

DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202003011

# 日粮添加谷氨酰胺对黔东南小香鸡免疫器官 指数及肠道免疫的影响\*

杨 乾<sup>1</sup>, 张柏林<sup>2\*\*</sup>, 刘 宁<sup>2</sup>, 孙泽威<sup>1\*\*</sup>, 朱 玲<sup>2</sup>, 李家惠<sup>2</sup>, 陆定方<sup>2</sup>

(1. 吉林农业大学 动物科学技术学院, 吉林省动物营养与饲料科学重点实验室, 动物生产及产品质量  
安全教育部重点实验室, 吉林 长春 130118; 2. 遵义师范学院 生物与农业科技学院,  
赤水河流域动物资源保护与利用重点实验室, 贵州 遵义 563006)

**摘要:**【目的】探究日粮添加谷氨酰胺 (glutamine, Gln) 对黔东南小香鸡免疫器官指数及肠道免疫的影响。【方法】选取 90 羽体重相近、健康状况良好的 1 日龄黔东南小香鸡, 随机分为 3 组, 每组 5 个重复, 每个重复 6 羽。对照组饲喂基础日粮, 试验组在饲喂基础日粮中分别添加 0.5% 和 1.0% 的 Gln。饲养至 42 d, 每组随机选取 10 羽屠宰, 采集血清, 分离免疫器官, 刮取空肠肠黏膜, 用于后续测定。【结果】与对照组相比, 0.5% Gln 组黔东南小香鸡脾脏指数显著升高 ( $P<0.05$ ), 1.0% Gln 组的法氏囊指数、脾脏指数、胸腺指数、血清 IgA、IgG 和 IgM 含量及空肠黏膜 sIgA 分泌均显著升高 ( $P<0.05$ ), 并且空肠黏膜的 *MUC1* 和 *MUC2* mRNA 的相对表达量也显著增加 ( $P<0.05$ )。【结论】黔东南小香鸡日粮添加 1.0% Gln 可促进免疫器官发育, 增强肠道黏膜免疫功能。

**关键词:** 谷氨酰胺; 黔东南小香鸡; 免疫器官指数; 肠道免疫

中图分类号: S 831.4

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2020) 06-0983-07

## Effects of Glutamine Supplementation on the Immune Organ Indexes and Intestinal Immunity of Qiandongnan Xiaoxiang Chickens

YANG Qian<sup>1</sup>, ZHANG Bolin<sup>2</sup>, LIU Ning<sup>2</sup>, SUN Zewei<sup>1</sup>,  
ZHU Ling<sup>2</sup>, LI Jiahui<sup>2</sup>, LU Dingfang<sup>2</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Key Laboratory of Animal Production, Product Quality and Security, Ministry of Education, Changchun 130118, China; 2. College of Biology and Agriculture, Zunyi Normal University, Key Laboratory of Conservation and Utilization of Characteristic Animal Resources in Chishui River Basin, Zunyi 563006, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the effects of glutamine (Gln) supplementation on immune organ index and intestinal immunity of Qiandongnan Xiaoxiang chickens. [Method] A total of 90

收稿日期: 2020-03-05

修回日期: 2020-04-19

网络首发时间: 2020-11-02 14:27:54

\*基金项目: 贵州省科技厅项目 (黔科合基础 2017[1205]); 贵州省高层次创新型人才 (遵市科合人才 [2017]10 号); 遵义市校联合基金 (遵市科合计 [2018]08 号); 遵义市“15851”人才项目 (2050020213#); 贵州省教育厅项目 (黔教合 KY 字 [2016]258); 贵州省服务农村产业革命项目 (遵师合农村产业字 201905)。

作者简介: 杨乾 (1994—), 男, 河南商丘人, 在读硕士研究生, 主要从事动物营养与饲料科学研究。

E-mail: 2480735819@qq.com

\*\*通信作者 Corresponding authors: 张柏林 (1981—), 男, 山东烟台人, 博士, 副教授, 主要从事动物营养与生理调控研究。E-mail: zhangbolin@zync.edu.cn; 孙泽威 (1974—), 男, 吉林磐石人, 博士, 教授, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: sunzewei@jlau.edu.cn

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.s.20201102.0932.001.html>



one-day-old Qiandongnan Xiaoxiang chickens with good health and similar initial body weight were randomly allotted to 3 groups, each group with 5 replicates and 6 chickens per replicate. Chickens in control group were fed with the basal diet, and chickens in experimental groups were supplemented with 0.5% and 1.0% Gln in the basal diets, respectively. After feeding for 42 days, 10 chickens were randomly selected from each group and euthanized by cervical dislocation for serum collection. Immune organs were moved and jejunal mucosas were collected for subsequent analysis.

[ **Result** ] Compared with control group, 0.5% Gln supplementation significantly increased the index of spleen of Qiandongnan Xiaoxiang chicken ( $P<0.05$ ). However, the spleen index, bursa index and thymus index and the contents of IgG, IgM and IgA in serum, combined with sIgA secretin in jejunum mucosa of broilers fed with 1.0% Gln were significantly increased ( $P<0.05$ ). Meanwhile, the mRNA relative expressions levels of *MUC1* and *MUC2* in jejunum mucosa were also significantly increased ( $P<0.05$ ). [ **Conclusion** ] 1.0% Gln supplementation can promote the development of immune organs and strengthen the immune function of intestinal mucosa of Qiandongnan Xiaoxiang chicken.

**Keywords:** glutamine; Qiandongnan Xiaoxiang chicken; immune organ index; intestinal immunity

黔东南小香鸡是贵州省黔东南州极具地方特色的小型兼用型鸡品种,以“小、香、土”著称,具有体型娇小、结构匀称、耐粗饲和适应能力强等特点<sup>[1]</sup>。但在实际配制饲料过程中,没有针对黔东南小香鸡的特有日粮配制标准,加上传统粗放式的养殖方式,使得鸡群营养物质摄入不均衡<sup>[2]</sup>。而营养因素又是影响肠道健康的重要因素之一<sup>[3]</sup>。肠道既是消化吸收营养物质的重要场所,又是机体最大的免疫器官<sup>[4-5]</sup>。肠道内复杂的黏膜组织构成的生物屏障能有效防止有害物质进入血液循环及其他组织器官,维持肠道稳态及生理功能<sup>[6]</sup>。肠道屏障失调会限制营养供给,降低饲料转化率,影响家禽健康,增加养殖成本<sup>[3]</sup>。因此,维持家禽肠道健康是保证机体生长发育的重要途径。

谷氨酰胺 (glutamine, Gln) 是机体内含量丰富的游离氨基酸,是蛋白质合成的重要组成部分,是核酸、氨基酸、嘌呤和嘧啶等物质合成的主要合成前体<sup>[7]</sup>。谷氨酰胺作为肠细胞和淋巴细胞等快速分化细胞生长代谢的主要能源,在调节肠道相关免疫反应、黏蛋白合成、免疫球蛋白分泌及维持肠道免疫功能等方面发挥重要作用<sup>[8-9]</sup>。众多研究发现:日粮中添加 1.0% Gln 可提高肠绒毛高度,降低隐窝深度,增加肠道单位质量,降低肠道黏膜通透性,防止菌群移位,进而改善小肠肠道发育,维持肠黏膜屏障的完整<sup>[9-12]</sup>。国内外学者对 Gln 的研究已经取得众多成果,但关于 Gln 在中国地方鸡肠道免疫机能方面的研究鲜有报道。

因此,本试验拟以贵州省优良品种黔东南小香鸡为研究对象,在其日粮中添加 1.0% Gln,探究 Gln 对肉鸡免疫器官发育及肠道免疫的影响,以期为黔东南小香鸡早期日粮配制及地方特色鸡品种开发利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

采用单因素试验设计,将 90 羽体质量相近、健康状况良好的 1 日龄小香鸡随机分为 3 组,每组 5 个重复,每个重复 6 羽。对照组饲喂基础日粮,试验组在基础日粮的基础上分别添加 0.5% 和 1.0% 的 Gln。试验在贵州省榕江山农发展有限责任公司进行,鸡只饲养及免疫按照常规方案进行,每天投料 3 次,自由采食和饮水;保持鸡舍清洁干燥、温度及湿度适宜,试验期为 42 d。日粮配制参照中国鸡饲养标准 (2004) 进行,试验日粮组成及营养水平见表 1。

### 1.2 主要试剂与仪器

#### 1.2.1 主要试剂

试验所需的基础日粮由遵义金鼎农业科技有限公司配制;Gln 购自上海斐雅科技发展有限公司,含量 99.10%;Trizol (No.9108, TaKaRa);TB Green Premix Ex Taq 试剂盒 (No.RR420A, TaKaRa)。

#### 1.2.2 主要仪器

分析天平 (FR 224CN, 深圳市科力易翔仪器设备有限公司);BBS-SDC 型超净工作台 (济南鑫贝西生物技术有限公司);旋涡混匀器 (VELPZX3,

表 1 基础日粮组成及营养水平 (风干基础)

Tab. 1 The ingredients and nutrient level of the basal diet (air-dry basis)

| 原料 ingredients                               | 含量/% content |
|----------------------------------------------|--------------|
| 玉米 corn                                      | 56.30        |
| 小麦麸 wheat bran                               | 2.94         |
| 玉米蛋白粉 corn gluten meal                       | 6.33         |
| 大豆粕 soybean meal                             | 18.52        |
| 菜籽粕 rapeseed meal                            | 10.00        |
| 石粉 limestone                                 | 1.18         |
| 食盐 NaCl                                      | 0.15         |
| 碳酸氢钙 calcium bicarbonate                     | 1.89         |
| 植酸酶 phytase                                  | 0.04         |
| 氯化胆碱 choline chloride                        | 0.15         |
| 蛋氨酸 methionine                               | 0.15         |
| 赖氨酸 lysine                                   | 0.22         |
| 大豆油 soybean oil                              | 1.63         |
| 预混料 premix <sup>1)</sup>                     | 0.50         |
| 合计 total                                     | 100.00       |
| 营养组成 nutrient composition <sup>2)</sup>      | 水平 level     |
| 粗蛋白质 crude protein                           | 21.18        |
| 代谢能/(MJ·kg <sup>-1</sup> ) metabolism energy | 12.12        |
| 钙 calcium                                    | 1.00         |
| 有效磷 available phosphorus                     | 0.45         |
| 蛋氨酸+胱氨酸 Met+Cys                              | 0.90         |
| 赖氨酸 Lys                                      | 1.06         |
| 苏氨酸 Thr                                      | 0.79         |

注: <sup>1)</sup>预混料每千克饲料提供: 维生素A 6 000 IU、硫胺素 2.0 mg、核黄素 4.0 mg、烟酸 42 mg、吡哆醇 4.0 mg、维生素B12 0.01 mg、维生素D3 2 000 IU、维生素E 30 IU、维生素K3 1.8 mg、泛酸钙 10.0 mg、生物素0.15 mg、叶酸 0.85 mg、铁(以硫酸亚铁计) 80 mg、铜(以硫酸铜计) 8.0 mg、锰(以硫酸锰计) 80 mg、锌(以硫酸锌计) 65 mg、碘(以碘化钾计) 0.50mg、硒(以亚硒酸钠计) 0.25 mg。<sup>2)</sup>粗蛋白为实测值, 其余为计算值。

Note: <sup>1)</sup> The premix provided the following per kg of diets: VA 6 000 IU, thiamin 2.0 mg, riboflavin 4.0 mg, nicotinamide 42 mg, pyridoxine-HCl 4.0 mg, VB12 0.01 mg, VD3 2 000 IU, VE 30 IU, VK3 1.8 mg, calcium pantothenate 10.0 mg, biotin 0.15 mg, folic acid 0.85 mg, Fe (as ferrous sulfate) 80 mg, Cu (as copper sulfate) 8.0 mg, Mn (as manganese sulfate) 80 mg, Zn (as zinc sulfate) 65 mg, I (as potassium iodide) 0.50mg, Se (as sodium selenite) 0.25 mg.<sup>2)</sup> Crude protein was a measured value, while the others were calculated values.

东南科仪); 4 ℃ 离心机 (Sigma-16KL, 美国); S1010E-微型离心机 (山东博科科学仪器有限公司); 梯度 PCR 仪 (Eppendorf, 美国); 分光光度计 (上海元析仪器有限责任公司); UVS-99 型微量核蛋白测试仪 (上海创萌生物科技有限公司); 水平电泳仪 (Bio-Rad); 凝胶成像系统 (Bio-Rad); 荧光定量 PCR 仪 (Bio-Rad, 美国)。

### 1.3 测定指标及方法

#### 1.3.1 血清免疫球蛋白测定

于试验结束当天, 每组选取 10 羽称体质量 (每个重复 2 羽), 用 Eppendorf 管进行颈静脉采血, 并在 4 ℃ 3 000 g 离心力条件下, 离心 15 min, 收集上清液-20 ℃ 保存, 用于后续测定。血清 IgA、IgG 及 IgM 的测定按照试剂盒相关步骤进行。

#### 1.3.2 免疫器官指数测定

鸡采血后立即屠宰并分离脾脏、法氏囊及胸腺, 进行鲜质量记录, 以获得免疫器官指数。

免疫器官指数=器官质量 (g)/活体质量 (kg)×100%。

#### 1.3.3 空肠黏膜分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, sIgA) 含量测定

截取空肠并用预冷磷酸盐缓冲液冲食糜, 刮取肠黏膜, -80 ℃ 保存。用于分泌型免疫球蛋白 A (sIgA) 含量的测定。按照试剂盒操作说明进行检测。

#### 1.3.4 空肠组织 RNA 提取及黏蛋白 mRNA 表达量测定

截取空肠, 用预冷的磷酸盐缓冲液冲洗食糜, 用载玻片刮取肠道黏膜至 2 mL 冻存管中, 迅速置于液氮保存, 之后放于-80 ℃ 保存, 用于测定空肠黏膜黏蛋白 MUC1、MUC2 的相对表达量。根据 NCBI 公布的基因序列设计目的基因的序列并以  $\beta$ -actin 作内参, 由生工生物合成, 内参及目的基因序列见表 2。

空肠黏膜组织总 RNA 提取、质量浓度检测及品质检测依据说明书进行, 之后进行反转录, 用于黏蛋白基因 MUC1 及 MUC2 mRNA 相对表

表 2 引物序列及参数

Tab. 2 Primer sequences and parameters

| 基因 genes       | 引物序列 (5'→3') primers sequences                              | 登录号 accession No. | 产物大小/bp product size |
|----------------|-------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------|
| $\beta$ -actin | F: ATTGTCCACCGCAAATGCTTC<br>R: AAATAAAGCCATGCCAATCTCGTC     | NM_205 518.1      | 113                  |
| MUC1           | F: ACGCCTTCTTCAGCAGCAACTC<br>R: AGCAGCAGATGTGAGCAGTGATG     | XM_015279045.2    | 183                  |
| MUC2           | F: CTGCTGTGCTCCACCATTAAAGTCC<br>R: GCTTGACACGCTCGGAGTATAACG | XM_001234581.3    | 127                  |

定量测定。按照试剂盒操作说明进行 RT-PCR 反应，反应体系 (20  $\mu$ L) 为：SYBR Premix Ex Taq (2 $\times$ )10 $\mu$ L，ROX ReferenceDyeII (50 $\times$ )0.4 $\mu$ L，cDNA 2.0  $\mu$ L，上下游引物分别 0.4  $\mu$ L。反应程序为：95  $^{\circ}$ C 30 s (1 个循环)，95  $^{\circ}$ C 5 s (40 个循环) 和 60  $^{\circ}$ C 34 s (1 个循环)。以  $\beta$ -actin 作为内参采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算目的基因的相对表达量。

1.4 数据统计

试验数据采用 SAS 7.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和均值的 Duncan's 多重比较。试验结果用“mean $\pm$ SD”表示。 $P>0.05$  表示差异不显著， $P<0.05$  表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 Gln 对黔东南小香鸡免疫器官发育的影响

由表 3 可知：黔东南小香鸡的免疫器官指数随着 Gln 添加量的增加而升高。与对照组相比，添加 0.5% Gln 显著增加了脾脏指数 ( $P<0.05$ )，但对法氏囊指数及胸腺指数没有显著影响 ( $P>0.05$ )；而添加 1.0% Gln 显著提高了脾脏指数、法氏囊指数及胸腺指数 ( $P<0.05$ )，分别比对照组提高了 16.13%、17.78% 和 14.78%。与 0.5% Gln 相比，添加 1.0% Gln 显著增加了脾脏指数 ( $P<0.05$ )，但对法氏囊指数和胸腺指数没有显著影响 ( $P>0.05$ )。

表 3 Gln 对黔东南小香鸡免疫器官指数的影响  
Tab. 3 Effect of glutamine supplementation on the immune organ indexes of Qiandongnan Xiaoxiang chickens

| 免疫器官<br>指数<br>immune organ<br>indexes | 组别 groups         |                    |                   | P 值<br>P value |
|---------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------------|
|                                       | CK                | 0.5% Gln           | 1.0% Gln          |                |
| 法氏囊指数<br>bursa index                  | 3.15 $\pm$ 0.48 a | 3.34 $\pm$ 0.35 ab | 3.71 $\pm$ 0.19 b | 0.018          |
| 脾脏指数<br>spleen index                  | 2.17 $\pm$ 0.10 a | 2.34 $\pm$ 0.12 b  | 2.52 $\pm$ 0.17 c | <0.001         |
| 胸腺指数<br>thymus index                  | 7.51 $\pm$ 0.77 a | 8.12 $\pm$ 0.55 ab | 8.62 $\pm$ 0.55 b | 0.007          |

注：同行字母不同者表示差异显著 ( $P<0.05$ )；CK 组饲喂基础日粮；0.5% Gln 组和 1.0% Gln 组分别在基础日粮中添加 0.5% 和 1.0% 的 Gln；下同。  
Note: In the same row, the values with different small letters mean significant difference ( $P<0.05$ ); CK group was fed on the basal diet; 0.5% Gln group and 1.0% Gln group were respectively supplemented with 0.5% Gln and 1.0% Gln in the basal diet; the same as below.

2.2 Gln 对黔东南小香鸡血清免疫球蛋白含量的影响

由表 4 可知：黔东南小香鸡的血清 IgG、IgM、IgA 含量随着 Gln 添加量的增加而升高。与对照

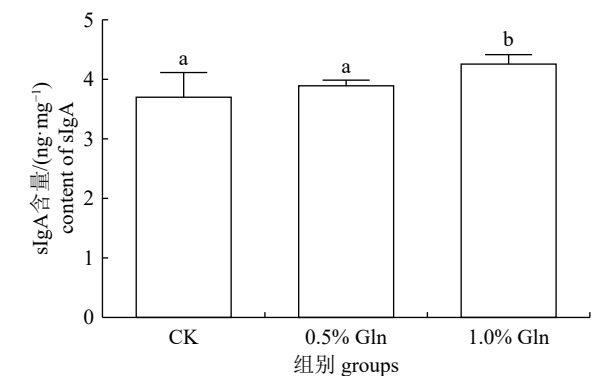
组相比，添加 0.5% Gln 对血清 IgG、IgM 及 IgA 含量没有显著影响 ( $P>0.05$ )；而添加 1.0% Gln 显著增加了血清 IgG、IgM 及 IgA 的含量 ( $P<0.05$ )，分别比对照组提高了 21.21%、1.79% 和 30.93%。与 0.5% Gln 相比，添加 1.0% Gln 显著增加了 IgA 含量 ( $P<0.05$ )，但对 IgG 和 IgM 没有显著影响 ( $P>0.05$ )。

表 4 Gln 对黔东南小香鸡血清免疫球蛋白含量的影响  
Tab. 4 Effect of glutamine supplementation on the serumimmunoglobulin content of Qian-dongnan Xiaoxiang chickens ng/L

| 血清免疫球蛋白<br>serumimmunog-<br>lobulin | 组别 groups          |                     |                    | P 值<br>P value |
|-------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------------|
|                                     | CK                 | 0.5% Gln            | 1.0% Gln           |                |
| 免疫球蛋白 G<br>immunoglobulin G         | 0.99 $\pm$ 0.06 a  | 1.10 $\pm$ 0.16 ab  | 1.20 $\pm$ 0.11 b  | 0.054          |
| 免疫球蛋白 M<br>immunoglobulin M         | 10.60 $\pm$ 0.06 a | 10.69 $\pm$ 0.16 ab | 10.79 $\pm$ 0.11 b | 0.067          |
| 免疫球蛋白 A<br>immunoglobulin A         | 0.97 $\pm$ 0.06 a  | 1.07 $\pm$ 0.16 a   | 1.27 $\pm$ 0.11 b  | 0.005          |

2.3 Gln 对黔东南小香鸡空肠黏膜 sIgA 含量的影响

由图 1 可见：黔东南小香鸡空肠黏膜 sIgA 含量随着 Gln 添加量的增加而升高。与对照组相比，0.5% Gln 添加对空肠黏膜 sIgA 含量无显著影响 ( $P>0.05$ )，而添加 1.0% Gln 可显著提高空肠黏膜 sIgA 含量 ( $P<0.05$ )。与 0.5% Gln 相比，添加 1.0% Gln 可显著提高空肠黏膜 sIgA 含量 ( $P<0.05$ )。



注：柱状图上不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )；CK 饲喂基础日粮；0.5% Gln 组和 1.0% Gln 组分别在基础日粮中添加 0.5% 和 1.0% 的 Gln；下同。  
Note: Values with different letters mean significant difference ( $P<0.05$ ); CK group was fed on the basal diet; 0.5% Gln group and 1.0% Gln group were respectively supplemented with 0.5% Gln and 1.0% Gln in the basal diet; the same as below.

图 1 Gln 对黔东南小香鸡空肠黏膜 sIgA 含量的影响  
Fig. 1 Effect of glutamine supplementation on the content of sIgA in jejunal mucosa of Qiandongnan Xiaoxiang chickens

## 2.4 Gln 对黔东南小香鸡空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 相对表达量的影响

由图2可知:黔东南小香鸡空肠黏膜 *MUC1*、*MUC2* mRNA 相对表达量随着 Gln 添加量的增加而升高。与对照组相比,添加 0.5% Gln 对空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 的相对表达量无显著影响 ( $P>0.05$ ),但添加 1.0% Gln 可显著提高空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 的相对表达量 ( $P<0.05$ )。与 0.5% Gln 相比,添加 1.0% Gln 可显著提高空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 的相对表达量 ( $P<0.05$ )。

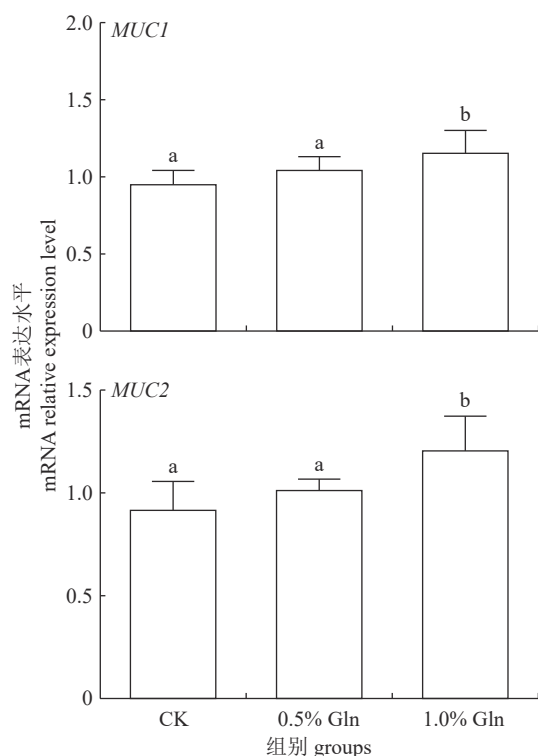


图2 Gln 对黔东南小香鸡空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 相对表达量的影响

Fig. 2 Effects of glutamine supplementation on the mRNA expression level of *MUC1* and *MUC2* in jejunum mucosa of Qianzhongnan Xiaoxiang chickens

## 3 讨论

### 3.1 Gln 对黔东南小香鸡免疫器官发育的影响

免疫器官指数是衡量动物免疫器官发育状况、体质量变化进而间接反映动物应对外界应激能力的重要指标<sup>[13]</sup>。在免疫反应中 T 淋巴细胞与 B 淋巴细胞起着重要作用,而脾脏、法氏囊及胸腺是两种淋巴细胞形成和分化的重要场所<sup>[14]</sup>。Gln 是肠细胞和淋巴细胞等快速分化细胞的主要供能物质,因此在日粮中添加 Gln 可促进机体免疫器

官的发育,增强机体免疫能力<sup>[8]</sup>。周联高等<sup>[14]</sup>研究表明:日粮中添加 Gln 可明显提高 21、42 日龄肉鸡的脾脏指数和胸腺指数。陈祥等<sup>[15]</sup>发现:饲料中添加 Gln 能促进 42 日龄肉鸭免疫器官发育,显著提高法氏囊、胸腺和脾脏指数。本研究显示:日粮中添加 0.5% Gln 显著增加了脾脏指数,但对法氏囊指数及胸腺指数没有显著影响。产生此结果可能与 Gln 添加量或 Gln 稳定性有关。研究表明:Gln 在贮藏时不稳定,并对酸性环境敏感<sup>[16]</sup>。添加 1.0% Gln 可显著提高脾脏指数、法氏囊指数及胸腺指数。这与 BARTELL 等<sup>[12]</sup>和王中华等<sup>[17]</sup>报道的结果一致。以上研究表明:Gln 有促进免疫器官发育,增强机体免疫的功能,而 1.0% 的添加量比较适宜。但李虎等<sup>[18]</sup>研究表明:日粮中添加 Gln 对黄羽肉鸡免疫器官质量及指数没有显著影响。这与本试验结果不太一致,可能的原因是品种、饲养方式或试验处理不同引起。

### 3.2 Gln 对黔东南小香鸡血清免疫球蛋白含量的影响

血清免疫球蛋白是由浆细胞产生的可直接参与机体免疫的具有抗体活性的蛋白质<sup>[19]</sup>。研究表明:IgM 有营养免疫作用,当机体受到外界刺激会引起其含量的升高,抵制抗原,缓解应激<sup>[20]</sup>。血清 IgA 具有抗菌和抗病毒等多种抗体活性,其含量仅次于 IgG<sup>[21]</sup>,IgG 是体内主要抗体之一,具有抗菌、中和病毒及免疫调节等作用<sup>[22]</sup>。本研究表明:血清 IgG、IgM 及 IgA 含量随着 Gln 添加量的增加而升高,但添加 0.5% Gln 对血清 IgG、IgM 及 IgA 含量没有显著影响。产生此结果的原因可能是 Gln 在组织或器官之间存在竞争。Gln 进入体内,首先用于器官或组织生长,以至于释放至血液的 Gln 不足以促进免疫器官的分泌。研究表明:进入机体的 Gln,2/3 的碳在肠道部位被氧化为  $\text{CO}_2$ <sup>[23]</sup>。随着 Gln 含量的增加,机体获得的 Gln 能同时满足生长和分泌的需要。因此,本试验添加的 1.0% Gln 显著增加了血清中 IgG、IgM 和 IgA 的含量,分别比对照组提高 21.21%、1.79% 和 30.93%。有研究发现:饲料中添加 Gln 可增加血清 IgA 和 IgM 水平,提高机体免疫力<sup>[14,24]</sup>,这与本试验结果一致。说明饲料中添加外源 Gln 可促进免疫球蛋白分泌,增强机体免疫功能。

### 3.3 Gln 对黔东南小香鸡空肠黏膜 sIgA 含量的影响

肠道黏膜是机体抵抗病原体的第一道屏障, sIgA 是由肠道黏膜浆细胞产生的一种分泌型免疫球蛋白, 是黏膜免疫的基础<sup>[25]</sup>。sIgA 具有防止病菌入侵、强化肠道屏障和减缓炎症反应的功能, 是黏膜免疫过程中的主效应因子<sup>[26]</sup>。研究表明: 大鼠在接受含有 Gln 的完全肠外营养 (total parenteral nutrition, TPN) 处理后, 可显著提高胆汁中 sIgA 的含量, 而 Gln 不足时, 二者含量下降, 表明 Gln 是 sIgA 合成分泌所必需, 也是维持分泌型淋巴组织的必要成分<sup>[27-28]</sup>。本研究发现: 日粮添加 0.5% Gln 对空肠 sIgA 含量无显著影响, 而添加 1.0% Gln 可显著提高空肠 sIgA 含量。这表明空肠 sIgA 的分泌可能与 Gln 存在剂量关系。康磊等<sup>[29]</sup>研究表明: 肠黏膜 sIgA 分泌随着 Gln 添加水平的提高而升高。本研究结果与其结果保持一致。研究表明: Gln 可促进肠道黏膜分泌 sIgA, Gln 缺乏或不足时, sIgA 含量随之下降, 这可能与 Gln 调控可分泌 sIgA 浆细胞数量及其分泌功能有关<sup>[29]</sup>。研究表明: Gln 是淋巴细胞和肠上皮细胞的“燃料”, 可促进快速分化型细胞的成熟, 增加浆细胞数量, 提高肠黏膜中 IgA 含量, 进而促进 sIgA 的合成与分泌<sup>[8-9, 29-30]</sup>。

### 3.4 Gln 对黔东南小香鸡空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 相对表达量的影响

黏蛋白是由上皮细胞分泌的、分子质量较高的糖蛋白<sup>[31]</sup>, 主要分布在胃肠道、呼吸道和生殖道等细胞分泌的黏液中。*MUC1* 属于 I 型跨膜蛋白, 常见于呼吸道、胃肠道及免疫相关细胞表面, 对此类细胞上皮表面起保护和润滑作用<sup>[32-33]</sup>。*MUC2* 是肠道黏膜层的主要成分, 其在肠道表面形成黏膜层, 对起着润滑肠道黏膜和拮抗致病菌侵袭的作用<sup>[34-35]</sup>。肠道内 *MUC1*、*MUC2* mRNA 含量的异常表达, 可反映细菌对肠上皮细胞感染风险的大小, 也可间接反映肠道内环境的稳定程度<sup>[36]</sup>。本研究发现: 空肠黏膜黏蛋白 mRNA 的表达随 Gln 添加量的增加而提高, 这表明 Gln 可促进黏蛋白分泌, 维持肠道内环境稳定。研究表明: Gln 可为蛋白质的快速周转提供原料<sup>[37]</sup>。添加 1.0% Gln 可显著提高空肠黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* mRNA 的表达量, 这表明随着 Gln 添加水平的提高, 两种黏蛋白分泌增强, 肠道屏障功能进一步

加强。然而, 到目前为止, 有关 Gln 对肉鸡肠道黏膜 *MUC1* 及 *MUC2* 表达的影响还未见报道。高玉琪等<sup>[38]</sup>研究显示: 在日粮中添加不同比例 Gln 可显著提高试验后期 (60 d) 獭兔回肠 *MUC1* mRNA 表达量。WANG 等<sup>[39]</sup>研究表明: 含有 Gln 的肠外营养可提高小鼠小肠 *MUC2* mRNA 表达水平。这些结果提示: 日粮添加 Gln 在一定程度上可促进肠上皮的分化与成熟, 加快黏膜黏蛋白分泌, 维持肠道结构与功能完整性, 充分发挥黏膜的屏障功能<sup>[18]</sup>。

## 4 结论

日粮添加 1.0% Gln 促进了黔东南小香鸡免疫器官发育, 提高了血清 IgA、IgG、IgM 含量和空肠黏膜 *MUC1*、*MUC2* mRNA 相对表达水平, 增强了机体免疫机能。

### [ 参考文献 ]

- [1] 廖飞, 赵孝木, 姜艳, 等. 黔东南小香鸡的品种遗传资源特点及开发利用[J]. 贵州畜牧兽医, 2015, 39(3): 35.
- [2] 吴仙, 宋巧燕, 朱丽莉, 等. 黔东南小香鸡肉鸡蛋白质氨基酸模式研究[J]. 饲料工业, 2014, 35(10): 39. DOI: 10.13302/j.cnki.fi.2014.10.009.
- [3] 王晶, 许丽, 齐广海, 等. 家禽肠道健康及其营养调控措施[J]. 动物营养学报, 2019, 31(6): 2479. DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2019.06.005.
- [4] JI J F, WANG L X, YANG H S, et al. Review: the roles and functions of glutamine on intestinal health and performance of weaning pigs[J]. Animal, 2019, 13(11): 2727. DOI: 10.1017/S1751731119001800.
- [5] 孙永波, 王亚, 萨仁娜, 等. 家禽肠道健康评价指标研究进展[J]. 动物营养学报, 2017, 29(12): 4266. DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2017.12.004.
- [6] 吕于明, 刘丹, 张炳坤. 家禽肠道屏障功能及其营养调控[J]. 动物营养学报, 2014, 26(10): 3091. DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2014.10.021.
- [7] FASINA Y O, BOWERS J B, HESS J B, et al. Effect of dietary glutamine supplementation on *Salmonella* colonization in the ceca of young broiler chicks[J]. Poultry Science, 2010, 89(5): 1042. DOI: 10.3382/ps.2009-00415.
- [8] ZULKIFLI I, SHAKERI M, SOLEIMANI A F. Dietary supplementation of L-glutamine and L-glutamate in broiler chicks subjected to delayed placement[J]. Poultry Science, 2016, 95(12): 2757. DOI: 10.3382/ps/pew267.
- [9] ABDULKARIMI R, SHAHIR M H, DANESHYAR M. Effects of dietary glutamine and arginine supplementation on performance, intestinal morphology and ascites mortality in broiler chickens reared under cold environment[J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 2017, 32(1): 110. DOI: 10.5713/ajas.17.0150.
- [10] 蒋朱明, 于康. 肠黏膜屏障损害与肠外/肠内营养的近代概念[J]. 医学研究杂志, 2000(2): 2. DOI: 10.3969/j.

- issn.1007-9610.2000.01.023.
- [11] BAREKATAIN R, CHRYSTAL P V, HOWARTH G S, et al. Performance, intestinal permeability, and gene expression of selected tight junction proteins in broiler chickens fed reduced protein diets supplemented with arginine, glutamine, and glycine subjected to a leaky gut model[J]. Poultry Science, 2019, 98(12): 6761. DOI: 10.3382/ps/pez393.
- [12] BARTELL S M, BATAL A B. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers[J]. Poultry Science, 2007, 86(9): 1940. DOI: 10.1093/ps/86.9.1940.
- [13] WU Q J, ZHENG X C, WANG T, et al. Effects of dietary supplementation with oridonin on the growth performance, relative organ weight, lymphocyte proliferation, and cytokine concentration in broiler chickens[J]. BMC Veterinary Research, 2018, 14(1): 34. DOI: 10.1186/s12917-018-1359-6.
- [14] 周联高, 章世元, 刘艳芬, 等. 谷氨酰胺对肉仔鸡生产性能及免疫机能的影响[J]. 动物营养学报, 2008, 20(3): 305. DOI: 10.3969/j.issn.1006-267X.2008.03.011.
- [15] 陈祥, 王可可, 肖立新, 等. 谷氨酰胺对肉鸭生长性能和免疫器官指数的影响[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2014, 11(23): 27. DOI: 10.3969/j.issn.1673-1409(s).2014.08.009.
- [16] 张维睿, 杨桂芹, 王宏山. 谷氨酰胺的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2004, 31(7): 10.
- [17] 王中华, 黄修奇, 杨艳玲. 谷氨酰胺对肉仔鸡生长、屠宰性能和免疫器官指数的影响[J]. 中国家禽, 2011, 33(18): 69. DOI: 10.16372/j.issn.1004-6364.2011.18.024.
- [18] 李虎, 李海英, 李晓斌, 等. 谷氨酰胺替代饲用抗生素对黄羽肉鸡免疫器官指数及小肠黏膜免疫的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(12): 82. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7236.2012.12.020.
- [19] 闫小兰, 王志有, 侯生珍, 等. 复合微生态制剂对藏香猪育肥猪生长及血清免疫球蛋白的影响[J]. 饲料研究, 2020(1): 38. DOI: 10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2020.01.010.
- [20] MORRILL J L, MORRILL J M, FEYERHERM A M. Plasma proteins and a probiotic as ingredients in milk replacer[J]. Journal of Dairy Science, 1995, 78(4): 902. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76704-2.
- [21] OLIVER P. New concepts in the generation and functions of IgA[J]. Nature Reviews Immunology, 2012, 12: 821. DOI: 10.1038/nri3322.
- [22] SU Y, CHEN Y P, CHEN L J, et al. Effects of different levels of modified palygorskite supplementation on the growth performance, immunity, oxidative status and intestinal integrity and barrier function of broilers[J]. Journal Animal Physiology and Animal Nutrition, 2018, 102(6): 1574. DOI: 10.1111/jpn.12974.
- [23] 张军民. 条件性必需氨基酸谷氨酰胺研究进展[J]. 中国饲料, 1999(17): 22.
- [24] 张敏, 邹晓庭, 孙亚丽, 等. 谷氨酰胺对1-3周龄肉仔鸡免疫功能的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(10): 1494.
- [25] 杨倩, 练高建, 黄国庆, 等. 半胱胺对鸡小肠黏膜中分泌型IgA细胞和上皮内淋巴细胞的影响[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(2): 89. DOI: 10.1007/s11769-002-0038-4.
- [26] 赵珊珊, 张怀, 徐亚平, 等. 重组白细胞介素2对固始鸡空肠黏膜免疫增强作用的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(3): 60.
- [27] ANONYMOUS. Glutamine in parenteral solutions enhances intestinal mucosal immune function in rats[J]. Nutrition Reviews, 1993, 51(5): 152. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1993.tb03094.x.
- [28] SUZUKI I, MATSUMOTO Y, ADJEI A A, et al. Effect of a glutamine-supplemented diet on response to methicillin-resistant staphylococcus aureus infection in mice[J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 1993, 39(4): 405. DOI: 10.3177/jnsv.39.405.
- [29] 康磊, 李文立, 姜建阳, 等. 谷氨酰胺对热应激肉鸡S-IgA、血液内毒素和细胞因子的影响[J]. 中国兽医学报, 2012, 32(4): 609. DOI: 10.16303/j.cnki.1005-4545.2012.04.025.
- [30] KUDSK K A, WU Y, FUKATSU K, et al. Glutamine-enriched total parenteral nutrition maintains intestinal interleukin-4 and mucosal immunoglobulin A levels[J]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 2000, 24(5): 270. DOI: 10.1177/0148607100024005270.
- [31] GENDLER S J. MUC1, the renaissance molecule[J]. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2001, 6(3): 339. DOI: 10.1023/a:1011379725811.
- [32] 袁良, 李德富, 卢文菊. MUC1/Muc1在肺部疾病中作用的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2019, 39(9): 680. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.09.008.
- [33] 冯奇. 日粮NDF水平对断奶獭兔肠MUC1、MUC2与FASN表达的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [34] CABALLERO-FRANCO C, KELLER K, SIMONE C D, et al. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells[J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2007, 292(1): 315. DOI: 10.1152/ajpgi.00265.2006.
- [35] GORK A S, USUI N, CERIATI E, et al. The effect of mucin on bacterial translocation in I-407 fetal and Caco-2 adult enterocyte cultured cell lines[J]. Pediatric Surgery International, 1999, 15(3/4): 155. DOI: 10.1007/s003830050544.
- [36] 冯奇, 任战军, 王金利, 等. 日粮NDF水平对断奶獭兔肠MUC1与MUC2表达的影响[J]. 西北农业学报, 2014, 23(1): 41. DOI: 10.7606/j.issn.1004-1389.2014.01.008.
- [37] 杨海军. L-谷氨酰胺的生理特性及其应用[J]. 中国食物与营养, 2004, 15(8): 79.
- [38] 高玉琪, 任战军, 胡志刚, 等. 日粮添加不同水平谷氨酰胺对幼龄獭兔免疫性能及回肠黏蛋白基因表达的影响[J]. 中国兽医学报, 2016, 36(4): 110.
- [39] WANG X, PIERRE J F, HENEGHAN A F, et al. Glutamine improves innate immunity and prevents bacterial enteroinvasion during parenteral nutrition[J]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 2014, 39(6): 688. DOI: 10.1177/0148607114535265.

责任编辑: 何承刚