## 微生态制剂对肉鸡代谢和免疫系统的影响

赵建文<sup>1</sup>,周明东<sup>1</sup>,周 霞<sup>1</sup>,张海滨<sup>1</sup>,王春民<sup>3</sup>,乔昌明<sup>3</sup>,岳寿松<sup>4</sup>,赵宏坤<sup>2\*</sup> (1.山东农业大学,山东 泰安 271018;2.青岛农业大学 山东省肉类食品质量控制工程技术研究中心,山东 青岛 266109;3.诸城外贸有限公司,山东 诸城 262200;4.山东省农业科学研究院高新技术中心,山东 济南 250100)

关键词:微生态制剂;氨气;白蛋白;球蛋白;免疫系统

中图分类号:S851.2 文献标志码:A 文章编号:1005-4545(2012)02-0216-04

### Effect of probiotic on metabolism and the immune system in broilers

ZHAO Jian-wen¹, ZHOU Ming-dong¹, ZHOU Xian¹, ZHANG Hai-bin¹, WANG Chun-min³, QIAO Chang-ming³, ZHAO Hong-kun²\* (1. Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Quality Control of Meat Products in Shandong Province Engineering Research Center, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China; 3. Zhucheng Foreign Trade Co., Ltd, Zhucheng, Shandong 262200, China; 4. Science Technology Center in Shangdong Academy of Agricultural, Jinan 250100, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of probiotic on ammonia production, ammonia, uric acid, total protein, albumin and globulin in serum and immune system of broilers. 240 one-day-old chickens were randomly assigned to 4 groups with three replicates of twenty each. The groups received the same water with 0,0.3%, 0.6%, 1.2% probiotic, respectively. The trial lasted for 42 days. The results showed that 1) there was a significant effect of by 0.6% probiotic on ammonia emission (P < 0.05); 2) total protein and the globulin content in serum were significantly increased by probiotic (P < 0.05); 3) Adding 0.3% probiotic to water by 0.3% could increase the level of antibody after the immune (P < 0.05). These results indicated that probiotic could decrease the ammonia concentration in poultry house and improve total protein and the globulin content in serum. It could also enhance the humoral immunity of broilers, but there was no significant effect on cellular immunity.

Key words: probiotic; ammonia; total protein; globulin; immune system

\* Corresponding author

#### 近年来,畜禽的饲养规模逐年扩大,畜禽饲养过

收稿日期:2010-11-06

基金项目:"十一五"国家"食品安全"科技支撑重大项目 (2006BAK02A21);国家肉鸡产业技术体系建设专项(2008-2010);山东省科技攻关项目(2007GG20009001)

作者简介:赵建文(1985-),女,硕士研究生。

\*通讯作者

程中产生的有害气体对大气环境的危害日益显现。如何改善畜禽的饲养环境也成为越来越受大家关注的问题。在已知的各种臭气成分中,氨气被公认为对机体的健康影响最大。尿酸是家禽排泄物中氮的主要存在形式,家禽排泄物中的尿酸和未消化的营养物质在各种微生物及其脲酶的作用下产生氨气气。氨易溶于水,具刺激性,可吸附在畜禽的黏膜上,刺激黏膜。鸡对氨气的敏感性极高,浓度达到

20 mg/L 时可使病毒性疾病、球虫病的发病率提高, 浓度升至 50 mg/L 时可使呼吸频率减慢,产蛋量下 降,肉用仔鸡的增重和饲料报酬下降。有研究表明, 鸡舍内的氨气浓度与鸡的呼吸道疾病和肉鸡腹水综 合征有十分紧密的关系[2],由此可见,鸡只自身代谢 引起的环境污染成为了一些传染病发生和传播的潜 在诱因,鸡舍氨气污染已成为目前亟待解决的问题。 国内外很多研究将不同的活菌制剂添加到家禽的饲 料中,检测到其可以有效降低禽舍内的氨气浓度,改 善禽舍的环境。还有研究证明活菌制剂还可以提高 机体的免疫力,增强机体的抗病能力[3]。本试验将 一种新型的活菌制剂(主要成分为乳酸杆菌和芽孢 杆菌等)添加到肉鸡的饮水中,肉鸡通过饮水摄入活 菌,进而检测该活菌制剂对鸡舍氨气浓度、肉鸡血清 中血氨、血清尿酸、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量和 免疫系统的影响。

### 1 材料与方法

- 1. 1 实验动物 1日龄 AA 肉鸡,由新泰大宝养殖场提供。
- 1.2 微生态制剂 由泰安敬宇动物卫生有限公司和山东六合农牧科技园有限公司共同研发,内含有嗜酸乳酸菌,芽孢杆菌等活菌制剂(液态制剂),产品有效含量为  $2\times10^{10}/\mathrm{mL}_{\odot}$
- 1.3 基础饲粮 参照 NRC(1994) 肉用仔鸡饲养标准配制成玉米-豆粕型基础日粮。
- 1. 4 鸡舍的准备 选用 4 间处于同一水平位置的 鸡舍,确保其面积,通风条件,湿度和温度相对一致。 在试验前 1 周对鸡舍进行全面清洁消毒,包括鸡舍 的地面和墙壁、鸡笼、料槽、水槽,并准备好保温灯, 垫料,照明器材等育雏设备。
- 1. 5 分组 1 日龄的 AA 肉鸡随机分成 4 个试验组,每个试验 3 次重复,每次重复 20 只肉鸡,共 240 只。其中,对照组为正常饲喂组;试验 1 组为 0.3% 菌剂饮水;试验 2 组为 0.6% 菌剂饮水;试验 3 组为 1.2% 菌剂饮水。
- 1.6 饲养管理 采用垫料平养,自由采食(饲料分3次添加),及时添加饲料、换水、每周换1次垫料。饲养期分为2个阶段,共42d。注意保温,记录每日的喂料量、温度、湿度和鸡的死亡淘汰情况。

免疫程序参照 AA 肉鸡饲养管理手册,7 日龄新城疫和传支二联苗点眼滴鼻,颈部皮下注射禽流感灭活苗。14 日龄时进行法氏囊疫苗饮水免疫,21 日龄新城疫 L 系苗饮水免疫(本试验中取消这一免疫程序),28 日龄法氏囊疫苗饮水免疫。

- 1.7 测定指标及方法
- 1.7.1 氨气浓度检测 饲养第 7 天以后,每周更换 1 次垫料,更换垫料当天上午 10:00-11:00 使用美国 ESC 公司生产的 Z-800XP 氨气检测仪监测 1 h。 氨气仪每隔 10 s 自动记录 1 个数据。
- 1. 7. 2 各组肉鸡血清中血氨、血清尿酸、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量检测 第 42 天时每组随机抽取 6 只,空腹静脉采血,分离血清并于  $4^{\circ}$  冰箱中保存, 2 d 内测完。

血氨:无蛋白滤液法;尿酸(UrA):尿酸酶反应 终点比色法;总蛋白(TP):双缩脲比色法;白蛋白 (Alb):溴甲酚绿比色法;和球蛋白(G):计算值即总 蛋白-白蛋白。

- 1. 7. 3 体液免疫的检测 第 21、42 天每组随机抽取 6 只,翅静脉采血 1 mL,不抗凝,至于 1. 5 mL EP 管中。待析出血清后以 4 000 r/min 离心 5 min。取血清,至于另 1 个离心管中,一20 C 保存待用。参照文献[4]的有关方法测定新城疫抗体效价。
- 1.7.4 细胞免疫的检测 第 21、42 天每组随机抽 取 6 只,翅静脉采血 1 mL,肝素抗凝。取 1 mL 肝 素抗凝血,缓慢加入等体积的淋巴细胞分离液上(此 时不能破坏血液与淋巴细胞层液的界面),以 500 r/ min 离心 10 min,小心吸取中间部位的淋巴细胞层 于离心管中,以 400 r/min 离心 5 min,弃上清,用含 50 mL/L 胎牛血清的 PBS 洗细胞 3 次,每次离心后 用 PBS 洗液将细胞悬起后再离心,最后一次加入的 PBS 要适量使其中的淋巴细胞的含量约为  $1 \times 10^7$  $\sim 5 \times 10^7$  个/mL。将已制备好的淋巴细胞悬液各  $50~\mu$ L 于  $1.5~\mathrm{mL}$  离心管中,再将适量的  $\mathrm{CD4}^+$ 、 CD8+单抗同时加入每个管中。另外分出3管,一管 做空白对照,一管单独加入 CD4+单抗,一管单独加 入  $CD8^+$  单抗。混匀后置 4  $^{\circ}$  中反应 20 min。反应 完毕后,以 400 r/min 离心 5 min,弃上清,加入 200 μL PBS 反复洗 3 次,最后用 1 mL PBS 将细胞沉淀 悬起,即可在 FACS(Fluorescence Activated Cell Sorter) 仪器上进行检测。

# 2 结果

2. 1 微生态制剂对鸡舍氨气浓度的影响 由表 1 可知,第 2 周龄,试验 1 组的氨气浓度低于对照组,试验 2、3 组的氨气浓度高于对照组,但差异不显著 (P>0.05),试验 3 组的氨气浓度显著高于试验 1 组 (P<0.05);第 3 周龄,试验 1、2、3 组的氨气浓度均显著高于对照组 (P<0.05),其中试验 2 组的浓度最高;第 4 周龄,试验 1 组的氨气浓度高于对照

	mg/m			
时间	对照组	试验1组	试验2组	试验3组
第2周龄	0.90±0.21ab	0.77 $\pm$ 0.15 $^{\mathrm{b}}$	1.10±0.21ab	1.63±0.33ª
第3周龄	$2.17 \pm 0.35^{a}$	7.80 $\pm$ 0.97 $^{\rm b}$	8.73 $\pm$ 1.39 <sup>b</sup>	7.33 $\pm$ 1.68 <sup>b</sup>
第4周龄	$3.70\pm0.35^{\rm ab}$	$4.03 \pm 0.65$ a	$2.50 \pm 0.36^{b}$	$2.43\pm0.37^{b}$
第5周龄	$4.73 \pm 0.47^{a}$	$3.20\pm0.31^{b}$	0.47 $\pm$ 0.15°	$1.17 \pm 0.03^{\circ}$
第6周龄	$9.73 \pm 0.92^a$	4.30 $\pm$ 0.55 $^{\rm b}$	$2.03\pm0.12^{\circ}$	$2.13\pm0.18^{c}$

注:同行数据肩标小写字母完全不同表示差异显著(P<0.05),含有相同字母表示差异不显著(P>0.05)。下同

组,试验  $2\sqrt{3}$  组的氨气浓度低于对照组,但差异不显著(P>0.05),试验  $2\sqrt{3}$  组的氨气浓度显著低于试验 1 组(P<0.05);第 5 周龄,试验  $1\sqrt{2}\sqrt{3}$  组的氨气

浓度均显著低于对照组(P<0.05),其中试验 2 组的浓度最低;第 6 周龄,试验 1、2、3 组的氨气浓度均显著低于对照组(P<0.05),其中试验 2 组的浓度最低。

2. 2 微生态制剂对肉鸡血清中血氨、血清尿酸、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量的影响 总蛋白含量比较,各试验组均显著高于对照组(P < 0.05);白蛋白含量比较,各试验组高于对照组,但差异不显著(P > 0.05);球蛋白含量比较,各试验组均显著高于对照组(P < 0.05);血氨含量比较,各试验组高于对照组,但差异不显著(P > 0.05);血清尿酸含量,各试验组低于对照组,但差异不显著(P > 0.05)。

<b>耒</b> 2	内心血法由血氧	血法尿酸	台座白	、白蛋白和球蛋白含量
<b>₹₹</b> △	闪冯皿用中皿虱	、皿用水毁、	心虫口。	, 口虫口似外虫口占里

项 目	对照组	试验1组	试验 2 组	试验3组
血氨/( $\mu \text{mol} \cdot L^{-1}$ )	$240.45 \pm 35.85^{a}$	$284.20 \pm 12.68^a$	$291.32 \pm 52.03^a$	$282.12 \pm 19.59^a$
血清尿酸/( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )	$62.40 \pm 4.23^a$	$53.28 \pm 6.38^a$	48.725 $\pm$ 8.21a	$43.38 \pm 6.64^{a}$
总蛋白/(g·L <sup>-1</sup> )	$32.55 \pm 4.85^{b}$	48.91 $\pm$ 3.07ª	$54.45 \pm 2.06^{a}$	$51.56 \pm 3.27^a$
白蛋白/(g·L <sup>-1</sup> )	$19.08 \pm 3.23$ a	$21.10\pm2.19^a$	22.43 $\pm$ 1.84 $^{a}$	22.71 $\pm$ 1.82ª
球蛋白/ $(g \cdot L^{-1})$	$16.83 \pm 2.94^{b}$	$27.81 \pm 1.82^a$	$32.02\pm1.20^{a}$	$28.85 \pm 3.02^a$

### 2.3 微生态制剂对机体免疫系统的影响

2.3.1 新城疫抗体效价 由表 3 可见,疫苗免疫后 第 1 周,试验 2 组的抗体水平显著低于对照组(P< 0.05),试验1组和试验3组的抗体水平高于对照 组,但差异不显著(P>0.05);疫苗免疫后第 2 周, 试验 1 组和试验 3 组的抗体水平显著高于对照组 (P < 0.05),试验 2 组的抗体水平高于对照组,但差 异不显著(P>0.05);疫苗免疫后第 3 周,试验 1 组 和试验3组的抗体水平高于对照组,但差异不显著 (P>0.05),试验 2 组的抗体水平显著低于对照组 (P < 0.05);疫苗免疫后第 4 周和第 5 周,试验 1 组 的抗体水平显著高于对照组(P>0.05),试验 2 组 的抗体水平显著低于对照组(P < 0.05),试验 3 组 的抗体水平低于对照组,但差异不显著(P>0.05)。 **2.3.2** 细胞免疫的检测 由表 4 可见, 饲喂第 21 天,试验 1 组  $CD4^+T$  淋巴细胞百分率略低于对照 组,试验 2 组和试验 3 组的 CD4+T 淋巴细胞百分 率略高于对照组,差异均不显著(P>0.05);饲喂第 42 天,各试验组的 CD4+T 淋巴细胞百分率均略高 于对照组,差异不显著(P>0.05)。

饲喂第 21 天,各试验组的  $CD8^+T$  淋巴细胞百分率均略高于对照组,差异不显著(P>0.05)。饲喂第 42 天,试验 1 组  $CD8^+T$  淋巴细胞百分率略低于对照组,试验 2 组和试验 3 组的  $CD8^+T$  淋巴细

胞百分率略高于对照组,差异均不显著(P>0.05)。

表 3 各组肉鸡疫苗免疫后的抗体效价  $\log_2 X$ 

时	间	对照组	试验1组	试验2组	试验3组
第	1周	$4.67 \pm 0.42^{ab}$	$5.33 \pm 0.56^{a}$	3.67 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	5.00±0.36ª
第:	2 周	$4.33 \pm 0.42^{b}$	$6.00\pm0.26^a$	$5.00 \pm 0.37^{ab}$	$6.00\pm0.52^a$
第:	3 周	$4.00 \pm 0.58^{ab}$	4.67±0.42ª	$3.00 \pm 0.26^{b}$	$3.67 \pm 0.52^{ab}$
第	4 周	$3.33 \pm 0.21^{b}$	$4.33 \pm 0.33^a$	2.33 $\pm$ 0.21°	$3.00\pm0.26^{bc}$
第:	周	$3.00 \pm 0.26^{b}$	4.33 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	2.17 $\pm$ 0.17°	$2.33\pm0.21^{bc}$

饲喂第 21 天,各试验组的  $CD4^+/CD8^+$  比值均略低于对照组,差异不显著 (P>0.05);饲喂第 42 天,试验 1 组的  $CD4^+/CD8^+$  比值略高于对照组,试验 2.3 组的  $CD4^+/CD8^+$  比值略低于对照组,差异不显著 (P>0.05)。

## 3 讨论

国内外有关降低鸡舍氨气浓度的研究有很多,安永义等<sup>[5]</sup>报道,在肉仔鸡日粮中添加以酵母菌为优势菌的活菌制剂,发现新鲜粪便发酵 24 h 的 NH<sub>3</sub>产生量显著降低。孙瑞峰等<sup>[6]</sup>报道菊糖和枯草芽孢杆菌能有效减少肉鸡排泄物氨气散发量,有利于改善肉鸡鸡舍环境。JINMO YEO 等<sup>[7]</sup>报道饲料中添

项 目	日龄/d	对照组	试验 1 组	试验2组	试验3组
CD4+ %	21	$26.25 \pm 3.74^{a}$	24.08±2.98ª	$26.32\pm2.26^{a}$	28. $27 \pm 2.51^a$
	42	$9.75 \pm 2.14^{a}$	$11.27 \pm 1.99^{a}$	10.67 $\pm$ 1.56a	10.89 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>
CD8 <sup>+</sup> %	21	$11.94 \pm 2.00^{a}$	13.64 $\pm$ 1.54 $^{\mathrm{a}}$	$13.73 \pm 1.27^{a}$	13.81 $\pm$ 1.89a
	42	$3.66 \pm 0.77^{a}$	$3.33\pm0.37^{a}$	$5.01\pm0.71^{a}$	$5.31 \pm 0.73^{a}$
$\mathrm{CD4^+}/\mathrm{CD8^+}$	21	$2.39 \pm 0.43^{a}$	$1.91 \pm 0.33^{a}$	$1.93 \pm 0.07^{a}$	$2.35 \pm 0.47^{a}$
	42	$2.90\pm0.71^{a}$	$3.44 \pm 0.68^{a}$	$2.18\pm0.27^{a}$	$2.12\pm0.36^{a}$

表 4 生态制剂对肉鸡细胞免疫的影响

加乳酸菌可降低雏鸡小肠内的脲酶活性,减少氨气的产生。本试验证明,由乳酸杆菌和芽孢杆菌组成的活菌制剂通过饮水摄入,能在肉鸡饲养后期降低鸡舍的氨气浓度,但并不是添加量越多越好,而是只有在一定范围内 $(1.2\times10^8/\mathrm{mL}\ \mathrm{E}\,\mathrm{f})$ 的添加量才能有效降低鸡舍氨气浓度。

蛋白质进入体内经多种酶联合催化降解生成氨 基酸,氨基酸经过分解代谢最终生成氨和其他物质, 氨在体内主要合成尿素排出体外。尿酸是禽类蛋白 质分解代谢的主要终产物和排泄方式,尿酸反映了 机体蛋白质代谢的差异,蛋白质分解代谢增强时尿 酸含量升高。血清蛋白指标是机体蛋白质合成代谢 的另一个重要标志,其中血清总蛋白浓度高是蛋白 质代谢旺盛的表现,有利于促进生长和提高饲料转 化率[1]。张日俊等[8]报道,益生康(一种微生物饲料 添加剂)能明显增加血清总蛋白、球蛋白含量。 Scheuermann<sup>[9]</sup>报道用腊样芽孢杆菌喂猪,血氨浓 度减少  $13.5\% \sim 20.1\%$ 。本试验证明,微生态制剂 可以显著增加血清中总蛋白、球蛋白含量,这与张日 俊报道的结果相符。但对血氨和血清尿酸含量并无 显著影响,这与 Scheuermann 报道的结果不符。由 此可见由有益生菌组成的活菌制剂可以促进肠道内 营养物质的消化,促进蛋白质的吸收,提高饲料利用 率,从而减少氨气的产生,改善鸡舍环境。

有文献报道地衣芽孢杆菌对家兔的体液免疫功能有促进作用,RHD组织灭活疫苗与地衣芽孢杆菌制剂相结合较单独使用疫苗的效果更佳 $^{[10]}$ 。潘康成等 $^{[11]}$ 报道芽孢杆菌制剂以 0.1%的量向试验组日粮中添加,用新城疫 IV 系弱毒苗 2 次免疫后第 14 天检测抗体水平,试验组比对照组平均提高了  $1.625(\log 2)$ 。温建新等 $^{[12]}$ 报道用乳酸杆菌灌服 1 日龄雏鸡,试验各组抗体水平均显著高于对照组,可提高抗体水平  $0.61\sim1.77(\log 2)$ 。本试验证明了添加微生态制剂可以提高肉鸡机体体液免疫水平,同样不是添加量越高越好。但微生态制剂对机体的细胞免疫影响作用并不是很明显。

由此可见,饮水中添加适量(约 1.2×10<sup>8</sup>/mL) 的微生态制剂可以显著增加血清中总蛋白、球蛋白 含量,提高饲料转化率,减少排泄物中的蛋白质含 量,在一定程度上减少肉鸡鸡舍内的氨气浓度,优化鸡舍环境。同时,该添加量的微生态制剂可以提高机体体液免疫水平但对机体细胞免疫并无明显影响。

#### 参考文献:

- [1] 步长英,李同树. 丝兰皂甙、芽孢杆菌对肉鸡生产性能、氮代谢和排泄物氨气散发量的影响[D]. 山东 泰安: 山东农业大学,2008.
- [2] 李如治.家畜环境卫生学[M].2版.北京:中国农业出版社,1990:101-103.
- [3] 吕 英,刘家福,郑世民. 饲喂益生素雏鸡新城疫疫苗 免疫后外周血液的体液免疫变化[J]. 中国预防兽医 学报,2010,32(6);476-478.
- [4] 姚火春. 兽医微生物学实验指导[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2002,105-107.
- [5] 安永义,王新谋,刘春燕,等.活菌添加剂对蛋鸡粪臭和 蛋鸡生产性能影响的研究[J].家畜生态,1996,17(3):
- [6] 孙瑞锋,步长英,李同树. 菊糖和枯草芽孢杆菌对肉鸡肠道菌群数量及排泄物氨气散发量的影响[J]. 华北农学报,2008,23;252-256.
- [7] YEO JINMO, KIM KYU-IL. Effect of Feeding Diets Containing an Antibiotic, a Probiotic, or Yucca Extract on Growth and Intestinal Urease Activity in Broiler Chicks[J]. Poul Sci, 1997, 76; 381 385.
- [8] 张日俊,潘淑媛,白永义,等. 微生物饲料添加剂益生康对肉仔鸡营养代谢与免疫功能的调控机理[J]. 中国农业大学学报,2005,10(3);40-47.
- [9] Scheuermann S E. Effect of probiotic Paciflor<sup>R</sup> (CIP 5832) on energy and protein metabolism growing pigs [J]. Anim Feed Sci and Technol,1993,41:181-189.
- [10] 潘康成,何明清. 地衣芽孢杆菌对家兔体液免疫功能 的影响研究[J]. 中国微生态学杂志,1998,10(4): 204-206.
- [11] 潘康成,倪学勤,方 静.BL38 芽孢杆菌制剂对鸡免疫促进作用的研究[C]//中国畜牧兽医学会动物微生态学分会第三届第六次学术研讨会论文集.南京,2003;112-115.
- [12] 温建新,邵 峰,李志辉,等.乳酸菌制剂对鸡新城疫 HI 抗体效价影响的研究[J].山东畜牧兽医,2007, 28:6-8.