著提高绒毛高度和绒毛高度/隐窝深度比值(V/C),绒毛高度较对照组分别提高了15.33%和31.91%($P<0.05$),而V/C值较对照组分别提高了18.90%和44.11%($P<0.05$);抗生素组隐窝深度与对照组相比降低了12.71%($P<0.05$),其余各组隐窝深度与对照组相比无明显差异($P>0.05$)。42日龄时,与对照组相比,GAP可显著提高绒毛高度和V/C值($P<0.05$),绒毛高度较对照组相比分别提高了37.82%、45.29%和16.72%,而V/C值分别提高39.43%、49.93%和15.89%;与对照组相比,抗生素组绒毛高度降低了16.23%($P<0.05$),隐窝深度降低了14.68%($P<0.05$)。可以看出,在整个试验期,0.10%的GAP添加组在改善肉鸡十二指肠黏膜结构方面效果明显优于对照组和抗生素组。

表2 GAP对肉鸡十二指肠黏膜结构的影响

Table 2 Effect of GAP on duodenal mucosa of broilers

日龄/d	处理	绒毛高度/ μm	隐窝深度/ μm	绒毛高度/隐窝深度
Days old	Treatment	VH	CD	V/C
21	对照	1 070.56 \pm 47.52 c	146.91 \pm 6.47 a	7.30 \pm 0.62 c
	抗生素	995.63 \pm 93.50 c	128.24 \pm 5.88 b	7.79 \pm 0.97 bc
	0.05% GAP	1 234.00 \pm 53.07 b	142.34 \pm 3.71 a	8.68 \pm 0.59 b
	0.10% GAP	1 412.28 \pm 30.26 a	138.26 \pm 3.44 a	10.22 \pm 0.28 a
	0.20% GAP	1 109.02 \pm 74.39 c	140.74 \pm 1.36 a	7.88 \pm 0.48 bc
42	对照	982.31 \pm 40.64 c	139.51 \pm 3.25 a	7.05 \pm 0.40 c
	抗生素	822.87 \pm 82.90 d	119.03 \pm 7.00 b	6.90 \pm 0.31 c
	0.05% GAP	1 353.85 \pm 68.05 a	137.78 \pm 2.65 a	9.83 \pm 0.54 a
	0.10% GAP	1 427.20 \pm 95.51 a	135.17 \pm 3.46 a	10.57 \pm 0.95 a
	0.20% GAP	1 146.6 \pm 240.59 b	140.59 \pm 4.45 a	8.17 \pm 0.67 b

注:同列数据后字母相异表示差异显著($P<0.05$),字母相同表示差异不显著($P>0.05$)。下表同。

Note: Different letters in the same column means significant difference between the treatments($P<0.05$), the same letters in the same column means not significant difference between the treatments($P>0.05$). The same as below.

21日龄时,与对照组相比,0.1% GAP添加组绒毛高度提高了17.77%($P<0.05$),隐窝深度降低了13.31%($P<0.05$),V/C值提高了35.62%

($P<0.05$),抗生素组与对照组相比各项指标均无显著差异($P>0.05$)(表3)。42日龄时,与对照组相比,0.1% GAP添加组绒毛高度提高了26.87%

($P < 0.05$), V/C 值提高了 33.26% ($P < 0.05$), 0.05% GAP 添加组隐窝深度降低了 8.59% ($P < 0.05$)。抗生素组与对照组相比各项指标均无显著

差异($P > 0.05$)。其中, 0.1% 的 GAP 添加组在改善肉鸡空肠黏膜结构方面效果明显优于对照组和抗生素组。

表 3 GAP 对肉鸡空肠粘膜结构的影响

Table 3 Effect of GAP on Jejunum mucosa of broilers

日龄/d Days old	处理 Treatment	绒毛高度/ μm VH	隐窝深度/ μm CD	绒毛高度/隐窝深度 (V/C)
21	对照	868.82±66.25 b	124.64±6.41 a	6.99±0.75 b
	抗生素	866.90±75.48 b	120.41±2.76 a	7.20±0.64 b
	0.05% GAP	924.30±28.88 b	124.60±0.82 a	7.42±0.21 b
	0.10% GAP	1 023.23±59.72 a	108.05±4.02 b	9.48±0.60 a
	0.20% GAP	857.62±21.16 b	117.70±1.47 a	7.29±0.09 b
42	对照	1 077.04±108.06 b	112.91±8.76 b	9.59±1.32 b
	抗生素	1 065.13±21.71 b	113.72±3.10 b	9.37±0.35 b
	0.05% GAP	1 216.09±7.03 b	122.61±3.69 a	9.92±0.27 b
	0.10% GAP	1 366.49±92.24 a	106.89±2.78 b	12.78±0.63 a
	0.20% GAP	1 143.52±102.94 b	110.51±3.06 b	10.34±0.69 b

由表 4 可见, 21 日龄时, 与对照组相比, 0.05% 和 0.10% GAP 添加组均能显著提高绒毛高度和 V/C 值, 绒毛高度较对照组分别提高了 38.72% 和 48.94% ($P < 0.05$), V/C 值较对照组分别提高 38.47% 和 61.07% ($P < 0.05$), 0.10% 和 0.20% GAP 添加组隐窝深度分别降低了

7.56% 和 4.70% ($P < 0.05$)。抗生素组与对照组相比各项指标均无显著差异($P > 0.05$)。42 日龄时, 与对照组相比, 0.05% 和 0.10% GAP 添加组绒毛高度分别提高了 15.98% 和 28.52% ($P < 0.05$); 与对照组相比, GAP 能显著提高 V/C 值, 降低隐窝深度 ($P < 0.05$), 0.05%、0.10% 和

表 4 GAP 对肉鸡回肠粘膜结构的影响

Table 4 Effect of GAP on Ileum mucosa of broilers

日龄/d Days old	处理 Treatment	绒毛高度/ μm VH	隐窝深度/ μm CD	绒毛高度/隐窝深度 (V/C)
21	对照	801.42±53.08 b	122.43±4.47 a	6.55±0.50 c
	抗生素	803.73±54.64 b	116.71±1.43 ab	6.87±0.48 c
	0.05% GAP	1 111.72±63.98 a	122.62±1.83 a	9.07±0.56 b
	0.10% GAP	1 193.63±124.47 a	113.17±3.07 b	10.55±1.09 a
	0.20% GAP	761.94±53.16 b	116.68±5.60 ab	6.55±0.71 c
42	对照	949.63±23.71 c	120.37±2.31 a	7.90±0.27 d
	抗生素	943.48±32.93 c	117.47±2.32 ab	8.03±0.28 cd
	0.05% GAP	1 101.41±61.61 b	113.58±4.68 b	9.71±0.82 b
	0.10% GAP	1 220.46±58.39 a	105.53±2.26 c	11.57±0.70 a
	0.20% GAP	1 019.08±16.36 c	114.51±1.77 b	8.90±0.25 bc

0.20% GAP 添加组隐窝深度分别降低了 5.64%、12.32% 和 4.87% ($P < 0.05$), 0.05%、0.10% 和 0.20% 的 GAP 添加组 V/C 值分别提高 22.91%、46.46% 和 12.66%。这些结果表明, 0.10% 的 GAP 添加组在改善肉鸡回肠黏膜结构方面具有最优效果(图 1)。

2.2 GAP 对肉鸡肠黏膜上皮内淋巴细胞数量的影响

21 和 42 日龄时, 与对照组相比, 除 21 日龄的 0.05% GAP 添加组外, 其余添加不同水平的 GAP 均能显著升高小肠各段的上皮内淋巴细胞数量 ($P < 0.05$)(表 5)。其中, 0.10% 添加组上皮内淋巴细胞数量均高于 0.05% 和 0.20% GAP 添加组, 并

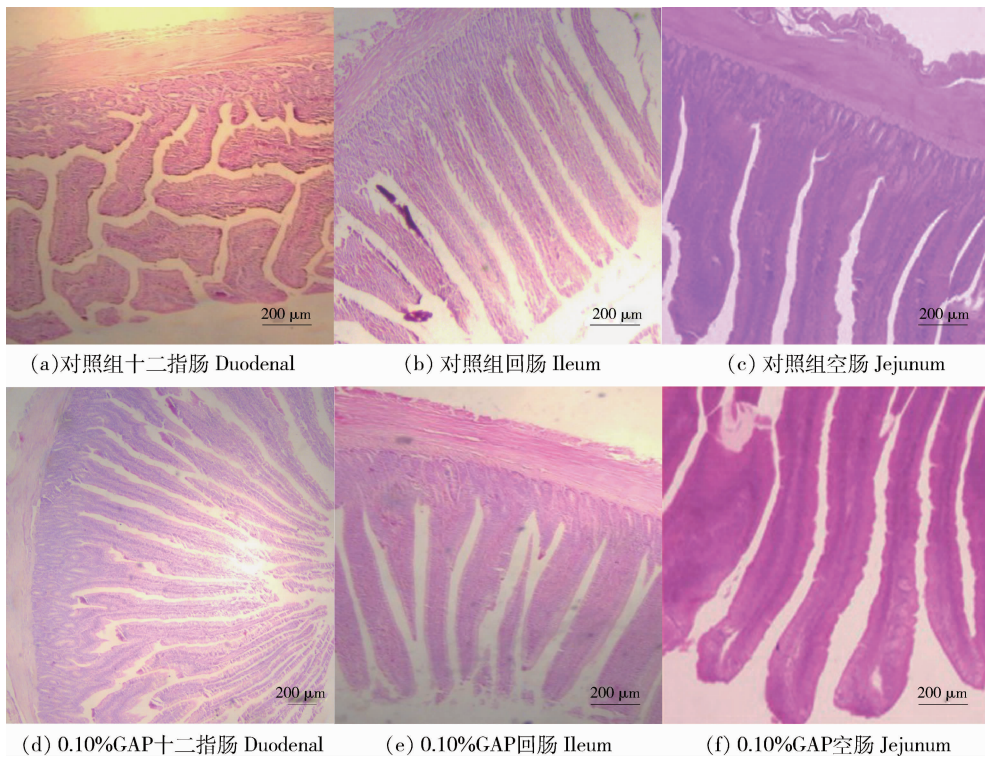


图1 42日龄肉鸡小肠黏膜结构(40×(HE))

Fig. 1 Mucosal structure of small intestine in broilers on 42 days old(40×(HE))

表5 小肠上皮内淋巴细胞平均数

Table 5 Number of intraepithelial lymphocyte of small intestine (100个)⁻¹柱状细胞

日龄/d Days old	处理 Treatment	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
21	对照	18.33±0.58 c	17.67±0.58 c	16.33±0.57 bc
	抗生素	16.33±0.57 d	16.67±0.57 c	15.67±0.58 c
	0.05% GAP	23.00±1.00 b	20.67±0.57 b	17.67±0.58 b
	0.10% GAP	27.00±1.00 a	24.67±0.58 a	22.00±1.00 a
	0.20% GAP	27.00±1.00 a	23.67±0.57 a	21.67±1.53 a
42	对照	23.33±0.58 c	32.00±1.00 b	26.67±0.58 c
	抗生素	25.33±1.53 bc	33.00±1.00 b	27.33±0.58 bc
	0.05% GAP	27.33±1.52 ab	33.00±1.00 b	28.67±0.57 b
	0.10% GAP	29.33±2.08 a	35.67±2.08 a	31.00±1.00 a
	0.20% GAP	28.67±0.57 a	35.67±2.08 a	31.00±1.00 a

显著高于抗生素组。21日龄时,抗生素组的上皮内淋巴细胞在十二指肠中的数量显著低于对照组($P<0.05$),其余肠段与对照组相比无显著差异。42日龄组小肠各段的上皮内淋巴细胞数量均高于21日龄组,同一日龄各试验组的上皮内淋巴细胞数量从十二指肠到回肠呈递减趋势。

2.3 GAP对肉鸡肠黏膜杯状细胞数量的影响

由表6可见,21和42日龄时,与对照组相比,肉鸡日粮中添加不同水平的GAP能显著升高小

肠各段的杯状细胞数量($P<0.05$)。其中,0.10%GAP添加组杯状细胞数量均高于0.05%和0.20%GAP添加组,并显著高于抗生素组。与对照组相比,除21日龄时空肠组外,抗生素组的杯状细胞在小肠各段的数量显著升高($P<0.05$),但升高趋势显著低于GAP组($P<0.05$)。42日龄组小肠各段的杯状细胞数量均高于21日龄组,同一日龄各试验组的杯状细胞数量从十二指肠到回肠呈递增趋势。

表6 小肠上皮内杯状细胞平均数
Table 6 Number of goblet cell of small intestine (100个)⁻¹柱状细胞

日龄/d Days old	处理 Treatment	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
21	对照	6.33±0.58 d	9.67±0.58 d	10.33±0.57 d
	抗生素	7.67±0.57 c	10.67±0.57 d	12.33±0.58 c
	0.05% GAP	10.33±0.58 b	12.67±0.57 c	14.67±0.58 b
	0.10% GAP	12.67±0.57 a	17.00±1.00 a	16.33±0.57 a
	0.20% GAP	12.33±0.58 a	14.33±0.57 b	16.00±1.00 a
42	对照	14.67±0.58 d	24.00±1.00 b	26.33±0.58 d
	抗生素	16.33±0.57 c	26.00±1.00 a	29.67±1.52 c
	0.05% GAP	18.00±1.00 b	27.33±0.57 a	30.67±1.52 bc
	0.10% GAP	22.33±0.57 a	24.00±1.00 b	34.67±1.52 a
	0.20% GAP	21.00±1.00 a	22.66±0.58 b	33.00±1.00 ab

3 讨论与结论

3.1 GAP对肉鸡肠绒毛形态的影响

小肠是营养物质吸收的主要场所,也是重要的肠道屏障^[11]。而小肠的绒毛高度、隐窝深度及绒毛高度/隐窝深度(V/C)都是衡量小肠消化吸收和黏膜完整性的主要指标^[12-13]。绒毛高度与小肠吸收面积和细胞数量呈显著正相关性,绒毛高度增加,成熟细胞数量增加,与食糜接触增多,有利于营养物质的吸收。隐窝深度则和细胞成熟率呈负相关性,隐窝变浅,细胞成熟率上升。绒毛高度/隐窝深度(V/C)则反映了小肠的综合吸收状态,比值升高,说明黏膜完整性和消化吸收功能增强^[14]。

本试验结果表明,在肉鸡日粮中添加GAP可明显增加肉鸡肠绒毛高度,降低隐窝深度,提高V/C值,其中0.10%的GAP添加量效果最好,初步推断一定水平的GAP会促进肉鸡小肠消化吸收功能。蒋桂韬等^[15]报道,饲料组成和肠道微生物能够影响小肠绒毛形态的变化。这可能与GAP能够增强动物体对致病性细菌抗性,减少有害菌对肠道营养的消耗,从而利于微绒毛的生长发育有关^[16]。刘苹等^[17]研究报告表明,饲喂含黄霉素饲料的动物肠道内细菌毒素和氨的含量降低,从而使肠壁的重量和厚度降低,间接改善营养物质的消化和利用。而在本研究中,日粮中添加黄霉素与对照组相比在V/C值方面没有显著差异,这可能间接说明黄霉素改善营养物质的消化吸收不表现在V/C值方面。

3.2 GAP对肉鸡肠黏膜上皮内淋巴细胞数量的影响

肠黏膜上皮之间的上皮内淋巴细胞(IEL)是肠

黏膜免疫系统中最先接触抗原及微生物的免疫活性细胞,在肠黏膜抗感染免疫及调节抗原的免疫应答中发挥重要的生物学功能^[18-20]。因此IEL的数量可以在一定程度上反映小肠黏膜免疫屏障的完整性。本研究表明,与对照组相比,除21日龄的0.05%GAP添加组外,其余添加不同水平的GAP均能显著升高小肠各段的IEL数量($P<0.05$),而0.10%GAP添加组效果最明显,并显著高于抗生素组。这表明饲料中添加GAP可以提高肉鸡机体的特异性免疫功能。这可能与IEL绝大多数为分化抗原簇有关,其通过分泌细胞因子,诱发黏膜免疫应答^[21]。这与黄玉章等^[22]的研究报道相一致。此外,42日龄组小肠各段的IEL数量均高于21日龄组,这说明肉鸡的小肠黏膜免疫屏障在42日龄时要比21日龄完善。这与Pabst等^[23]的研究结果相符。同一日龄时,各试验组的IEL数量从十二指肠到回肠递减,可能是因为小肠不同位置所接触到的抗原及病原微生物种类和数量不同。

3.3 GAP对肉鸡肠黏膜杯状细胞数量的影响

杯状细胞是一种肠黏膜上皮中典型的糖蛋白分泌细胞,其分泌的黏液含有溶菌酶、几丁质、转移因子、I型干扰素和s-IgA及补体等物质,这些物质使杯状细胞发挥润滑肠道,促进排空食物及抵抗病原微生物入侵等重要功能^[24]。因此,杯状细胞是维持肠道黏膜屏障结构不可或缺的一部分,其数量的变化可在一定程度上反映肠道的局部免疫情况。本试验结果发现,与对照组相比,肉鸡日粮中添加不同水平的GAP能显著升高小肠各段的杯状细胞数量($P<0.05$),其中0.10%GAP添加组效果最明显,

并显著高于抗生素组。表明在饲料中添加适量 GAP 能够促进杯状细胞的增殖。有研究显示^[25], 多糖能够发挥黏膜免疫调节作用, 其机制可能涉及多糖能够与 Toll 样受体(Toll like receptor, TLRs)结合, 激活共同的信号通路, 促进核转录因子(NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)、胞外信号调节激酶(ERK)、p38 和 JNK 的活化, 进而释放细胞因子, 发挥生物学效应。此外, 42 日龄组小肠各段的杯状细胞数量均高于 21 日龄组, 杯状细胞数量增多使其分泌的黏液增多, 说明 42 日龄时比 21 日龄时有更完善的黏液屏障功能^[26]。同一日龄时各试验组的杯状细胞数量从十二指肠到回肠呈递增趋势。这可能和回肠特殊的位置有关, 回肠和大肠相邻, 比十二指肠能接触到更多的病原微生物。因此, 回肠需要分泌更多的杯状细胞来弥补回肠黏膜屏障功能的不足^[27]。

综上所述, 本试验条件下, 在肉鸡基础日粮中添加 GAP 可提高肉鸡小肠绒毛高度, 降低隐窝深度, 增加小肠绒毛高度/隐窝深度比值, 改善肠道黏膜形态结构, 促进肉鸡对营养物质的消化吸收, 与此同时, GAP 可显著增加小肠上皮内淋巴细胞和杯状细胞的数量, 增强肠道黏膜免疫屏障, 在肉鸡的健康生产方面发挥重要作用。其中以 0.10% GAP 添加量效果最好。

参 考 文 献

- [1] 张燕, 罗予. 肠道黏膜受损及保护机制的研究进展[J]. 中国微生物生态学杂志, 2010, 22(1): 85-91
- [2] 仇微红, 张盼锋, 石达友, 等. 中医药与肠道黏膜免疫的研究进展[J]. 中国兽医杂志, 2009, 45(3): 49-51
- [3] 任曼, 霍应峰, 杨凤娟, 等. 新仔猪断奶前后肠道形态和相关免疫蛋白基因表达的变化[J]. 动物营养学报, 2014, 26(3): 614-619
- [4] 黄鑫, 贺淼, 陈中平, 等. 酵母细胞壁多糖在家禽养殖中的应用[J]. 国外畜牧学, 2014, 34(4): 62-63
- [5] 杨小军, 王筱霏, 尹瑞卿, 等. 功能性多糖与家禽肠道黏膜免疫调控的构效关系[J]. 动物营养学报, 2011, 23(7): 1089-1093
- [6] Costal S, Fidelisig P, Cordeiros L, et al. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds[J]. Biomed Pharmacother, 2010, 64: 21-28
- [7] YIN H, WANG Y, CHEN T, et al. Purification, characterization and immuno-modulating properties of polysaccharides isolated from *Flammulina velutipes* mycelium[J]. Am J Chinese Med, 2010, 38: 191-204
- [8] 刘晓腊. 树舌灵芝液体深层发酵浸膏多糖的抗肿瘤活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011
- [9] 焦连庆. 树舌多糖分离纯化、结构鉴定及其生物活性研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2010
- [10] 苏玲, 胡静, 李雨婷, 等. 树舌荧光多糖的制备及在小鼠脾淋巴细胞中的定位[J]. 中国农业大学学报, 2013, 18(1): 147-152
- [11] 贺永康, 赵国先, 左小磊. 中草药添加剂对肉鸡肠道结构的影响[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(2): 94-98
- [12] 孙丹凤, 丁斌鹰, 胡奇伟, 等. 乙酰氧甲酸对绿壳蛋鸡生长性能、血清生化指标及小肠形态结构的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(1): 56-59
- [13] Guo F C, Savelkoul H. medicinal properties of mushroom and herb polysaccharides and their potential use in chicken diets[J]. World Poultry Sci J, 2003, 59: 427-440
- [14] 钟金凤, 何华西, 许美解, 等. 辣椒素对湘黄鸡肠道绒毛长度及微生态的研究[J]. 饲料研究, 2010(7): 39-41
- [15] 蒋桂韬, 胡艳, 王向荣, 等. 不同来源木聚糖酶对黄羽肉鸡小肠绒毛形态结构和黏膜生长抑素 mRNA 表达的影响[J]. 动物营养学报, 2011(2): 266-273
- [16] Giannenas I, Tontis D. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens[J]. Res Vet Sci, 2010, 89: 78-84
- [17] 刘苹, 杨金堂, 卓学民, 等. 黄霉素对商品肉鸡饲喂效果的试验[J]. 中国家禽, 2002, 24(16): 12-14
- [18] 何国茹, 姚军虎. 营养因素对肉鸡肠道黏膜免疫的影响[J]. 四川畜牧兽医, 2011(6): 29-31
- [19] Xu R J. Postnatal adaptation of the gastrointestinal tract in neonatal pigs: A possible role of milk-borne growth factors[J]. Liv Prod Sci, 2000, 65: 95-107
- [20] Zhao X J, Mckeer G, Dong Z, et al. Expression of estrogen and progesterone receptors by mast cells alone, but not lymphocytes, macrophages or other immune cells in human upper airways[J]. Thorax, 2001, 56: 205-211
- [21] 谢天宇, 胡红莲, 高民, 等. 肠黏膜免疫屏障及其保护措施动物营养学报[J]. 动物营养学报, 2014, 26(5): 1157-1163
- [22] 黄玉章, 林旋, 王全溪, 等. 黄芪多糖对罗非鱼肠绒毛形态结构及肠道免疫细胞的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(1): 108-116
- [23] Pabst R, Rothkotter H J. Postnatal development of lymphocyte subsets in different compartments of the small intestine of piglets[J]. Vet Immunol Immunopathol, 1999, 72(122): 167-173
- [24] Rogers D F. The airway goblet cell[J]. Int J Biochem Cell B, 2003, 35: 1-6
- [25] Imran Rashid. 由 Toll like receptors 介导的布拉氏酵母菌和枯草芽孢杆菌 B10 对肉鸡肠黏膜免疫功能影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013
- [26] 张坤琳, 王修庚. 内毒素血症对大鼠肠黏膜杯状细胞的影响[J]. 四川畜牧兽医, 2014(5): 26-28
- [27] 陈耀星, 王子旭, 刘云芳, 等. 新生犊牛小肠黏膜结构的早期发育及上皮内淋巴细胞和杯状细胞的数量变化[J]. 中国兽医学, 2007, 37(6): 519-523