

螺旋藻胶囊增强鸡体液和细胞介导的免疫功能研究

Research on Spirulina Capsules Enhancing Immune Function Mediated by Chicken Body Fluid and Cells

李湘澍 徐源钢

Xianglian Li Yuangang Xu

江西沐恩堂生物科技有限公司 中国·江西樟树 331200

Jiangxi Mu'entang Biotechnology Co., Ltd., Zhangshu, Jiangxi, 331200, China

摘要: 目的: 研究饲料中不同水平(0、10、100、1,000和10,000 ppm)的螺旋藻胶囊对蛋鸡和肉鸡的免疫功能影响。方法: 饲料中含有不同水平螺旋藻,测定鸡的体重和免疫器官质量、体液免疫及细胞介导免疫。结果: 所有治疗组中的小鸡体重相当,法氏囊和脾脏重量没有改变,但肉鸡的胸腺($P < 0.05$)比对照组(0 ppm组)大。在初次反应期间,抗绵羊红细胞抗体没有观察到差异。结论: 螺旋藻补充剂可增强多种免疫功能,这意味着在饲料中添加10,000 ppm的螺旋藻胶囊可增强鸡的抗病能力。

Abstract: Objective: To study the effects of different levels of spirulina capsules (0, 10, 100, 1,000 and 10,000 ppm) in feed on immune function of laying hens and broilers. **Methods:** The body weight, immune organ quality, humoral immunity and cell-mediated immunity of chickens were measured with different levels of spirulina in the feed. **Results:** Chicks in all treatment groups were comparable in weight, bursa and spleen weights did not change, but the thymus of broilers ($P < 0.05$) was larger than that of the control group (0 ppm group). No difference in anti-sheep erythrocyte antibodies was observed during the initial response. **Conclusion:** Spirulina supplements can enhance multiple immune functions, which means that adding 10,000 ppm spirulina capsules to the feed can enhance the resistance of chickens to disease.

关键词: 螺旋藻胶囊; 雏鸡; 免疫功能; 饲料添加

Keywords: spirulina capsules; chickens; immune function; feed addition

DOI: 10.12346/pmr.v5i2.8371

1 引言

螺旋藻可被人类食用,螺旋藻通常用作人类的健康食品来源,由于具有含量的蛋白质以及丰富的维生素和矿物质,螺旋藻被认为是一种合适的营养补充剂^[1-3]。

添加螺旋藻可作为常规成分(豆粕、鱼粉等)的替代品。有文献报道^[4],在鸡的饮食中加入20%的螺旋藻会抑制生长。然而,可以将高达6%的螺旋藻添加到肉鸡日粮中,而不会对生长产生不利影响。据报道,螺旋藻可降低大鼠和人类的总血清胆固醇。研究确定螺旋藻对哪些免疫功能的增强或抑制是十分必要的。在这项研究中,研究了饲料补充螺旋藻对鸡免疫系统的体液和细胞方面的影响。

2 材料

2.1 仪器与试剂

KH22R 高速冷冻离心机(湖南凯达科学仪器有限公司); M407937 电子天平(康斯坦特有限公司); 博科BK-280 全自动生化分析仪(济南鑫盈生物技术有限公司); VICTOR 3V 多功能酶标仪(山东莱恩德智能科技有限公司),实验用免疫试剂均购自南京生物工程技术有限公司。

2.2 样品

螺旋藻胶囊(江西沐恩堂生物科技有限公司,生产日期为20220321,产品批号为220324)。实验肉鸡、蛋鸡圈养在实验基地,控温控湿。

【作者简介】李湘澍(1987-),男,中国江西樟树人,硕士,从事中药功能食品和保健食品研究。

3 方法

3.1 动物分组及建模处理

在第一项研究中, 肉鸡混合性别雏鸡被随机分配到不同的育雏器栏中。对于四种饮食处理中的每一种, 随机分配了两个围栏, 每个围栏有 25 只小鸡。在第二项研究中, 日龄蛋鸡的雌雄混合雏鸡被随机分配到 24 个围栏, 每个围栏 15 只雏鸡。在第一项研究中(研究 #1), 使用了四种含有 0ppm、10ppm、100ppm 和 10000ppm 螺旋藻的饮食处理, 而在第二项研究中(研究 #2), 使用了 0ppm、100ppm、1000ppm 和 10000ppm 的螺旋藻水平。通过将螺旋藻添加到玉米和豆粕基础日粮中来进行处理, 以满足所有营养需求。随意提供饲料和水。小鸡从第一天开始就被喂食这些饮食, 并在整个研究期间一直持续。

3.2 体重和免疫器官质量测定

来自每个处理的小鸡在孵化当天和此后每周称重直至七周(研究 #1), 并在三周龄(研究 #2)评估体重(BW)。在七周龄(研究 #1)和三周龄(研究 #2)时称重淋巴器官(胸腺、法氏囊和脾脏), 并以相对于个体小鸡体重的百分比表示。

3.3 体液免疫

绵羊红细胞(SRBC)被用作测试抗原以定量特异性抗体反应。来自每个处理组的 15 只小鸡静脉内免疫。通过机翼静脉, 制备 1mL 的 7% SRBC 悬浮液。在第 18 天(研究 #1)或第 6 天(研究 #2)使用 5% 无菌生理盐水。注射后 7 天, 对所有家禽放血并收集相应的血清样本以确定初级抗体反应。第一次注射后 14 天重复抗原攻击, 一周后收集血清样本以确定二抗反应。使用微量血凝技术对抗体水平进行定量。

3.4 细胞介导的免疫

皮肤嗜碱性粒细胞超敏反应(CBH)、巨噬细胞功能和脾脏自然杀伤细胞活性作为细胞介导免疫的终点进行了检查。CBH 测试是一种 T 细胞介导反应的测量方法, 使用前文所述的趾网技术针对植物血凝素-P(PHA-P)进行定量。不同处理组的鸡在趾腹中皮内注射 100pg PHA-P。在注射后 24 小时和 36 小时, 用恒定张力卡尺测量对照(注射盐水)和注射 PHA-P 产生的脚趾肿胀

腹腔渗出巨噬细胞使用 Sephadex 诱导方案分离。巨噬细胞单层与抗体包被(调理)和未包被(未调理)SRBC 孵育, 吞噬性巨噬细胞的百分比以及每个吞噬性巨噬细胞内化 SRBC 的数量测定

3.5 数据处理

根据 ANOVA 程序对数据进行统计分析, 并通过 Duncan 的多范围检验将处理方法分开。

4 结果

4.1 不同剂量螺旋藻对肉鸡体重和免疫器官指数的影响

本研究的目的是确定膳食螺旋藻对蛋型(研究 #1)和肉型(研究 #2)鸡的生产性能和免疫能力的影响。从孵化之日到七周(研究 #1)和三周龄(肉鸡, 研究 #2)每周监测体重。对照组和补充螺旋藻组的小鸡体重相似。最高螺旋藻(10000ppm)水平的雏鸡七周平均体重为 519 克, 而对照组(0ppm)组为 522 克。相比之下, 0ppm 和 10000ppm 组的肉鸡在三周龄时的体重分别为 661 克和 653 克, 这在统计学上没有差异($P > 0.5$)。这些数据表明, 日粮中添加螺旋藻对雏鸡生长和饲料效率没有不利影响。

七周龄肉鸡在不同螺旋藻水平下的淋巴器官重量列于表 1。器官重量以相对于个体鸡体重的百分比表示。与 0ppm 组相比, 10000ppm 螺旋藻组中的小鸡胸腺重量明显更高(基于每只鸡左侧的所有胸腺叶)。10 和 100ppm 组的雏鸡胸腺重量也较高, 但与基础日粮组没有显著差异。所有治疗组胸腺和脾脏重量具有可比性。在研究 #2 中没有用肉鸡获得胸腺重量。这些关于淋巴器官重量的结果表明, 在本研究中使用的水平的螺旋藻补充剂没有淋巴毒性。事实上, 胸腺重量显著改善, 这可能是由于本研究中未量化的胸腺细胞增殖增加。

表 1 螺旋藻补充日粮中研究肉鸡的淋巴器官重量(% of BW³)

螺旋藻剂量 (ppm)	n ¹	胸腺 ²	囊	脾
0	26	0.19 ± 0.06 ^b	0.44 ± 0.08	0.16 ± 0.03
10	25	0.22 ± 0.04 ^{ab}	0.43 ± .09	0.17 ± 0.05
100	25	0.21 ± 0.06 ^{ab}	0.43 ± 0.08	0.18 ± 0.05
10000	27	0.24 ± 0.05 ^a	0.43 ± .09	0.19 ± 0.06

注: 1n= 每个治疗组小鸡的数量。

2= 每只小鸡左侧的所有胸腺叶。

3=% of BW, 体重表示为体重的克百分比。

ab= 各组数据显示显著差异($P \leq 0.05$)。

4.2 体液免疫结果

抗 SRBC 抗体滴度在第一次(初级)和第二次 SRBC(次级)注射后 7 天达到峰值。在初级抗体反应期间未观察到显著差异。然而, 在二次反应期间, 所有螺旋藻饮食组的肉鸡都有更高的总抗 SRBC 滴度, 其中 10000ppm 组显示最高(6.8Log₂), 而 0ppm(5.5Log₂)。10 和 100ppm 组的值处于中间值。在肉鸡中, 第一次和第二次 SRBC 注射后观察到总滴度和 IgM 滴度的数值增加。然而, SRBC 加强后的 IgG 水平(次要反应)表现出与螺旋藻剂量相关的增加, 其中 10000ppm 小鸡显示出 5.0 的滴度, 而 0ppm 组小鸡的滴度为 4.0。这些结果表明, 补充螺旋藻明显增强了鸡对 T 依

赖性抗原、绵羊红细胞的抗体产生。抗体数据列于表2。

表2 饲喂不同水平螺旋藻的小鸡的抗绵羊红细胞抗体反应 (\log_2)

螺旋藻剂量 (ppm)	7天后第一次注射 (抗体滴度)	7天后第二次注射 (抗体滴度)	7天后第二次注射 (总 IgG)
0	4.3 ± 0.1	5.5 ± 0.2 ^c	4.0 ± 0.3 ^b
10	4.3 ± 0.2	5.9 ± 0.2 ^b	ND
100	4.3 ± 0.2	5.9 ± 0.1 ^b	4.2 ± 0.2 ^b
1000	ND	ND	4.5 ± 0.3 ^b
10000	3.9 ± 0.2	6.8 ± 0.2 ^a	5.0 ± 0.3 ^a

注: ND = 未检测到

a-c = 各组数据显示显著差异 ($P \leq 0.05$)

4.3 细胞介导的免疫结果

鸡对丝分裂原植物血凝素的反应性使用脚趾网注射进行了检查。PHA-P 主要是刺激 T 细胞分裂。因此, 在喂食螺旋藻的鸡中观察到的差异可能归因于这些鸡中 T 淋巴细胞的不同增殖反应。如表 3 所示, 与对照组相比, 所有螺旋藻处理组中的小鸡都有更大的脚趾蹼肿胀, 在喂食 10000ppm 饲料的小鸡组注射后 24 和 36 小时达到统计显著性。这些结果表明补充螺旋藻可以改善鸡的 T 细胞增殖。

表3 膳食螺旋藻补充剂对鸡对植物血凝素 -p 反应的影响

螺旋藻剂量 (ppm)	n ¹	24h 后	36h 后
0	10	0.99 ± 0.3 ^b	0.93 ± 0.3 ^b
10	9	1.2 ± 0.4 ^b	1.2 ± 0.4 ^b
100	9	1.2 ± 0.2 ^b	1.1 ± 0.3 ^b
10000	10	1.9 ± 0.6 ^a	1.6 ± 0.5 ^a

注: 1n = 每个治疗组小鸡的数量

ab = 各组数据显示显著差异 ($P \leq 0.05$)

在肉鸡中, 来自所有螺旋藻喂养组的巨噬细胞显示出比基础日粮喂养组显得更高的吞噬活性。这些结果表明日粮螺旋藻增强了鸡的巨噬细胞吞噬功能。然而, 与肉鸡 (100ppm) 相比, 蛋鸡需要更多的螺旋藻 (10000ppm) 以获得最佳的巨噬细胞吞噬活性。表 4 显示了巨噬细胞吞噬反应的结果。

表4 膳食螺旋藻补充剂对鸡对巨噬细胞吞噬性的影响

螺旋藻剂量 (ppm)	吞噬性 (%) - 蛋鸡	吞噬性 (%) - 肉鸡
0	26.0 ± 2.7 ^b	30.7 ± 4.7 ^b
10	27.3 ± 2.7 ^b	ND
100	29.6 ± 3.1 ^b	43.8 ± 2.2 ^a
1000	ND	48.3 ± 1.7 ^a
10000	45.3 ± 2.7 ^a	42.4 ± 0.8 ^a

注: ND = 未检测到

ab = 各组数据显示显著差异 ($P \leq 0.05$)

5 结论

当前研究中观察到日粮螺旋藻可增强多种免疫功能, 这意味着在饲料中添加螺旋藻可增强鸡的免疫功能。因为这些实验只是为正常的、表面上健康的鸡建立了基线免疫特征, 所以在对疾病挑战的反应过程中检查这些影响很重要。

参考文献

- [1] 谢佳文, 徐佩伦, 韩佩, 等. LED混合光对螺旋藻生长及藻蓝蛋白积累的影响[J]. 生物学杂志, 2023, 40(2): 58-64.
- [2] 彭敏, 王婷, 童雅琴, 等. 螺旋藻培养新技术及其新型食品的研发与应用[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(3): 4-8.
- [3] 李新月, 庞思思, 王晓梅, 等. 螺旋藻藻渣营养成分及其膳食纤维的功能特性研究[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(5): 205-211.
- [4] 陈博, 孙志斌, 石卓, 等. 螺旋藻对花尾榛鸡生长性能及免疫器官指数的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2020(1): 37-40.