

分类号:

密级:



华中农业大学

HUAZHONG AGRICULTURAL UNIVERSITY

# 硕士学位论文

MASTER'S DEGREE DISSERTATION

山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能、免疫功能  
和肠道健康的影响

EFFECTS OF GARCINOL SUPPLEMENTATION ON  
PERFORMANCE, IMMUNE FUNCTION  
AND INTESTINAL HEALTH OF LATE LAYING HENS

研究生: 王奕

CANDIDATE: WANG YI

学 号:

2021302120073

STUDENT NO:

学位类型: 农业硕士

DEGREE TYPE: MASTER OF AGRICULTURE

导 师: 黄飞若 教授

SUPERVISOR: PROFESSOR HUANG FEIRUO

中国 武汉

WUHAN, CHINA

二〇二三年六月

JUNE, 2023

# 华中农业大学硕士学位论文

## 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能、免疫功能 和肠道健康的影响

### EFFECTS OF GARCINOL SUPPLEMENTATION ON PERFORMANCE, IMMUNE FUNCTION AND INTESTINAL HEALTH OF LATE LAYING HENS

研 究 生 : 王奕

学 号 : 2021302120073

指 导 教 师 : 黄飞若 教授

学 位 类 型 : 农业硕士

领 域 : 畜牧

华中农业大学动物科学技术学院

中国 武汉

College of Animal Sciences and Technology, Huazhong Agricultural University  
Wuhan, China

# 目 录

第一章 文献综述 .....	1
1 前言 .....	1
2 产蛋后期蛋鸡生理特征 .....	2
2.1 产蛋后期蛋鸡生产性能 .....	2
2.2 产蛋后期蛋鸡免疫与抗氧化能力 .....	3
2.3 产蛋后期蛋鸡肠道健康 .....	4
3 多酚类植物提取物在鸡生产中的应用 .....	7
3.1 多酚类植物提取物的来源及分类 .....	7
3.2 多酚类植物提取物对鸡生产性能的影响 .....	8
3.3 多酚类植物提取物对鸡免疫功能的影响 .....	9
3.4 多酚类植物提取物对鸡肠道健康的影响 .....	9
4 山竹醇的营养调控作用 .....	10
4.1 山竹醇的来源、提取方法及特性 .....	10
4.2 山竹醇对畜禽生产及肠道健康的调控 .....	11
4.3 山竹醇的应用前景 .....	12
5 研究目的及意义 .....	12
第二章 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能、免疫功能和肠道健康的影响 .....	13
1 前言 .....	13
2 材料与方法 .....	13
2.1 试验材料 .....	13
2.2 试验设计 .....	13
2.3 试验日粮 .....	14
2.4 试验场地与饲养管理 .....	15
2.5 样品采集 .....	15
2.6 检测指标与方法 .....	15
2.7 数据处理和分析 .....	21
3 结果与分析 .....	22
3.1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响 .....	22
3.2 山竹醇对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响 .....	23
3.3 山竹醇对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响 .....	25
3.4 山竹醇对产蛋后期蛋鸡免疫功能的影响 .....	26
3.5 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道形态的影响 .....	27
3.6 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道紧密连接基因的影响 .....	29

3.7 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道菌群结构的影响 .....	29
4 讨论 .....	35
4.1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响 .....	35
4.2 山竹醇对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响 .....	36
4.3 山竹醇对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响 .....	38
4.4 山竹醇对产蛋后期蛋鸡免疫功能的影响 .....	38
4.5 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道形态的影响 .....	40
4.6 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道紧密连接基因的影响 .....	41
4.7 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道菌群结构的影响 .....	42
第三章 结语 .....	44
1 结论 .....	44
2.创新点 .....	44
3.展望 .....	44
参考文献 .....	45

## 摘要

高龄蛋鸡存在产蛋性能迅速下降,鸡蛋质量差的问题,这是提高蛋鸡养殖经济效益需要解决的关键障碍。山竹醇(Garcinol)作为一种天然的植物多酚提取物,具有抗氧化、抗炎、抗菌等生理功能,有改善蛋鸡生产性能、增强免疫及保护肠道健康的潜能。本试验在产蛋后期蛋鸡饲料中添加不同水平的山竹醇探究其对生产性能、蛋品质、血清生化指标、肠道形态结构和菌群的影响。选用 144 只体重相近的 57 周龄京粉 6 号蛋鸡,随机分为 4 个处理组,每个处理组 12 个重复。对照组(Con 组)饲喂玉米豆粕型基础日粮,3 个试验组(LG、MG、HG 组)分别饲喂在基础日粮中添加 100 mg/kg、300 mg/kg 和 500 mg/kg 水平山竹醇的日粮,其它饲养条件保持一致。试验预饲期为 2 周,正式试验期为 12 周。每周统计生产性能,每四周进行蛋品质测定,并在试验结束时采集血清以及肠道样品。试验结果显示:

(1) 在产蛋性能方面,试验前期(1-4 周),部分水平的山竹醇有提高产蛋率的趋势( $P=0.051$ );试验中期(5-8 周)与试验后期(9-12 周)对采食量与料蛋比无显著影响,显著降低了平均蛋重( $P<0.05$ );整个试验期间,与对照组相比较,饲料中添加山竹醇有提高产蛋率的趋势( $P=0.080$ ),MG 组产蛋率提高了 2.84%;而平均蛋重显著降低( $P<0.05$ )。

(2) 在蛋品质方面,试验前期,山竹醇对蛋品质无显著影响;试验中期,与对照组相比,MG 组可以显著提高蛋白高度和哈氏单位( $P<0.05$ ),而 LG 组显著提高蛋形指数( $P<0.05$ );试验后期,随着添加水平的升高,山竹醇可以极显著提高蛋白高度( $P<0.01$ )和哈氏单位( $P<0.01$ );LG 和 MG 组可以极显著降低蛋壳亮度( $L^*$ )并显著降低蛋壳黄度( $b^*$ ),对其它蛋品质指标无显著影响( $P>0.05$ )。

(3) 在抗氧化指标方面,与对照组相比,MG 组可提高血清中 T-SOD 和 CAT 的水平( $P<0.05$ ),各水平山竹醇均可提高血清中 T-AOC 的水平( $P<0.05$ ),MG 和 HG 组效果更好,且可以显著降低血清中的 MDA 含量( $P<0.05$ )。

(4) 添加山竹醇可提高蛋鸡免疫性能。与对照组相比,MG 组血清中 IgA( $P<0.05$ )的含量有提高效果,但血清中 IgG、IgM 的含量则无显著差异。山竹醇可以极显著降低血清中 IL-6 的水平( $P<0.01$ ),其中 MG 和 HG 组显著降低血清 IL-2( $P<0.05$ )、D-乳酸( $P<0.05$ )和 LPS( $P<0.05$ )的水平。

(5) 肠道形态结果表明, 山竹醇可以提高空肠和回肠绒毛高度 ( $P<0.05$ ), 降低隐窝深度 ( $P<0.05$ ), 其中 MG 组效果显著 ( $P<0.05$ )。MG 和 HG 组极显著提高空肠与回肠的绒隐比 ( $P<0.01$ )。但对十二指肠绒毛高度和隐窝深度均无显著影响 ( $P>0.05$ )。

(6) 日粮中添加不同水平的山竹醇, 可以显著提高产蛋后期蛋鸡空肠黏膜 *Occludin* 的表达量 ( $P<0.05$ ), LG 组和 MG 组显著提高 *Claudine-2* 的 mRNA 表达量 ( $P<0.05$ ); 而对闭合小环蛋白-1 (*ZO-1*) 的表达量无显著影响 ( $P>0.05$ )。

(7) 对盲肠菌群进行 16S 测序, 与对照组相比, 饲料中添加山竹醇显著提高了盲肠菌群的  $\alpha$  多样性; 在门水平上, LG 组和 MG 组厚壁菌门 (*Firmicutes*) 相对丰度增加, 而拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 相对丰度有所降低, 厚壁菌门与拟杆菌门的比值提高; 在属水平上, LG 组和 MG 组乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 相对丰度降低, 但提高罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*) 和瘤胃球菌属 (*Rumincoccus-torques-group*) 两种肠道有益菌的相对丰度。而从盲肠菌群中共鉴定出 13 标志差异微生物, 在 MG 组中共有 7 个差异微生物物种, 其中消化链球菌目 (*Peptostreptococcales-Tissierellales*) 和脱铁杆菌 (*Deferribacterota*) 为影响最大的差异菌。

综上所述, 添加山竹醇可以通过改善免疫功能, 提高机体抗氧化能力, 维持肠道形态功能完整性和盲肠菌群平衡, 增强肠道屏障保护功能, 有利肠道健康, 进而提高产蛋后期蛋鸡的生产性能和蛋品质。在本试验条件下, MG 组 (300 mg/kg) 效果较好。

**关键词:** 山竹醇; 生产性能; 蛋品质; 后期蛋鸡; 免疫功能; 肠道健康

## Abstract

During the late laying period, rapidly declined egg production performance and poor egg quality have seriously reduced the economic benefits, which are the key obstacle to be solved to improve the economic benefits of laying hens breeding. Garcinol, an antioxidant polyphenol plant extract, has been reported to demonstrate positive effects, including anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial. This present study was conducted to investigate the effects of dietary supplementation with garcinol on production performance, egg quality, immune performance, antioxidant capacity and intestinal health of laying hens in late laying period and explore the appropriate dosage of garcinol doses. A total of 144 healthy 57-week-old Jingfen pink-shell hens were selected and randomly divided into four groups: Con group (the maize and soybean meal basic diet), LG group (basic diet with 100 mg/kg of garcinol addition), MG group (basic diet with 300 mg/kg of garcinol addition), and HG group (basic diet with 500 mg/kg of garcinol addition), other feeding conditions were consistent, with 12 replicates per group and 3 hens in each replicate. The test period was 2 weeks for the pre-test and 12 weeks for the test. The production performance and egg quality were counted every week, and blood collection and intestinal samples were collected after the experiment. The main results were as follows:

(1) The production performance showed that part levels of garcinol had a tendency to increase the egg production ( $P=0.051$ ) in the pre-test period (1 to 4 weeks). In the middle of the test (5 to 8 weeks) and the later stage of the experiment (9 to 12 weeks), the average egg weight was significantly reduced due to the addition of garcinol ( $P<0.05$ ), but there was no significant effect on ADFI and feed-egg ratio ( $P>0.05$ ). During the whole period of the experiment, the addition of garcinol in the diet tended to increase egg production ( $P=0.080$ ), and the MG group increased egg production by 2.84%, respectively; while average egg weight was significantly lower ( $P<0.05$ ).

(2) Egg quality: Up to week 4, dietary garcinol supplementation had no significant influence on egg quality. Up to week 8, compared with basic diet group, MG group

albumen height and Haugh unit were significantly increased ( $P<0.05$ ), and LG group could significantly increase the egg shape index ( $P<0.05$ ). Up to week 12, adding garcinol to the diet could significantly increase albumen height and Haugh unit ( $P<0.01$ ). Nevertheless, the egg shell brightness ( $L^*$ ) of LG and MG groups was significantly lower than control group ( $P<0.01$ ) and yellowness ( $b^*$ ) showed a significant decrease ( $P<0.05$ ). significantly higher than that of group A.

(3) Antioxidant ability: Compared with the control group, MG group significantly increased the levels of T-SOD and CAT in serum ( $P<0.05$ ). The levels of T-AOC in serum increased significantly ( $P<0.05$ ) with increasing levels of garcinol added to the diets. Furthermore, MG and HG groups could significantly reduce MDA content in serum ( $P<0.05$ ).

(4) Immunity: The laying hens of MG group had lower concentration of IL-2 and IL-6 ( $P<0.05$ ) and a higher level of IgA ( $P<0.01$ ) in serum compared with other groups. Moreover, MG and HG groups significantly decreased the levels of LPS and D-lactate in serum compared to the control group ( $P<0.05$ ). In addition, there was no significant effect of dietary garcinol on the serum levels of IgG, IgM, TNF- $\alpha$  and CORT ( $P>0.05$ ).

(5) Intestinal morphology show that dietary supplementation of garcinol increased the villus height of jejunum and ileum ( $P<0.05$ ), and decreased the crypt depth of jejunum and ileum ( $P<0.05$ ). Moreover, the effect of MG group was significantly better than that other groups. Then the villus length to crypt depth (V/C) of duodenum, jejunum, ileum in dietary garcinol supplementation group was increased, among which MG and HG groups significantly increased ( $P<0.01$ ).

(6) Gene expression of tight junctions: Dietary garcinol significantly increased *Occludin* expression compared to the control group ( $P<0.05$ ); the mRNA abundance of *Claudine-2* was significantly upregulated in LG and MG groups ( $P<0.05$ ). In contrast, the mRNA expression of *Zo-1* was observed no significant difference among the four groups ( $P>0.05$ ).



(7) The 16S sequencing of the cecum flora showed the addition of garcinol significantly increased the alpha diversity compared with the control group. At the phylum level, the relative abundance of the *Firmicutes* phylum increased in LG and MG groups, the relative abundance of the phylum *Bacteroidota* decreased, and the ratio of the phylum *Firmicutes* to the phylum *Bacteroidota* increased; at the genus level, the relative abundance of *Lactobacillus* decreased in the LG and MG groups, but the relative abundance of two intestinal beneficial bacteria, *Romboutsia* and *Ruminococcus-torques-group*, increased. While a total of 13 marker differential microorganisms were identified from the cecum flora, there were seven differential microbial species in the MG group, with *Peptostreptococcales-Tissierellales* and *Deferribacterota* as the most influential differential bacteria.

In conclusion, garcinol played crucial roles in improving the production performance and egg quality of laying hens during the late period; enhancing immune function, increasing the antioxidant capacity of body; maintaining the balance of the cecum flora and intestinal barrier. Under the conditions of this study, the MG group (300 mg/kg dosage) had the better effect.

**Keywords:** Garcinol, Performance, Egg quality, Late laying hens, Immunity, Intestinal health

## 缩略词表

(Abbreviation)

缩写	英文名称	中文名称
Abbr.	English name	Chinese name
ADFI	Average daily feed intake	平均日采食量
CAT	Catalase	过氧化氢酶
CD	Crypt depth	隐窝深度
CORT	Cortisol	皮质醇
F/E	Feed/egg weight ratio	料蛋比
GSH-Px	Glutathione peroxidase	谷胱甘肽过氧化物酶
HU	Haugh unit	哈氏单位
Ig	Immunoglobulin	免疫球蛋白
IL	Interleukin	白介素
LD	D- lactate	D 乳酸
LPS	Lipopolysaccharides	内毒素
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
mRNA	Messenger RNA	信使 RNA
NF-κB	Nuclear factor kappa B	核转录因子 κB
QIIME	Quantitative Insights Into Microbial Ecology	微生物定量分析
ROS	Reactive oxygen species	活性氧
T-AOC	Total antioxidant capacity	总抗氧化能力
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha	肿瘤坏死因子-α
T-SOD	Total superoxide dismutase	总超氧化物歧化酶
V/C	The villus height to crypt depth ratio	绒毛高度/隐窝深度
VH	Villus height	绒毛高度
ZO-1	Zonula occludens protein-1	闭锁小带蛋白 1

# 第一章 文献综述

## 1 前言

我国蛋鸡产业自上世纪 70 年代末起步，经过近 50 年的发展，鸡蛋产量已在世界遥遥领先，占全世界总量的 45%左右，数据显示 2021 年鸡蛋产量约为 2682.60 万吨（孙从佼等 2020）。养殖规模与鸡蛋消费量常年位居世界第一，受经济影响，养殖端饲料成本与流通端运输成本成为限制蛋鸡行业发展的因素之一，同时在养殖过程中减少碳排放也越来越受重视。我国的蛋鸡产业也正在由数量增长型向质量效益型转变。

现代的蛋鸡品种经过遗传选育具有高产、生产性能好的特点，养殖周期长。目前国内养殖场的高产蛋鸡一般饲养到 500 日龄左右淘汰，部分优秀的养殖场可以做到 700 日龄淘汰，减少一次育雏，节约育雏时间、饲料、人力、和基本设备等费用。新模式——“100 周产蛋 500 个”最先由欧美学者提出，这种模式可以最合理地解决饲料成本增加带来的经济效益问题，同时提升资源的利用率并减少碳排放，因此这种模式也可成为中国蛋鸡产业的进一步发展的目标。但是蛋鸡经过高水平代谢的产蛋高峰期进入产蛋后期后，随着蛋鸡年龄的增长，消化系统功能减弱，生殖系统逐渐衰老，产蛋率下降（Lv et al 2019）等问题目前难以避免，亟待解决。而蛋壳颜色、鸡蛋新鲜度等广受消费者关注的蛋品质，在高峰期后也会显著下降，出现鸡蛋尺寸增大，蛋壳质量下降，蛋白高度降低和破蛋率增加等问题（Liu et al 2018, Saleh et al 2019）。

蛋鸡的产蛋后期时间较长，占产蛋总时间的一半以上，该时期蛋鸡的产蛋率随着日龄增加而逐渐下降（Joyner et al 1987），保障该时期产蛋率，延长其时长，采取一定的营养策略发挥蛋鸡潜在的生产性能，对提高禽蛋养殖的经济效益有重要意义。当前在畜禽饲料中严禁添加抗生素的背景下，中国的无抗养殖迈入新的时代。因此，寻找一种抗生素替代产品以提高产蛋后期蛋鸡的生产性能并调节其免疫功能以及肠道屏障功能显得尤为重要。山竹醇属于多酚类植物提取物，具有抗炎抗氧化抗菌等功效（Liu et al 2015），且具有植物提取物无残留无毒副作用的特点，是一种很好的潜在绿色添加剂。

## 2 产蛋后期蛋鸡生理特征

一般将蛋鸡产蛋率降至 80%以下的 50 周龄左右的产蛋周期称为产蛋后期，根据产蛋后期蛋鸡不同的生理特征进行饲养管理、饲料配方调整，保证高产蛋鸡的生产性能充分发挥。随日龄逐渐增加，生产性能和蛋品质随之下降，但是这个时期却占到全部产蛋期的一半左右。而且受产蛋高峰期机体代谢旺盛的影响，产蛋后期代谢功能紊乱，机体抗氧化屏障受损；同时随着日龄的增加，机体逐渐衰老，产蛋后期的蛋鸡免疫功能衰减，抗病能力减弱，健康状况不断下滑。同时产蛋后期蛋鸡肠道上皮损伤降低了营养转运载体的表达，影响生产性能；同时，对钙磷的吸收与转运功能因此受到影响，致使骨骼疾病增加，蛋壳质量降低（Al-Batshan et al 1994），蛋品质下降，死淘率上升。

### 2.1 产蛋后期蛋鸡生产性能

蛋鸡生殖系统包括左侧卵巢与输卵管，鸡蛋在此形成。产蛋是一个高度规律的生理行为，卵细胞在卵巢成熟后进入输卵管的膨大部，在生殖激素的刺激下进行旋转和运动形成有层次的浓稀蛋白；接着在输卵管的峡部形成蛋壳膜；然后进入子宫部形成蛋壳，最后通过阴道排出体外。产蛋后期蛋鸡机能老化，生殖系统受到损伤，卵巢机能逐渐衰退，总卵泡数及各等级卵泡的数量减少，促卵泡素、雌激素等生殖激素的分泌量也逐渐减少，产蛋率下降，蛋品质也受到影响。产蛋后期蛋鸡的肠道问题引发的肠道环境的紊乱和炎症反应导致卵巢生长停止或延迟，导致卵子减少。此外，产蛋后期蛋鸡生产性能受养殖环境及养殖密度等环境因素影响，产蛋后期的饲养管理也易受到忽视，产蛋性能逐渐下降。为了维持产蛋成绩增加效益，生产中往往会在蛋鸡饲料中添加较高剂量的油脂，极易出现脂肪堆积，影响肝脏脂质代谢，蛋鸡易患脂肪肝和输卵管炎症等疾病（Sawa et al 1999）。据数据显示，产蛋到后期的产蛋率每周降低约 1%，这个阶段蛋鸡机体生殖器官结构发生变化，生理功能退化。

鸡蛋品质包括蛋壳强度、蛋壳厚度、蛋壳颜色等蛋壳质量以及蛋白高度、哈氏单位和蛋黄颜色等。研究发现，鸡蛋形成过程中蛋壳重量相对稳定，不会出现明显波动，而鸡蛋的体积和重量会随着蛋鸡的日龄的增大，因此在产蛋后期，蛋壳质量出现明显的下降，破壳蛋率、软蛋率升高，在收集、储存和运输过程中更易破损。

据统计，鸡蛋在收集、运输过程中通常存在 10-15%的破损率。蛋壳不仅可使鸡蛋内容物免于外界物理冲击，还会在鸡蛋贮存以及鸡胚发育过程中控制水和气体的交换，并防止某些病原微生物侵袭。

## 2.2 产蛋后期蛋鸡免疫与抗氧化能力

受各种应激因素的影响，产蛋后期蛋鸡机体经常处于亚健康状态，免疫系统普遍较差，容易受到各种疾病的侵扰，如减蛋综合征等疾病。随着产蛋鸡日龄的增加，蛋鸡卵巢和输卵管中淋巴细胞减少，机体免疫稳态被打破，造成产蛋后期蛋鸡输卵管防御能力减弱，致病菌侵袭的风险增加，如新城疫病毒、减蛋综合征病毒和支原体等病原体侵袭。长时间持续作用会造成蛋鸡卵巢炎症，严重可至卵巢结构受损，蛋品质下降，降低产蛋率。同时由于家禽的特殊生理结构，母鸡输卵管的下部通向泄殖腔，容易被各种微生物通过阴道定植；这部分输卵管更容易受到微生物的感染，导致产蛋期淋巴细胞减少和巨噬细胞增加，这可能会对产蛋性能产生负面影响，从而影响蛋的质量。Gantois 等人报道发现沙门氏菌通过泄殖腔从肠道传播至输卵管，影响输卵管细胞因子的表达进而导致产蛋率下降（Gantois et al 2009）。输卵管中葡萄球菌的丰度与蛋壳颜色相关，影响形成蛋壳颜色的色素生物合成（Wen et al 2021）。同时，产蛋后期蛋鸡易发卵巢炎，导致产蛋量和孵化率下降，并可能影响鸡蛋质量，增加发病率和死亡率。

产蛋后期蛋鸡抗氧化应激的能力下降，受营养应激等因素的影响，肝脏中脂质代谢稳态发生变化（Subramanian and James 2010），代谢过程中产生的过量的活性氧（ROS，Reactive oxygen species）攻击干细胞造成肝细胞损伤，极易诱发脂质代谢相关疾病，如脂肪肝综合征等疾病（Shini et al 2019）。蛋鸡的肝脏是其脂肪酸氧化分解、合成脂蛋白与卵黄前体物质的重要场所，直接关系到蛋鸡的健康与蛋品质。肝脏细胞生理功能下降，作为合成脂蛋白和卵黄前体物的代谢分解产物（甘油三酯、胆固醇等脂质）向卵巢输卵管的转运能力下降，鸡蛋的生理合成过程受到影响，致使生产性能和蛋品质下降。肝细胞生理功能下降，降解代谢产物的转运能力似乎下降，如甘油三酯和胆固醇进入卵巢和卵巢管，脂蛋白和卵黄前体的合成减少，从而影响卵的形成，从而降低产蛋效率和品质。

与青年鸡相比，老年蛋鸡肝脏和肾脏中的还原酶活性降低，基因表达下调。氧化产物的不利影响还包括：输卵管受损和随之而来的蛋白质合成减少（Yuan et al 2016），对蛋白的味道和风味产生负面影响，降低蛋清的营养和抗氧化能力（Ariana et al 2011），从而降低蛋白质量。此外，氧化应激经常破坏盲肠微生物区系的动态平衡，降低肠道粘膜的免疫能力（Yang et al 2020），且相关研究已经证实蛋鸡肠道菌群结构的紊乱也会加速肝脏脂肪变性（Saika et al 2019），这必然会损害动物的健康、养分的利用，进而影响鸡蛋的质量。

## 2.3 产蛋后期蛋鸡肠道健康

### 2.3.1 消化吸收功能

对鸡来说，肠道对营养物质的消化与吸收比哺乳动物更为重要（Kogut et al 2017）。据研究，鸡对食物的消化吸收活动有 80%以上在肠道内完成，99%的营养物质都要通过肠道来吸收（Sugiharto 2016），特别是小肠发挥主要作用。小肠的生理功能与其形态结构紧密相关，肠绒毛高度（VH, Villus height）增加会提高营养物质的吸收效率，隐窝深度（CD, Crypt depth）降低一定程度上反应出细胞分泌功能增强，增加绒毛高度可以提高养分消化率（Rattanawut et al 2018）。肠道环境的破坏会导致组织损伤和绒毛缩短，从而影响营养吸收（Nii et al 2020）。因此，肠道环境的破坏可能会降低鸡的营养吸收功能，并可能影响家禽的生产力，包括蛋黄的大小。产蛋后期蛋鸡肠道对钙磷等微量元素的吸收利用效率降低，蛋壳变薄，蛋壳品质下降；且钙磷的吸收代谢障碍易导致蛋鸡骨质疏松，增加了蛋鸡骨折的风险，最终增加了产蛋后期蛋鸡的死淘率。

### 2.3.2 肠道屏障功能

肠道不仅是机体营养物质消化吸收的主要场所，还能够起到屏障作用。胃肠道不同部位的细菌种群也有很大的多样性，从近端到远端，细菌密度有增加的趋势，阻止病原微生物和内毒素等有害物质越过肠道屏障侵入机体（Lee 2013）。根据屏障的不同组成和功能，可以人为的将其分为由肠道上皮细胞及细胞紧密连接构成的机械屏障；由抑菌物质形成的化学屏障；由肠道淋巴组织组成的免疫屏障；以及由肠道微生物组成的微生物屏障（Yan et al 2013）。

机械屏障是肠道与内环境之间的第一道防线，当机械屏障损伤时，紧密连接维持的上皮细胞完整性遭到破坏，肠道粘膜的通透性增强，外来抗原通过肠道进入机体血液循环，引起肠道损伤和炎症反应发生。家禽肠道上皮细胞间连接是由相邻细胞间的多种蛋白以及分子构成的连接复合体，如黏附连接、紧密连接和桥粒连接等，通过相互作用，共同起到加强细胞间连接和组成传递信息通道的作用，其中紧密连接影响最大（王希等 2018）。紧密连接蛋白分为结构蛋白与功能蛋白，共 50 多种，是肠道粘膜上皮屏障功能的重要组成部分。结构蛋白如紧密连接蛋白（Occludin）和闭合蛋白（Claudins）连接着相邻细胞，构成紧密连接的骨架，维持肠道上皮细胞的完整和通透性，增强肠道屏障功能（Günzel and Yu 2013）；功能蛋白如闭锁小带蛋白（ZOs），将跨膜蛋白与肌动蛋白细胞骨架连接在一起，同时将黏附连接与紧密连接相连，传递信号（Hartsock and Nelson 2008）。随着蛋鸡年龄的增长，紧密连接蛋白表达量降低，同时肠道形态结构受到损伤，表现为绒毛高度降低和隐窝深度增加，机械屏障受损，而适当的营养调控措施可以使肠道屏障紧密性增强。

化学屏障主要由消化液、消化道分泌的各种消化酶以及粘膜上皮细胞分泌的溶菌酶、黏蛋白等物质组成（Kong et al 2011）。胆汁中的胆盐可与内毒素（LPS，Lipopolysaccharides）结合，形成难以被机体吸收的复合物引发炎症或者直接降解 LPS（Ridlon et al 2014）。LPS 是肠道内革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分，肠屏障功能障碍时，LPS 会穿过受损的肠道屏障，进入血液循环，从而使血液中 LPS 水平升高，因此血液中 LPS 水平也可以反应肠道屏障完整性。胃酸降低了肠道内 pH 值，影响细菌胞内的  $H^+$  平衡，抑制有害病原菌生长繁殖，且适当降低的 pH 可以提高消化酶的活性；溶菌酶水解细菌细胞壁中的肽聚糖破坏其细胞壁的完整性裂解细菌，且溶菌酶的多肽会刺激免疫球蛋白的产生，并增加促炎细胞因子的产生（Pellegrini et al 2000）；黏蛋白是由肠道上皮细胞和杯状细胞分泌的细菌粘附受体类似物，能与致病菌竞争结合位点，阻止致病菌粘附于肠道上皮细胞，降低有害菌在肠道的黏附和定植，有利于清除致病菌（Lee 2013）。

肠道也是鸡最大的免疫器官，是其最重要的屏障之一。肠道免疫屏障主要是由分布在肠道黏膜和固有层的肠道相关免疫细胞和其分泌的免疫因子组成。当抗原入侵时，免疫应答被激活，淋巴细胞分泌免疫球蛋白、白细胞介素和组胺等具有免疫

调节作用的物质维持肠道稳态。这些免疫相关物质均可以反应肠道的免疫屏障功能。此外，肠道粘膜与血清中的白细胞介素、肿瘤坏死因子等的含量在一定程度上也可以反应肠道的免疫功能，而肠道炎症会降低蛋鸡的产蛋量。微生物屏障实质上是肠道微生物粘附于肠道粘膜表面，形成的菌膜屏障结构。肠道内的益生菌通过竞争潜在致病菌的粘膜定殖位点、产生酸性代谢产物降低 pH、促进肠道上皮细胞增殖分化或激活肠道粘膜免疫等方式来抑制肠道内病原菌的过度繁殖和易位，降低肠道炎症反应和氧化应激（Miao et al 2020）。

### 2.3.3 肠道微生物及其作用

鸡肠道微生物是一个复杂的微生物群落，其组成随着年龄的增长而呈现一定的变化，且不同品种、日粮结构、饲养管理以及不同肠段，微生物表现出不同的群落结构与数量。肠道从近端到远端，细菌密度有增加的趋势，鸡整个消化道中的微生物的数量由前到后依次增加，盲肠中微生物数目最多，约为  $10^{11}$ - $10^{12}$  CFU/g（Yadav and Jha 2019）。肠道的优势菌群对维持动物的生理健康具有重要的影响（张玲清等 2018）。盲肠和回肠是目前肠道微生物研究最多的部位。

鸡的肠道微生物区系在预防传染病、调节营养物质的消化和代谢以及宿主的免疫平衡方面发挥着重要作用（Pan and Yu 2014）。研究表明，蛋鸡肠道微生物区系对改善蛋鸡的营养利用、肠道屏障、生产性能以及鸡蛋质量具有积极的影响（Dai et al 2020, Khan et al 2020）。事实上，肠道微生物及其代谢物作为连接肠道、肝脏、大脑和生殖道的信号分子，进而对家禽健康和鸡蛋质量产生直接或间接的影响（Agus et al 2021）。作为微生物代谢物的短链脂肪酸可以通过促进肠道上皮细胞的增值和分化增加绒毛高度和表面积，从而提高肠道的养分吸收，调节机体钙代谢的动态平衡。对于蛋鸡，钙占蛋壳干重的 37%，在产蛋后期，肠道钙的吸收利用率下降是蛋壳质量差的主要原因，而短链脂肪酸改善肠道形态结构促进钙的吸收，有利于蛋壳的形成，增加蛋壳厚度。在产蛋后期，蛋鸡的产蛋量和蛋质量下降，主要是由于营养利用、蛋白质代谢、肠道有益微生物种群的改变和生殖激素合成不足所致。蛋鸡的肠道微生物组成随着年龄的增长有明显的变化（Videnska et al 2014）。产蛋后期肠道菌群平衡易失调，如厚壁菌门、拟杆菌门等有益菌减少，而大肠杆菌、



沙门氏菌和变形菌门等有害菌增多时，蛋鸡消化功能减弱，易诱发腹泻等症状，最终导致生产性能下降。

### 3 多酚类植物提取物在鸡生产中的应用

#### 3.1 多酚类植物提取物的来源及分类

植物提取物饲料添加剂的来源广，但是因植物的种类、产地来源、采集季节、使用部位和提取方法等诸多因素，不同植物提取物的活性成分差别很大，但其活性成分基本可以分为植物多酚、萜类（皂苷和皂甙等）和含氮化合物（生物碱和胺类等）。多酚类植物提取物由于含有包括分布最广泛的多酚在内的次生代谢物，在改善动物健康和生产性能方面发挥着重要作用（Landete 2013）。植物多酚按结构主要分为类黄酮和非类黄酮（酚酸和芪类）两大类，其中以类黄酮类为主，包括异黄酮类、黄烷醇类、黄酮醇类、黄烷酮类、黄酮类和花青素类六个亚类（Surai 2014, Singla et al 2019）。

富含多酚化合物的植物提取物在抗氧化、抗炎和抗菌等方面具有良好的效果，主要存在于谷物、蔬菜、水果、红茶和绿茶等，分布在植物的花、叶、根、种子和果实这几个部分，是植物组织中含量第四的主要成分，具体分类和主要植物来源如表 1-1 所示。Mahfuz 等人证实，酚类化合物作为天然膳食补充剂对家禽的抗氧化、免疫、抗菌和整体生产性能具有作用（Mahfuz et al 2021）。

表 1-1 植物多酚的分类和来源

Table 1-1 Classification and Source of plant polyphenol			
植物多酚	多酚化合物	植物来源	参考文献
Plant polyphenol	Active ingredients	Plant species	References
黄酮类	芹黄素、大豆苷元、	芹菜，欧芹，牛至	（Kamiloglu et al 2021）
Flavones	木犀草素		
黄酮醇类	山柰酚；槲皮素；杨	洋葱、西兰花、红茶、生	（Lipiński et al 2017）
Flavonols	梅酮；异鼠李素	菜、菠菜、小茴香	
黄烷醇类	儿茶素；没食子酸	茶，葡萄，红酒，绿茶，	（Sigurdson et al 2018）
Flavanols	酯；没食子儿茶素；	黑莓，杏，黑巧克力	
	表儿茶素；原青花素		

续表 1-1 植物多酚的分类和来源

植物多酚	多酚化合物	植物来源	参考文献
Plant polyphenol	Active ingredients	Plant species	References
异黄酮类 Isoflavonoids	大豆异黄酮、黄豆黄 素、染料木素、鹰嘴 豆素	豆科植物及豆类制品，豌 豆，小扁豆，葡萄等	（Jungsukcharoen et al 2014）
黄烷酮类 Flavanones	橙皮素、柚皮素	葡萄柚、橙子、橘子、西 柚等	（Liang and Maher 2022）
花色苷类 Anthocyanins	矢车菊素、飞燕草色 素、天竺葵色素、牵 牛花色素	蓝莓、草莓、葡萄、红 酒、卷心菜、萝卜、洋 葱、紫薯等	（Zhang and Jing 2022）
酚酸类 Phenolic acids	没食子酸、香草酸、 咖啡酸	咖啡、橄榄，卷心菜，苹 果、亚麻籽等	（Cave and Waterhouse 2019, Zhu 2019）
芪类 Stilbenes	白藜芦醇	燕麦、红葡萄酒、白葡萄 酒等	（Chimento et al 2016）

### 3.2 多酚类植物提取物对鸡生产性能的影响

多酚已经广泛用于肉鸡和蛋鸡的饲养，改善禽类的健康和生产性能（Akyildiz and Denli 2016）。多酚类植物提取物可以提高饲料利用率来发挥其促生长作用。在肉鸡生产中，Yesilbag 通过实验发现将富含多酚的迷迭香叶和迷迭香精油加入肉鸡饲料可以改善其肉品质（Yesilbag et al 2011）；给 22-36 日龄的肉鸡饲喂 1% 的没食子酸和亚油酸可以显著提高饲料转化率（Jung et al 2010）；另有研究表明饲料中添加多酚不会影响肉鸡的生产性能、屠宰率、胸肌产量和肉成分。

鸡蛋形成过程受神经与生殖系统多重调控，实际生产过程中，营养策略对其生产性能和蛋品质有明显的影响。在产蛋后期蛋鸡饲料中添加 600 或 1000 mg/kg 茶多酚可改善肠道微生物菌落状态，有效的提高蛋鸡对营养物质的吸收，提高其产蛋率（Ding et al 2020）；37 周龄蛋鸡日粮中添加 400 mg/kg 的槲皮素 8 周后，产蛋率显著提高 6.5%，而对日增重和平均蛋重无显著影响（Yang et al 2018）；在 55 周龄如皋黄鸡蛋鸡饲料中添加 60 mg/kg 大豆黄酮可显著提高蛋鸡产蛋率（肖蕴祺等 2018），以上研究都证明植物多酚对于蛋鸡的生产性能有积极作用。另有证据表明，由于蛋白结构的变化，例如  $\beta$ -卵粘蛋白亚基和 O-糖苷键的降解、以及蛋白质之间

相互作用的减少，蛋白质量会下降。在蛋鸡饲料中添加具有抗氧化、抗菌特性、高生物价值、无残留效应和毒性风险的天然植物多酚产物，通过生物强化到鸡蛋中，从而增强蛋白质量。蛋鸡日粮中添加 200 mg/kg 和 300 mg/kg 厚朴酚后，蛋清品质和哈氏单位（HU，Haugh unit）均有不同程度的提高。研究表明在蛋鸡日粮中添加 30 或 60 g/kg 的葡萄渣，可以提高鸡蛋的哈氏单位，增强蛋黄的抗氧化能力。而中药提取物中，金银花和黄芪提取物（Xie et al 2019）、生姜提取物（Wen et al 2019）可以改善蛋白质量。此外，多酚类植物提取物还可以延长鸡蛋的货架期（dos Santos et al 2020）。

### 3.3 多酚类植物提取物对鸡免疫功能的影响

急性炎症和免疫反应过度或不足均会导致慢性炎症并诱发多种疾病。多酚可以通过以下途径发挥免疫调节作用：通过控制酶和细胞因子以及部分调节转录因子的活性，如细胞核转录因子- $\kappa\beta$ （NF- $\kappa\beta$ ，Nuclear factor kappa B）与细胞受体结合并改变细胞信号通路来调节免疫细胞的功能（Sobhani et al 2021）。研究表明白藜芦醇和姜黄素可以通过抑制 NF- $\kappa\beta$  信号通路抑制肿瘤坏死因子（TNF- $\alpha$ ，Tumor necrosis factor-alpha）的释放（Kim et al 2011）。而在饲喂含有多酚来源的饲料（例如富含水飞蓟素的水飞蓟籽）的肉鸡中观察到了其抗炎作用（Shanmugam et al 2022）。

其次多酚可以最大限度地减少免疫反应中产生的自由基和活性氧的有害影响，从而增强免疫系统的功能。百里香的精油中含有百里香酚和香芹酚等抗氧化成分，蛋鸡日粮添加富含多酚物质的百里香精油，其血清、肝脏中的过氧化物均有不同程度的降低；在蛋鸡中添加 2 mg/L 的洋葱汁，蛋鸡的蛋重和免疫球蛋白水平显著升高。在母鸡的饮食中添加一些多酚类植物或植物提取物，如白藜芦醇（Sahin et al 2010）、紫花苜蓿（Deng et al 2012）和桉叶多酚（Chen et al 2018）也被发现可以提高蛋鸡的抗氧化状态，改善机体健康状况。此外，日粮添加 30 或 50 mg/kg 姜黄素降低了鸡蛋的脂质过氧化，提高了鸡蛋的抗氧化能力（Galli et al 2018）。

### 3.4 多酚类植物提取物对鸡肠道健康的影响

肠道是抵御外界病原的最前线，肠道不健康会引发很多疾病。多酚是一种在植物中较为多见的由多个基团构成环状物结构且不含氮的物质，抗菌活性最强，因此，

富含多酚类物质的植物提取物具有很高的抗微生物活性，同时它们的抗菌谱也是最广的。研究表明，植物多酚通过调节肠道有益菌和有害菌的生长繁殖调节肠道菌群充分发挥其抑菌作用（Reda et al 2021）；另一方面通过微生物将多酚转化为相对更可利用的代谢物来产生有益效果，或通过作为益生元丰富有益细菌来调节肠道微生物群落的结构（Tzounis et al 2008）。Zheng 等在饲料中添加紫花苜蓿粉发现可以通过提高肠道有益微生物数量，有效的提高蛋鸡对营养物质的吸收（Zheng et al 2019）；Akbari 研究表明百里香酚和香芹酚等酚类化合物的抗菌作用可能会增加有益肠道微生物的数量，同时抑制致病菌繁殖，改善肠道绒毛的形态和生殖道，增加消化酶的分泌，促进蛋白质和脂肪的消化和肠道的吸收（Akbari et al 2016）。与年轻蛋鸡相比，老年母鸡肠道微生物区系的变化导致机体的慢性炎症反应（Burel and Valat 2009）。多酚还可以通过促进有益菌的增殖和调节肠道菌群，间接增强宿主的免疫能力和机体健康（Paszkiwicz et al 2012）。

此外，植物多酚还有助于改善肠道粘膜功能。研究发现，山茱萸提取物通过抑制紧密连接蛋白 ZO-1 和 claudin 的解离而增加跨上皮细胞阻力（Yang et al 2019）。日粮中额外添加富含多酚化合物的精油可以显著提高肉鸡十二指肠的绒毛高度；姜黄素也可以提高肉鸡肠道绒毛高度（Abd El-Hack et al 2021）。不仅如此，肠道疾病也与氧化应激有关。氧化应激已被证明会导致屏障功能缺陷，从而导致肠道病理。在饲料中添加厚朴酚则能增强蛋鸡卵巢的抗氧化能力进而提高产蛋率与蛋品质（Chen et al 2021）。因此通过改善健康状况较低的产蛋后期蛋鸡的肠道功能和抗氧化能力来提高鸡蛋质量是可行的。

综上，蛋鸡的生理健康与产蛋质量互相关联，健康状况会影响鸡蛋品质，因此，蛋鸡的健康指标如：免疫抗氧化能力、肠道形态和功能都可以通过营养策略改善，最终达到提高鸡蛋产量和蛋品质的目的。而由以上研究可知，多酚类植物提取物可以作为提高蛋鸡生产力和蛋品质的可开发的潜在饲料添加剂。

## 4 山竹醇的营养调控作用

### 4.1 山竹醇的来源、提取方法及特性

山竹醇（Garcinol、Camboginol）也被称为山竹子素、藤黄素，黄色晶体化合物，是从藤黄科藤黄属植物的果实、树皮、叶、根等中提取出来的一种多环多异戊

烯基间苯三酚类化合物，其化学式为  $C_{38}H_{50}O_6$ ，分子量为 602.39，熔点为  $132^{\circ}\text{C}$ ，沸点为  $710.76^{\circ}\text{C}$  (Aggarwal and Das 2016)。我国藤黄属植物种类资源丰富，目前已知有 22 种，分布在两广、云南海南和台湾等热带地区。而藤黄属植物大多具有治疗痈疽肿毒、顽癣恶疮、损伤出血等功效，也是我国传统的傣药来源之一，茎和叶的汁用于驱虫，清火退热，解食物中毒，其成熟果实可直接食用，味道较酸。而在东南亚地区，有许多国家以藤黄入药。在印度，藤黄等天然植物或从中提取的化合物，已经被证明具有非常高的药用价值 (Schobert and Biersack 2019)。大量体内外研究表明，山竹醇具有抗菌、抗炎、抗氧化和抗病毒等作用 (Liu et al 2015)。目前山竹醇主要是通过溶剂浸提法获得，将干藤黄属果实或根茎粉碎，用有机溶剂多次萃取，然后进行层析纯化和结晶，获得棕黄色纯度较高的山竹醇晶体，该晶体可溶于乙醇、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿和正己烷等有机溶剂，但不溶于水。

## 4.2 山竹醇对畜禽生产及肠道健康的调控

山竹醇有酚羟基和  $\beta$ -二酮官能团，表现出良好的抗氧化作用和自由基清除能力。在相同的质量体积溶液中，山竹醇的自由基清除能力低于抗坏血酸和儿茶素，与 DL-R-生育酚相当；但与抗坏血酸不同，山竹醇在清除自由基的同时不会产生相应的自由基，引起其它氧化应激的可能性更小，因此是一种非常具有潜力的羟基自由基清除剂。体内外试验表明，山竹醇可以清除自由基，具有抗氧化作用 (Hong et al 2007)。山竹醇可以通过干扰炎症反应发挥抗炎功能。一方面，山竹醇可以抑制  $\text{TNF-}\alpha$  的表达，减少体内白细胞和巨噬细胞的黏附渗透，另一方面，可以抑制  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  的激活，具有抗炎作用 (Wang et al 2017)。由以上可知，山竹醇具有一定的抗炎作用。同时山竹醇表现出良好的抗菌活性，对革兰氏阳性菌有抑制作用。山竹醇还可以通过增加肠道益生菌阿克曼氏菌 (*Akkermansia muciniphila*, *A.muciniphila*) 改变小鼠的肠道菌群组成，调节肠道炎症 (Lee et al 2019)。且山竹醇对动物试验模型的生长性能、繁殖性能等无影响，毒性低 (Majeed et al 2018)。课题组前期研究发现，饲料添加 400 mg/kg 的山竹醇可通过改善仔猪的抗氧化能力，缓解氧化应激并保护肝脏 (贺琼玉等 2019)。此外，山竹醇还可以通过改善断奶仔猪肠道屏障功能障碍和炎症反应，抑制肠道中有害细菌的生长，促进有益细菌乳杆菌的生长，改变肠道微生物区系，在不影响肝和肾功能的同时，改善仔猪腹泻，提高其生长性

能（Wang et al 2020）。由此推测山竹醇可能有益于改善产蛋后期蛋鸡的生产性能、蛋品质和肠道健康。

### 4.3 山竹醇的应用前景

山竹醇具有抗氧化功能、抗炎功能、抑菌功能等生理功能，是一种极具有应用潜力的植物提取物。在蛋鸡管理中使用添加剂的一个常见问题是化学残留物转移到鸡蛋中，因此，植物来源的多酚似乎是一种非常合适的解决方案，因为它们具有类似抗生素的作用，而且没有残留。本课题组在前期试验中证明山竹醇能提高猪的生长性能，增强抗氧化能力，是一种具有可开发和应用前景的饲料添加剂，然而山竹醇对蛋鸡肠道健康鲜有报道。

## 5 研究目的及意义

我国家禽养殖业朝着集约化养殖推进，同时消费者对畜禽产品质量愈发关注，质量要求愈发严格。植物提取物作为天然来源的生物活性物质备受关注，然而，植物提取物作为饲料添加剂的使用还处在发展阶段，作用机理以及在不同种畜禽不同时期的适宜添加量有待进一步探究。

目前，对于山竹醇在产蛋后期蛋鸡上的应用较少，研究的重要意义在于，山竹醇具有抗氧化、抗炎、免疫调节、抑菌作用，有维护畜禽肠道微健康、促进动物生长、提高免疫力等潜力，从多方面促进蛋鸡健康并且提高生产性能，以达到替代抗生素的目的。所以本试验以山竹醇为中心，以京粉 6 号产蛋后期蛋鸡为研究对象，通过在基础日粮中添加一定量的山竹醇，探究山竹醇对产蛋后期蛋鸡的生产性能、蛋品质、血清免疫抗氧化指标及肠道健康等方面的影响。

## 第二章 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能、免疫功能和肠道健康的影响

### 1 前言

蛋鸡经高密度集约化生产，后期健康问题频发，导致死亡率高、产蛋率和蛋品质下降等现象，影响蛋鸡的生产效益。产蛋高峰期高强度的生产导致的肠道功能受损、免疫失衡和肠道菌群失调是蛋鸡产蛋后期产蛋性能差的原因（邓聪聪等 2022）。然而过去为提高蛋鸡生产性能及抗病力而使用的抗生素已被禁止添加，除在饲料中禁止抗生素生长促进剂，人们对禽蛋产品的质量和安全的认识不断提高，植物源饲料添加剂作为天然活性物质例如植物多酚改善家禽健康并提高生产性能受到关注。山竹醇提取于药用性很强的藤黄属植物中，具有良好的抗氧化、抗炎和抗菌等作用，且无毒副作用和残留（Kolodziejczyk et al 2009）。目前的研究主要以体外细胞与小鼠为试验对象，大多探究其抗氧化、抗炎及抗菌等功能，而在蛋鸡生产上的应用研究较少。因此，本试验在 57 周龄产蛋后期蛋鸡的饲料中添加不同浓度的山竹醇，通过测定生产性能、蛋品质、血清生化、肠道组织形态及盲肠菌群等指标，探究山竹醇对产蛋后期蛋鸡的影响，为山竹醇的开发应用提供理论参考。

### 2 材料与方法

#### 2.1 试验材料

山竹醇为实验室制备，有效含量为 9%。

试验动物和地点：57 周龄京粉 6 号蛋鸡；湖北神丹健康食品有限公司蛋鸡场。

#### 2.2 试验设计

选取 57 周龄的体重相近健康京粉 6 号蛋鸡 144 只，按照随机区组设计和体重相近原则，根据体重随机分为 4 组，随机分为 4 组，每组 12 个重复，每个重复 3 只鸡。对照组（Con 组）饲喂基础饲料，试验 LG 组、MG 组、HG 组分别在基础饲料中添加 100、300、500 mg/kg 山竹醇。饲喂 14 周，包括预饲期 2 周和正式试验期 12 周。

## 2.3 试验日粮

基础日粮为玉米-豆粕型饲料，由湖北神丹公司农腾饲料厂提供，并根据实际产蛋状况和营养需要配置，试验所使用饲料中均不含任何抗生素。基础日粮组成及营养水平见表 2-1。

表 2-1 基础日粮和对照组日粮组成及营养成分

Table 2-1 Composition and nutrient levels of basic diets

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	63.06
豆粕 Soybean meal	24.50
大豆油 Soybean oil	0.50
石粉 Limestone	10.00
碳酸氢钙	1.00
食盐 NaCl	0.30
蛋氨酸 Methionine	0.14
预混料 Premix <sup>1</sup>	0.50
Total	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2</sup>	
代谢能 ME, MJ/kg	11.13
粗蛋白质 CP, %	15.59
钙 Ca, %	4.02
有效磷 AP, %	0.40

注：预混料每千克全价饲料提供：维生素A 9500 IU，维生素D<sub>3</sub> 4000 IU，维生素E 25 IU，维生素K<sub>3</sub> 2.5 mg，维生素B<sub>1</sub> 2.5 mg，维生素B<sub>2</sub> 5.5 mg，维生素B<sub>6</sub> 4 mg，维生素B<sub>12</sub> 0.02 mg，生物素 0.2 mg，泛酸 8 mg，烟酰胺 35 mg，叶酸 1 mg，胆碱 450 mg，铁 60 mg，铜 10 mg，锰 110 mg，锌 100 mg，碘 1.0 mg，硒 0.3 mg。营养水平为计算值。

Note: The premix provided per kilogram of diet: vitamin A 9500 IU, vitamin D<sub>3</sub> 4000 IU, vitamin E 25 IU, vitamin K<sub>3</sub> 2.5 IU, vitamin B<sub>1</sub> 2.5 mg, vitamin B<sub>2</sub> 5.5 mg, vitamin B<sub>6</sub> 4 mg, vitamin B<sub>12</sub> 0.02 mg, biotin 0.2 mg, pantothenic acid 8 mg, nicotinamide 35 mg, folacin 1 mg, choline 450 mg, Fe 60 mg, Cu 10 mg, Mn 110 mg, Zn 100 mg, I 1.0 mg, Se 0.3 mg. Nutrient levels were calculated values.



## 2.4 试验场地与饲养管理

试验蛋鸡均在 H 型笼下层饲养，每笼饲养 3 只蛋鸡，每个处理的各重复交叉分布于鸡舍。对照组与试验组采用相同基础日粮，通过乳头式饮水器自由饮水。每日之前准时收集齐当天所产蛋，并于每日 8:00 和 16:00 各投一次饲料，自由采食，光照时间保证 16 小时，每日清粪一次，进行常规免疫和消毒程序，保证鸡舍内环境卫生质量。

## 2.5 样品采集

于试验结束当天，每个处理组随机选取 6 只蛋鸡，屠宰前禁食 12 h，于翅静脉采血后，分离血清，-20℃条件下保存。采血完成后，采取颈静脉放血方式进行屠宰解剖，快速分离出十二指肠、空肠、回肠肠段，截选 1-2 cm 的长度，再用备好的 0.9%浓度的生理盐水小心冲洗掉肠道内容物，用滤纸小心吸掉多余水分，置于 4%的多聚甲醛溶液中固定保存，保持形态；另取一段空肠纵向剪开，用生理盐水轻轻冲洗干净，用滤纸吸掉多余水分，再用玻片刮取空肠粘膜样品，放进 2 ml 冻存管，-80℃保存，用于总 RNA 的提取并测定相关基因的表达量；最后收集盲肠内容物于 2 ml 冻存管中，-80℃保存。最后剪取盲肠，取内容物置于冻存管中，-80℃保存待测，用于测定盲肠菌群结构。

## 2.6 检测指标与方法

### 2.6.1 生产性能指标测定

正试期内，每日记录各组（以重复为单位）产蛋数、蛋重（g）、软破壳和畸形蛋数、死淘鸡数，每周统计 1 次采食量（g/d）。计算统计期内的产蛋率（%）、平均蛋重（g）、料蛋比及死淘率（%）。

产蛋数：每组每日实际的所有产蛋数。

平均蛋重：以周为单位，每组所有鸡蛋总重量的平均值（单位：g）。

平均日采食量（ADFI, Average daily feed intake）：以周为单位，总的喂料量减去食槽的剩料量除以每组鸡只数（单位：g）。

产蛋率：以周为单位，统计每组鸡的产蛋百分比，即总产蛋数/（饲养天数×总鸡数）×100%。

料蛋比 (F/E, Feed/egg weight ratio): 每个星期每组的耗料量除以该组产蛋的总重量和天数乘以 100%。

### 2.6.2 蛋品质指标测定

主要仪器: 游标卡尺、多功能蛋品质测定仪 (日本 FHK 公司)、蛋壳厚度测定仪、蛋壳强度仪 (以色列 ORKA 公司)、色差仪。

在试验开始第 0、28、56、84 天, 对每个处理组随机抽选 20 枚蛋进行蛋品质测定, 测定蛋形指数、蛋壳强度、蛋白高度、哈氏单位、蛋壳厚度等常规蛋品质指标。先用色差仪测定鸡蛋赤道中央蛋壳的亮度、红度和黄度值; 游标卡尺测定横径与纵径并记录; 然后用蛋壳强度测定仪测定样品蛋的蛋壳强度并记录, 之后轻轻将鸡蛋打破, 保证蛋清和蛋黄完整, 测试结果有效, 否则结果无效, 将蛋清和蛋黄完整的放在多功能蛋品质测定仪检测处, 按开始按钮, 等待几秒钟, 鸡蛋的蛋重、蛋白高度、蛋黄颜色、哈氏单位和等级就会自动显示在多功能蛋品质测定仪上, 结束一次后冲洗检测托盘并擦干, 然后重复以上过程, 最终将以上测试的有效结果记录到实验记录本上。蛋壳取赤道中部两端的蛋壳, 剥离内膜, 用蛋壳厚度测定仪测量并记录。

### 2.6.3 抗氧化指标测定

采用购自南京建成生物工程研究所的试剂盒检测血清中总超氧化物歧化酶 (Total superoxide dismutase, T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px, Glutathione peroxidase)、总抗氧化能力 (Total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 试剂盒, 按照说明操作。

### 2.6.4 免疫指标测定

采用购自南京建成生物工程研究所的试剂盒检测血清中白细胞介素-2 (Interleukin-2, IL-2)、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、免疫球蛋白 A (Immunoglobulin A, Ig A)、免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, Ig G)、免疫球蛋白 M (Immunoglobulin M, Ig M)、内毒素 (Lipopolysaccharides,

LPS)、皮质醇 (Cortisol, CORT)、D-乳酸 (D-lactate, LD), 试剂的配置及试验操作过程参照说明书进行。

## 2.6.5 肠道形态结构

(1) 肠道切片制作程序为:

取材固定: 颈部放血处死后打开腹腔, 剖取十二指肠、空肠和回肠中段肠道组织样品, 生理盐水缓慢冲洗肠道内容物后, 之后置于 4%多聚甲醛溶液固定。

组织脱水透明: 采用梯度酒精进行脱水, 依次将组织放入 70%、85%、95%、100%酒精浸泡 1 h, 之后依次放入 1/2 纯乙醇和 1/2 二甲苯混合液 30 min, 二甲苯 20 min 和二甲苯 20 min。

浸蜡包埋: 在恒温箱中浸蜡, 温度维持在 55-65℃将浸好蜡的组织于包埋机内进行包埋, 注意避免气泡产生, 待冷却后分离, 取出修剪蜡块并制片。

(2) H&E 染色步骤为:

脱水: 依次将切片放入二甲苯 20 min, 二甲苯 20 min, 无水乙醇 5 min, 95%乙醇 2 min, 85%乙醇 2 min, 70%乙醇 2 min, 50%乙醇 2 min。

染色: 切片脱水后, 放入苏木精染液 5 min, 纯化水洗片刻后用 1%盐酸乙醇分化, 接着用氨水水洗碱化 (返蓝), 纯化水洗片刻, 之后将切片分别放入 50%、70%和 85%梯度的乙醇脱水, 最后放入伊红染液中染色 5 min。

脱水透明: 将切片放入无水乙醇中 3 次, 每次 5 分钟, 之后放入二甲苯中两次, 每次 5 分钟。

封片: 根据切片样本尺寸的大小, 选择合适的盖玻片, 在载玻片样品中间滴加 1 至 2 滴中性树脂, 用镊子将盖玻片从一侧倾斜慢慢盖下, 根据样品调整盖玻片位置, 移除气泡, 自然晾干。

观察: 利用 min-MSbot Image System 软件测量统计。在每张玻片上至少选取 5 根完整绒毛 测定每个绒毛所对应的绒毛高度和隐窝深度。

绒毛高度: 从肠腺开口至绒毛顶端的垂直高度;

隐窝深度: 从黏膜肌层至肠腺开口处的垂直高度;

绒隐比 (V/C, The villus height to crypt depth ratio): 绒毛高度与隐窝深度的比值。

## 2.6.6 肠道紧密连接基因

### （1）组织中 RNA 的提取

取一定重量的空肠粘膜样品放入 1.5 mL 无酶管中，加入 1mL 的 Trizol 试剂，充分匀浆后室温静置 5 min，置于 4℃高速冷冻离心机中，12000 rpm，10 min。

取上层有机层，加入 0.2 mL 预冷的氯仿，振摇 15 sec 后室温静置 10 min，置于 4℃高速冷冻离心机中，12000 rpm，10 min。

转移上层水相，加入 0.5 mL 预冷的异丙醇，将管中液体混匀，冰上静置 30 min，在 4℃高速冷冻离心机中，12000 rpm，10 min。

弃上清液，加入 1 mL 75%预冷的乙醇，振摇洗涤沉淀，在 4℃高速冷冻离心机中，12000 rpm，10 min，重复此操作一次。

弃上清，于超净台中干燥沉淀 10 min，加入 30  $\mu$ L 的 DEPC 水溶解 RNA。

核酸浓度测定仪测定总 RNA 浓度。琼脂糖凝胶电泳测试 RNA 完整性和纯度制备 1%琼脂糖凝胶，点样，每 1  $\mu$ L 的总 RNA 中加入 0.5  $\mu$ L 的 loading buffer，混匀，并在 65℃水浴 10 min。于电泳槽中电泳，最后在凝胶成像系统中观察条带，根据条带亮度判断 RNA 的完整性，如无降解进行 cDNA 的合成。

### （2）反转录为 cDNA

使用反转录试剂盒，按说明书进行操作，如表 2-2 所示配制 20  $\mu$ L 逆转录反应体系，配制完成后放入 PCR 仪，42℃反应 60 min，99℃反应 5 min，25℃反应 20 min。

表 2-2 逆转录反应体系

Table 2-2 Formula of reverse transcription

试剂名称	加入量
5× Prime Script RT Master Mix	4 $\mu$ L
RNA	1 $\mu$ L
4× gDNA wisper Mix	4 $\mu$ L
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	补足至20 $\mu$ L

### （3）实时荧光定量 PCR（RT-PCR）检测

PCR反应体系为 20  $\mu$ L：10  $\mu$ L SYBR Premix Ex Taq，0.4  $\mu$ L上游引物，0.4  $\mu$ L下游引物，0.4  $\mu$ L ROXII，1  $\mu$ L cDNA，7.8  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O，在冰盒上配置反应液，配置

好的液体混匀后离心。采用Primer 5.0软件设计引物，以 $\beta$ -actin管家基因作为内参基因，PCR引物序列参数见表2-3。荧光定量PCR程序设置为95℃预变性30 sec；95℃ 5 sec，60℃ 31 sec，反应40个循环，解离阶段95℃ 15 sec，60℃ 15 sec。

PCR数据用内参进行校正，使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算基因相对表达量。计算公式为 $\Delta\Delta CT = (\text{待测组目的基因CT值} - \text{待测组内参基因CT值}) - (\text{待测组目的基因平均CT值} - \text{待测组内参基因平均CT值})$ 。

表 2-3 目的基因与内参基因的引物序列

Table 2-3 Primer sequences of target and reference genes	
基因名称	引物序列 (5' -3')
Gene name	Primer sequence(5' -3' )
<i>Claudin-2</i>	F: CATACTCCTGGGTCTGGTTGGT
	R: GACAGCCATCCGCATCTTCT
<i>Occludin</i>	F: ACGGCACCTACCTCAA
	R: GGGCGAAGAAGCAGATGAG
<i>Zo-1</i>	F: CAACGTAGTTCTGGCATTATTCG
	R: GGAGGATGCTGTTGTCTCGG
$\beta$ -actin	F: AGTGTCTTTTTGTATCTTCCGCC
	R: CCACATACTGGCACTTTACTCCTA

## 2.6.7 肠道微生物多样性分析

盲肠的菌群高通量测序在美吉生物公司进行检测，测序流程包括：

### (1) 微生物基因组总 DNA 提取

使用肠道菌群总 DNA 提取试剂盒提取菌群基因组 DNA，琼脂糖凝胶电泳检测所提取的基因组 DNA 纯度。

### (2) PCR 扩增

通常以微生物核糖体 RNA 等能够反映菌群组成和多样性的目标序列为靶点，根据序列中的保守区域设计相应引物，并添加样本特异性 Barcode 序列，进而对 rRNA 基因可变区（单个或连续的多个）或特定基因片段进行 PCR 扩增。扩增尽可能使用低循环数扩增、保证每个样本扩增的循环数一致。从扩增好的样品中随机挑选几个具有代表性的样本进行预试验。全部样本按照正式试验条件进行，将同一样

本的 PCR 产物混合均匀后，琼脂糖凝胶电泳检测纯度。

### （3）荧光定量 PCR

根据琼脂糖电泳结果，将 PCR 产物用蓝色荧光定量体系进行检测定量，再按照每个样本的测序量要求进行混合。

### （4）Illumina PE 文库构建

连接“Y”字形接头，通过磁珠筛选去除接头自连片段，纯化添加接头后的文库体系；对上述连上接头的 DNA 片段进行 PCR 扩增，从而富集测序文库模板，并再次纯化文库富集产物。通过琼脂糖凝胶电泳对文库做最终的片段选择与纯化。

### （5）Illumina PE 测序

DNA 片段的一端和引物的碱基互补，固定在芯片上；DNA 片段的另一端随机与附近的另一个引物互补，也被固定住，以形成“桥（bridge）”结构；PCR 扩增，产生 DNA 簇；DNA 扩增子链，线性化成为单链。加入改造过的 DNA 聚合酶和带有 4 种荧光标记的 dNTP，每次循环只合成一个碱基；用激光扫描反应板表面，读取每条模板序列第一轮反应后所聚合上的核酸种类；将“荧光基团”和“终止基团”化学切割掉，恢复 3'端粘性，继续聚合第二个核酸；统计每一轮收集到的荧光信号结果，获知模板 DNA 片段的序列。

### （6）测序数据分析

根据 overlap 关系进行拼接以区分样本，进行归并和 OTU（Operational Taxonomic Unit，可操作分类单元）划分，并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列。再进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析，其中基于 OTU 聚类分析结果可以对 OTU 进行多种多样性指数分析，基于分类学信息可以在各个分类水平上进行群落结构的统计分析。

在上述两种分析的基础上在进行一系列群落结构和系统发育等统计学和可视化分析。使用 QIIME 软件对每个样本的 Alpha 多样性（衡量群落的丰富度和均匀度）和 Beta 多样性（不同样本之间群落结构的相似性）进行计算，得到 Shannon 指数、Chao 指数、菌群丰度差异等结果。

## 2.7 数据处理和分析

试验期间每天记录当天数据，用 Microsoft Excel 2016 对数据进行整理并初步处理。用 IBM SPSS Statistics 23 软件对数据进行单因素方差分析（One-way ANOVA）检验显著性，并采用邓肯氏（Duncan's）进行多重比较。试验结果以（平均数±标准差）的形式表示， $P<0.05$  表示差异显著， $P<0.01$  表示差异极显著， $0.05<P<0.1$  表示有改变趋势。

### 3 结果与分析

#### 3.1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

由表 3-1 可知，蛋鸡产蛋率随着日龄的增加而下降。试验至第 4 周，与基础日粮组相比，LG 组和 MG 组产蛋率均有提高的趋势（ $P=0.051$ ），分别提高了 4.38% 和 4.05%，但对采食量与料蛋比无显著影响（ $P>0.05$ ）。至试验第 8 周，山竹醇处理组与对照组相比，LG 组的平均蛋重显著降低（ $P<0.05$ ），产蛋率方面无显著影响，MG 组产蛋率相较于对照组提高了 3.56%。试验至第 12 周，添加山竹醇对产蛋率无显著影响，但 LG 组和 MG 组平均蛋重显著低于对照组（ $P<0.05$ ）。整个试验期间，与对照组相比较，饲料中添加山竹醇有提高产蛋率的趋势（ $P=0.080$ ），LG 组与 MG 组蛋鸡产蛋率分别提高了 1.81%、2.84%；而平均蛋重显著降低（ $P<0.05$ ）。

表 3-1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

Table 3-1 The effect of garcinol on production performance of late laying hens

项目 Items	对照组	山竹醇添加量 The level of garcinol mg/kg			P-value
		100	300	500	
第 1-4 周 Weeks 1 to 4					
产蛋率 Egg production /%	90.10±1.96	94.05±1.17	93.75±0.82	89.25±1.67	0.051
平均蛋重 Average egg weight/g	60.52±0.84 <sup>a</sup>	57.59±0.40 <sup>b</sup>	58.40±0.44 <sup>b</sup>	58.34±0.84 <sup>b</sup>	0.021
平均日采食量 ADFT/（g/只）	107.28±1.87	105.60±2.70	111.84±3.99	109.56±3.7	0.553
料蛋比 Feed to egg ratio	1.98±0.06	1.95±0.02	2.04±0.03	2.11±0.05	0.056
第 5-8 周 Weeks 5 to 8					
产蛋率 Egg production /%	89.95±1.58	91.96±2.06	93.15±0.97	88.99±1.39	0.231
平均蛋重 Average egg weight/g	59.85±0.77 <sup>a</sup>	57.52±0.56 <sup>b</sup>	58.54±0.43 <sup>ab</sup>	57.90±0.54 <sup>ab</sup>	0.040
平均日采食量 ADFT/（g/只）	110.57±2.83	113.04±4.91	110.18±4.06	113.31±1.92	0.903
料蛋比 Feed to egg ratio	2.06±0.03	2.15±0.08	2.02±0.04	2.21±0.04	0.066
第 9-12 周 Weeks 9 to 12					
产蛋率 Egg production /%	88.83±1.46	87.02±1.63	89.48±1.40	87.85±2.10	0.223
平均蛋重 Average egg weight/g	59.67±0.78 <sup>a</sup>	57.36±0.49 <sup>b</sup>	57.85±0.38 <sup>ab</sup>	58.06±0.66 <sup>ab</sup>	0.049
平均日采食量 ADFT/（g/只）	107.78±4.10	104.07±3.20	110.15±1.13	110.10±1.01	0.382
料蛋比 Feed to egg ratio	2.04±0.06	2.09±0.05	2.13±0.05	2.15±0.06	0.060



续表 3-1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

项目 Items	对照组	山竹醇添加量 The level of garcinol mg/kg			P-value	
		100	300	500		
第 1-12 周 Weeks 1 to 12						
产蛋率 Egg production /%	89.57±1.35 <sup>ab</sup>	91.19±1.26 <sup>ab</sup>	92.11±0.97 <sup>a</sup>	88.70±1.28 <sup>b</sup>	0.080	
平均蛋重 Average egg weight/g	59.99±0.71 <sup>a</sup>	57.35±0.43 <sup>b</sup>	58.33±0.40 <sup>b</sup>	58.10±0.64 <sup>b</sup>	0.014	
平均日采食量 ADFT/（g/只）	108.57±2.54	106.23±2.22	110.95±2.27	110.93±1.65	0.402	
料蛋比 Feed to egg ratio	2.08±0.02 <sup>b</sup>	2.04±0.04 <sup>b</sup>	2.07±0.03 <sup>b</sup>	2.15±0.03 <sup>a</sup>	0.014	

注：同行数据不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ),  $n=12$ 。

Note: Different letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ),  $n=12$ .

### 3.2 山竹醇对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

各组蛋品质指标如表 3-2 所示。本试验中,随着蛋鸡日龄的增加,蛋品质(蛋白高度、哈氏单位)下降。根据表中数据可知,饲料中添加山竹醇对蛋壳强度、蛋黄颜色和蛋壳厚度无显著影响( $P>0.05$ )。至试验第 4 周,与 HG 组相比, LG 组显著提高了蛋白高度和哈氏单位( $P<0.05$ ),同时不同水平山竹醇对蛋形指数有降低的趋势( $P=0.083$ )。试验至第 8 周,相较于 LG 组与 HG 组, MG 组的显著提高后期蛋鸡所产蛋的蛋白高度和哈氏单位( $P<0.05$ ),而 LG 组拥有更高的蛋形指数( $P<0.05$ )。至第 12 周试验结束,与基础日粮组相较,添加不同水平的山竹醇均可以极显著地提高蛋白高度和哈氏单位( $P<0.01$ ),蛋形指数有降低的趋势( $P=0.092$ );与对照组相比, LG 组与 MG 组鸡蛋的蛋壳亮度( $L^*$ )极显著降低,而 MG 组的蛋壳亮度( $L^*$ )极显著高于两个低水平添加组( $P<0.01$ );同时 LG 组与 MG 组的蛋壳红度( $a^*$ )相较于对照组有升高的趋势( $P=0.074$ );但与对照组相比, HG 组的蛋壳黄度( $b^*$ )显著降低( $P<0.05$ )。

表 3-2 山竹醇对产蛋后期蛋品质的影响

Table 3-2 The effect of garcinol on egg quality of laying hens during late laying period

项目 Items	对照组	山竹醇添加量 The level of garcinol, mg/kg			P-value
		100	300	500	
第 4 周 Weeks 4					
蛋壳强度 Shell strength (kg/cm <sup>2</sup> )	3.235±0.087	3.279±0.103	3.444±0.094	3.307±0.096	0.443
蛋壳厚度 Shell thickness (mm)	0.334±0.005	0.336±0.006	0.338±0.004	0.327±0.005	0.364
蛋形指数 Shape index	1.340±0.007	1.341±0.007	1.330±0.009	1.317±0.007	0.083
蛋白高度 Albumen height (mm)	6.47±0.18 <sup>ab</sup>	6.87±0.33 <sup>a</sup>	6.20±0.17 <sup>ab</sup>	6.00±0.19 <sup>b</sup>	0.048
哈氏单位 Haugh unit	79.81±1.15	82.21±2.01	78.48±1.25	76.86±1.32	0.078
蛋黄颜色 Yolk color	12.65±0.27	12.70±0.29	12.55±0.26	12.85±0.29	0.895
亮度 L*	84.10±0.47	84.14±0.47	83.81±0.76	84.87±0.54	0.600
红度 a*	3.57±0.31	3.63±0.24	4.01±0.38	3.41±0.37	0.618
黄度 b*	15.86±0.67	16.14±0.57	16.67±0.74	15.81±0.65	0.787
第 8 周 Weeks 8					
蛋壳强度 Shell strength (kg/cm <sup>2</sup> )	3.406±0.074	3.229±0.084	3.363±0.079	3.306±0.083	0.444
蛋壳厚度 Shell thickness (mm)	0.332±0.005	0.326±0.005	0.332±0.004	0.325±0.007	0.639
蛋形指数 Shape index	1.331±0.009 <sup>b</sup>	1.355±0.010 <sup>a</sup>	1.324±0.005 <sup>b</sup>	1.335±0.008 <sup>ab</sup>	0.043
蛋白高度 Albumen height (mm)	6.31±0.22 <sup>ab</sup>	6.01±0.29 <sup>b</sup>	6.91±0.26 <sup>a</sup>	5.79±0.30 <sup>b</sup>	0.023
哈氏单位 Haugh unit	78.52±1.53 <sup>ab</sup>	75.96±2.17 <sup>b</sup>	82.99±1.73 <sup>a</sup>	74.73±2.56 <sup>b</sup>	0.025
蛋黄颜色 Yolk color	7.85±0.20	7.75±0.30	8.19±0.25	7.80±0.25	0.582
亮度 L*	82.68±1.22	81.77±1.01	80.34±0.99	83.27±1.13	0.254
红度 a*	4.92±0.41	5.12±0.41	4.97±0.35	4.35±0.49	0.583
黄度 b*	17.33±0.85	17.00±0.86	17.09±0.48	17.04±0.96	0.992
第 12 周 Weeks 12					
蛋壳强度 Shell strength (kg/cm <sup>2</sup> )	3.402±0.097	3.439±0.069	3.399±0.095	3.486±0.115	0.910
蛋壳厚度 Shell thickness (mm)	0.341±0.006	0.330±0.005	0.323±0.005	0.336±0.006	0.132
蛋形指数 Shape index	1.334±0.008	1.348±0.008	1.328±0.008	1.320±0.007	0.092
蛋白高度 Albumen height (mm)	4.81±0.22 <sup>B</sup>	7.97±0.36 <sup>A</sup>	7.97±0.37 <sup>A</sup>	8.34±0.38 <sup>A</sup>	<0.01
哈氏单位 Haugh unit	67.46±1.85 <sup>B</sup>	89.20±2.36 <sup>A</sup>	90.07±1.83 <sup>A</sup>	92.01±1.82 <sup>A</sup>	<0.01
亮度 L*	90.91±1.09 <sup>A</sup>	82.41±0.79 <sup>B</sup>	81.67±0.86 <sup>B</sup>	90.94±0.77 <sup>A</sup>	<0.01
红度 a*	4.11±0.44	4.58±0.43	4.95±0.36	3.48±0.40	0.074
黄度 b*	20.57±0.90 <sup>a</sup>	17.69±0.86 <sup>b</sup>	17.91±0.51 <sup>b</sup>	19.02±0.40 <sup>ab</sup>	0.032

注：同行数据不同字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），n=20。Note: Different letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ), n=20.

### 3.3 山竹醇对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响

各组后期蛋鸡的血清抗氧化指标水平如图 3-1 所示。由表可知，与对照组相比，MG 组可显著提高血清中 T-SOD、CAT 水平 ( $P<0.05$ )；添加不同水平的山竹醇均可以提高血清中 T-AOC 的含量 ( $P<0.01$ )，同时各水平处理组血清中 GSH-Px 的含量升高，但无显著变化 ( $P>0.05$ )；与对照组相比，MG 组与 HG 组显著降低了血清中 MDA 的含量 ( $P<0.05$ )。

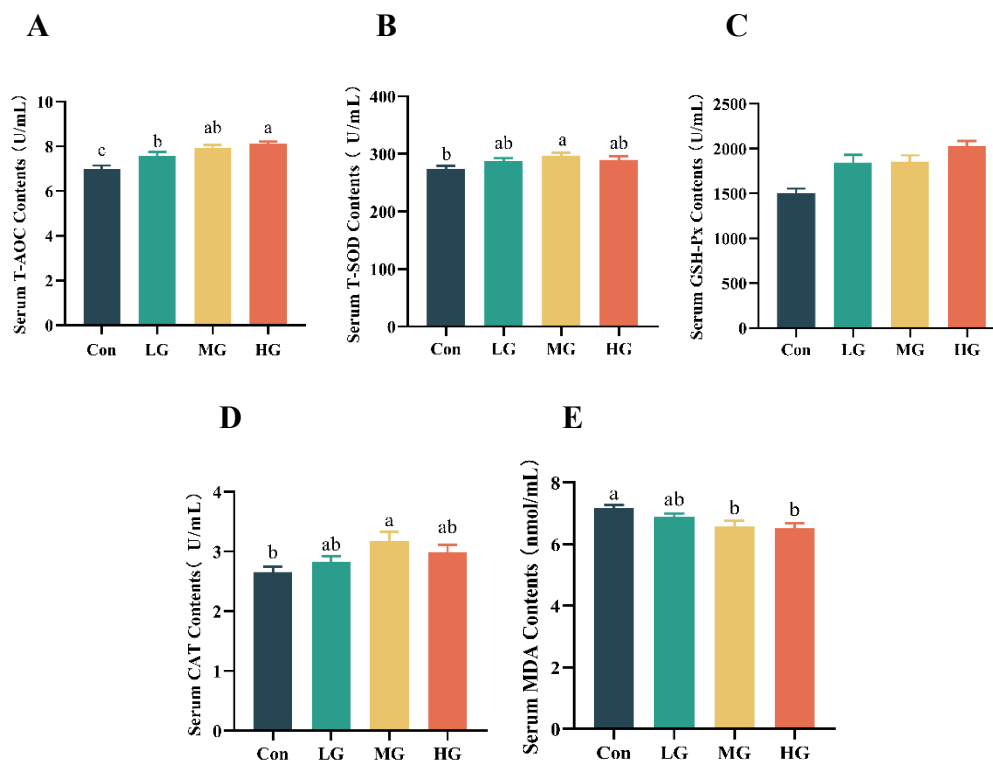


图 3-1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡血清抗氧化指标的影响

Fig. 3-1 The Effect of garcinol on antioxidant indexes in serum of late laying hens

(A) 血清中总抗氧化能力；(B) 血清中总超氧化物歧化酶的含量；(C) 血清中谷胱甘肽过氧化物酶的含量；(D) 血清中过氧化氢酶的含量；(E) 血清中丙二醛的含量

(A) The contents of T-AOC in serum; (B) The contents of T-SOD in serum; (C) The contents of GSH-Px in serum; (D) The contents of CAT in serum; (E) The contents of MDA in serum

注：不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )， $n=6$ 。Con 为对照组，LG：100 mg/kg 山竹醇，MG：300 mg/kg 山竹醇，HG：500 mg/kg 山竹醇，下同。

Note: Different letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ),  $n=6$ . Among them, Con = Control, LG = 100 mg/kg garcinol, MG = 300 mg/kg garcinol, HG = 500 mg/kg garcinol. The same as below.

### 3.4 山竹醇对产蛋后期蛋鸡免疫功能的影响

各组产蛋后期血清蛋鸡免疫功能指标如图 3-2。由图显示：饲料中添加山竹醇对产蛋后期蛋鸡血清中 IgG、IgM 和 TNF- $\alpha$  的含量无显著影响。与对照组和其他处理组相比，MG 组可以提高血清中 IgA 的含量 ( $P<0.05$ )。与对照组相比，MG 组与 HG 组对血清中的 IL-2 均有抑制作用 ( $P<0.05$ )，且添加 MG 组对血清中 IL-2 的抑制效果高于 HG 组；与对照组相比，各水平山竹醇均可以降低血清中 IL-6 的含量，其中 MG 组对 IL-6 的抑制效果显著优于 LG 组 ( $P<0.05$ )。

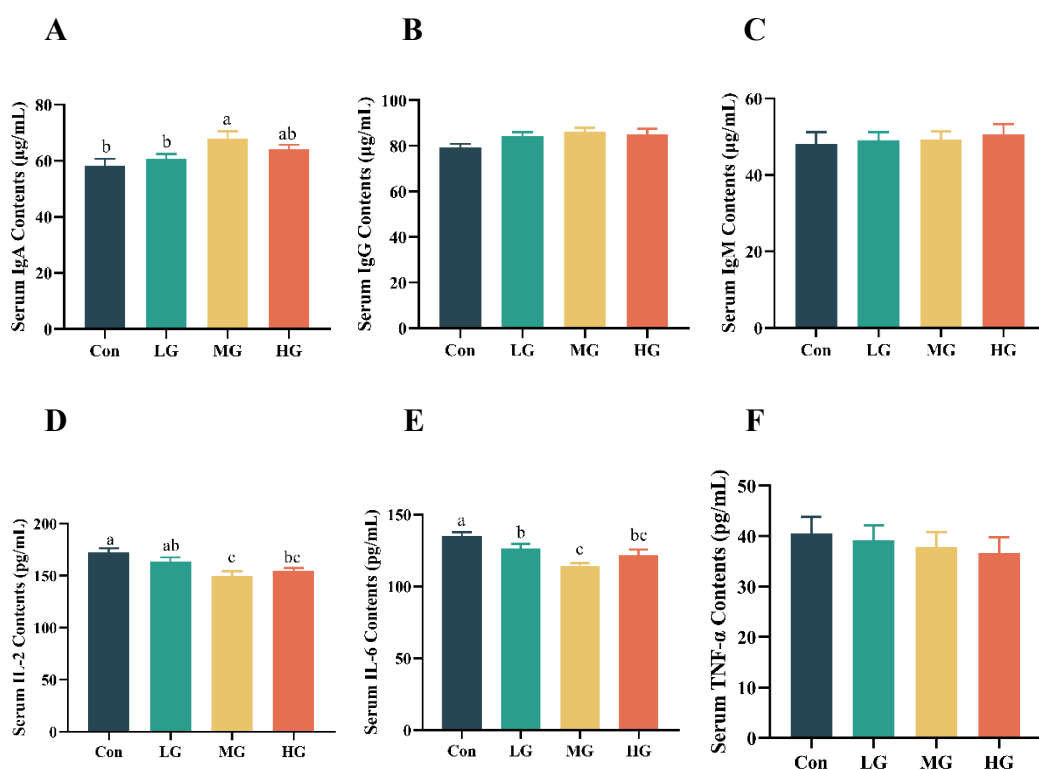


图 3-2 山竹醇对产蛋后期蛋鸡血清免疫指标的影响

Fig. 3-2 The effect of garcinol on immune indexes in serum of late laying hens

(A) 血清中免疫球蛋白 A 的含量；(B) 血清中免疫球蛋白 G 的含量；(C) 血清中免疫球蛋白 M 的含量；(D) 血清中白细胞介素-2 的含量；(E) 血清中白细胞介素-6 的含量；(F) 血清中肿瘤坏死因子的含量； $n=6$ 。

(A) The contents of IgA in serum; (B) The contents of IgG in serum; (C) The contents of IgM in serum; (D) The contents of IL-2 in serum; (E) The contents of IL-6 in serum; (F) The contents of TNF- $\alpha$  in serum;  $n=6$ .

由图 3-3 可知, 各山竹醇处理组有降低血清中的 CORT 水平但无显著差异, 与对照组相比, MG 组与 HG 组可以显著降低血清中 LPS 与 D-乳酸的含量 ( $P<0.05$ )。

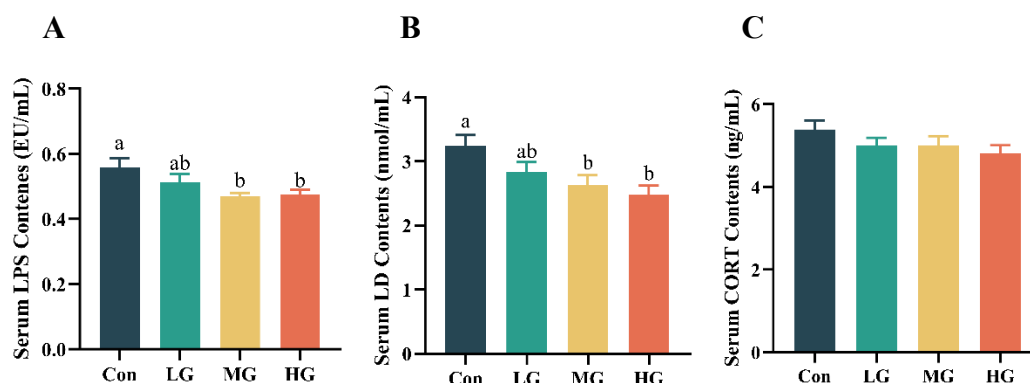


图 3-3 山竹醇对产蛋后期蛋鸡血清中肠道粘膜免疫指标的影响

Fig. 3-3 The effect of garcinol on intestinal mucosal immune indexes in serum of late laying hens

(A) 血清中内毒素的含量; (B) 血清中 D-乳酸的含量; (C) 血清中皮质醇的含量;  $n=6$ 。

(A) The contents of LPS in serum; (B) The contents LD of in serum;

(C) The contents of CORT in serum;  $n=6$ 。

### 3.5 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道形态的影响

各组肠道形态如表 3-3 和图 3-4 所示。对照组后期蛋鸡十二指肠绒毛断裂现象普遍, 且绒毛稀疏卷曲; 当日粮添加了山竹醇后, 肠道绒毛连续平顺, 肠道绒毛之间间隔清晰。表中数据显示 LG 组可显著提高十二指肠的绒隐比 ( $P<0.05$ ), 但对十二指肠绒毛高度与隐窝深度均无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

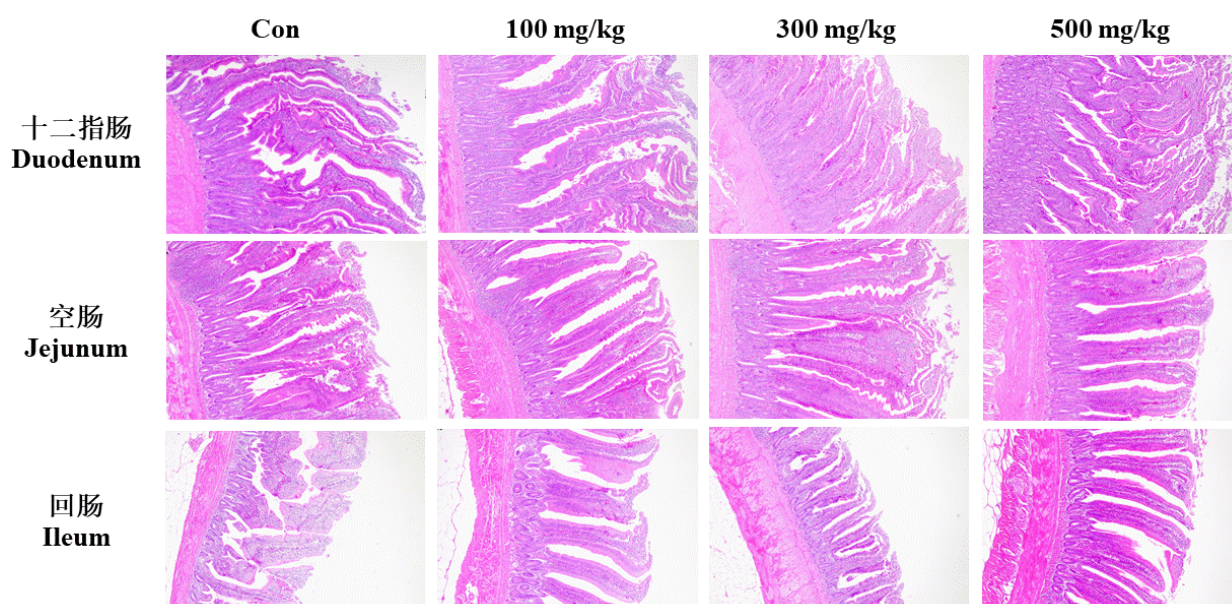
产蛋后期蛋鸡空肠绒毛出现明显断裂, 饲喂添加山竹醇的日粮后明显缓解空肠绒毛的断裂并改善容貌形态。与对照组和 LG 组相较, MG 组显著提高了空肠的绒毛高度 ( $P<0.05$ ); 与对照组相比较, 饲料中添加各水平山竹醇空肠隐窝深度均显著下降 ( $P<0.05$ ), 同时显著提高空肠绒隐比 ( $P<0.05$ )。

回肠绒毛断裂, 出现明显断层, 表现为肠道绒毛断断续续, 绒毛之间较为稀疏, 当添加了山竹醇后, 肠道绒毛形态有了明显改善, 笔直平顺, 绒毛虽然存在一些断裂, 但相较于对照组有了明显恢复。表中数据显示, 与对照组相比, LG 组与 HG 组蛋鸡的回肠绒毛高度均显著提高, ( $P<0.05$ ); 同时 MG 组显著降低了回肠的隐窝深度 ( $P<0.05$ ); 与对照组相比, 各水平山竹醇处理组均不同程度的提高了回肠的绒隐比, 其中 MG 组与 HG 组显著提高了绒隐比 ( $P<0.05$ )。

表 3-3 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道形态的影响

Table 3-3 Effects of garcinol on the morphological parameters of the intestinal mucosa of laying hens during late laying period

项目 Items	对照组（Con）	山竹醇添加量 mg/kg The level of Garcinol, mg/kg			P-value
		100	300	500	
绒毛高度 VH, μm					
十二指肠 Duodenum	1396.407±61.366	1546.802±84.061	1478.926±35.157	1539.789±77.082	0.380
空肠 Jejunum	1224.645±35.452 <sup>b</sup>	1266.562±67.383 <sup>b</sup>	1444.078±63.839 <sup>a</sup>	1363.048±48.421 <sup>ab</sup>	0.046
回肠 Ileum	776.377±29.406 <sup>c</sup>	958.330±52.733 <sup>a</sup>	821.446±31.303 <sup>bc</sup>	935.953±41.232 <sup>ab</sup>	0.010
隐窝深度 CD, μm					
十二指肠 Duodenum	435.666±23.780	332.919±46.099	369.949±30.843	381.366±22.689	0.191
空肠 Jejunum	300.093±19.025 <sup>a</sup>	232.446±8.951 <sup>b</sup>	246.568±16.552 <sup>b</sup>	239.835±8.286 <sup>b</sup>	0.011
回肠 Ileum	178.488±11.22 <sup>a</sup>	185.982±8.730 <sup>a</sup>	145.003±8.813 <sup>b</sup>	159.807±10.029 <sup>ab</sup>	0.031
绒隐比值, V/C					
十二指肠 Duodenum	3.302±0.281 <sup>b</sup>	5.112±0.557 <sup>a</sup>	4.150±0.294 <sup>ab</sup>	4.127±0.298 <sup>ab</sup>	0.024
空肠 Jejunum	4.213±0.188 <sup>b</sup>	5.711±0.430 <sup>a</sup>	6.148±0.351 <sup>a</sup>	5.829±0.405 <sup>a</sup>	<0.01
回肠 Ileum	4.498±0.241 <sup>c</sup>	5.245±0.222 <sup>bc</sup>	5.805±0.324 <sup>ab</sup>	6.087±0.256 <sup>a</sup>	<0.01

图 3-4 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道形态结构的影响 (40 $\times$ )Fig. 3-4 Intestinal morphology of laying hens during late laying period supplemented with garcinol in the basal diet (40 $\times$ )

### 3.6 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道紧密连接基因的影响

如图 3-5 可见, 与对照组相比, 添加不同水平的山竹醇均可以显著升高了空肠粘膜 *Occludin* 基因的表达 ( $P<0.05$ ); 在空肠组织紧密连接蛋白 *Claudine-2* 基因中, 相比对照组, LG 组和 MG 组 mRNA 水平显著上调 ( $P<0.05$ )。而 *Zo-1* 基因的表达提高但与对照组相比无显著差异 ( $P>0.05$ )。

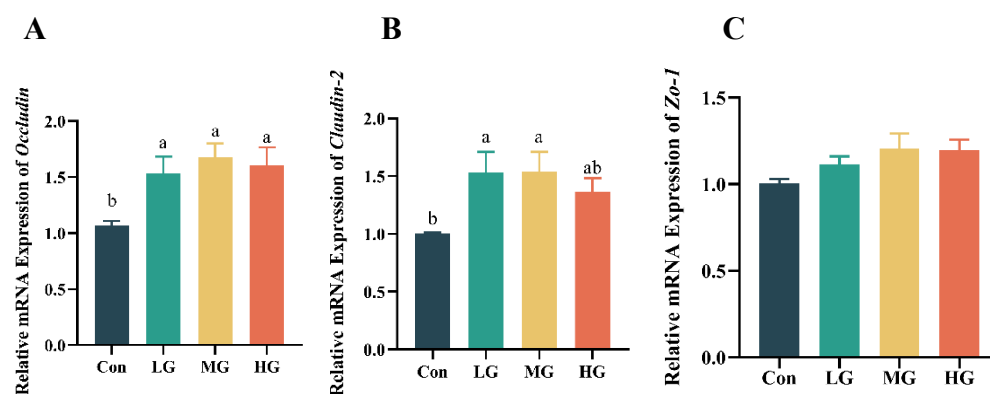


图 3-5 基础日粮添加山竹醇的产蛋后期蛋鸡的紧密连接蛋白

Fig. 3-5 Effects of garcinol on tight junctions of late laying hens

(A) *Occludin* 的 mRNA 表达水平; (B) *Claudin-2* 的 mRNA 表达水平 (C) *Claudin-2* 的 mRNA 表达水平; n=6。

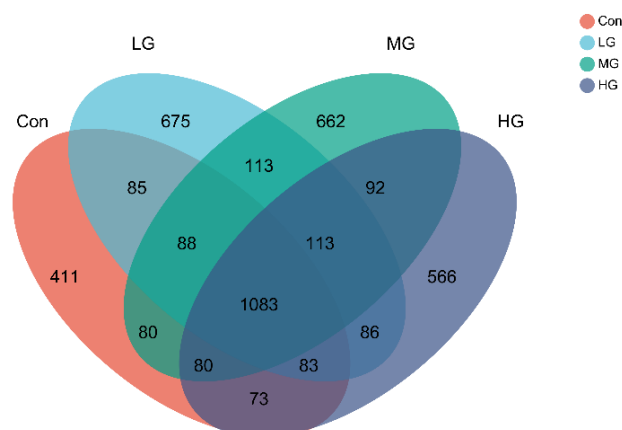
(A) Relative mRNA expression of *Occludin*; (B) Relative mRNA expression of *Claudin-2*; (C) Relative mRNA expression of *ZO-1*; n=6.

### 3.7 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道菌群结构的影响

#### 3.7.1 盲肠微生物菌群中物种分布情况及 OTU 聚类

本试验在相似度为 97% 的水平下, 对菌群的所有序列进行 OTU 水平的聚类由图 3-6 的 Venn 图可知对照组有 411 个独有的 OTU, LG、MG 和 HG 组分别有 675、662 和 566 个独有的 OTU, 对照组均低于试验组; 而总 OTU 数目排行, 试验组均大于对照组。说明添加山竹醇的试验组盲肠肠道菌群构成更具多样性。





3-6 各组盲肠菌群总 OTU 数 Venn 图

Fig. 3-6 Venn diagram of cecal microflora OTUs

根据物种测序结果，如表 3-4、表 3-5 及图 3-7 所示，产蛋后期蛋鸡盲肠菌群门水平上，厚壁菌门（*Firmicutes*）占比最高，其次为拟杆菌门（*Bacteroidota*），丰度之和 90% 以上，是盲肠的优势菌群。LG 组与 MG 组厚壁菌门相对丰度均高于试验组和 HG 组，但拟杆菌门相对丰度均低于对照组。在属水平上，各组主要优势物种无差异，丰度占比各不相同；拟杆菌属（*Bacteroides*）丰度和乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）丰度低于基础对照组，而 MG 组在一定程度上降低了拟杆菌属的相对丰度而对乳杆菌属明显影响，同时提高了罗姆布茨菌属（*Romboutsia*）和瘤胃球菌（*Rumincoccus-torques-group*）的相对丰度。

表 3-4 产蛋后期蛋鸡盲肠菌群的相对丰度（门水平）%

Table 3-4 Relative abundance of cecal microflora in late laying hens (phylum level) %

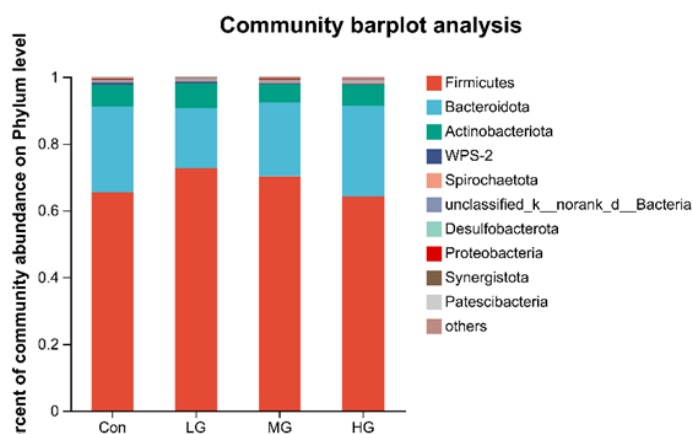
Items	Con	LG	MG	HG
厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	65.38	72.65	70.28	64.29
拟杆菌门 <i>Bacteroidota</i>	25.85	18.08	21.98	27.03
放线菌门 <i>Actinobacteriota</i>	6.37	7.40	5.55	6.39
WPS-2	0.66	0.51	0.39	0.28
螺旋菌门 <i>Spirochaetota</i>	0.35	0.24	0.30	0.72
unclassified <i>k_norank d Baeteria</i>	0.22	0.32	0.36	0.32
脱硫杆菌门 <i>Desulfobacteria</i>	0.36	0.26	0.25	0.29
变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	0.17	0.13	0.19	0.22
互养菌门 <i>Synergistota</i>	0.20	0.11	0.23	0.12
骸骨细菌门 <i>Patescibacteria</i>	0.28	0.15	0.07	0.15



表 3-5 产蛋后期蛋鸡盲肠菌群的相对丰度（属水平） %

Items	Con	LG	MG	HG
拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	14.09	9.58	11.21	14.56
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	11.66	6.85	11.48	12.28
罗姆布茨菌属 <i>Romboutsia</i>	4.57	10.47	9.97	3.87
毛螺菌科 <i>Unclassed-Lachnospiraceae</i>	7.42	7.93	6.12	4.52
瘤胃球菌属 <i>Ruminococcus-torques-group</i>	3.91	5.89	4.68	3.35
<i>Rikenellaceae-RC9-gut-group</i>	3.88	3.71	5.14	5.13
鞘脂单胞菌属 <i>Subdoligranulum</i>	4.72	4.40	3.22	4.37
欧氏菌属 <i>Olsenella</i>	3.11	4.33	3.29	3.44
布劳特氏菌属 <i>Blautia</i>	4.53	2.74	2.78	2.65
普拉梭菌 <i>Faecalibacterium</i>	2.12	2.43	2.39	3.27

A



B

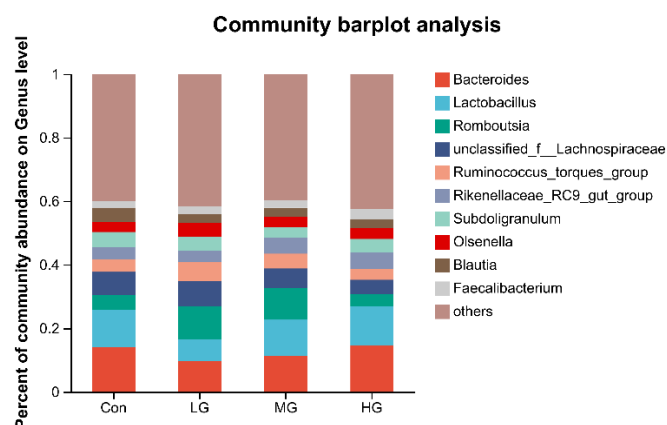


图 3-7 产蛋后期蛋鸡盲肠菌群相对丰度（A：门水平；B：属水平） %

Fig. 3-7 Relative abundance of cecal microflora in late laying hens(A: phylum level; B: genus level) %

### 3.7.2 盲肠微生物菌群多样性分析

#### (1) 盲肠内容物 Alpha 多样性分析

根据 16S rRNA 高通量测序分析了蛋鸡盲肠微生物区系的  $\alpha$  多样性，各组测序深度指数 (Coverage) 均大于 0.95，测序结果基本覆盖样本多样性。由图 3-8 可知，MG 组蛋鸡盲肠微生物区系的 Simpson 指数和 Shannon 指数均高于对照组 ( $P < 0.05$ )，LG 组、MG 组和 HG 组的 Ace 指数和 Chao 指数无显著变化 ( $P > 0.05$ )。

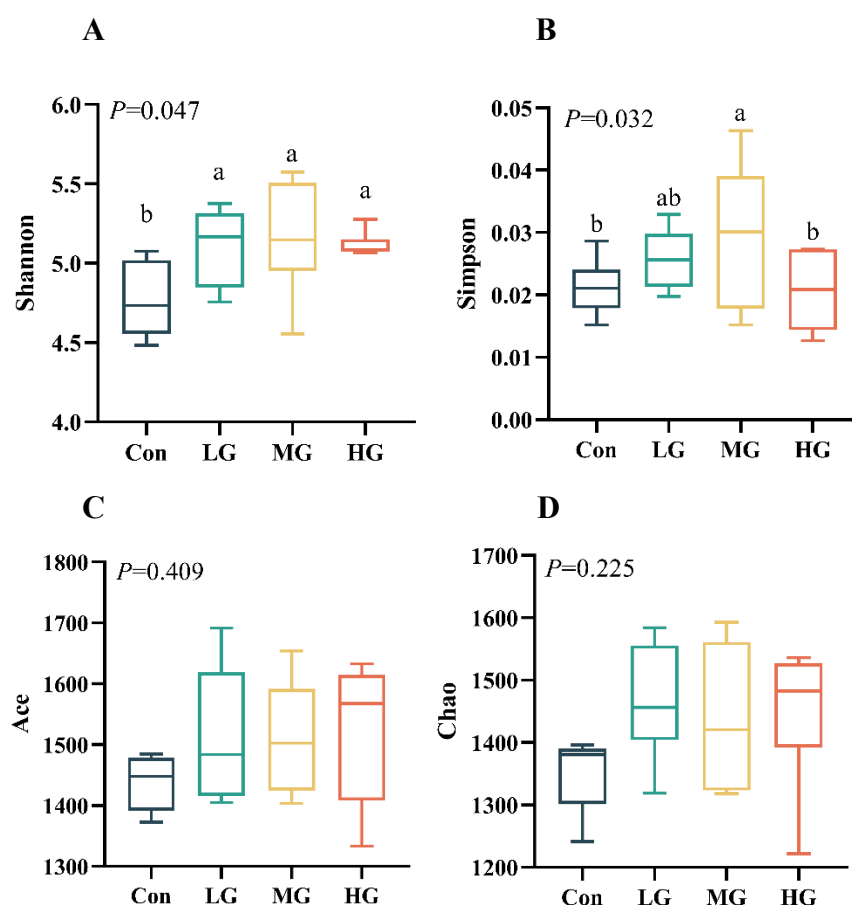


图 3-8 Alpha 多样性指数

Fig. 3-8 Alpha indexes

(A) Shannon 指数; (B) Simpson 指数; (C) Ace 指数; (D) Chao 指数

(A) Shannon index; (B) Simpson index; (C) Ace index; (D) Chao index

#### (2) 盲肠内容物 $\beta$ 多样性分析

NMDS 直观的显示了样本的总体相似与不同之处，本试验结果显示 Stress = 0.08 ( $< 0.2$ )，表明样本间存在差异。如图 3-9 所示，对照组与试验组盲肠微生物

群落分别聚为一类，但各样本之间保持一定的距离，样本之间本身存在一定的差异，聚类性并不明显。对照组与 HG 组样本距离较近，聚类更明显；相较而言 LG 组与 MG 组样本聚类性较强，表示组成更相近。对照组样本分布与 LG 组和 MG 组较远，表明其与对照组盲肠菌群物种组成之间仍存一定的差异性。以上结果表明在饲料中添加适量山竹醇可以改变各组盲肠微生物群落组成。

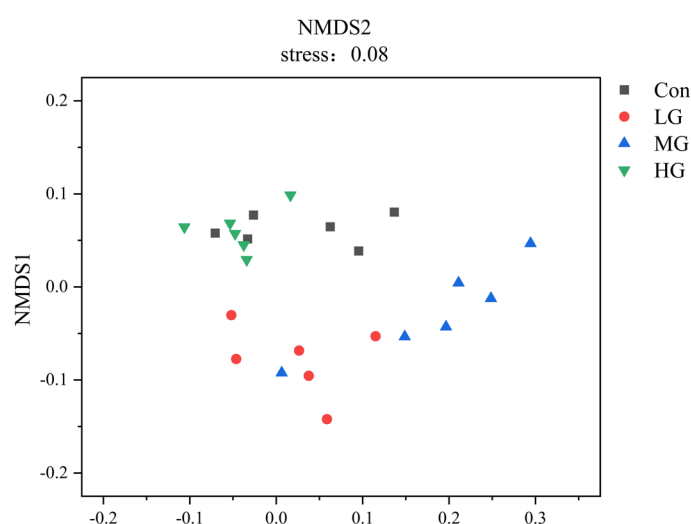


图 3-9 属水平 NMDS 分析

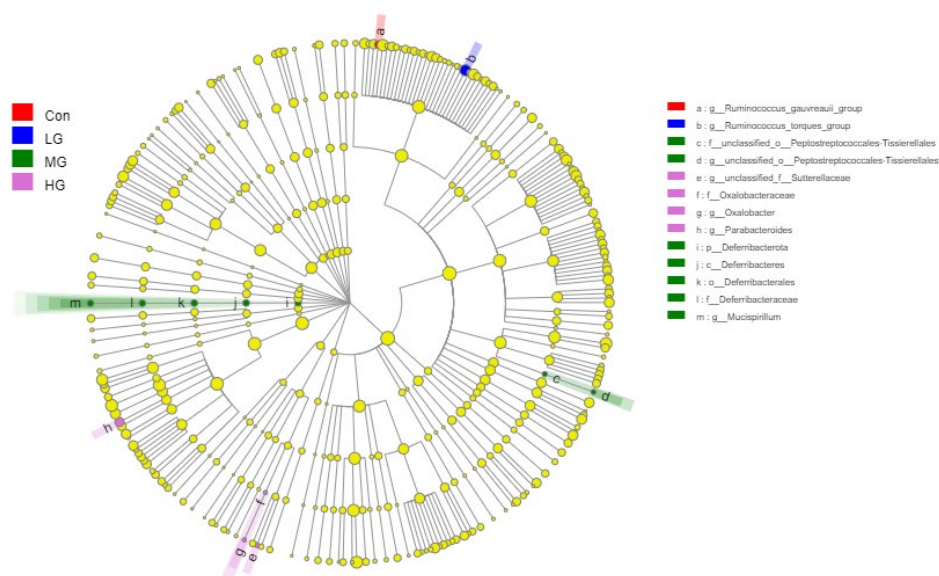
Fig. 3-9 NMDS analysis on genus level

### 3.7.3 肠道菌群相关微生物物种差异分析

物种分类学分枝图 (Cladogram) 可以显示中差异标志物种分类学层次分布。如图 3-10 (A) 进化分支图所示，所有试验组共有 13 个细菌分支存在统计学差异。可以说明饲粮中添加山竹醇能够改变门、纲、目、科四级水平肠道菌群丰度。LDA Effect Size (LEfSE) 可以发现不同组之间具有统计学差异的生物标志物。图 3-10 (B) 中展示了 LDA score > 2 且  $P < 0.05$  的物种，即差异性的微生物，物种 LDA 分值越大，代表物种丰度对差异效果影响越大，柱状图长度表示差异物种的影响的重要程度。在对照组盲肠菌群中，属水平的 *Ruminococcus-gaureauii-groups* 为差异微生物；LG 组中共有 1 个差异微生物物种，为属水平的瘤胃球菌 (*Ruminococcus-torques-groups*)；MG 组中共有 7 种差异微生物物种，包括门、纲、目、科水平的脱铁杆菌以及消化链球菌 (*Peptostreptococcales-Tissierellales*) 和 *Mucispirillum*；在 HG 组中共有 4 个分类菌群被鉴定为标志微生物，分别为草酸杆菌科

(*Oxalobacteraceae*)、草酸杆菌属 (*Oxalobacter*)、*Sutterellaceae* 和副拟杆菌属 (*Parabacteroides*)。结果进一步表明, 与对照组相比, 饲料中添加山竹醇改变了肠道微生物的区系结构。

A



B

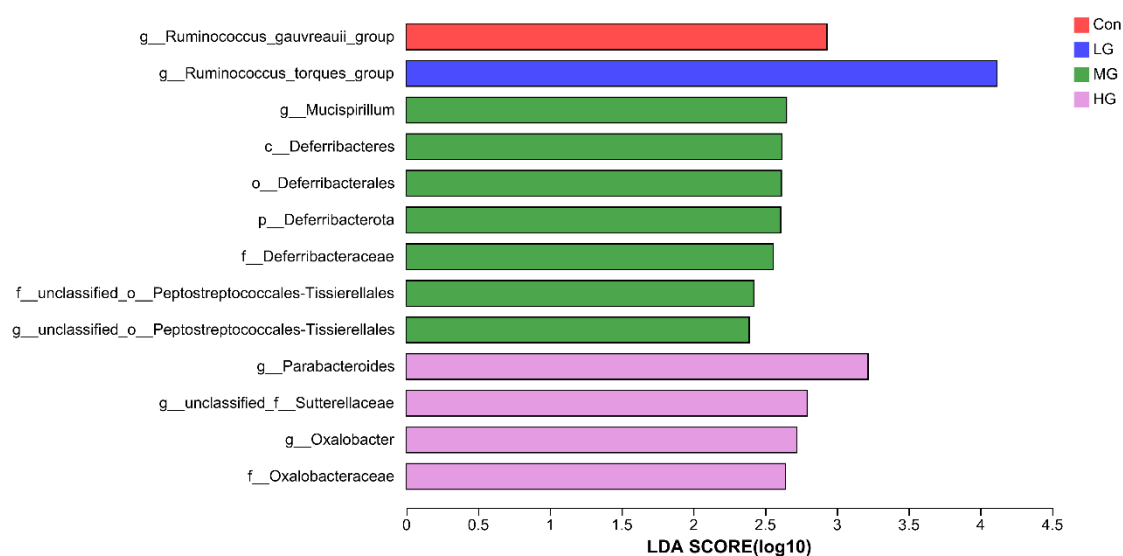


图 3-10 肠道菌群差异物种

Fig. 3-10 Differential species of intestinal flora

(A) 肠道菌群各级进化分支图; (B) LDA 值分布柱状图

(A)The evolutionary branch diagram of the intestinal flora at all levels; (B) Histogram of LDA value distribution

## 4 讨论

### 4.1 山竹醇对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

产蛋率是蛋鸡养殖经济效益的外在体现，可以直观的反应饲料对机体的作用，而在产蛋后期，机体承受着高强度和高负荷的代谢活动的变化，产蛋高峰期之后代谢水平逐渐下降放缓，生理功能逐渐下降，产蛋能力逐渐下降，导致经济效益降低。植物多酚类提取物是目前在大量“替抗”研究中被证明效果较好的一类添加剂，具有很大的开发潜力。在 60 周龄的海兰褐蛋鸡饲料中添加 30 mg/kg 的大豆黄酮能够提高蛋鸡的产蛋性能和蛋品质（张玲等 2020）；赵香菊等在日粮中添加 200 mg/kg 的芍药花多酚提取物发现其可以提高蛋鸡生产性能和抗氧化能力（赵香菊等 2018）；饲料中添加 500 mg/kg 竹叶黄酮能够极显著提高蛋鸡产蛋率（张硕等 2023）；在产蛋高峰后期饲料中添加 0.02%由多酚物质组成的葡萄籽提取物可提高生产性能和繁殖性能（乔利敏 2019）。以上的研究均表明，蛋鸡饲料中添加多酚类植物提取物可以提高蛋鸡的生产性能，改善蛋鸡的健康水平。

本试验选择的印度藤黄果皮提取物山竹醇与姜黄素同属于多酚类物质，具有相似的生物活性和基团。姜黄素可以在常温条件下显著提高海兰褐蛋鸡的产蛋率，显著降低料蛋比（高文 2020）；而在罗曼粉壳蛋鸡饲料中添加姜黄素对产蛋率和平均日采食量无显著影响（赵壮志等 2022）。山竹醇在蛋鸡上的应用效果鲜少报道，本试验以山竹醇饲喂产蛋后期蛋鸡，整个试验期间对采食量无显著影响，且未观察到鸡群产生不良反应，说明山竹醇的添加不影响饲料的适口性。试验期间，山竹醇组蛋鸡产蛋率均高于对照组，同时 LG 组可以提高 1-8 周的产蛋率，MG 组可以提高整个试验期间的产蛋率，相较于对照组提高了 2.84%，说明在实际生产中，适量山竹醇具有提高产蛋后期蛋鸡生产性能的潜力。结合本试验山竹醇对肠道屏障的作用以及关于多酚类植物提取物对于家禽肠道形态结构的保护作用研究，推测山竹醇提高产蛋后期蛋鸡的产蛋率可能与山竹醇改善肠道功能有关。不得不指出的是，与对照组相比，试验组的平均蛋重都有所下降，一些研究结果表明添加多酚会降低平均蛋重，如添加 400 mg/kg 茶多酚显著降低了平均蛋重（汪小红等 2017）。由于山竹醇在蛋鸡上鲜有报道，因此具体原因有待进一步探究，在实际生产中，可采取一些相对应的措施改善解决。

## 4.2 山竹醇对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

### 4.2.1 蛋壳品质

产蛋后期蛋鸡各项机能衰退，生产性能下降，蛋壳的质量会随着日龄的增长而下降，软、破壳蛋率和畸形蛋率大大增加。蛋壳厚度、强度、颜色以及蛋形指数都是评价蛋壳质量的关键性指标，而蛋壳质量的提高能够降低运输流通和贮藏过程中商品蛋因蛋壳造成的经济损失（Zhan et al 2019）。蛋形指数的最佳范围是 1.30-1.35，鸡蛋过长或者过圆均不利于保存和运输。同时商品蛋蛋壳厚度一般要大于 0.32 mm，蛋壳厚度 0.27 mm-0.30 mm 破损率高达 10%，而到产蛋后期，蛋重增加，蛋壳变脆、薄，破壳蛋的比例大大增加，比产蛋前期高 20%。在之前的研究中，在 50 周龄的海兰褐饲料中添加一定水平的姜黄素对蛋壳强度与蛋形指数无显著影响，与对照组相比有提高蛋壳厚度的趋势（杨泰 2018）。本试验的结果显示，添加山竹醇在试验各个时期对蛋壳强度、蛋壳厚度都无显著影响；蛋形指数方面，与对照组相比，MG 组与 HG 组均有降低蛋形指数的趋势，但均在适宜范围内，对商品蛋无不利影响，蛋壳品质结果与先前的研究结果存在一些差异，原因可能是因为试验饲养的蛋鸡品种不同，且蛋壳质量的差异与蛋形成过程中的各种影响因素都有关。

蛋壳质量还包括蛋壳颜色，同时蛋壳颜色在消费者的购买选择有一定的影响。蛋壳颜色存在多种影响因素，但个体差异仍然是蛋壳质量变异的重要来源（张佳兰等 2008）。蛋壳色素主要包括原卟啉-IX、胆绿素IX和胆绿素的锌螯合物 3 种，粉壳蛋原卟啉含量较高，褐壳蛋含量较低。大部分蛋壳色素位于由蛋壳腺表皮细胞合成的角质层上，且生物合成机制途径十分复杂，凡是能够影响该过程的因素，都可以影响蛋壳色素的沉积进而影响蛋壳颜色，同时蛋壳颜色与蛋黄比例也相关，深色蛋壳的蛋拥有更高的蛋黄比例（Campo 1995）。鸡年龄越大，尤其是 40 周龄后，蛋壳颜色越来越浅，一方面是因为产蛋后期蛋鸡色素沉积能力降低，合成量不足，另一方面是因为随着鸡年龄增加，鸡蛋体积增大，同样的色素需要分布在更大的表面上，使得单位面积内色素沉淀变少，表明鸡蛋的大小也是蛋壳颜色的主要影响因素，表现为高龄蛋鸡蛋壳亮度（ $L^*$ ）增大，蛋壳红度（ $a^*$ ）下降（Odabaşı et al 2007）。另外，蛋壳颜色与蛋壳质量有一定关系，蛋壳颜色深表明在蛋壳形成过程

中色素沉积时间长,也代表着钙的沉积能力也较强,因而蛋壳质量相对较好。产蛋鸡生产的蛋壳颜色较淡时,表现为鸡产蛋率降低,蛋壳中钙的沉积量下降,蛋壳质量也随之下落。本试验中,至试验第 8 周,山竹醇对蛋壳亮度 ( $L^*$ )、红度 ( $a^*$ )、黄度 ( $b^*$ ) 都无显著影响;至试验第 12 周, LG 组与 MG 组可以显著降低鸡蛋的亮度 ( $L^*$ ) 与黄度 ( $b^*$ ),且对红度 ( $a^*$ ) 值有提高的趋势,这可能与山竹醇添加时间的积累效应有关,通过缓解蛋壳腺的氧化应激改善蛋壳颜色。结合蛋白高度与哈氏单位等结果,蛋壳色素沉着与蛋品质保持一致。

#### 4.2.2 蛋白质量

商品蛋生产中的关键问题是保持蛋品质,特别是蛋白质量,因为鸡蛋的大多数功能特性都与蛋白有关 (Nimalaratne and Wu 2015)。卵黏蛋白是蛋白凝胶状结构的核心蛋白之一,通过稳定蛋白键的相互作用、凝胶性质来维持蛋白浓厚和蛋白高度黏性,在维持蛋白结构中起着关键作用,最终增加哈氏单位值 (Omana et al 2010)。蛋白高度哈氏单位与蛋白粘稠度呈正相关,蛋白高度与哈氏越大,表明其中的蛋白质含量越高、蛋清越粘稠,即哈氏单位越高蛋品质越好,因此采用蛋白高度和哈氏单位衡量鸡蛋新鲜程度 (Zhang et al 2020)。鸡蛋的蛋白质量有助于增强鸡蛋货架期和贮藏时间。

前人研究结果发现,在产蛋后期蛋鸡饲料中添加 100 mg/kg 与 200 mg/kg 的姜黄素在试验前期有提高蛋白高度与哈氏单位的趋势,到后期提高效果极为显著。多项研究表明,植物多酚可以增加蛋白高度和哈氏单位,这与多酚的抗氧化作用有关,通过清除活性氧或者螯合过度金属保护鸡蛋内部质量 (Feng et al 2017, Xie et al 2019)。本试验中,试验至第 4 周, LG 组的蛋鸡蛋白高度显著提高,哈氏单位存在提高的趋势,提高了 3.01%;至试验第 8 周, MG 组的蛋白高度与哈氏单位显著高于其他处理组;至第 12 周试验结束,与对照组相比,添加一定水平的山竹醇产蛋后期蛋白高度与哈氏单位极显著提高,这直接表明山竹醇可以改善鸡蛋的新鲜度。山竹醇的添加对于蛋白高度和哈氏单位的提高,可能与蛋白的形成过程和尤其是卵黏蛋白的分泌有关,而结合本研究中肠道形态的结果,山竹醇能显著提高鸡蛋的蛋白高度与哈氏单位,原因可能是山竹醇能改善肠道形态结构,提高饲料的消化吸收与转运,使产蛋后期的蛋鸡获得更多的营养物质,进而增强体内蛋白质的沉积;此

外，山竹醇具有抗氧化能力，清除体内自由基，有利于维持蛋白质的性质和功能进而增强鸡蛋的蛋白质量。本试验山竹醇在后期对蛋白质量效果更佳的原因可能是因为山竹醇的作用效果与添加时间的积累效应有关。

### 4.3 山竹醇对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响

产蛋高峰期蛋鸡生命活动和各种代谢活动中细胞会产生大量的活性氧（超氧阴离子、羟自由基等）等物质，随着年龄的增长进入产蛋后期，体内抗氧化酶的活性降低，自由基的积累会导致脂质过氧化和细胞功能损害。抗氧化酶在保护蛋鸡细胞结构免受衰老引起的 ROS 的有害影响方面起着至关重要的作用（Xie et al 2014）。SOD 与 CAT 清除体内自由基的内源性抗氧化剂，在保护蛋鸡的结构免受活性氧（ROS）引起的衰老方面起着至关重要的作用；GSH-Px 主要以清除脂质过氧化物为主，保护细胞的膜结构和功能；而 T-AOC 反映了机体整体的抗氧化水平（Chen et al 2012）；MDA 是体内脂质发生过氧作用形成的氧化产物，因此 MDA 也是氧化状态的重要生物标志物（Zhu et al 2016）。因此，血清中抗氧化酶活性可有效评估日粮添加山竹醇对产蛋后期蛋鸡体内抗氧化功能的作用。

前人的研究表明，在日粮中添加植物多酚，如茴香提取物、厚朴酚和丝兰提取物，可以改善蛋鸡的抗氧化状态（Hadavi et al 2017, Lin et al 2020）。本试验对血清中几种关键抗氧化酶的活性进行了检测，结果表明，使用山竹醇饲喂产蛋后期蛋鸡，蛋鸡血清抗氧化酶水平升高，抗氧化功能增强，证明山竹醇是一种极具潜力的抗氧化剂。日粮中添加山竹醇可提高产蛋后期蛋鸡的抗氧化能力进而缓解机体组织和器官的氧化损伤来达到改善生产性能的目的。一方面，山竹醇通过提高机体抗氧化酶增强抗氧化功能；另一方面，山竹醇所具有的特殊官能团酚羟基和  $\beta$ -二酮，对超氧阴离子、羟基自由基和甲基自由基均有抑制作用，从而缓解氧化应激对蛋鸡带来的损害（Yamaguchi et al 2000）。

### 4.4 山竹醇对产蛋后期蛋鸡免疫功能的影响

#### 4.4.1 山竹醇对血清中相关免疫因子的影响

血清中免疫球蛋白在保护宿主免受致病病毒和微生物侵害方面起着关键作用，IgA、IgG 和 IgM 是禽类主要的 3 种免疫球蛋白，主要由 B 淋巴细胞分泌，结合抗



原产生抗体，抵御细菌和病毒的侵袭，是家禽体液免疫的关键（Kong et al 2007）。杨金玉在肉仔鸡饲料添加一定比例葡萄原青花素能强化肉鸡免疫功能的状态（杨金玉等 2014）。Su 等将 0-300 mg/kg 丝兰提取物添加到 14 日龄的肉鸡日粮中，结果显示，200 mg/kg 丝兰提取物可增加 IgG、IgM 水平，提高肉鸡的免疫能力（Su et al 2016）。在本试验中，蛋鸡日粮中添加山竹醇，对血清中 IgG、IgM 的浓度无显著影响，同时 MG 组可显著的提高血清中 IgA 的水平。本研究发​​现饲料中添加山竹醇后可显著提高产蛋后期蛋鸡血清免疫球蛋白水平，改善蛋鸡的体液免疫状态，说明在一定程度上提高机体非特异性免疫机能，免疫能力与机体抗病力息息相关，进而增强蛋鸡后期抗病能力。

炎性细胞因子是一类主要由免疫细胞产生的内源性多肽，可介导多种免疫反应。白细胞介素则是机体白细胞产生的细胞因子，IL-2 和 IL-6 是免疫重要的调节因子，在抗感染和遏制炎症反应发挥重要作用。其中 IL-2 主要功能是诱导 T 细胞等细胞免疫重要因子的增殖分化，在激活和调节免疫细胞方面发挥重要作用，故常常用来衡量 T 细胞的活跃程度（Brezar et al 2017）。IL-6 通过增强其他炎症细胞因子的作用参与炎症反应的调节（Webel et al 1997）。TNF- $\alpha$  是一种促炎细胞因子，可发挥多种生理作用并诱导肠上皮细胞的凋亡（Van Dullemen et al 1995）。本试验结果表明，在 IL-2 的水平上，MG 组和 HG 组可显著降低血清中 IL-2 的浓度；且各处理组均显著降低了血清中 IL-6 的水平，同时 TNF- $\alpha$  水平降低，这表明产蛋后期蛋鸡的机体炎症得到一定改善。课题组前期研究表明，在山竹醇可以显著降低断奶仔猪血清中 IL-2、IL-10 和 TNF- $\alpha$  的含量的影响，与本试验存在一定差异，原因可能是山竹醇在不同物种上的差异。

#### 4.4.2 山竹醇对肠道粘膜免疫的影响

由于长期的产蛋，肠道紧密连接和微生物区系失调使肠腔病原体和毒素的转移成为可能，随后引发炎症反应和机体损伤，这可能是蛋鸡在产蛋后期营养吸收能力较低和生产能力下降的部分原因（Videnska et al 2014）。D-乳酸是肠道内微生物代谢活动的产物之一，在动物机体内无法合成和代谢，当肠道屏障受损时侵入，因此血液中 D-乳酸的含量可以反应肠道屏障受损程度。CORT 是机体重要的炎症调节因子，当机体出现应激或者炎症反应时，含量会显著升高。LPS 是一种细菌毒素，

也是革兰氏阴性菌的细胞壁组成成分之一，会诱导炎症反应的发生，当肠道屏障被破坏时，肠源性 LPS 更容易穿过肠黏膜组织入血，造成机体炎症反应，因此，血清中 LPS 水平的异常升高侧面说明肠道屏障完整性遭到破坏，机体炎症水平升高。Feng 等的研究结果表明，姜黄素可并通过改善肠屏障，抑制内毒素 LPS 的释放（Feng et al 2019）。本试验发现，MG 组与 HG 组中血清的 LPS 和 D-乳酸的浓度都有显著的降低，在进一步探究中发现，山竹醇可以改善肠道形态结构功能，侧面证明山竹醇可能通过改善肠道形态结构最终保护肠道健康。

#### 4.5 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道形态的影响

肠道形态结构与其生理功能紧密相关，其完整性不仅促进消化吸收代谢功能，同时还可以加强肠道菌群的定殖，防止肠道菌群移位，当肠道损伤形态结构发生变化时，会对机体的消化吸收以及肠道菌群产生负面影响。肠道形态结构和功能的评价指标包括 VH、CD 及 V/C（Jha et al 2019）。小肠的绒毛高度与营养物质的吸收转运呈正相关，绒毛高度升高可增强对营养物质的吸收；当隐窝变浅时，肠上皮细胞成熟率增加，肠道的分泌功能越强；V/C 是小肠吸收能力的综合评价，比值越高表示肠粘膜结构的改善和肠粘膜吸收功能的增强（Williams et al 2015）。

大量研究均表明，在肉鸡或者蛋鸡的饲料中添加植物提取物能够保护家禽肠道形态和粘膜结构的完整性。饲料添加 500 和 1000 mg/kg 的植物多酚均能改善黄羽肉鸡肠道形态（吴姝等 2018）；肉鸡饲料中添加 4% 的茶多酚，可以提高肉鸡的肠道绒毛高度（Hassanpour et al 2010）。另一项研究也表明在 70 周龄蛋鸡日粮中添加百里香酚可以改善肠道形态结构（Ramirez et al 2021）。与上述研究一致，在本试验中，与对照组相比，MG 组显著提高了空肠的 VH 和 V/C 比值。由于空肠是营养吸收的重要器官，VH 和 V/C 比值的提高表明营养物质的吸收更好。肠绒毛变长可扩大肠道的与内容物的接触面积，增加粘液分泌量，促进小肠营养物质消化吸收，进而增强饲料转化效率（Singh and Kim 2021）。结合肠道形态切片观察，添加了山竹醇的处理组空肠与回肠绒毛断裂情况明显改善，绒毛密集程度加深，更紧密整齐聚集在一起。进一步说明日粮中添加一定量的山竹醇可以改善产蛋后期蛋鸡小肠形态结构的损伤并维护肠道屏障的完整性，有利于蛋鸡的营养物质消化吸收能力提高，这可能是山竹醇改善生产性能的原因之一。因此，饲喂山竹醇的蛋鸡的生产性能提

高可能与肠道肠形态的改善有关。此外,本试验中,山竹醇还可以增强产蛋后期蛋鸡抗氧化酶系统活性,改善因氧化应激引发的肠道形态结构损伤,提高蛋鸡生产性能。

#### 4.6 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道紧密连接基因的影响

家禽只有分散的淋巴组织,因此,肠道屏障作为维护肠道不受外界致病因子侵害的第一道防线发挥举足轻重的作用。正常的肠道功能依赖于局部屏障,该屏障可防止肠腔内的细菌和内毒素转移到肠外部位,紧密连接蛋白是肠屏障的重要组成部分,对肠粘膜的完整性起着至关重要的作用,与肠道物理屏障的功能密切相关(Tian et al 2016)。Occludin 蛋白是一种重要的跨膜紧密连接蛋白,有助于细胞间紧密连接的稳定性,与肠道屏障结构的完整性和肠上皮屏障功能的作用密切相关。其 mRNA 的表达增加改善了肠屏障功能及其防御状态(姚静漪等 2020); ZO-1 蛋白在调节肠道通透性和完整性方面发挥着关键作用(Gilani et al 2018); Claudin-2 蛋白是肠上皮屏障最重要的组成部分之一,可加强肠粘膜机械屏障的稳定性,在维持肠粘膜通透性和防止有害物质入侵方面发挥重要作用(Song et al 2018)。

保护肠道紧密连接,对维持肠道上皮细胞的极性,防止上皮细胞缝隙物质外溢具有重要作用。当紧密连接蛋白含量降低引发肠道的通透性增强,肠道屏障功能被削弱(谭悦和郑长清 2018)。产蛋后期蛋鸡肠道结构形态结构受损的同时,肠道屏障完整性也受到损害。本试验结果发现,在空肠组织紧密连接蛋白基因中,相比对照组,饲料中添加山竹醇可显著上调空肠组织 Occludin 和 Claudin-2 mRNA 的表达量,Zo-1 mRNA 表达水平增加但差异不显著。说明山竹醇在一定程度上可以上调紧密连接蛋白相关基因的表达,提高肠道紧密连接及肠道屏障功能,以上结果表明山竹醇具有改善肠黏膜机械屏障功能的作用。Claudin 的高表达可以增加上皮细胞紧密度并降低溶质通透性(Awad et al 2017)。先前的研究表明,肠屏障基因 ZO-1 的 mRNA 表达增加可能与抑制促炎细胞因子的表达有关,进而改善蛋鸡肠道上皮屏障功能(Feng et al 2021)。此前学者的研究的结果也清楚地表明,日粮中添加山竹醇显著改善了 DSS 诱导的粘膜损伤和随后引发的炎症(Tsai et al 2014)。总体而言,在本研究中,在基础日粮中补充山竹醇增加了紧密连接蛋白 Occludin 和

*Claudin-2* 基因的表达，这些结果进一步证实山竹醇能够增加产蛋后期蛋鸡肠道机械屏障的紧密性。

#### 4.7 山竹醇对产蛋后期蛋鸡肠道菌群结构的影响

肠道菌群通过直接参与肠道生理的调节来调节宿主的健康（Abd El-Trwab et al 2016），肠道菌群还通过代谢饮食中的营养物质间接地影响宿主。在家禽肠道中，存在着大量的微生物菌群，对其的消化和吸收有一定的影响，且在宿主的生理功能上发挥着关键作用（Lynch and Hsiao 2019）。而研究表明植物多酚能够改变肠道的微环境，调整肠道菌群组成，最终提高机体对疾病的抵抗能力和营养物质的吸收。本研究表明，添加山竹醇后，OTU 的数量有所提高。Alpha 多样性指数分析可知，本试验证明 MG 组盲肠 Shannon 指数和 Simpson 指数显著提高，这指示 MG 组盲肠菌群分布均匀且更具多样性。 $\beta$  多样性分析发现，MG 组与 LG 组与对照组和高剂量组存在组间差异，表明山竹醇影响菌群结构特征。家禽盲肠菌群占主导地位的优势菌群为厚壁菌门（*Firmicutes*）和拟杆菌门（*Bacteroidota*）（徐静等 2021），在蛋鸡盲肠中含量很高。厚壁菌门的细菌主要作用是水解蛋白质和碳水化合物（Kers et al 2018）；拟杆菌则可以降解和利用多糖（Wu et al 2020）。

在门水平上，本试验结果表明厚壁菌门和拟杆菌门依然是四个组的优势物种，丰度占比最大，厚壁菌门/拟杆菌门比率可以指示微生态平衡的状态，而一些研究表明，较高的厚壁菌门/拟杆菌门比率可能在能量吸收中发挥重要作用，从而改善产蛋性能（Cheng et al 2017）。由此可见，本试验中，MG 组的蛋鸡的肠道微生态系统在门水平上发生了更有利的变化，厚壁菌门丰度增加，拟杆菌门丰度降低，可能有助于营养物质的利用和抗炎状态，最终改善蛋鸡的产蛋性能。在属水平上，各组主要优势物种无差异，丰度占比各不相同，拟杆菌和乳杆菌依然是四个组的优势物种。乳杆菌属（*Lactobacillus*）是属于厚壁菌门的一种菌属，是一种重要的益生菌，能发酵糖类，其代谢产物被发现通过降低肠道的 pH 值来抑制病原菌的生长（Heeney et al 2018, Li et al 2018）。健康肠道菌群中禽类乳杆菌的相对丰度远高于亚健康群体。此外，一些学者认为，禽类乳杆菌通过增强淀粉水解酶的活性来提高膳食营养的吸收和利用（Meng et al 2018）。而拟杆菌属（*Bacteroides*）均为革兰氏阴性菌，会产生 LPS 引发肠道炎症反应（Zafar and Saier Jr 2018）。葛根素是一种

异黄酮类化合物，可以降低拟杆菌丰度改变共生菌群的结构，增强杯状细胞和粘液蛋白表达来改善肠屏障功能障碍（Li et al 2020），与本试验相似。本试验中，MG 组在一定程度上降低了拟杆菌属的相对丰度而对乳杆菌属无明显影响，同时提高了罗姆布茨菌属（*Romboutsia*）和瘤胃球菌属（*Ruminococcus*）的这两种有益菌的相对丰度，丁酸的产生通常与瘤胃球菌属呈显著正相关，此外，瘤胃球菌也与多糖的降解和利用有关，是分解纤维素的重要细菌（Wang et al 2019）。

进一步使用 LDA Effect Size 探究发现共有 13 个差异菌群，其中 MG 组中的差异菌属最多，为脱铁杆菌、罗姆布茨菌属，*Mucispirillum* 属和消化链球菌目（*Peptostreptococcales-Tissierellales*）。其中，肠道菌群中脱铁杆菌门的相对丰度增加对提高肠道免疫功能进而改善肠道健康是有益的；罗姆布茨菌属是一种重要的益生菌，对维护肠道和机体健康有积极作用；*Mucispirillum* 属也是肠道有益菌的一种，与免疫功能呈正相关（雷福红等 2023）。MG 组中产蛋后期蛋鸡盲肠这几种有益菌的相对丰度显著增加，说明饲料中添加适量的山竹醇可以有效上调有益菌的相对丰度，提高蛋鸡的免疫性能。此外，氧化应激也可以通过改变肠道环境作用于肠道菌群，导致大量条件致病菌，并抑制益生菌的增殖，添加山竹醇增加了有益菌的相对丰度，有益细菌可以通过产生相应的代谢物来维持肠道氧化和抗氧化系统的动态平衡。这一结果也可以间接解释添加山竹醇后产蛋后期蛋鸡免疫功能提高和抗氧化能力增强。而结合我们的总体结果，本试验条件下，在饲料中添加山竹醇可以改善产蛋后期蛋鸡盲肠菌群的健康状态。

## 第三章 结语

### 1 结论

饲料中添加 300 mg/kg 山竹醇能显著提高产蛋后期蛋鸡的蛋白高度和哈氏单位，增强蛋白质量，改善蛋壳颜色并增强血清抗氧化能力且增强机体的免疫功能。

饲料中添加 300 mg/kg 山竹醇能够改善产蛋后期蛋鸡的肠道组织形态，促进盲肠有益菌的生长，调节菌群结构，促进肠道健康。

### 2.创新点

本研究首次将山竹醇作为饲料添加剂添加在蛋鸡日粮中，并发现山竹醇对产蛋后期蛋鸡蛋品质具有促进作用，对其抗氧化性能、和血清生化指标具有积极作用，并调节肠道菌群结构，为了解山竹醇的生物学效应及其作为功能性添加剂提供科学的依据。

### 3.展望

山竹醇对卵巢功能和蛋壳形成时期色素分泌和沉着的过程的影响有待于进一步研究，尤其是与老龄蛋鸡繁殖相关的性能，以及菌群功能相关性分析。

## 参考文献

1. 邓聪聪, 潘奎, 武亚南, 王风申, 郑卫俊, 张永英, 钟翠红, 石玉祥. 二至丸对产蛋后期蛋鸡生产性能、肠道形态以及炎性因子的影响. 饲料研究, 2022, 45:55-61
2. 高文. 姜黄素对高温环境下罗曼蛋鸡产蛋率及卵泡发育的影响. [硕士学位论文]. 湛江: 广东海洋大学, 2020
3. 贺琼玉, 邵亚飞, 姚卫磊, 王同心, 夏军, 黄飞若. 饲粮添加山竹醇对氧化应激仔猪生长性能、抗氧化功能及肝脏脂质合成的影响. 动物营养学报, 2019, 31:5834-5845
4. 雷福红, 张祖兵, 赵春攀, 杨朴丽, 段波, 李海泉, 龙继明. 辣木叶粉对茶花鸡器官发育、肠道发育及肠道微生物多样性的影响. 饲料研究, 2023, 02:61-66
5. 乔利敏. 葡萄籽提取物对种鸡产蛋高峰后期生产性能和生殖激素水平的影响. 山东畜牧兽医, 2019, 40:7-10
6. 孙从佼, 于爱芝, 余惠灵, 杨宁. 2021 年蛋鸡产业发展情况、未来发展趋势及建议. 中国畜牧杂志, 2022, 58:210-215
7. 谭悦, 郑长清. 紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义. 现代药物与临床, 2018, 33:1803-1808
8. 吴姝, 蒋步云, 宋泽和, 侯德兴, 施寿荣, 贺喜. 植物多酚对黄羽肉鸡抗氧化性能、肠道形态及肉品质的影响. 动物营养学报, 2018, 30:5118-5126
9. 汪小红, 武书庚, 崔耀明, 齐广海, 王晶, 张海军. 茶多酚对蛋鸡生产性能、蛋品质和抗氧化能力的影响. 动物营养学报, 2017, 29:193-201
10. 王希, 廖吕钊, 江荣林. 肠上皮细胞紧密连接蛋白的结构功能及其调节. 浙江医学, 2018, 40:895-898
11. 徐静, 张子儒, 王德贺, 陈一凡, 刘雪露, 张鹤, 黄晨轩, 刘萌, 张波, 侯建库, 周荣艳, 陈辉, 邸科前. 饮水中添加大蒜精油对蛋鸡生长性能、肠道组织形态及盲肠菌群的影响. 动物营养学报, 2021, 33: 308-316
12. 肖蕴祺, 王强, 童海兵, 施寿荣. 大豆黄酮对产蛋后期地方蛋鸡生产性能、蛋品质和血浆激素指标的影响. 动物营养学报, 2018, 30:1110-1115

13. 杨金玉, 王晶, 武书庚, 岳洪源, 齐广海, 张海军. 葡萄原花青素与小麦型饲料对肉仔鸡生长性能及免疫机能的组合效应. 动物营养学报, 2014, 26:2270-2280
14. 杨泰. 姜黄素对蛋鸡蛋品质、抗氧化与免疫功能及肠道形态的影响. [硕士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2018
15. 姚静漪, 邓博文, 李承乘, 刘志斌, 刘真, 钱洁玉, 李强, 桑锋. 益艾康胶囊对 IFN- $\gamma$  损伤肠黏膜屏障的紧密连接及相关蛋白 Claudin-1、Claudin-5 表达的影响. 中国医院药学杂志, 2020, 40:897-901
16. 张佳兰, 赵玉琴, 高玉鹏. 蛋鸡周龄对褐壳蛋蛋壳品质的影响. 西北农业学报, 2008, 02:48-50+69
17. 张玲, 钟光, 顾文婕, 陈龙, 尹娜, 施寿荣. 饲料添加大豆黄酮对产蛋后期蛋鸡产蛋性能、蛋品质和血浆激素指标的影响. 动物营养学报, 2020, 32:4110-4115
18. 张玲清, 张配配, 唐彩琰, Esmail S. 通过控制肠道微生物菌群组成来改善鸡的健康和生产. 国外畜牧学 (猪与禽), 2018, 38:50-52
19. 张硕, 李瑞萍, 叶轩, 田勇, 李国勤, 陈黎, 曾涛, 许文武, 顾天天, 沈军达, 陶争荣, 赵阿勇, 卢立志. 竹叶黄酮与包膜丁酸钠对仙居鸡生产性能、蛋品质和脂质代谢的影响. 动物营养学报, 2023, 35:260-268
20. 赵香菊, 黄秀奇, 王中华. 芍药花多酚提取物对蛋鸡生产性能和抗氧化能力的影响. 中国家禽, 2018, 40:60-62
21. 赵壮志, 钟梓奇, 高文, 吴江, 效梅, 安立龙. 姜黄素对罗曼粉壳蛋鸡产蛋性能和卵巢结构及功能的影响. 安徽农业科学, 2022, 50:88-91
22. Abd El-Hack ME, Alaidaroos BA, Farsi RM, Abou-Kassem DE, El-Saadony MT, Saad AM, Shafi ME, Albaqami NM, Taha AE, Ashour EA. Impacts of supplementing broiler diets with biological curcumin, zinc nanoparticles and *Bacillus licheniformis* on growth, carcass traits, blood indices, meat quality and cecal microbial load. *Animals*, 2021, 11:1878



23. Abd El-Trwab MM, Youssef II, Bakr H, Fthenakis G, Giadinis N. Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Pol J Vet Sci*, 2016, 19
24. Aggarwal S, Das SN. Garcinol inhibits tumour cell proliferation, angiogenesis, cell cycle progression and induces apoptosis via NF- $\kappa$ B inhibition in oral cancer. *Tumor Biol*, 2016, 37:7175-7184
25. Agus A, Clément K, Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut*, 2021, 70:1174-1182
26. Akbari M, Torki M, Kaviani K. Single and combined effects of peppermint and thyme essential oils on productive performance, egg quality traits, and blood parameters of laying hens reared under cold stress condition ( $6.8\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). *Int J Biometeorol*, 2016, 60:447-454
27. Akyildiz S, Denli M. Application of plant extracts as feed additives in poultry nutrition. *Anim Sci*, 2016, 59:2260
28. Al-Batshan H, Scheideler S, Black B, Garlich J, Anderson K. Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poult Sci*, 1994, 73:1590-1596
29. Ariana M, Samie A, Edriss MA, Jahanian R. Effects of powder and extract form of green tea and marigold, and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on performance, egg quality and egg yolk cholesterol levels of laying hens in late phase of production. *J Med Plants Res*, 2011, 5:2710-2716
30. Awad WA, Hess C, Hess M. Enteric pathogens and their toxin-induced disruption of the intestinal barrier through alteration of tight junctions in chickens. *Toxins*, 2017, 9:60
31. Brezar V, Hani L, Surenaud M, Hubert A, Lacabartz C, Lelievre JD, Levy Y, Seddiki N. Negative modulation of suppressive HIV-specific regulatory T cells by IL-2 adjuvanted therapeutic vaccine. *PLoS Pathog*, 2017, 13:e1006489

32. Burel C, Valat C. The effect of the feed on the host-microflora interactions in poultry: an overview. Annual Conference of the International Society for Animal Hygiene 2009
33. Campo J. Relationship between shell color and compositional characteristics in brown, tinted or white eggs. *Archiv für Geflügelkunde*, 1995
34. Cave JR, Waterhouse AL. Combinatorics of proanthocyanidins in wine. *Analyst*, 2019, 144:4395-4399
35. Chen F, Zhang H, Du E, Jin F, Zheng C, Fan Q, Zhao N, Guo W, Zhang W, Huang S. Effects of magnolol on egg production, egg quality, antioxidant capacity, and intestinal health of laying hens in the late phase of the laying cycle. *Poult Sci*, 2021, 100:835-843
36. Chen Jh, Xue S, Li S, Wang Zl, Yang H, Wang W, Song D, Zhou X, Chen C. Oxidant damage in Kashin-Beck disease and a rat Kashin-Beck disease model by employing T-2 toxin treatment under selenium deficient conditions. *J Orthop Res*, 2012, 30:1229-1237
37. Chen Y, Chen H, Li W, Miao J, Chen N, Shao X, Cao Y. Polyphenols in Eucalyptus leaves improved the egg and meat qualities and protected against ethanol-induced oxidative damage in laying hens. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2018, 102:214-223
38. Cheng M, Zhang X, Miao Y, Cao J, Wu Z, Weng P. The modulatory effect of (-)-epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate (EGCG3 "Me) on intestinal microbiota of high fat diet-induced obesity mice model. *Food Res Int*, 2017, 92:9-16
39. Chimento A, Sirianni R, Saturnino C, Caruso A, Sinicropi MS, Pezzi V. Resveratrol and its analogs as antitumoral agents for breast cancer treatment. *Mini Rev Med Chem*, 2016, 16:699-709
40. Dai D, Wu SG, Zhang HJ, Qi GH, Wang J. Dynamic alterations in early intestinal development, microbiota and metabolome induced by in ovo feeding of L-arginine in a layer chick model. *J Anim Sci Biotechnol*, 2020, 11:1-16

41. Deng W, Dong X, Tong J, Xie T, Zhang Q. Effects of an aqueous alfalfa extract on production performance, egg quality and lipid metabolism of laying hens. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2012, 96:85-94
42. Ding X, Du J, Zhang K, Bai S, Zeng Q, Peng H, Xuan Y, Su Z, Wang J. Tandem mass tag-based quantitative proteomics analysis and gelling properties in egg albumen of laying hens feeding tea polyphenols. *Poult Sci*, 2020, 99:430-440
43. dos Santos AF, Da Silva AS, Galli GM, Paglia EB, Dacoreggio MV, Kempka AP, Souza CF, Baldissera MD, da Rosa G, Boiago MM. Addition of yellow strawberry guava leaf extract in the diet of laying hens had antimicrobial and antioxidant effect capable of improving egg quality. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2020, 29:101788
44. Feng D, Zou J, Su D, Mai H, Zhang S, Li P, Zheng X. Curcumin prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice by improving intestinal barrier function and reducing endotoxin and liver TLR4/NF- $\kappa$ B inflammation. *Nutr Metab*, 2019, 16:1-11
45. Feng J, Lu M, Wang J, Zhang H, Qiu K, Qi G, Wu S. Dietary oregano essential oil supplementation improves intestinal functions and alters gut microbiota in late-phase laying hens. *J Anim Sci Biotechnol*, 2021, 12:1-15
46. Feng Z, Gong J, Zhao G, Lin X, Liu Y, Ma K. Effects of dietary supplementation of resveratrol on performance, egg quality, yolk cholesterol and antioxidant enzyme activity of laying hens. *Br Poult Sci*, 2017, 58:544-549
47. Galli GM, Da Silva AS, Biazus AH, Reis JH, Boiago MM, Topazio JP, Migliorini MJ, Guarda NS, Moresco RN, Ourique AF. Feed addition of curcumin to laying hens showed anticoccidial effect, and improved egg quality and animal health. *Res Vet Sci*, 2018, 118:101-106
48. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella Enteritidis*. *FEMS Microbiol Rev*, 2009, 33:718-738

49. Gilani S, Howarth G, Nattrass G, Kitessa S, Barekain R, Forder R, Tran C, Hughes R. Gene expression and morphological changes in the intestinal mucosa associated with increased permeability induced by short-term fasting in chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2018, 102:e653-e661
50. Günzel D, Yu AS. Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiol Rev*, 2013, 93:525-569
51. Hadavi A, Kermanshahi H, Nassiri Moghaddam H, Golian A. Effects of fennel extract on egg production, antioxidant status and bone attributes of laying hens administered carbon tetrachloride. *Worlds Poult Sci J*, 2017, 5:165-171
52. Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2008, 1778:660-669
53. Hassanpour H, Zamani Moghaddam A, Yazdani A, Cheraghchi Bashi M. Evaluation of intestinal morphology and nitric oxide metabolites in broiler chickens supplemented by green tea. *Comp Clin Pathol*, 2010, 19:43-47
54. Heeney DD, Gareau MG, Marco ML. Intestinal Lactobacillus in health and disease, a driver or just along for the ride? *Curr Opin Biotechnol*, 2018, 49:140-147
55. Hong J, Kwon SJ, Sang S, Ju J, Zhou JN, Ho CT, Huang MT, Yang CS. Effects of garcinol and its derivatives on intestinal cell growth: Inhibitory effects and autoxidation-dependent growth-stimulatory effects. *Free Radical Biol Med*, 2007, 42:1211-1221
56. Jha R, Singh AK, Yadav S, Berrococo JFD, Mishra B. Early nutrition programming (in ovo and post-hatch feeding) as a strategy to modulate gut health of poultry. *Front Vet Sci*, 2019, 6:82
57. Joyner C, Peddie M, Taylor T. The effect of age on egg production in the domestic hen. *Gen Comp Endocrinol*, 1987, 65:331-336

58. Jung S, Choe JH, Kim B, Yun H, Kruk ZA, Jo C. Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers. *Meat Sci*, 2010, 86:520-526
59. Jung Sukcharoen J, Dhiani BA, Cherdshewasart W, Vinayavekchin N, Sangvanich P, Boonchird C. Pueraria mirifica leaves, an alternative potential isoflavonoid source. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 2014, 78:917-926
60. Kamiloglu S, Tomas M, Ozdal T, Capanoglu E. Effect of food matrix on the content and bioavailability of flavonoids. *Trends Food Sci & Tech*, 2021, 117:15-33
61. Kers JG, Velkers FC, Fischer EA, Hermes GD, Stegeman JA, Smidt H. Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. *Front Microbiol*, 2018, 9:235
62. Khan S, Moore RJ, Stanley D, Chousalkar KK. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety. *Appl Environ Microbiol*, 2020, 86:e00600-00620
63. Kim MH, Yoo DS, Lee SY, Byeon SE, Lee YG, Min T, Rho HS, Rhee MH, Lee J, Cho JY. The TRIF/TBK1/IRF-3 activation pathway is the primary inhibitory target of resveratrol, contributing to its broad-spectrum anti-inflammatory effects. *Die Pharmazie*, 2011, 66:293-300
64. Kogut MH, Yin XiaoNan YX, Yuan JianMin YJ, Broom L. Gut health in poultry. *CABI Reviews*, 2017, :1-7
65. Kolodziejczyk J, Masullo M, Olas B, Piacente S, Wachowicz B. Effects of garcinol and guttiferone K isolated from *Garcinia cambogia* on oxidative/nitrative modifications in blood platelets and plasma. *Platelets*, 2009, 20:487-492
66. Kong W, Wang J, Xing X, Xiao X, Zhao Y, Zang Q, Zhang P, Jin C, Li Z, Liu W. Antifungal evaluation of cholic acid and its derivatives on *Candida albicans* by microcalorimetry and chemometrics. *Anal Chim Acta*, 2011, 689:250-256

67. Kong X, Wu G, Liao Y, Hou Z, Liu H, Yin F, Li T, Huang R, Zhang Y, Deng D. Dietary supplementation with Chinese herbal ultra-fine powder enhances cellular and humoral immunity in early-weaned piglets. *Livest Sci*, 2007, 108:94-98
68. Landete J. Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2013, 53:706-721
69. Lee PS, Teng CY, Kalyanam N, Ho CT, Pan MH. Garcinol reduces obesity in high-fat-diet-fed mice by modulating gut microbiota composition. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63:1800390
70. Lee SE M. Mechanism of Intestinal Colonization by Symbiotic Bacteria California Institute of Technology, 2013
71. 50. Li J, Zhang L, Li Y, Wu Y, Wu T, Feng H, Xu Z, Liu Y, Ruan Z, Zhou S. Puerarin improves intestinal barrier function through enhancing goblet cells and mucus barrier. *J Funct Foods*, 2020, 75:104246
72. Li Z, Wang W, Liu D, Guo Y. Effects of *Lactobacillus acidophilus* on the growth performance and intestinal health of broilers challenged with *Clostridium perfringens*. *J Anim Sci Biotechnol*, 2018, 9:1-10
73. Liang Z, Maher P. Structural Requirements for the Neuroprotective and Anti-Inflammatory Activities of the Flavanone Sterubin. *Antioxidants*, 2022, 11:2197
74. Lin Q, Peng S, Li Y, Jiang G, Liao Z, Fan Z, He X, Dai Q. Magnolol additive improves carcass and meat quality of Linwu ducks by modulating antioxidative status. *Anim Sci J*, 2020, 91:e13301
75. Lipiński K, Mazur M, Antoszkiewicz Z, Purwin C. Polyphenols in monogastric nutrition—a review. *Ann Anim Sci*, 2017, 17:41-58
76. Liu C, Ho PC-L, Wong FC, Sethi G, Wang LZ, Goh BC. Garcinol: Current status of its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-cancer effects. *Cancer letters*, 2015, 362:8-14

77. Liu Z, Sun C, Yan Y, Li G, Shi F, Wu G, Liu A, Yang N. Genetic variations for egg quality of chickens at late laying period revealed by genome-wide association study. *Sci Rep*, 2018, 8:1-11
78. Lv ZP, Yan SJ, Li G, Liu D, Guo YM. Genistein improves the reproductive performance and bone status of breeder hens during the late egg-laying period. *Poult Sci*, 2019, 98:7022-7029
79. Lynch J, Hsiao E. Microbiomes as sources of emergent host phenotypes. *Science*, 2019, 365:1405-1409
80. Mahfuz S, Shang Q, Piao X. Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: A review. *J Anim Sci Biotechnol*, 2021, 12:1-18
81. Majeed M, Bani S, Bhat B, Pandey A, Mundkur L, Neupane P. Safety profile of 40% Garcinol from *Garcinia indica* in experimental rodents. *Toxicol Rep*, 2018, 5:750-758
82. Meng X, Gangoiti J, de Kok N, van Leeuwen SS, Pijning T, Dijkhuizen L. Biochemical characterization of two GH70 family 4, 6- $\alpha$ -glucanotransferases with distinct product specificity from *Lactobacillus aviarius* subsp. *aviarius* DSM 20655. *Food Chem*, 2018, 253:236-246
83. Miao L, Gong Y, Li H, Xie C, Xu Q, Dong X, Elwan HA, Zou X. Alterations in cecal microbiota and intestinal barrier function of laying hens fed on fluoride supplemented diets. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 193:110372
84. Nii T, Bungo T, Isobe N, Yoshimura Y. Intestinal inflammation induced by dextran sodium sulphate causes liver inflammation and lipid metabolism dysfunction in laying hens. *Poult Sci*, 2020, 99:1663-1677
85. Nimalaratne C, Wu J. Hen egg as an antioxidant food commodity: A review. *Nutrients*, 2015, 7:8274-8293
86. Odabaşı A, Miles R, Balaban M, Portier K. Changes in brown eggshell color as the hen ages. *Poult Sci*, 2007, 86:356-363
87. Omana DA, Wang J, Wu J. Ovomucin—a glycoprotein with promising potential. *Trends Food Sci & Tech*, 2010, 21:455-463

88. Pan D, Yu Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes*, 2014, 5:108-119
89. Paszkiewicz M, Budzyńska A, Różalska B, Sadowska B. Immunomodulacyjna rola polifenoli roślinnych. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczałnej*, 2012, 66
90. Pellegrini A, Thomas U, Wild P, Schraner E, von Fellenberg R. Effect of lysozyme or modified lysozyme fragments on DNA and RNA synthesis and membrane permeability of Escherichia coli. *Microbiol Res*, 2000, 155:69-77
91. Ramirez SY, Peñuela-Sierra LM, Ospina MA. Effects of oregano (*Lippia origanoides*) essential oil supplementation on the performance, egg quality, and intestinal morphometry of Isa Brown laying hens. *Veterinary World*, 2021, 14:595
92. Rattanawut J, Pimpa O, Yamauchi K. Effects of dietary bamboo vinegar supplementation on performance, eggshell quality, ileal microflora composition, and intestinal villus morphology of laying hens in the late phase of production. *Anim Sci J*, 2018, 89:1572-1580
93. Reda F, El-Saadony M, El-Rayes T, Farahat M, Attia G, Alagawany M. Dietary effect of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) on quail performance, carcass, blood metabolites and intestinal microbiota. *Poult Sci*, 2021, 100:101266
94. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB, Bajaj JS. Bile acids and the gut microbiome. *Curr Opin Gastroenterol*, 2014, 30:332
95. Sahin K, Akdemir F, Orhan C, Tuzcu M, Hayirli A, Sahin N. Effects of dietary resveratrol supplementation on egg production and antioxidant status. *Poult Sci*, 2010, 89:1190-1198
96. Saika A, Nagatake T, Kunisawa J. Host-and microbe-dependent dietary lipid metabolism in the control of allergy, inflammation, and immunity. *Front Nutr*, 2019, 6:36



97. Saleh AA, Ahmed EA, Ebeid TA. The impact of phytoestrogen source supplementation on reproductive performance, plasma profile, yolk fatty acids and antioxidative status in aged laying hens. *Reprod Domest Anim*, 2019, 54:846-854
98. Sawa T, Nakao M, Akaike T, Ono K, Maeda H. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *J Agric Food Chem*, 1999, 47:397-402
99. Schobert R, Biersack B. Chemical and iological Aspects of Garcinol and Isogarcinol: Recent Developments. *Chem Biodivers*, 2019, 16:e1900366
100. Shanmugam S, Park JH, Cho S, Kim IH. Silymarin seed extract supplementation enhances the growth performance, meat quality, and nutrients digestibility, and reduces gas emission in broilers. *Animal Bioscience*, 2022, 35:1215
101. Shini A, Shini S, Bryden W. Fatty liver haemorrhagic syndrome occurrence in laying hens: impact of production system. *Avian Pathol*, 2019, 48:25-34
102. Sigurdson GT, Robbins RJ, Collins TM, Giusti MM. Impact of location, type, and number of glycosidic substitutions on the color expression of o-dihydroxylated anthocyanidins. *Food Chem*, 2018, 268:416-423
103. Singh AK, Kim WK. Effects of dietary fiber on nutrients utilization and gut health of poultry: a review of challenges and opportunities. *Animals*, 2021, 11:181
104. Singla RK, Dubey AK, Garg A, Sharma RK, Fiorino M, Ameen SM, Haddad MA, Al-Hiary M. In. Oxford University Press, Vol. 102, 2019, pp. :1397-1400
105. Sobhani M, Farzaei MH, Kiani S, Khodarahmi R. Immunomodulatory; anti-inflammatory/antioxidant effects of polyphenols: a comparative review on the parental compounds and their metabolites. *Food Rev Int*, 2021, 37:759-811
106. Song J, Li Q, Li P, Liu R, Cui H, Zheng M, Everaert N, Zhao G, Wen J. The effects of inulin on the mucosal morphology and immune status of specific pathogen-free chickens. *Poult Sci*, 2018, 97:3938-3946

- 107.Su JL, Shi BL, Zhang PF, Sun DS, Li TY, Yan SM. Effects of yucca extract on feed efficiency, immune and antioxidative functions in broilers. *Braz Arch Biol Technol*, 2016, 59
- 108.Subramanian MV, James T. Age-related protective effect of deprenyl on changes in the levels of diagnostic marker enzymes and antioxidant defense enzymes activities in cerebellar tissue in Wistar rats. *Cell Stress and Chaperones*, 2010, 15:743-751
- 109.Sugiharto S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *J Saudi Soc Agric Sci*, 2016, 15:99-111
- 110.Surai P. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2014, 98:19-31
- 111.Tian S, Guo R, Wei S, Kong Y, Wei X, Wang W, Shi X, Jiang H. Curcumin protects against the intestinal ischemia-reperfusion injury: involvement of the tight junction protein ZO-1 and TNF- $\alpha$  related mechanism. *Korean J Physiol Pha*, 2016, 20:147-152
- 112.Tsai ML, Chiou YS, Chiou LY, Ho CT, Pan MH. Garcinol suppresses inflammation-associated colon carcinogenesis in mice. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58:1820-1829
- 113.Tzounis X, Vulevic J, Kuhnle GG, George T, Leonczak J, Gibson GR, Kwik-Urbe C, Spencer JP. Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *Br J Nutr*, 2008, 99:782-792
- 114.Van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, Woody J. Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology*, 1995, 109:129-135
- 115.Videnska P, Sedlar K, Lukac M, Faldynova M, Gerzova L, Cejkova D, Sisak F, Rychlik I. Succession and replacement of bacterial populations in the caecum of egg laying hens over their whole life. *PLoS One*, 2014, 9:e115142
- 116.Wang M, Wichienchot S, He X, Fu X, Huang Q, Zhang B. In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. *Trends Food Sci & Tech*, 2019, 88:1-9

- 117.Wang T, Yao W, Li J, Shao Y, He Q, Xia J, Huang F. Dietary garcinol supplementation improves diarrhea and intestinal barrier function associated with its modulation of gut microbiota in weaned piglets. *J Anim Sci Biotechnol*, 2020, 11:12
- 118.Wang YW, Zhang X, Chen CL, Liu QZ, Xu JW, Qian QQ, Li WY, Qian YN. Protective effects of garcinol against neuropathic pain—evidence from in vivo and in vitro studies. *Neurosci Lett*, 2017, 647:85-90
- 119.Weibel D, Finck B, Baker D, Johnson R. Time course of increased plasma cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. *J Anim Sci*, 1997, 75:1514-1520
- 120.Wen C, Li Q, Lan F, Li X, Li G, Yan Y, Wu G, Yang N, Sun C. Microbiota continuum along the chicken oviduct and its association with host genetics and egg formation. *Poult Sci*, 2021, 100:101104
- 121.Wen C, Gu Y, Tao Z, Cheng Z, Wang T, Zhou Y. Effects of ginger extract on laying performance, egg quality, and antioxidant status of laying hens. *Animals*, 2019, 9:857
- 122.Williams J, Duckworth C, Burkitt M, Watson A, Campbell B, Pritchard D. Epithelial cell shedding and barrier function: a matter of life and death at the small intestinal villus tip. *Vet Pathol*, 2015, 52:445-455
- 123.Wu Y, Han Y, Tao Y, Li D, Xie G, Show PL, Lee SY. In vitro gastrointestinal digestion and fecal fermentation reveal the effect of different encapsulation materials on the release, degradation and modulation of gut microbiota of blueberry anthocyanin extract. *Food Res Int*, 2020, 132:109098
- 124.Xie J, Tang L, Lu L, Zhang L, Xi L, Liu HC, Odle J, Luo X. Differential expression of heat shock transcription factors and heat shock proteins after acute and chronic heat stress in laying chickens (*Gallus gallus*). *PLoS One*, 2014, 9:e102204
- 125.Xie T, Bai SP, Zhang KY, Ding XM, Wang JP, Zeng QF, Peng HW, Lu HY, Bai J, Xuan Y, Su ZW. Effects of *Lonicera confusa* and *Astragali Radix* extracts supplementation on egg production performance, egg quality, sensory evaluation,

- and antioxidative parameters of laying hens during the late laying period. *Poult Sci*, 2019, 98:4838-4847
- 126.Yadav S, Jha R. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. *J Anim Sci Biotechnol*, 2019, 10:1-11
- 127.Yamaguchi F, Saito M, Ariga T, Yoshimura Y, Nakazawa H. Free radical scavenging activity and antiulcer activity of garcinol from *Garcinia indica* fruit rind. *J Agric Food Chem*, 2000, 48:2320-2325
- 128.Yan L, Yang C, Tang J. Disruption of the intestinal mucosal barrier in *Candida albicans* infections. *Microbiol Res*, 2013, 168:389-395
- 129.Yang J, Zhan K, Zhang M. Effects of the use of a combination of two *Bacillus* species on performance, egg quality, small intestinal mucosal morphology, and cecal microbiota profile in aging laying hens. *Probiotics Antimicro*, 2020, 12:204-213
- 130.Yang JX, Chaudhry MT, Yao JY, Wang SN, Zhou B, Wang M, Han CY, You Y, Li Y. Effects of phyto-oestrogen quercetin on productive performance, hormones, reproductive organs and apoptotic genes in laying hens. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2018, 102:505-513
- 131.Yang R, Hui Q, Jiang Q, Liu S, Zhang H, Wu J, Lin F, OK, Yang C. Effect of manitoba-grown red-osier dogwood extracts on recovering Caco-2 cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8:250
- 132.Yesilbag D, Eren M, Agel H, Kovanlikaya A, Balci F. Effects of dietary rosemary, rosemary volatile oil and vitamin E on broiler performance, meat quality and serum SOD activity. *Br Poult Sci*, 2011, 52:472-482
- 133.Yuan Z, Zhang K, Ding X, Luo Y, Bai S, Zeng Q, Wang J. Effect of tea polyphenols on production performance, egg quality, and hepatic antioxidant status of laying hens in vanadium-containing diets. *Poult Sci*, 2016, 95:1709-1717
- 134.Zafar H, Saier Jr MH. Comparative genomics of transport proteins in seven *Bacteroides* species. *PLoS One*, 2018, 13:e0208151

- 135.Zhan H, Dong X, Li L, Zheng Y, Gong Y, Zou X. Effects of dietary supplementation with *Clostridium butyricum* on laying performance, egg quality, serum parameters, and cecal microflora of laying hens in the late phase of production. *Poult Sci*, 2019, 98:896-903
- 136.Zhang J, Zhang M, Liang W, Geng Z, Chen X. Green tea powder supplementation increased viscosity and decreased lysozyme activity of egg white during storage of eggs from Huainan partridge chicken. *Ital J Anim Sci*, 2020, 19:586-592
- 137.Zhang N, Jing P. Anthocyanins in brassicaceae: Composition, stability, bioavailability, and potential health benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62:2205-2220
- 138.Zheng M, Mao P, Tian X, Guo Q, Meng L. Effects of dietary supplementation of alfalfa meal on growth performance, carcass characteristics, meat and egg quality, and intestinal microbiota in Beijing-you chicken. *Poult Sci*, 2019, 98:2250-2259
- 139.Zhu F. Proanthocyanidins in cereals and pseudocereals. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, 59:1521-1533
- 140.Zhu YW, Lu L, Li WX, Zhang LY, Ji C, Lin X, Liu HC, Odle J, Luo XG. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expressions of heat shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. *Br J Nutr*, 2016, 116:1851-1860