

## 金针菇菇脚对肉鸡 T、B 淋巴细胞免疫功能的影响

张彤瑶<sup>1</sup> 高雅松<sup>1</sup> 张爱龙<sup>1</sup> 周家生<sup>1</sup> 宋慧<sup>1,2\*</sup>

(1. 吉林农业大学 生命科学学院, 长春 130118;

2. 吉林农业大学 教育部食用菌工程研究中心, 长春 130118)

**摘要** 为探索不同含量金针菇菇脚(*Flammulina velutipes* stembase, FVS)添加到肉鸡饲料中对肉鸡生产性能以及 T、B 淋巴细胞免疫功能的影响, 采用 1 日龄健康 AA 肉鸡 270 只, 随机分为 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复 18 只。试验分为: 对照组(基础日粮); 抗生素组(基础日粮+0.05% 黄霉素); 低剂量组(基础日粮+2% FVS); 中剂量组(基础日粮+4% FVS); 高剂量组(基础日粮+6% FVS)。试验为期 42 d, 检测指标为: 生产性能, 免疫器官指数, 外周血 T、B 淋巴细胞增殖率(MTT 法测定), 血清细胞因子 IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$  含量测定(ELISA 法测定), 血清免疫球蛋白 IG-A、IG-G、IG-M 效价测定(ELISA 法测定)。结果显示: 各剂量 FVS 均能提高肉鸡饲喂前期平均日增重, 平均日采食量, 降低料肉比, 提高肉鸡成活率; 2% FVS 组 21 日龄胸腺指数及 42 日龄法氏囊指数显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 4% FVS 组胸腺指数显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 6% FVS 组在 42 日龄胸腺指数及脾脏指数均显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 在第 22~28、29~35、36~42 日龄, 各剂量 FVS 组 T、B 细胞增殖率显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 在第 22~28、36~42 日龄, 各剂量 FVS 均可显著提高细胞因子 IL-2 的含量( $P < 0.05$ ); 各剂量 FVS 能显著提高 22~28、36~42 日龄肉鸡血清免疫球蛋白 IG-A 效价( $P < 0.05$ )以及 7~14、22~28 日龄 IG-G 效价( $P < 0.05$ )。表明日粮中添加 FVS 可提高肉鸡生产性能、免疫器官指数, 增强肉鸡的 T、B 淋巴细胞免疫功能。

**关键词** 金针菇; 肉鸡; 生产性能; 淋巴细胞; 免疫

中图分类号 S 831.1; S 831.5

文章编号 1007-4333(2016)04-0086-09

文献标志码 A

## Effects of *Flammulina velutipes* stembase on T and B lymphocyte immune functions of broilers

ZHANG Tong-yao<sup>1</sup>, GAO Ya-song<sup>1</sup>, ZHANG Ai-long<sup>1</sup>, ZHOU Jia-sheng<sup>1</sup>, SONG Hui<sup>1,2\*</sup>

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

2. Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi,

Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract** The experiment was conducted to study the effects of different contents of *Flammulina velutipes* stembase (FVS) as dietary supplements on production performance and T and B lymphocyte immune function of broilers. A total of 270 one-day-old Arbor Acre (AA) broilers were randomly divided into five groups, with three replications per group. The experimental groups were control group (basic diet), antibiotic group (basic diet + 5mg/kg flavomycin), low dose group (basic diet + 2% content mushroom stembase), middle dose group (basic diet + 4% content mushroom feet), and high dose group (basic diet + 6% content mushroom stembase). The experimental period was 42 days. The detection indexes were production performances, immune organ indexes, peripheral T and B lymphocyte proliferation rates (MTT assay), serum cytokines IL-2, IL-4, IFN- assay (ELISA assay) and serum immunoglobulin IG-A, IG-G, IG-M potency assay (ELISA assay). The results showed that: Each dose of FVS could improve average daily gain, average

收稿日期: 2015-07-15

基金项目: 吉林省经济菌物创新平台

第一作者: 张彤瑶, 硕士研究生, E-mail: zhangtongyaovip@126.com

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

daily feed intake, decrease feed conversion at early stage, as well as improve the survival rates of broilers; At the age of 21 d, 2% FVS group thymus indexes and 42 d old bursal indexes were significantly higher than control group ( $P < 0.05$ ), 4% FVS group thymus indexes were significantly higher than control group ( $P < 0.05$ ), 6% FVS group 42 d thymus index and spleen index were significantly higher than control group ( $P < 0.05$ ); T and B cell proliferation rates in all treatment groups were significantly higher than in control group ( $P < 0.05$ ). At the day of 22-27, 28-35, 36-42, each dose of FVS could significantly increase the contents of cytokine IL-2 ( $P < 0.05$ ). At 22-28 and 36-42 d, FVS could also improve IG-A titers significantly ( $P < 0.05$ ), and IG-G titers at 7-14 and 22-28 d ( $P < 0.05$ ). We concluded that diets of FVS could improve production performances, immune organ indexes and enhance T and B lymphocyte immune functions of broilers.

**Keywords** *Flammulina velutipes*; broiler; production performances; lymphocyte; immune

近 50 年来, 饲用抗生素在畜禽业得到广泛使用, 但在使用的同时造成了药物浪费, 环境污染, 病原耐药性和药物残留等诸多问题, 所以限用、禁用抗生素已成为一种发展趋势。金针菇 (*Flammulina velutiper* (Fr.) Singer) 学名毛柄金钱菌, 其味道鲜美, 营养丰富, 富含赖氨酸和精氨酸, 被称之为增智菇<sup>[1]</sup>。目前研究较多的是其中的多糖和蛋白质, 其具有抗肿瘤, 调节免疫以及抗氧化等作用<sup>[2]</sup>。近年来, 工厂化栽培金针菇迅猛发展, 据不完全统计, 我国金针菇年产量多达 249 万 t<sup>[3]</sup>, 生产过程中产生了大量菇脚, 因其未得到合理的开发利用, 造成了资源的浪费, 因此, 金针菇脚的开发利用具有广阔的前景<sup>[4]</sup>。金针菇脚 (*Flammulina velutipes* stembase, FVS) 中含有丰富的多糖、蛋白质、氨基酸以及膳食纤维等活性物质<sup>[2]</sup>。其氨基酸种类齐全, 必需氨基酸含量占总氨基酸含量的 40.127%<sup>[5]</sup>, 且 FVS 中含有甘露糖、核糖、葡萄糖等多种单糖组分<sup>[6]</sup>。所以, 本试验以 FVS 为原料, 按 2%、4% 和 6% 的剂量添加到肉鸡基础日粮中, 旨在探索 FVS 对肉鸡生产性能、免疫器官发育及 T、B 淋巴细胞免疫功能的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 金针菇脚及试剂

金针菇脚由长春雪国高榕生物技术有限公司 (金针菇规范化生产) 馈赠。金针菇脚为当日生产无污染废弃料, 将金针菇脚自然风干, 用高速粉碎机粉碎成细粉, 于吉林省汉虹牧业按比例添加配置饲料。经测定其重金属铁、铜、锌、镁、锰和镉含量分别为 255.00、11.93、23.42、41.33、56.8 和  $(16.00 \times 10^{-3})$  mg/kg。

RPMI-1640 培养基, 赛默飞世尔生物化学制品

(北京) 有限公司; 二甲基亚砜 (DMSO), 美国 Amresco 公司; 四甲基偶氮唑盐 (MTT)、刀豆蛋白 A (Con A)、LPS, 美国 Sigma 公司; 胎牛血清, 杭州四季青生物工程材料有限公司; 鸡外周血淋巴细胞分离液, 北京索莱宝科技有限公司。试剂盒 (IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$ 、IG-A、IG-G、IG-M), 上海朗顿生物技术有限公司。其余化学试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 试验动物及基础饲料

1 日龄健康 AA 肉鸡 270 只购自吉林省梅河口市得坤禽类食品有限公司。试验基础日粮及营养水平见表 1。

### 1.2 试验设计及饲养管理

将 270 只肉鸡随机分为 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复 18 只, 分笼饲养。空白组饲喂基础日粮; 试验低、中、高剂量组在基础日粮中分别添加 2%、4%、6% 的 FVS; 抗生素组在基础日粮中添加 0.05% 的黄霉素。基础日粮按等氮等能原则自行配制。试验各组在同 1 栋鸡舍进行, 试验为期 42 d, 自由采食和饮水, 对所有试验肉鸡进行常规新城疫和法氏囊首次免疫及二次免疫。鸡舍内的温度、湿度、光照和卫生学指标符合肉仔鸡的卫生要求 (GB 14925—1994)<sup>[7]</sup>。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 对肉鸡生产性能的影响

分别于同一时间对 7、14、21、28、35 和 42 日龄肉鸡空腹称重 (鸡群禁食 12 h), 分别记录各组鸡的平均体质量、统计耗料量, 计算日增重 (ADG)、日采食量 (ADFI), 料肉比 (F/G)、成活率。

#### 1.3.2 对肉鸡免疫器官指数的影响

于 21、42 日龄每个试验组随机取 9 只生长健康肉鸡, 将肉鸡静脉放血处死后, 分别取其胸腺、脾脏、法氏囊称重, 计算免疫器官指数。免疫器官指数 = 免疫器官质量/体重  $\times 100$ 。

表1 基础日粮配方及营养水平(风干基础)

Table 1 Content and nutrition level of diet

项目 Item	1~21日龄 Day 1-21	21~42日龄 Day 21-42
原料组成 Material Ingredient		
$\omega$ (玉米)/% Com	54.00	58.68
$\omega$ (豆粕)/% Soybean	38.09	33.92
$\omega$ (玉米油)/% Corn oil	3.50	3.50
$\omega$ (蛋氨酸)/% Met	0.20	0.10
$\omega$ (磷酸氢钙)/% $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.90	1.30
$\omega$ (石粉)/% Stone powder meal	1.10	1.30
$\omega$ (食盐)/% Salt	0.21	0.20
$\omega$ (预混料)/% <sup>①</sup> Premix compound	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient level		
$\omega$ (粗蛋白)/% CP	21.43	19.98
$\omega$ (钙)/% Ca	0.97	0.89
$\omega$ (有效磷)/% Available P	0.45	0.35
代谢能/(MJ/kg)ME	12.42	12.64

注:①每 kg 日粮中预混料中含量为:维生素 A 1 500 IU,维生素 B<sub>1</sub> 1.8 mg,维生素 B<sub>2</sub> 3.6 mg,维生素 B<sub>6</sub> 3.5 mg,维生素 B<sub>12</sub> 0.01 mg,维生素 D<sub>3</sub> 200 IU,维生素 E 10 mg,维生素 K 0.5 mg,泛酸 10 mg,烟酸 35 mg,叶酸 0.55 mg,生物素 0.15 mg,胆碱 1 300 mg,锰 60 mg,锌 40 mg,铁 80 mg,铜 8 mg,碘 0.35 mg,硒 0.15 mg。

Note:① Premix provided per kg of diet: VA 1 500 IU, VB<sub>1</sub> 1.8 mg, VB<sub>2</sub> 3.6 mg, VB<sub>6</sub> 3.5 mg, VB<sub>12</sub> 0.01 mg, VD<sub>3</sub> 200 IU, VE 10 mg, VK 0.5 mg, pantothenic acid 10 mg, niacin 35 mg, folic acid 0.55 mg, biotin 0.15 mg, choline chloride 1 300 mg, Mn 60 mg, Zn 40 mg, Fe 80 mg, Cu 8 mg, I 0.35 mg, Se 0.15 mg.

### 1.3.3 对肉鸡外周血 T、B 淋巴细胞增殖的影响

于试验的第 7、14、21、28、35 和 42 日龄随机抽取 9 只健康肉鸡进行无菌翅静脉采集抗凝血, ConA、LPS 刺激淋巴细胞增殖,采用 MTT 法<sup>[8]</sup>,于 570 nm 处测定 OD 值,测得 T、B 淋巴细胞转化率。

### 1.3.4 对肉鸡血清免疫细胞因子的影响

于试验的 7、14、21、28、35 和 42 日龄每个试验组随机取 9 只健康肉鸡,翅静脉无菌采集血液,4 ℃ 静置 1 h,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,-20 ℃ 保存。采用 ELISA 法进行 IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$  检测。试验步骤参照上海朗顿生物技术有限公司试剂盒说明书进行。

### 1.3.5 对肉鸡血清中免疫球蛋白的影响

试验方法同 1.3.3。采用 ELISA 的方法进行 IgG、IgM、IgA 的检测。试验步骤参照上海朗顿生

物技术有限公司试剂盒说明书进行。

## 1.4 数据处理与分

试验结果均以平均值±标准误(X±S)表示,试验数据采用 SPSS 17.0 软件的 One-way ANOVA 进行方差分析,采用 Duncan 氏法进行多重比较, $P < 0.05$  为差异显著。

## 2 试验结果与分析

### 2.1 对肉鸡生产性能的影响

由表 2 可知,在第 1~7、8~14、15~21 和 22~28 日龄阶段,不同剂量的 FVS 组肉鸡平均日增重均显著高于对照组( $P < 0.05$ );在 1~7、8~14、15~21 及 29~35 日龄各剂量的 FVS 组肉鸡平均日采食量显著高于对照组( $P < 0.05$ ),与抗生素组无显著差异( $P > 0.05$ )。在 22~28 日龄时,6% FVS 组

平均日采食量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ ), 其他日龄平均日采食量无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 在第 1~7、15~21 日龄时, 不同剂量的 FVS 组肉鸡料肉比显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 与抗生素组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。在 8~14 日龄时, 2%、6% FVS 组肉鸡料肉比显著低

于对照组 ( $P < 0.05$ ), 与抗生素组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 第 22~28 日龄时, 4% FVS 组肉鸡料肉比显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 与抗生素组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。以上数据说明饲料中添加 FVS 能够提高肉鸡平均日增重平均日采食量, 降低料肉比进而提高了肉鸡饲料利用率。

表 2 金针菇菇脚对肉鸡生产性能的影响 ( $n=3$ )

Table 2 Effects of FVS on production performance in broilers ( $n=3$ )

指标 Indexes	日龄 Days old	对照组 Control	抗生素组 Antibiotic	$w(\text{FVS})/\%$ Levels of dietary FVS		
				2	4	6
平均日增重/g ADG	1~7	6.28±0.19 d	17.03±0.21 a	15.93±0.04 b	14.83±0.20 c	15.95±0.11 b
	8~14	13.76±2.88 b	41.39±3.78 a	35.95±2.75 a	33.88±1.73 a	36.13±0.77 a
	15~21	24.00±8.82 b	58.25±6.54 a	55.47±3.57 a	51.76±6.77 a	52.07±3.67 a
	22~28	40.23±5.44 c	79.52±5.18 a	67.88±3.64 ab	71.90±2.19 ab	59.38±2.01 b
	29~35	69.60±6.59 b	94.10±1.97 a	79.17±7.67 ab	80.82±4.82 ab	80.92±0.22 ab
	36~42	79.54±7.53 a	78.33±1.76 a	84.17±1.09 a	84.68±4.31 a	90.77±1.53 a
平均日采食量/g ADFI	1~7	11.56±0.53 b	18.21±0.33 a	20.65±1.12 a	17.87±1.60 a	20.64±2.12 a
	8~14	25.55±2.23 b	52.44±0.67 a	53.33±1.09 a	52.40±0.88 a	49.95±1.89 a
	15~21	54.10±3.10 b	75.78±9.66 a	78.63±4.60 a	83.03±1.75 a	75.06±9.30 a
	22~28	81.59±8.64 b	84.02±4.06 b	105.41±4.85 ab	88.80±7.07 ab	123.55±5.46 a
	29~35	142.90±5.09 b	192.94±5.22 a	180.63±8.36 a	176.75±9.57 a	188.87±8.07 a
	36~42	199.36±4.27 a	186.14±9.33 a	173.05±2.58 a	198.41±9.56 a	209.53±8.90 a
料肉比 F/G	1~7	1.84±0.02 a	1.06±0.01 b	1.30±0.07 b	1.20±0.09 b	1.30±0.12 b
	8~14	1.94±0.22 a	1.28±0.11 b	1.50±0.13 b	1.55±0.06 ab	1.38±0.02 b
	15~21	2.73±0.67 a	1.30±0.13 b	1.42±0.04 b	1.64±0.16 b	1.46±0.23 b
	22~28	2.00±0.13 a	1.07±0.10 b	1.56±0.14 ab	1.23±0.23 b	2.09±0.16 a
	29~35	2.06±0.19 a	2.05±0.09 a	2.32±0.28 a	2.20±0.18 a	2.33±0.09 a
	36~42	2.55±0.27 a	2.38±0.21 a	2.05±0.05 a	2.36±0.20 a	2.31±0.23 a

注: 同列相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 含不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下表同。

Note: Values within same column with same superscripts letters indicate no significant difference ( $P > 0.05$ ), while with different superscripts letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as below.

在肉鸡试验生长全期, 对照组的成活率是 94.44%, 抗生素组的成活率是 98.15%, 试验组中, 2%、4% 和 6% FVS 组的成活率分别是 100%、94.44% 和 96.30%。以上数据提示, 向肉鸡饲料中添加 FVS 可以提高肉鸡成活率。

### 2.2 对肉鸡免疫器官指数的影响

21 日龄时, 2% FVS 组和 4% FVS 组肉鸡胸腺指数分别较对照组高 59.26%、44.44%, 差异显著

( $P < 0.05$ ), 各剂量 FVS 组与抗生素组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 第 42 日龄, 4% FVS 组及 6% FVS 组胸腺指数均较对照组高 45%, 且差异显著 ( $P < 0.05$ ), 4% FVS 组及 6% FVS 组胸腺指数显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。在 42 日龄时, 6% FVS 组脾脏指数较对照组高 35% ( $P < 0.05$ ), 4% FVS 组及 6% FVS 组脾脏指数均显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ )。与对照组相比, 21 日龄时, 2% FVS

组法氏囊指数比对照组高 28% ( $P < 0.05$ ), 且显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ ), 42 日龄无显著差异

( $P > 0.05$ ), 其中, 4% 及 6% FVS 组法氏囊退化较慢。

表 3 金针菇脚对肉鸡免疫器官指数的影响 ( $n=9$ )  
Table 3 Effects of FVS on immune organ index of broilers ( $n=9$ )

器官 Organ	日龄 Days old	对照组 Control	抗生素组 Antibiotic	$\omega(\text{FVS})/\%$ Levels of dietary FVS		
				2	4	6
胸腺	21	0.27±0.02 c	0.39±0.02 ab	0.43±0.02 a	0.39±0.03 ab	0.33±0.02 bc
Thymus	42	0.20±0.05 b	0.22±0.02 ab	0.20±0.02 b	0.29±0.02 a	0.29±0.03 a
脾脏	21	0.21±0.07 a	0.21±0.03 a	0.19±0.04 a	0.24±0.03 a	0.21±0.03 a
Spleen	42	0.20±0.02 bc	0.17±0.02 c	0.20±0.02 abc	0.24±0.02 ab	0.27±0.01 a
法氏囊	21	0.25±0.07 b	0.25±0.04 b	0.32±0.09 a	0.29±0.06 ab	0.26±0.03 ab
Fabricius	42	0.22±0.04 a	0.17±0.02 a	0.17±0.01 a	0.22±0.01 a	0.21±0.02 a

### 2.3 对肉鸡外周血淋巴细胞转化率的影响

由表 4 数据可知, 从试验全期来看, 各剂量 FVS 试验组的 T 淋巴细胞增值率均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且与抗生素组无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。在第 15~21 日龄, 6% FVS 组 B 淋巴细胞增值率显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 2% 和 4% FVS 组与对照组虽无显著性差异 ( $P > 0.05$ ) 但均高于对

照组, 且所有 FVS 组均与抗生素组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 在第 22~28、29~35、36~42 日龄时, 各剂量 FVS 试验组 B 淋巴细胞增值率均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且与抗生素组无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。这说明, 添加不同剂量的 FVS 能协同 ConA 及 LPS 刺激肉鸡外周血中 T、B 淋巴细胞的增殖, 从而提高了肉鸡免疫水平。

表 4 金针菇脚对肉鸡淋巴细胞转化率的影响 ( $n=9$ )  
Table 4 Effects of FVS on proliferation of lymphocyte of broilers ( $n=9$ )

淋巴细胞 Lymphocyte	日龄 Days old	对照组 Control	抗生素组 Antibiotic	$\omega(\text{FVS})/\%$ Levels of dietary FVS		
				2	4	6
T 淋巴细胞 T Lymphocyte	7~14	0.29±0.04 b	0.38±0.02 a	0.42±0.02 a	0.37±0.02 a	0.41±0.03 a
	15~21	0.36±0.01 b	0.42±0.01 a	0.35±0.02 a	0.38±0.03 a	0.46±0.02 a
	22~28	0.54±0.05 b	0.77±0.04 a	0.71±0.04 a	0.70±0.04 a	0.73±0.05 a
	29~35	0.49±0.07 b	0.79±0.04 a	0.76±0.06 a	0.72±0.05 a	0.72±0.05 a
	36~42	0.57±0.03 b	0.69±0.03 a	0.70±0.04 a	0.73±0.03 a	0.74±0.05 a
B 淋巴细胞 B Lymphocyte	7~14	0.36±0.02 ab	0.40±0.01 a	0.34±0.03 ab	0.38±0.03 ab	0.33±0.02 b
	15~21	0.30±0.01 b	0.38±0.03 ab	0.38±0.01 b	0.41±0.03 ab	0.43±0.03 a
	22~28	0.54±0.02 b	0.68±0.03 a	0.67±0.02 a	0.67±0.03 a	0.68±0.02 a
	29~35	0.51±0.02 b	0.74±0.03 a	0.75±0.01 a	0.72±0.07 a	0.74±0.05 a
	36~42	0.56±0.03 b	0.71±0.03 ab	0.71±0.04 a	0.70±0.05 a	0.70±0.02 a

注: 淋巴细胞转化率基于酶标仪 OD570 nm 处测定。

Note: Lymphocyte proliferation was measured at OD570 nm on ELIASA.

### 2.4 FVS 对肉鸡血清细胞因子含量的影响

表 5 显示, 7~14 日龄 4% FVS 组 IL-2 含量显著高于其他试验组 ( $P < 0.05$ ); 22~28 日龄时, 各剂

量 FVS 组均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且各剂量 FVS 组 IL-2 含量均显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ ); 在 29~35 日龄时, 6% FVS 组 IL-2 含量显著高于其

他试验组 ( $P < 0.05$ )；36~42 日龄时，各剂量 FVS 组均高于对照组，且差异显著 ( $P < 0.05$ )，其中 4% 及 6% FVS 组显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ )。在 15~21 日龄时，6% FVS 组 IL-4 含量显著高于其他各试验组 ( $P < 0.05$ )，在 22~28 日龄时 2% 和 6% FVS 组 IL-4 含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )，

同时，2% 和 6% FVS 组 IL-4 含量显著高于抗生素组 ( $P < 0.05$ )；在第 36~42 日龄时，6% FVS 组 IL-4 含量高于对照组，且差异显著 ( $P < 0.05$ )。15~21、22~28 日龄 6% FVS 组 IFN- $\gamma$  含量显著高于对照组，显著高于其他各试验组 ( $P < 0.05$ )，其他各組间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 5 金针菇脚对肉鸡血清细胞因子含量的影响 ( $n=9$ )

Table 5 Effects of FVS on cytokine in the blood serum of broilers ( $n=9$ )

ng/L

细胞因子 Cytokine	日龄 Day	对照组 Control	抗生素组 Antibiotic	$\omega(\text{FVS})/\%$ Levels of dietary FVS		
				2	4	6
IL-2	7~14	8.76±0.24 b	9.19±0.72 ab	9.61±0.14 ab	9.94±0.20 a	9.65±0.57 ab
	15~21	7.37±0.19 a	7.75±0.35 a	8.36±0.09 a	8.28±0.26 a	8.15±0.31 a
	22~28	9.63±0.09 c	10.47±0.37 b	12.26±0.26 a	12.24±0.37 a	12.00±0.36 a
	29~35	9.25±0.23 b	10.21±0.01 ab	10.41±0.63 b	10.13±0.58 b	11.69±0.35 a
	36~42	9.02±0.44 c	9.68±0.50 bc	10.63±0.55 ab	11.50±0.14 a	10.94±0.02 a
IL-4	7~14	125.36±1.25 a	126.26±3.52 a	126.05±4.07 a	121.37±4.32 a	121.44±3.63 a
	15~21	116.83±6.07 b	120.54±1.45 b	123.59±5.87 ab	116.31±4.14 b	133.16±2.35 a
	22~28	143.66±1.01 d	148.52±3.22 bc	151.78±1.38 a	145.27±0.93 cd	157.04±0.76 a
	29~35	111.73±0.75 b	138.88±0.15 a	114.23±0.75 b	128.03±1.85 ab	114.44±0.56 b
	36~42	138.61±0.75 b	150.45±0.14 ab	154.44±0.59 ab	120.57±0.61 c	157.66±0.71 a
IFN- $\gamma$	7~14	198.15±4.49 a	211.10±3.58 a	230.54±2.33 a	226.60±3.05 a	221.00±2.09 a
	15~21	196.42±3.51 b	235.03±2.79 ab	227.03±4.28 ab	236.19±0.49 ab	265.74±2.23 a
	22~28	299.06±1.85 b	306.56±1.86 ab	318.90±3.32 ab	301.24±2.12 ab	325.86±0.80 a
	29~35	271.19±4.23 a	265.75±2.23 a	295.34±5.89 a	279.83±0.35 a	296.27±3.79 a
	36~42	283.65±0.04 a	270.37±2.39 a	269.81±3.57 a	285.56±2.50 a	284.81±3.85 a

### 2.5 对肉鸡免疫球蛋白效价的影响

由表 6 可知，第 15~21 日龄 6% FVS 组 IG-A 效价显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )，在第 22~28 日龄，3 个剂量 FVS 组 IG-A 效价均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )；36~42 日龄，各剂量 FVS 组 IG-A 效价显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )，其他日龄无显著差异 ( $P > 0.05$ )。7~14、22~28 日龄抗生素组及各剂量 FVS 组 IG-G 含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )；15~21 日龄 4% FVS 组显著高于其他试验组 ( $P < 0.05$ )，29~35 日龄 6% FVS 组显著高于其他试验组 ( $P < 0.05$ )，其他日龄无显著差异 ( $P > 0.05$ )。22~28 日龄抗生素组及 6% FVS 组 IG-M 含量显著

高于其他试验组 ( $P < 0.05$ )，其他日龄 IG-M 含量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 对肉鸡生产性能的影响

金针菇脚中含有的维生素、矿物质及微量元素等营养成分，能够促进肉鸡生长发育。生产性能指标(平均日增重、平均日采食量、料肉比及成活率等)能够评定畜禽的生产水平。王利民等<sup>[9]</sup>研究表明，19% 含量的金针菇菌渣能够显著提高肉兔的平均日增重，降低料肉比。本试验结果显示在肉鸡饲喂前期，FVS 可以加快肉鸡的生长速度，降低料肉

表6 金针菇菇脚对肉鸡血清免疫球蛋白效价的影响( $n=9$ )Table 6 Effects of FVS on immunoglobulin in the blood serum of broilers ( $n=9$ ) mg/mL

免疫球蛋白 Immunoglobulin	日龄 Days old	对照组 Control	抗生素组 Antibiotic	$w(\text{FVS})/\%$ Levels of dietary FVS		
				2	4	6
IG-A	7~14	3.24±0.135 a	2.76±0.08 a	3.19±0.05 a	3.51±0.48 a	3.35±0.18 a
	15~21	3.05±0.14 b	2.62±0.13 b	3.12±0.33 ab	2.94±0.02 b	3.66±0.12 a
	22~28	3.86±0.22 b	3.67±0.38 b	4.43±0.04 a	4.32±0.02 a	4.42±0.15 a
	29~35	4.46±0.11 a	4.15±0.25 a	4.27±0.12 a	4.31±0.11 a	4.39±0.01 a
	36~42	3.57±0.14 b	4.01±0.09 a	4.03±0.17 a	4.29±0.08 a	4.06±0.01 a
IG-G	7~14	3.61±0.19 b	4.67±0.13 a	4.65±0.05 a	4.82±0.21 a	4.64±0.06 a
	15~21	3.54±0.76 b	3.30±0.03 b	3.84±0.08 b	5.10±0.23 a	3.61±0.24 b
	22~28	4.17±0.18 b	4.82±0.01 a	5.27±0.05 a	5.16±0.25 a	5.33±0.03 a
	29~35	4.15±0.40 b	4.34±0.13 ab	4.49±0.13 ab	4.49±0.14 ab	4.66±0.11 a
	36~42	3.93±0.05 a	4.63±0.68 a	4.89±0.14 a	4.70±0.04 a	4.71±0.04 a
IG-M	7~14	2.91±0.09 a	3.05±0.03 a	2.99±0.13 a	3.00±0.34 a	3.11±0.29 a
	15~21	3.04±0.19 a	3.21±0.02 a	3.24±0.11 a	3.24±0.27 a	3.34±0.25 a
	22~28	3.53±0.02 b	3.72±0.10 a	3.71±0.06 ab	3.63±0.18 ab	3.74±0.01 a
	29~35	3.38±0.42 a	3.46±0.05 a	3.58±0.02 a	3.46±0.01 a	3.70±0.09 a
	36~42	3.63±0.05 a	3.43±0.29 a	3.53±0.05 a	3.52±0.22 a	3.62±0.26 a

比,提高肉鸡成活率,从而提高肉鸡饲料利用率,节约肉鸡饲养成本,这将为养殖场带来巨大利益。

### 3.2 对肉鸡免疫器官指数的影响

免疫器官的发育状态与淋巴细胞增殖以及细胞因子分泌紧密相关。王丽娜等<sup>[10]</sup>研究发现,0.1%的FVS可显著提高肉鸡胸腺指数;朱曙东等<sup>[11]</sup>试验证实,金针菇多糖能够增加正常小鼠脾脏重量。本试验结果提示,2%FVS组肉鸡在21日龄胸腺和法氏囊发育较好,4%FVS组肉鸡的胸腺在21、42日龄均呈现出良好的发育状态;6%FVS组肉鸡在42日龄胸腺及脾脏发育较好,且4%及6%FVS组的法氏囊退化较为缓慢,2%FVS剂量组在试验前期发挥免疫效果较好,而在试验后期,则是6%FVS组效果较好。这表明,饲料中添加FVS可以提高肉鸡的免疫器官发育程度。这一结果也与许晓燕等<sup>[12]</sup>的研究结果相一致。

### 3.3 对肉鸡外周血淋巴细胞转化率的影响

T、B淋巴细胞增殖程度是衡量机体免疫功能状态的重要指标<sup>[13]</sup>。Wu等<sup>[14]</sup>研究表明,FVP I-A能促进小鼠淋巴细胞的增殖。本试验结果表明:在

试验全期,各剂量FVS组T、B淋巴细胞增殖率均高于对照组,并且达到抗生素水平,且6%FVS组效果优于2%、4%FVS组。与香菇多糖选择性的促进T淋巴细胞增殖<sup>[15]</sup>不同的是,FVS能同时诱导ConA刺激的T淋巴细胞增殖,以及LPS刺激的B淋巴细胞增殖。其可能的机制为FVS中活性物质通过第一信号转导直接刺激B淋巴细胞的增殖,进而引起体液免疫反应,或是通过第二信号转导即通过刺激T淋巴细胞增殖,以及分泌IL-2等细胞因子来刺激B淋巴细胞的增殖。

### 3.4 对肉鸡血清细胞因子含量的影响

细胞因子相互之间存在丰富、复杂的网络关系<sup>[16]</sup>。孔祥辉等<sup>[17]</sup>发现,金针菇免疫调节蛋白能够促进小鼠血清Th1型细胞因子IL-2、IFN- $\gamma$ 的分泌,抑制Th2型细胞因子IL-4的分泌。贾佳等<sup>[18]</sup>发现重组的金针菇免疫调节蛋白可以提高IL-2的分泌量,除此之外,金针菇多糖还能够增加正常小鼠脾脏重量,提高外周血淋巴细胞数,并能够促进正常小鼠和荷瘤小鼠脾细胞分泌IL-2<sup>[19]</sup>。本试验结果提示:FVS可以提高肉鸡血清中IL-2、IL-4、IFN $\gamma$

的含量,这一试验结果与常花蕾等<sup>[20]</sup>的结果相类似。在本试验中,各剂量 FVS 组 IL-2 分泌量较高,这提示,试验肉鸡主要以 Th1 型免疫应答为主,而 IL-4 以及 IFN- $\gamma$  的分泌量只有 6% FVS 组较高,这可能与 6% FVS 组肉鸡发育较为成熟以及产生大量排泄物,天气炎热导致的微生物较多有关。

### 3.5 对肉鸡免疫球蛋白效价的影响

本试验结果显示:FVS 可提高免疫球蛋白效价,且不同剂量 FVS 对免疫球蛋白效价影响程度不同,其中 6% FVS 组对 IG-A、IG-G、IG-M 含量的影响效果优于其他组。在试验全期 IG-G 效价较高且 6% FVS 组效果较好。可能的机制是机体受到抗原刺激后,FVS 刺激 B 淋巴细胞的增殖以及细胞因子的产生,从多方面调节免疫球蛋白的含量,从而提高机体的免疫功能。

本实验室分析结果表明,FVS 中含有丰富的钙、铁、磷等元素。另外,金针菇脚中含有粗纤维、蛋白质、黄酮、多酚以及 FVP1、FVP2、FVP3 等多种多糖组分。Yang 等<sup>[21]</sup>研究表明,FVP-1 和 FVP-2 都能抑制人胃癌 BGC-823 细胞和肺癌 A549 细胞生长。YIN 等<sup>[22]</sup>发现,FVPs 能促进 IL-1、TNF $\alpha$  的分泌,并且呈现剂量效应。罗翔丹等<sup>[23]</sup>研究发现金针菇多糖能够影响嗜酸乳杆菌的发酵特性。本试验结果表明:FVS 能够提高肉鸡的生产性能及免疫器官指数。同时,FVS 还能同时促进肉鸡外周血 T、B 淋巴细胞的增殖、提高细胞因子 IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$  的含量,以及免疫球蛋白 IG-A、IG-G、IG-M 效价,使得肉鸡的细胞和体液免疫水平得到了提高,这些结果也与肉鸡的机体发育水平以及免疫器官发育情况相符。各 T、B 淋巴细胞免疫指标在 28 日龄上升,这与肉鸡接受疫苗进而引起体内免疫反应有关,而在后期保持较为平衡的状态,可能是随着日龄的增加,肉鸡免疫系统逐渐趋于成熟,以及肠道菌定殖等多种原因,使得机体处于平衡的免疫状态。FVS 促进肉鸡免疫功能,分析其原因可能是:FVS 中的 Fe、Mg 等金属离子激活了信号通路中酶的活性;其含有的多糖以及蛋白等刺激了淋巴细胞以及细胞因子的增殖;还有可能是由于 FVS 促进了肉鸡肠道有益菌的生长,改善了肠腔内环境,从而改善了肉鸡的免疫功能,使得肉鸡处于健康的生长状态,进而提高了肉鸡的生产性能。2% 剂量的 FVS 在试验前期发挥免疫功效较好,而在试验全期,6% 剂量的 FVS 一直保持较高的 T、B 淋巴细胞免疫水平,这说明 6% 的

添加量具有更加持久的免疫增强功效。

## 4 结 论

综上,FVS 具有良好的促肉鸡增长以及免疫增强功效,提高饲料利用率,并且 FVS 在一定程度上可以降低抗生素的使用,这在保障动物健康、肉鸡产品质量安全的基础上,确保了消费者的健康,是一种绿色安全的饲料添加剂。

## 参 考 文 献

- [1] 戴玉成,周丽伟,杨祝良,文华安,图力古尔,李泰辉. 中国食用菌名录[J]. 菌物学报,2010,29(1):1-21  
Dai Y C,Zhou L W,Yang Z L,Wen H A,Tuli G E,Li T H. A revised checklist of edible fungi in China [J]. *Mycosystema*, 2010,29(1):1-21 (in Chinese)
- [2] 常花蕾. 金针菇多糖的免疫调节作用、抗肿瘤作用及其机制研究[D]. 广州:南方医科大学,2009  
Chang H L. Study of the immunomodulatory and anti-tumor effects of *Flammulina velutipes* polysaccharides and the underlying mechanisms [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2009 (in Chinese)
- [3] 吴素蕊,赵春艳,侯波,邵郁梅,桂明英. 近五年我国食用菌生产区域分布情况分析[J]. 中国食用菌,2013,32(1):51-53  
Wu S R,Zhao C Y,Hou B,Tai L M,Gui M Y. Analysis on Chinese edible fungus production area layout of nearly five years[J]. *Edible Fungi of China*, 2013, 32(1): 51-53 (in Chinese)
- [4] 吴素蕊,郑淑彦,桑兰,侯波,刘蓓,高观世. 金针菇脚可溶性膳食纤维提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2012,11:300-302,311  
Wu S R,Zheng S Y,Sang L,Hou B,Liu B,Gao G S. Study on extraction technology of soluble dietary fiber from *Flammulina velutipes* feet[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012,11:300-302,311 (in Chinese)
- [5] 林忠宁,陈敏健,刘明香,周代顺. 金针菇脚和菌糠的氨基酸含量测定及营养评价[J]. 食药用菌,2012(1):56-59  
Lin Z N,Chen M J,Liu M X,Zhou D S. *Flammulina velutipes* stembase and mushroom barn amino acid content determination and nutritional evaluation [J]. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2012(1):56-59 (in Chinese)
- [6] 罗青山. 金针菇菌根多糖提取和组分及膳食纤维特性的研究[D]. 南京:南京农业大学,2012:1-77  
Luo X S. The extraction and composition of polysaccharides and properties of dietary fiber from the roots of *Flammulina velutipes* mycorrhiza [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012:1-77 (in Chinese)
- [7] GB/T 14925—1994. 实验动物 环境及设施[S]. 北京:中国标准出版社,1994

- GB/T 14925—1994. Requirements of environment and housing facilities for laboratory animals [S]. Beijing: Standards Press of China, 1994 (in Chinese)
- [8] 何昭阳, 胡桂学, 王春风. 动物免疫学实验技术[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2002; 156-157  
He Z Y, Hu G X, Wang C F. *Animal Immunology Experimental Technology* [M]. Changchun: Jilin Science and Technology Press, 2002; 156-157
- [9] 王利民, 王文志, 孙海涛, 宫志远, 万鲁长, 任鹏飞, 韩建东, 盛清凯. 金针菇菌渣代替麸皮对肉兔生产性能的影响[J]. 山东农业科学, 2014, 05: 113-114, 117  
Wang L M, Wang W Z, Sun H T, Gong Z Y, Wan L Z, Ren P F, Han J D, Sheng Q K. Effects of *Flammulina velutipes* residue instead of bran on production performance of meat rabbit[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2014, 05: 113-114, 117 (in Chinese)
- [10] 王丽娜, 吴波, 丁国栋, 尚红梅, 杨颜铭, 张中北, 姜云瑶, 宋慧. 金针菇菌脚对肉鸡生产性能及免疫功能的影响[J]. 菌物研究, 2013(2): 120-123  
Wang L N, Wu B, Ding G D, Shang H M, Yang Y M, Zhang Z B, Jiang Y Y, Song H. Effects of *Flammulina velutipes* feet on growth performance and immunity of broilers[J]. *Journal of Fungal Research*, 2013(2): 120-123 (in Chinese)
- [11] 朱曙东, 严茂祥, 陈芝芸, 曹俊敏. 金针菇多糖免疫活性的研究[J]. 浙江中医学院学报, 2001, 25(4): 43-4  
Zhu S D, Yan M X, Chen Z Y, Cao J M. Research of immunological activity of polysaccharides from *Flammulina velutipes*[J]. *Journal of Zhejiang College of TCM*, 2001, 25(4): 43-4 (in Chinese)
- [12] 许晓燕, 余梦瑶, 魏巍, 江南, 伍明, 郑林用, 罗霞. 金针菇子实体多糖分离纯化及结构和免疫活性研究[J]. 菌物学报, 2014(2): 375-384  
Xu X Y, Yu M Y, Wei W, Jiang N, Wu M, Zheng L Y, Luo X. Extraction, structure characteristics and immune activities of polysaccharides from the fruiting body of *Flammulina velutipes*[J]. *Mycosystema*, 2014(2): 375-384 (in Chinese)
- [13] 章世元, 徐春燕, 董晓芳, 佟建明, 张琪. 苜蓿多糖和黄芪多糖对肉仔鸡淋巴细胞增殖的影响[J]. 动物营养学报, 2010(3): 670-674  
Zhang S Y, Xu C Y, Dong X F, Tong J M, Zhang Q. Alfalfa polysaccharides and astragalus polysaccharides on lymphocyte proliferations of broilers [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010(3): 670-674 (in Chinese)
- [14] Wu M, Luo X, Xu X Y, Wei W, Yu M Y, Jiang N, Ye L M, Yang Z R, Fei X F. Antioxidant and immunomodulatory activities of a polysaccharide from *Flammulina velutipes*[J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2014, 34(6): 733-740
- [15] 易阳, 曹银, 张名位. 多糖调控 T/B 淋巴细胞免疫应答机制的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2012(1): 72-79  
Yi Y, Cao Y, Zhang M W. Progress in the regulation of immune response mechanism of T/B lymphocyte of polysaccharides[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2012(1): 72-79 (in Chinese)
- [16] Wang T H, Secombes C J. The cytokine networks of adaptive immunity in fish [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(6): 1703-1718
- [17] 孔祥辉. 金针菇免疫调节蛋白(FIP-fve)表达特性及活性特征研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013  
Kong X H. The study of expression and activity characterization of Fungal immunomodulatory protein from *Flammulina velutipes* (FIP-fve) [D]. Haerbin: Northeast Forestry University, 2013 (in Chinese)
- [18] 贾佳. 两种真菌免疫调节蛋白基因的克隆以及在毕赤酵母 GS115 中的重组表达[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014  
Jia J. Cloning of two Fungal immunomodulatory protein genes and expression in *Pichia pastoris* GS115 [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [19] 蔡文博. Th1 和 Th2 型细胞因子在不同 MHC-B 单倍型鸡群中的表达分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011: 1-74  
Cai W B. Analysis of Th1 and Th2 cytokines expression in different MHC-B Haplotype chickens [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Dissertation, 2011: 1-74 (in Chinese)
- [20] 常花蕾, 雷林生, 余传林, 朱正光, 陈娜娜, 吴曙光. 金针菇多糖对小鼠免疫细胞产生细胞因子及对荷瘤小鼠血清细胞因子含量的影响[J]. 中药材, 2009(4): 561-563  
Chang H L, Lei L S, Yu C L, Zhu Z G, Chen N N, Wu S G. Effect of *Flammulina velutipes* polysaccharides on production of cytokines by murine immunocytes and serum level of cytokines in tumor or-bearing mice [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2009(4): 561-563 (in Chinese)
- [21] Yang W J, Pei F, Shi Y, Zhao L Y, Fang Y, Hu Q H. Purification, characterization and anti-proliferation activity of polysaccharides from *Flammulina velutipes* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012(88): 474-480
- [22] Yin H, Wang Y, Chen T, Tang H, Wang M. Purification, characterization and immuno-modulating properties of polysaccharides isolated from *Flammulina velutipes* mycelium [J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2010, 38(1): 191-204
- [23] 罗翔丹, 姚刚, 张铁华. 3 种真菌多糖对嗜酸乳杆菌发酵特性的影响[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2011, 37(6): 1047-1050  
Luo X D, Yao G, Zhang T H. Effects of three kinds of fungi polysaccharides on fermentation characteristics of lactobacillus acidophilus [J]. *Journal of Jilin University: Medicine Edition*, 2011, 37(6): 1047-1050 (in Chinese)