

银杏叶提取物对肉仔鸡免疫器官指数及消化道局部体液免疫球蛋白含量的影响

黄其春^{1,2}, 陈彤^{1,2}, 郑新添^{1,3}, 杨小燕^{1,3*}, 林桂铭¹, 何玉琴^{1,2}

(1. 龙岩学院生命科学学院, 龙岩 364000; 2. 预防兽医学与生物技术福建省高等学校重点实验室, 龙岩 364000; 3. 福建省人畜寄生与病毒性疫病防控工程技术研究中心, 龙岩 364000)

摘要: 为研究银杏叶提取物 (EGB) 对肉仔鸡免疫器官指数及消化道局部体液免疫球蛋白含量的影响, 选用 360 只 1 日龄健康 AA 肉用母雏, 随机分成 5 组, 每组 6 个重复, 分别饲喂添加 0、0.15%、0.20%、0.25% EGB 或 90 mg·kg⁻¹ 金霉素的玉米-豆粕型日粮, 试验期为 42 d。结果表明, 添加 0.20%、0.25% EGB 可显著提高 42 日龄肉仔鸡脾脏指数、胸腺指数和法氏囊指数 ($P < 0.05$), 提高胆汁和肠液 IgA、IgG、IgM 含量 ($P < 0.05$), 并且作用效果好于金霉素组 ($P < 0.05$)。可见, 在该试验条件下, 日粮中添加 0.20%、0.25% EGB 可促进肉仔鸡免疫器官的生长发育, 提高消化道局部黏膜的体液免疫反应水平。

关键词: 银杏叶提取物; 肉仔鸡; 免疫器官; 消化道; 免疫球蛋白

中图分类号: S816.79

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2011)06-0892-04

Effects of *Ginkgo biloba* extract on immune organ index and content of immunoglobulins in local humor of digestive tract in broilers

HUANG Qi-chun^{1,2}, CHEN Tong^{1,2}, ZHENG Xin-tian^{1,3}, YANG Xiao-yan^{1,3}, LIN Gui-ming¹, HE Yu-qin^{1,2}

(1. College of Life Science, Longyan University, Longyan 364000;

2. Key Laboratory of Fujian Universities Preventive Veterinary Medicine and Biotechnology, Longyan 364000;

3. Fujian Provincial Engineering Technology Center of Prevention and Control in Zoonotic Parasite and Viral Livestock Diseases, Longyan 364000)

Abstract: An experiment was conducted to investigate the modulatory effect of *Ginkgo biloba* extract (EGB) on immune organ index and the content of immunoglobulins in local humor of digestive tract in broilers. Three hundred and sixty one-day-old healthy Arbor Acres female broilers were divided into five groups, each with six replicates, and fed corn-soybean meal basal diet supplemented with 0, 0.15%, 0.20%, 0.25% EGB or 0.009% aureomycin for 42 days. The results showed that adding 0.20% EGB or 0.25% EGB to diet significantly improved spleen index, thymus index and bursa of Fabricius index ($P < 0.05$), increased the content of immunoglobulin IgA, IgG and IgM in bile and intestinal fluid of 42-day-old broilers ($P < 0.05$) compared with the control and the aureomycin. The study suggested that adding 0.20% EGB or 0.25% EGB to diets of broilers could promote immune organs development and improve local humoral immune response of digestive tract.

Key words: *Ginkgo biloba* extract; broilers; immune organ; digestive tract; immunoglobulin

银杏(*Ginkgo Biloba*)是世界上最古老的孑遗植物, 为我国特有树种, 拥有量占世界总量的 70% 以上。银杏叶具有较好的药用价值, 其被用作药物已有 500 余年的历史, 现已广泛应用于医疗、食品等

领域。近年来, 银杏叶及银杏叶提取物(EGB)也逐渐应用于家禽生产试验研究。研究表明, 银杏叶及 EGB 具有促进肉鸡、肉鸭生长、改善胴体组成和肌肉品质、提高机体免疫力和抗氧化力等作用^[1-8]。禽

收稿日期: 2011-04-26

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2007N0049) 和福建省教育厅资助省属高校项目(JK2009048)共同资助。

作者简介: 黄其春, 男, 博士, 副教授。E-mail: hqchun@sina.com

* 通讯作者: 杨小燕, 女, 教授。E-mail: lyyxy1998@126.com

消化道局部黏膜是病原入侵的主要门户之一^[9], 消化道局部黏膜的免疫状态影响着禽抵抗病原的能力。EGB 能否提高肉仔鸡消化道局部黏膜的免疫功能, 尚未见报道。为此, 本试验拟对饲喂 EGB 后肉仔鸡脾脏、胸腺、法氏囊的器官指数以及胆汁和肠液免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 含量进行分析, 旨在研究 EGB 对肉仔鸡免疫器官指数及消化道局部体液免疫球蛋白含量的影响, 为银杏叶的开发应用和进一步阐明其免疫作用机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 银杏叶提取物 银杏叶干粉由福建长汀树王银杏生态园有限公司提供。参照李焰等^[10]的提取工艺提取 EGB。EGB 经液相色谱分析, 测定其有效成分含量, 其中总黄酮醇苷含量为 24%, 萜内酯为 6%。

表 1 基础日粮组成及营养水平

Table 1 Ingredients and nutrients of the basal diet

项目 Item	1~21 日龄 1~21 days old	22~42 日龄 22~42 days old
组成 Ingredients		
玉米/% Corn	61.50	67.00
豆粕/% Soybean meal	18.37	15.80
棉粕/% Cottonseed meal	7.00	6.00
玉米蛋白粉/% Corn gluten meal	7.50	6.00
植物粉末油混合饲料 Vegetable oil powder	0.50	1.50
磷酸氢钙/% Dibasic calcium phosphate	1.80	1.00
石粉/% Limestone	1.20	1.00
蛋氨酸/% Methionine	0.13	0.04
赖氨酸/% Lysine	0	0.01
预混料/% Premix	2.00	1.65
营养水平 Nutrients		
代谢能/MJ·kg ⁻¹ Metabolizable energy	12.12	12.27
粗蛋白/% Crude protein	20.5	18.0
钙/% Calcium	0.90	0.85
有效磷/% Available phosphorus	0.45	0.40
赖氨酸/% Lysine	1.10	0.88
蛋+胱氨酸/% Methionine+cystine	0.70	0.62

1.1.2 试验动物和日粮 1 日龄 AA 商品代肉用母雏购自福建森宝食品集团股份有限公司。试验基础日粮为玉米-豆粕型, 参照 NRC (1994) 肉鸡营养需要配合而成的粉料, 日粮组成及营养水平见表 1。

表 1 中每千克饲料中含: VA 12 000 IU; VD₃ 2

500 IU; VE 20 mg; VK₃ 3 mg; VB₁ 3 mg; VB₂ 8 mg; VB₆ 7 mg; VB₁₂ 30 μg; 泛酸 20 mg; 烟酸 50 mg; 生物素 0.1 mg; 叶酸 1.5 mg; 氯化胆碱 1 000 mg; 铜 9 mg; 锌 110 mg; 铁 100 mg; 锰 100 mg; 硒 0.16 mg; 碘 0.6 mg。

1.2 试验设计和饲养管理

选 360 只 1 日龄健康 AA 肉用母雏, 随机分成 5 组, 试验 1 组为对照组, 饲喂基础日粮; 试验 2 组在基础日粮中添加 90 mg·kg⁻¹ 金霉素 (有效成分含量 15%); 其余 3 组分别在基础日粮中分别添加 0.15%、0.20%、0.25% 的 EGB。每组设 6 个重复, 每个重复 12 只。试验期为 42 d, 1~21 d 为试验前期, 22~42 d 为试验后期。饲养管理按北京爱拔益加家禽育种有限公司提供的《肉用仔鸡饲养管理手册》进行。7 日龄采用滴鼻和点眼方法接种新城疫-传支二联苗; 14 日龄采用滴嘴方式接种法氏囊三价苗; 21 日龄采用点眼方法接种新城疫-传支二联苗。

1.3 样品采集与指标测定

分别于 21、42 日龄, 从每个重复中随机抽取 2 只鸡(每组 12 只)称重, 然后放血处死, 快速剥离脾脏、胸腺和法氏囊并称重, 采集胆汁和肠液, 低温保存备检。免疫器官指数=免疫器官重(g)/鸡体重(kg)。胆汁和肠液 IgA、IgG、IgM 含量的测定采用 ELISA 法, 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.4 数据分析

数据以平均数±标准差表示, 采用 SPSS13.0 软件中 ANOVA 模块进行单因素方差分析和 Duncan's 多重比较, 以 $P<0.05$ 为显著水平。

2 结果与分析

2.1 免疫器官指数

由表 2 可知, 21 日龄时, 各组肉仔鸡脾脏指数和法氏囊指数差异不显著, 但金霉素组和添加 EGB 组肉仔鸡胸腺指数明显高于对照组($P<0.05$)。42 日龄时, 0.20%、0.25%EGB 组肉仔鸡脾脏指数和法氏囊指数显著高于对照组和金霉素组($P<0.05$), 而且各 EGB 组肉仔鸡胸腺指数也明显高于对照组和金霉素组($P<0.05$)。

2.2 胆汁免疫球蛋白含量

由表 3 可知, 21 日龄时, 各组肉仔鸡胆汁 IgA、IgG、IgM 含量差异不显著, 但添加 EGB 使肉仔鸡胆汁 IgA、IgG、IgM 含量呈增加趋势。42 日龄时, 0.20%、0.25%EGB 组肉仔鸡胆汁 IgA、IgG、IgM 含量显著高于对照组 ($P<0.05$)。

表 2 银杏叶提取物对肉仔鸡免疫器官指数的影响
Table 2 Effects of EGB on immune organ index of broilers

日龄 Age	项目 Item	对照组 Control group	金霉素组 Aureomycin group	EGB 组 EGB group		
				0.15%EGB	0.20%EGB	0.25%EGB
21 日龄	脾脏指数 Spleen index	0.87±0.15	0.87±0.06	0.89±0.15	0.93±0.10	0.91±0.03
21 days old	胸腺指数 Thymus index	4.07±0.15 ^b	4.28±0.16 ^a	4.42±0.15 ^a	4.54±0.10 ^a	4.48±0.13 ^a
	法氏囊指数 Bursa of Fabriocius index	2.09±0.12	2.13±0.16	2.22±0.15	2.28±0.10	2.26±0.13
42 日龄	脾脏指数 Spleen index	1.44±0.10 ^b	1.50±0.09 ^b	1.56±0.16 ^b	1.66±0.16 ^a	1.59±0.18 ^a
42 days old	胸腺指数 Thymus index	4.23±0.10 ^b	4.30±0.09 ^b	4.51±0.16 ^a	4.62±0.16 ^a	4.53±0.18 ^a
	法氏囊指数 Bursa of Fabriocius index	2.36±0.17 ^b	2.40±0.14 ^b	2.53±0.15 ^b	2.70±0.16 ^a	2.62±0.18 ^a

注：同一行数据肩注不同字母者表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Date within a row with different superscripts differ significantly ($P<0.05$). The same below.

表 3 银杏叶提取物对肉仔鸡胆汁免疫球蛋白含量的影响
Table 3 Effects of EGB on the content of immunoglobulins in bile of broilers mg·mL⁻¹

日龄 Age	项目 Item	对照组 Control group	金霉素组 Aureomycin group	EGB 组 EGB group		
				0.15%EGB	0.20%EGB	0.25%EGB
21 日龄	IgA	0.284 3±0.035 0	0.299 8±0.018 7	0.319 2±0.036 6	0.340 6±0.041 7	0.333 2±0.040 8
21 days old	IgG	2.905 9±0.197 2	3.016 5±0.430 7	3.098 5±0.315 5	3.172 1±0.214 0	3.227 8±0.208 7
	IgM	0.153 1±0.018 4	0.164 2±0.020 8	0.177 4±0.024 2	0.187 6±0.021 7	0.183 5±0.026 0
42 日龄	IgA	0.296 8±0.024 1 ^b	0.324 5±0.041 5 ^{ab}	0.334 4±0.034 8 ^{ab}	0.349 3±0.042 4 ^a	0.362 9±0.038 5 ^a
42 days old	IgG	2.936 4±0.212 3 ^b	3.205 3±0.294 8 ^{ab}	3.309 6±0.283 2 ^{ab}	3.483 0±0.347 5 ^a	3.445 2±0.402 3 ^a
	IgM	0.159 6±0.024 0 ^b	0.169 9±0.025 3 ^{ab}	0.184 7±0.019 6 ^{ab}	0.196 0±0.022 6 ^a	0.198 9±0.030 3 ^a

表 4 银杏叶提取物对肉仔鸡肠液免疫球蛋白含量的影响
Table 4 Effects of EGB on the content of immunoglobulins in intestinal fluid of broilers μg·mg⁻¹

日龄 Age	项目 Item	对照组 Control group	金霉素组 Aureomycin group	EGB 组 EGB group		
				0.15%EGB	0.20%EGB	0.25%EGB
21 日龄	IgA	26.62±4.10	28.00±3.23	29.05±3.18	30.32±2.71	32.67±4.37
21 days old	IgG	421.20±44.18	432.12±41.97	463.45±44.08	483.15±52.48	492.80±57.32
	IgM	30.10±3.47	33.63±3.93	32.42±4.14	36.10±5.51	34.38±4.68
42 日龄	IgA	32.58±2.30 ^c	33.78±5.09 ^{bc}	36.93±4.55 ^{abc}	38.47±4.13 ^{ab}	39.32±4.76 ^a
42 days old	IgG	442.72±49.33 ^c	461.42±43.68 ^{bc}	493.37±66.22 ^{abc}	532.93±69.52 ^a	520.95±46.13 ^{ab}
	IgM	33.58±4.77 ^c	35.60±5.22 ^{bc}	38.18±5.65 ^{abc}	40.85±5.21 ^{ab}	43.10±6.86 ^a

2.3 肠液免疫球蛋白含量

由表 4 可知, 21 日龄时, 各组肉仔鸡肠液 IgA、IgG、IgM 含量差异不显著, 但添加 EGB 使肉仔鸡肠液 IgA、IgG、IgM 含量呈增加趋势。42 日龄时, 0.20%、0.25%EGB 组肉仔鸡肠液 IgA、IgG、IgM 含量显著高于对照组 ($P<0.05$), 而且 0.20%EGB 组肉仔鸡肠液 IgG、0.25%EGB 组肉仔鸡肠液 IgA 和 IgM 含量也明显高于金霉素组 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 银杏叶提取物对肉仔鸡免疫器官指数的影响

脾脏、胸腺和法氏囊是禽类的免疫器官, 是免疫细胞形成、分化及抗体形成的主要场所, 其发育状况直接影响到机体免疫力。因此, 脾脏、胸腺和

法氏囊的重量可用于评价肉仔鸡的免疫状态, 其绝对重量和相对重量增加说明机体的细胞免疫和体液免疫机能增强^[11]。本试验结果表明, 添加 0.20%、0.25%EGB 可显著提高 42 日龄肉仔鸡脾脏指数、胸腺指数和法氏囊指数, 而且其作用效果好于金霉素组, 这与王学静^[4]、杨小燕等^[7]的报道结果相近, 说明 EGB 能促进肉仔鸡免疫器官的发育, 有利于促进免疫机能的发挥, 提高机体的免疫力。另外, 本试验还发现, 除 21 日龄胸腺指数外, 日粮中添加金霉素对肉仔鸡免疫器官指数无显著影响, 这与张日俊等^[12]和佟建明等^[13]的报道金霉素对肉仔鸡免疫器官发育具有抑制作用不一致。究其原因, 可能与金霉素添加量不同有关。

3.2 银杏叶提取物对肉仔鸡胆汁和肠液免疫球蛋白含量的影响

肠道不仅是消化、吸收营养物质的场所,而且具有重要的免疫功能。家禽消化道存在着大量的淋巴样组织,构成完整而普遍的黏膜免疫系统,是机体防止感染的第一道防线^[9]。黏膜表面富含大量功能不同的免疫活性细胞,当细菌与之接触后,增强了肠道派伊尔结(Peyer's patch)对抗原的识别能力,同时活化肠道相关淋巴组织,活化集合淋巴结生发中心的B细胞,使其转化为浆细胞。致敏的免疫细胞进入淋巴系统,经胸导管进入血循环,逐步分化成熟,在全身免疫系统中发挥作用。成熟的免疫细胞在特异的归巢受体介导下,多数免疫细胞归巢到致敏部位的黏膜内,即肠黏膜内,形成肠液中的免疫球蛋白,发挥免疫效应功能^[14],少数免疫细胞进入其他的黏膜部位,使胆汁等的免疫球蛋白相继分泌增多。因此,胆汁和肠液IgA、IgG、IgM含量的高低在很大程度上反映消化道局部黏膜的体液免疫水平。本试验发现,添加0.20%、0.25%EGB可显著提高42日龄肉仔鸡胆汁和肠液IgA、IgG、IgM含量,此结果还未见他人报道,表明EGB可增强肉仔鸡消化道局部黏膜的体液免疫反应。这一变化,与王学静^[4]、杨小燕等^[7]的和林淑慧^[8]的报道一致。林淑慧^[8]报道,EGB可提高肉仔鸡血清IgA、IgG、IgM含量。本试验还发现,0.20%EGB组肉仔鸡肠液IgG、0.25%EGB组肉仔鸡肠液IgA和IgM含量也明显高于金霉素组($P<0.05$),说明EGB与金霉素相比,能更好的促进肉仔鸡肠液IgA、IgG、IgM的形成。现代药理学研究表明,EGB的化学成分非常复杂,有效成分主要包括黄酮类化合物、萜类化合物和聚戊烯醇等^[15-16]。EGB提高肉仔鸡胆汁和肠液IgA、IgG、IgM含量的机理,可能与EGB含有较多的黄酮类化合物有关。本试验所用的EGB总黄酮醇苷含量达24%,而已有研究表明^[17],黄酮在整个免疫期内均明显增加了鸡小肠黏膜局部IgA等分泌细胞的数量。这一作用机理,还有待于深入研究。

综上所述,日粮中添加0.20%、0.25%EGB可提高肉仔鸡脾脏指数、胸腺指数和法氏囊指数,提高肉仔鸡胆汁和肠液IgA、IgG、IgM含量。笔者前期研究发现^[18],日粮中添加0.15%、0.20%和0.25%EGB可提高肉仔鸡日增重和饲料转化率,0.20%和0.25%EGB还可提高饲料蛋白质利用率。综合笔者前期的生产性能试验及本次试验结果,建议肉仔鸡日粮以添加0.20%EGB为佳。

参考文献:

- [1] 曹福亮,陈桂银,汪贵斌,等.银杏叶生物饲料添加剂对黄羽肉仔鸡生长及免疫的影响[J].江苏林业科技,2006,33(2):16-17.
- [2] 陈桂银,曹福亮,汪贵斌,等.银杏叶生物饲料添加剂对黄羽肉仔鸡屠宰性能及肉品种的影响[J].江苏林业科技,2006,33(2):18-20.
- [3] 李岩.银杏叶提取物对肉鸭生长性能及脂肪代谢的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2006.
- [4] 王学静.银杏叶提取物对肉鸡生产性能及血液生化指标的影响研究[D].保定:河北农业大学,2006.
- [5] 李焰.银杏叶有效成分的提取和体外抑菌效果以及肉鸡日粮中添加银杏叶的研究[D].武汉:华中农业大学,2006.
- [6] 李焰,杨小燕,林跃鑫.银杏叶提取物对肉鸡屠宰性能、血清生化指标和甲状腺激素浓度的影响[J].中国畜牧杂志,2007,43(23):24-26.
- [7] 杨小燕,林跃鑫,李焰.银杏叶提取物对肉鸡生产性能、屠宰性能和免疫指标的影响[J].福建农林大学学报:自然科学版,2008,37(3):295-298.
- [8] 林淑慧.银杏叶提取物对肉鸡免疫功能影响的研究[D].福州:福建农林大学,2009.
- [9] Kagnoff M F. Mucosal immunology: new frontiers [J]. Immunol Today, 1996, 17(2): 57-72.
- [10] 李焰,杨小燕,林跃鑫,等.银杏叶有效成分提取与抑菌效果研究[J].中国畜牧杂志,2006,42(15):54-56.
- [11] Rivas A L, Julius F. Indications of immunodepression in chickens infected with various strains of Marek's disease virus [J]. Avian Disease, 1988, 32(1): 1-8.
- [12] 张日俊,佟建明,萨仁娜,等.饲用金霉素对肉仔鸡免疫系统生长发育及免疫反应的研究[J].畜牧兽医学报,2000,31(3):216-223.
- [13] 佟建明,张日俊,萨仁娜,等.持续、低剂量金霉素对肉仔鸡免疫机能的抑制作用研究[J].中国农业科学,2001,34(2):200-204.
- [14] 余锐萍,高齐瑜,王彩虹.肠相关性淋巴样组织研究概况[J].动物医学进展,2002,23(4):29-33.
- [15] Van Beek T A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts [J]. J Chromatog A, 2002, 967: 21-55.
- [16] Van Beeka T A, Montorob P. Chemical analysis and quality control of *Ginkgo biloba* leaves, extracts, and phytopharmaceuticals [J]. J Chromatog A, 2009, 1216: 2002-2032.
- [17] 张小飞.黏膜免疫佐剂对鸡黏膜和系统免疫反应机理的研究[D].南京:南京农业大学,2007.
- [18] 李焰,杨小燕,黄其春,等.银杏叶提取物对肉鸡生产性能、营养利用率和肠道菌群数量的影响[J].中国畜牧杂志,2009,45(23):47-49.