

摘 要

本试验选用 240 只 1 日龄健康雄性 AA 肉仔鸡，采用单因子随机试验设计，随机分为 6 个处理组，每个处理 5 个重复，每个重复 8 只鸡。六种试验日粮分别是在基础日粮中添加 0、50、200、500、1000 和 2000 mg/kg 的壳聚糖配制而成。饲养试验共进行 42 天，试验期间试验鸡自由采食、自由饮水。通过本次试验，旨在研究日粮中不同剂量的壳聚糖对肉仔鸡生长性能、免疫功能、血液指标和肠道系统等方面的影响。试验结果表明：

(1) 壳聚糖的促生长效果与壳聚糖的添加剂量有关，壳聚糖的添加量较低时促生长效果较好，尤以 200 mg/kg 为佳；

(2) 日粮中添加适量的壳聚糖可提高肉仔鸡的新城疫抗体滴度，增加外周血 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺)比率，提高血液单核-巨噬细胞吞噬指数和血清中免疫球蛋白含量。对新城疫抗体滴度和单核-巨噬细胞吞噬指数而言，壳聚糖添加量为 50~200 mg/kg 时效果较好。对外周血 T 淋巴细胞亚群和免疫球蛋白而言，添加量为 500~1000 mg/kg 时效果较好；

(3) 日粮壳聚糖能降低肉仔鸡血清中胆固醇和甘油三酯，200 mg/kg 壳聚糖组的效果最佳。日粮壳聚糖能提高血清中生长激素(GH)和类胰岛素生长因子(IGF-I)，降低皮质酮(Cort)，添加量 200 mg/kg 的效果最佳；

(4) 日粮中添加 500~1000 mg/kg 壳聚糖能降低盲肠和回肠内容物中大肠杆菌数量，增加乳酸杆菌和双歧杆菌的数量，并可提高盲肠内容物中挥发性脂肪酸含量。此外，壳聚糖添加量为 50~2000 mg/kg 时，肉仔鸡肠道微绒毛高度和隐窝深度有所增加，绒毛宽度有所减少。

关键词：壳聚糖；肉仔鸡；生长；免疫；血清指标；肠道系统

Effects of Chitosan on Growth Performance, Immune Function, Blood Indexes and Intestinal System in Broilers

Abstract

The present experiment was conducted to study the effects of dietary chitosan (0, 50, 200, 500, 1000 and 2000 mg/kg, respectively) on growth performance, immune functions, blood indexes, and intestinal system in broilers. In the experiment, single-factor test design was adopted, and a total of 240 1-day-old healthy male Arbor Acre broilers were selected and randomly allotted into six treatments, each treatment consisted of five replicates with eight broilers in each replicate. The feeding trial lasted 42 days, and experimental diets and water were available *ad libitum* during the entire experimental period. The experimental results were showed as follows:

(1) The effects of chitosan on growth performance in broilers were related to the additive dose of chitosan in diets. The lower dose of chitosan had a better growth-promoting action, especially, the dose of 200 mg/kg had the best effect.

(2) The dietary chitosan increased the Newcastle disease antibody titers and the peripheral blood T lymphocyte clusters of differentiation (CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺), and raised the blood single-core-macrophages phagocytic index and serum immunoglobulin in broilers. To the Newcastle disease antibody and the single-core-macrophages phagocytic index, the dose of 50~200 mg/kg chitosan performed better effects. However, to the peripheral blood T-lymphocyte clusters of differentiation (CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺) and serum immunoglobulin, the dose of 500~1000 mg/kg chitosan performed better effects.

(3) Dietary chitosan reduced serum cholesterol and triglycerides in broilers, and the dose of 200 mg/kg chitosan showed the best effect. In addition to that, dietary chitosan could increase the concentrations of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF-I), and reduce the levels of corticosterone (Cort) in serum of broilers, and the dose of 200 mg/kg chitosan showed the best effect.

(4) The dose of 500~1000 mg/kg chitosan reduced the population of *E. coli* in ileum and cecum, but increased the population of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, and improved the content of volatile fatty acid in cecum. In addition, the dose of 50~2000 mg/kg chitosan increased gut villus height and recess depth, and reduced the width of gut villus in broilers.

Key words: *Chitosan; Broiler; Growth; Immunity; Serum indexes; Intestinal system*

Directed by: Prof. SHI Binlin

Applicant for Master degree: JIN Xiao (Animal Nutrition and Feed Science)

(The college of veterinary and animal science, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

略 词 表

英文缩写	中文名称
DAC-30	脱去 30% 的甲壳质
DAC-70	脱去 70% 的甲壳质
CL	化学发光分析法
NK	自然杀伤细胞(NK)
LAK	淋巴细胞因子激活杀伤细胞
ConA	刀豆蛋白
sIgA	分泌型 IgA 抗体
rSjFer	日本血吸虫铁蛋白
CRM	突变型白喉毒素
MLN	肠系膜淋巴结
TC	胆固醇
HDL-C	高密度脂蛋白胆固醇
LDL-C	低密度脂蛋白胆固醇
VLDL-C	极低密度脂蛋白胆固醇
TG	甘油三酯
Glu	葡萄糖
TP	总蛋白
UA	尿酸
GH	生长激素
IGF-I	类胰岛素生长因子-I
S. aureus	金黄色葡萄球菌
E. coli	埃希氏大肠杆菌
CD3+	总 T 细胞
CD4+	辅助性 T 细胞
CD8+	抑制性 T 细胞
ND	新城疫
HI	血细胞凝集抑制反应
IL- 10	白细胞介素 10
IgA	免疫球蛋白 A
IgM	免疫球蛋白 M
IgG	免疫球蛋白 G

IL-4	白细胞介素 10
TGF- β	转化因子 β
IgE	免疫球蛋白 E
IgD	免疫球蛋白 D
ACTH	促肾上腺皮质激素
Cort	皮质酮
VFA	挥发性脂肪酸
Th/Ti	辅助/诱导细胞

内蒙古农业大学

研究生学位论文独创声明

本人申明所呈交的学位论文是我本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得我校或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料，与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名： 余晓 日期： 2008.6月

内蒙古农业大学研究生学位论文授权使用授权书

本人完全了解内蒙古农业大学有关保护知识产权的规定，即：研究生在攻读学位期间论文工作的知识产权单位属内蒙古农业大学。本人保证毕业离校后，发表论文或使用论文工作成果时署名单位为内蒙古农业大学，且导师为通讯作者，通讯作者单位亦署名为内蒙古农业大学。学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子文档，允许论文被查阅和借阅。学校可以公布学位论文的全部或部分内 容（保密内容除外），采用影印、缩印或其他手段保存论文。

论文作者签名： 余晓
指导教师签名： 史林林
日 期： 2008.6

1 引言

早在1811年,甲壳素由法国科学家布拉克诺(Bracno)从蘑菇中发现,1823年法国科学家奥吉尔(Odier)从昆虫外壳中提取出来,并命名为Chitin^[1]。之后,人们又提取得到甲壳素的衍生物——壳聚糖。自20世纪70、80年代以来,在全球范围内形成了甲壳素和壳聚糖产品开发研究热潮,特别是在1977年英国剑桥大学的Muzzarelli教授发起并主持了在美国召开的第一届甲壳素和壳聚糖国际会议之后,各国都加大了对甲壳素/壳聚糖的研究和产品开发力度。1991年,美国、欧洲的医学界、大学和营养食品研究机构将其称为除糖、蛋白、脂肪、维生素、矿物质之外人体健康所必需的第六生命要素^[4]。从上世纪90年代开始,我国对壳聚糖和甲壳素资源的研究和开发也得到了越来越多研究者的重视,有众多的科研机构投入到有关课题的研究中,并有了不少可观的研究结果。目前,壳聚糖和甲壳素的研究和利用已涉及到了很多领域,如工业、农业、医学、环境保护、国防、食品、日用化工等。

1.1 壳聚糖的来源、结构与性质

甲壳素(chitin),又名几丁质、甲壳质,学名为 β -(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖,是由2-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖以 β -1,4糖苷键形式连接而成的多糖,是一种天然高分子聚合物,属氨基多糖,分子式为 $(C_8H_{13}NO_5)_n$,理论氨基含量为6.9%^[1]。甲壳素广泛存在于自然界低等动物的翅膀或外壳中,特别是在节肢动物和甲壳动物中含量较高,也存在于真菌、酵母、霉菌的细胞壁和植物如蘑菇的细胞壁中。此外,动物的关节、蹄、足的坚硬部分以及动物肌肉与骨接合处,均有甲壳素存在。地球上除纤维之外,数量最大的天然有机化合物就是甲壳素,年生物合成量为 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ 吨。

壳聚糖(chitosan)是一种可溶性氨基多糖,由甲壳素脱乙酰基得到,是甲壳素的脱乙酰产物,通常将脱乙酰度55%以上的甲壳素称作壳聚糖。壳聚糖又称几丁聚糖、脱乙酰甲壳素聚氨基葡萄糖,化学名称是 β -(1,4)-2-氨基-2-脱氧- β -D-葡聚糖,属于高分子直链型多糖。壳聚糖无味、无臭、结构稳定,呈白色或淡黄色半透明状固体,略有珍珠光泽。其分子结构与纤维素相似,呈直链状,极性很强,易结晶,可根据分子主链的排列方式分为 α 、 β 两种, α 分子主链以反平行方式排列, β 分子则相反,是自然界唯一的碱性多糖。

甲壳素溶解性较差,化学性质也不活泼,不溶于水、稀酸、稀碱及一般的有机溶剂,仅能溶于无机浓酸等一些非常规溶剂。甲壳素经过脱乙酰基后,得到的壳聚糖呈白色至淡黄色,虽然仍不溶于水、碱溶液和有机溶剂中,但可溶于稀酸溶液,包括无机稀酸(盐酸、硝酸等)和有机稀酸(醋酸、乳酸、甲酸、抗坏血酸、苹果酸等)。壳聚糖的脱乙酰度是壳聚糖的主要质量指标之一,直接影响到其溶液的性质。一般来说,壳聚糖的脱乙酰度越高,其在稀酸中的溶解性越好。此外,分子量对其溶解性能亦有

明显的影响,分子量越大,壳聚糖在水中的溶解度越小,而在稀酸中溶解后成为一种高聚物溶液,具有一定的粘度。壳聚糖溶液的粘度并不稳定,因为在酸性溶液中,壳聚糖会缓慢降解,使粘度逐渐下降。壳聚糖具有良好的储藏稳定性。在常温下壳聚糖粉末在无直射阳光的环境中可保藏半年,在外观、溶解性和脱乙酰度等主要性质都没有发生明显的变化。壳聚糖对生物机体是相对安全的,这是甲壳素具有生物相容性和产生各种生物活性的基础。它们具有无毒、无刺激性、无免疫抗原性等特点,是一种组织相容性良好的新的生物材料^[1]。壳聚糖分子中存在游离氨基,在稀酸溶液中可发生质子化而形成阳离子聚电解质,因此具有有高分子阳离子特性。壳聚糖能通过分子中的氨基和羟基与 Hg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Au^{3+} 和 Ag^{2+} 等重金属离子形成稳定的螯合物。壳聚糖的这种螯合作用随着脱乙酰度的提高而增强。由于其界面性质,壳聚糖最多能结合约自身重量一倍的脂肪,形成络合物,该络合物在体内还能进一步吸收脂类物质。由于壳聚糖在体内不会被消化吸收,因此,食糜中的脂肪就会有部分随壳聚糖被排出体外,因而抑制脂肪的吸收。除上述理化性质外,壳聚糖还能发生烷基化、酰基化、羟甲基化、磺化、硝化、卤化、氧化、还原和缩合等反应,机体内可被胃酸、溶菌酶、卵磷脂分解酶等降解。

1.2 壳聚糖对动物的生物学作用

1.2.1 壳聚糖对生长性能的影响

关于壳聚糖对动物生长性能的影响已有一些研究报道,且结果不尽一致。一些研究认为,壳聚糖对动物的生长性能具有促进作用。壳聚糖能促进鸡的生长,提高母鸡的产蛋率。印度学者发现甲壳素能促进小鸡的生长。将0.5%的甲壳素混入家禽饲料中喂养家禽,不但可减少饲料消耗,而且比不加甲壳素饲料喂养的家禽体重增加12%。日本学者发现,母鸡连续采食含10%磷虾壳的饲料后,其产蛋率提高8.8%^[7]。张丽英等(1998)在对照组日粮基础上添加200 mg/kg壳聚糖,结果表明壳聚糖组的肉仔鸡增重速度比对照组快^[10]。卢美鸾等(2007)用壳聚糖复合剂在家禽日粮中代替抗生素的试验结果表明,壳聚糖复合剂具有与抗生素相当或高于抗生素的促生长作用,而且其促生长作用效果与壳聚糖复合剂的浓度有关。适宜浓度的壳聚糖有利于提高动物的促生长作用,而浓度过低或过高可能影响其促生长作用或造成浪费^[11]。张克胜等(2005)试验表明,壳聚糖对肉鸡的生长和饲料转化率均具有很强的促进作用,在日粮中添加200 g/t的壳聚糖对肉鸡体均重和料重比都有显著影响^[12]。朱立贤等(2003)研究了日粮中添加不同水平壳聚糖(0、200、600、1000 mg/kg)对1、2周龄肉仔鸡的影响,发现随着壳聚糖添加浓度的上升,肉仔鸡生产性能呈上升趋势^[13]。Razdaz和Pettersson(1994)试验发现,在肉仔鸡基础日粮中添加30 mg/kg的壳聚糖,进行到试验第10天和第18天时,饲料转化率升高($P < 0.05$)^[14]。王秀武(2003)研究结果表明,日粮中添加0.1%的壳聚糖可显著提高肉仔鸡增重($P < 0.05$),8周龄体重比对照组提高

18%，料重比较对照组降低3.4%。

然而，有研究表明，较高剂量的壳聚糖因和脂肪络合抑制脂肪吸收，干扰了机体的正常功能，导致营养素供给不足，进而影响了机体的生长，降低了动物的生长性能。马小珍等(2001)给肉仔鸡分别饲以含壳聚糖1%、2%和3%的日粮，结果表明，添加1%与2%壳聚糖肉仔鸡生长速度显著高于对照组，添加3%时反而抑制生长，因为壳聚糖添加水平升高会干扰脂肪代谢、减少脂肪吸收，进而减少体脂沉积^[21]。赫刚(2005)试验结果表明，在1~21日龄肉仔鸡基础日粮中添加10g/kg壳聚糖对日增重和采食量无显著影响，而添加20g/kg、30g/kg的处理组却显著降低日增重和采食量^[22]。刘海英等(2003)在基础日粮中依次增加3%、4%的壳聚糖导致日增重和采食量显著下降($P<0.05$)^[23]。Nogueira等(1999)在28周龄蛋鸡饲料中添加2%和3%壳聚糖，在试验第14d蛋重显著低于基础日粮组^[24]。张丽英等(1998)的试验结果表明，在产蛋鸡日粮中添加4%壳聚糖可显著降低鸡血清和蛋黄中胆固醇含量，并对产蛋鸡产蛋性能和饲料报酬有一定的影响^[6]。也有研究认为，高剂量壳聚糖影响脂肪吸收，但不一定影响饲料效率。Kobayashi等(2002)在玉米—豆粕型基础日粮(CP: 20%，ME: 1184MJ/kg)和高脂日粮(CP: 20%，ME: 1356MJ/kg)中分别加入5%壳聚糖饲喂蛋雏(8~29日龄)，结果表明添加壳聚糖可以抑制脂肪沉积，并不会降低饲料利用率^[9]。另外，郭玉英(2005)研究认为，肉仔鸡的生长速度还受壳聚糖的添加时间、添加量、添加方法和其他可能因素的影响^[25]。

此外，也有研究结果表明，壳聚糖对动物生长性能的影响并不显著^[15]。吕丹娜等(2006)在肉仔鸡生长全期于基础日粮中添加不同脱乙酰度的壳聚糖对肉仔鸡生长性能无显著影响^[16]。王述柏等(1998)试验表明，在基础日粮中添加2%壳聚糖对肉鸡生产性能无显著影响^[17]。而 Sugano 等在大鼠上的试验结果表明(1980)，在高胆固醇日粮中添加2%~5%壳聚糖时，不影响其采食量和生长^[18]。Fuentes等(1999)通过试验发现，饲料中添加2%~3%壳聚糖对蛋鸡的产蛋量、采食量、饲料转化率及蛋重等指标均未产生显著影响^[19]。王敦等(2004)由昆虫体内提取的壳聚糖对蛋鸡的试验结果表明，饲料中添加不同水平的虫源性壳聚糖(0.1%、0.2%、1.0%、2.0%)对日采食量、平均蛋重、料蛋比和软破蛋率等指标未产生明显影响^[20]。

综合以上研究结果可以看出，关于壳聚糖对肉仔鸡的影响仍存在很多争议，还有待于进一步研究探讨。

1.2.2 壳聚糖对免疫功能的影响

近年来，壳聚糖对动物的免疫调节作用已被国际所公认^[26]。壳聚糖能增强机体的非特异性免疫，具有较强的抗肿瘤活性，其机理主要是壳聚糖提高了巨噬细胞的活性。壳聚糖分子结构中的氨基可被机体免疫系统识别，在一定程度上活化巨噬细胞，刺激血液循环中抗体的产生(Tokura等，1999)^[27]。Nishimura等往小鼠腹腔内注射经

醋酸处理的壳聚糖, 结果发现该物质可刺激小鼠产生白介素-1, 增强体内巨噬细胞的活性。壳聚糖的分解产物氨基葡萄糖也能活化NK、LAK细胞^[28]。东市朗和户仓清一利用甲壳质及其各种衍生物进行巨噬细胞活化实验, 结果表明, 脱去30%乙酰基的甲壳质(DAC-30)、脱去70%乙酰基的甲壳质(DAC-70)以及羧甲基甲壳质(取代率80%)等均有极强的巨噬细胞活化能力, 其中以DAC-70作用最强^[29]。Kosaka等(1996)在狗的皮下埋植壳聚糖^[30], 结果发现, 埋植壳聚糖的试验组在埋植后24~96小时内, 其血液中白细胞, 尤其是嗜中性粒细胞的数量增加。用化学发光分析法(Chemiluminescence, CL)测定表明, 对照组手术后24~120小时内巨噬细胞活性显著减少, 而埋植壳聚糖的试验组却保持较高的巨噬细胞活性, 说明壳聚糖可以防止外科手术造成的免疫抑制是一种有效的免疫增强剂。此外, 房国坚(1995)也报道, 几丁质对小鼠吞噬细胞的吞噬功能具有明显的促进作用^[31]。

壳聚糖能促进动物机体的体液免疫和细胞免疫功能。张澄波(1993)的研究结果证实, 壳聚糖在一定剂量范围内能有效地抑制腹肠癌细胞的生长, 而且能促进巨噬细胞的吞噬功能, 显著促进脾细胞生成抗体能力, 即壳聚糖可以通过增强机体免疫功能而起到抗肿瘤、抗感染作用^[32]。日本爱媛大学医学部教授奥田(1998)等用小鼠进行的试验结果表明, 64 μ g/mL的壳聚糖能增强淋巴细胞中自然杀伤细胞(NK)杀伤癌细胞的能力, 当浓度为96 μ g/mL时能明显地增加淋巴细胞因子激活杀伤细胞(LAK)的作用^[2]。石明建(1999)报道壳聚糖除具有促进巨噬细胞的功能、还可增加刀豆蛋白(ConA)诱导的淋巴细胞增殖, 增强体液免疫和T淋巴细胞免疫功能^[34]。应自忠(2000)报道, 壳聚糖能使昆明小鼠外周血液中淋巴细胞总数和T淋巴细胞阳性率明显增高, 并能提高机体红细胞的免疫功能^[35]。

另外, 谢勇等研究表明, 以壳聚糖为佐剂的HP疫苗对HP感染具有免疫保护作用, 并可成功地诱导全身和黏膜局部特异性抗体产生, 同时还可促进Th1和Th2的混合免疫反应, 调节Th1/Th2的平衡^[36, 37]。常海艳等研究表明, 壳聚糖流感疫苗经腹部免疫小鼠诱导产生的分泌型抗体IgG1和IgG2 α 含量均高于单独疫苗组的小鼠。而壳聚糖和流感病毒混合滴鼻免疫小鼠, 不仅产生系统型的IgG抗体, 而且还诱导产生分泌型IgA抗体(sIgA)。壳聚糖作佐剂能显著增强血清抗体含量, 并提高小鼠抗病毒攻击的能力^[38]。陈利玉等发现重组日本血吸虫铁蛋白(rSjFer)与壳聚糖结合后经滴鼻免疫, 小鼠唾液中sIgA和血中IgG和IgA均有明显提高, 减虫率和减卵率均显著高于单独应用rSjFer的小鼠^[39]。Bacon等将壳聚糖与亚单位流感病毒疫苗合用, 发现壳聚糖可以明显提高它的局部和血清抗体反应^[40]。Mills等将无活性的突变型白喉毒素CRM(197)与壳聚糖共同接种于健康志愿者的鼻腔内, 结果发现产生了明显的毒素中和活性, 并且还产生了局部sIgA反应, 说明壳聚糖作为佐剂可诱导出局部sIgA^[41]。sIgA是黏膜组织免疫应答的特征, sIgA抗体可通过阻碍黏膜与细菌和病毒的接触从而给黏膜表面提供特殊的免疫屏障。黏膜免疫系统是外周淋巴系统的一部分, 黏膜免疫由于它的特

殊地位,在机体与外界环境相互作用中发挥着重要作用,参与黏膜免疫的细胞数量多而且具有其独特的性质和特点,sIgA的产生与机体内黏膜免疫系统及其免疫功能有着十分密切的关系。Seferian等将壳聚糖与 β -人绒毛膜促性腺激素联合接种于BALB/c小鼠,发现壳聚糖可增强BALB/c小鼠对HCG的免疫反应^[42]。Bivas-Benita等用壳聚糖颗粒作为载体,装载含有鼠弓形体GRA1基因的质粒DNA经口服免疫小鼠,能成功地诱导出特异性的GRA1抗体^[43]。McNeela等研究发现,以壳聚糖为佐剂与白喉毒素共同免疫,可诱导出全身和局部的特异性体液免疫反应,同时促进Th1/Th2的混合免疫反应^[44]。Kang以壳聚糖颗粒作为支气管炎博德特菌疫苗的黏膜佐剂成功的诱导了黏膜局部和全身的特异性IgG和IgA抗体^[45]。Porporatto等将II型胶原与壳聚糖共同免疫小鼠,发现肠PP结和脾淋巴细胞IL-10的分泌增加,同时PP结内IL-4、IL-10和TGF- β mRNA表达增加^[46]。以上研究均表明壳聚糖具有免疫调节及免疫佐剂效应。壳聚糖作为佐剂对机体免疫系统的调节可能通过以下途径实现(胡思隽,1999)^[47]：
1) 增强渗透、吸收和保护疫苗：壳聚糖的阳离子基团与细胞表面的阴性电荷作用,引起细胞内蛋白的重新分布,从而增加上皮细胞的通透性,促进蛋白和肽类物质的摄取,有利于抗原与免疫系统作用(Illum,2001)^[48]。壳聚糖还可打开上皮细胞间的紧密连接,形成大分子物质的细胞旁通路,使疫苗通过上皮屏障或被M细胞吸收而增强免疫反应。即壳聚糖能安全有效地增强吸收,提高(鼻、口服)疏水的大分子的黏膜递呈；同时,壳聚糖可以将抗原包裹,防止在酶和低pH环境中的降解,有效地将疫苗转运到PP结,从而增强局部和系统免疫。2) 免疫刺激活性：壳聚糖可激活补体系统,介导补体的一系列生物学效应；增强巨噬细胞和多核细胞的聚集和活化,增加机体抗微生物感染的能力；激活T细胞和B细胞,增强其在免疫应答中的协同效应,介导机体的细胞免疫应答和体液免疫应答。Porporatto等研究表明,壳聚糖不但可促进抗原的吸收与分布,还可活化免疫细胞,调节有关细胞因子的产生。他们研究发现,单独给小鼠口服壳聚糖后黏膜局部CD11b/c⁺抗原递呈细胞和DXb2⁺树突状细胞数量增加,同时增加黏膜局部IL-10释放以及IL-4和TGF- β 的表达,活化脾脏的CD3⁺阳性T淋巴细胞^[49]。

壳聚糖可通过消化道增强动物免疫机能。尽管壳聚糖不能为动物消化吸收(Gallaher等,2000),但一些研究结果表明,口服壳聚糖可增强机体的细胞免疫功能和体液免疫功能^[50]。Lim等(1997)曾研究了在日粮中添加壳聚糖、果胶、纤维等对大鼠肠道免疫功能指标的影响,结果发现,饲喂果胶和壳聚糖的大鼠与饲喂纤维素的大鼠相比,其肠系膜淋巴结(MLN)中淋巴细胞的IgA、IgG和IgM含量较高,而IgE含量较低,说明日粮中添加一定量的壳聚糖对大鼠肠道免疫系统具有免疫调节作用^[51]。一种可能的机制是,日粮纤维通过改变微生物区系而影响免疫机能。肠道细菌对日粮纤维发酵导致肠道内出现较为酸性的环境,抑制初级胆酸向次级胆酸转变。壳聚糖在肠道内也可与胆汁酸结合(Sugano等,1988),从而使胆汁酸随壳聚糖排出体外,减少肠

道和血液中的胆汁酸含量^[52]。胆汁酸通过脾脏或MLN中淋巴细胞影响免疫球蛋白的产生(Lim等, 1997)^[53]。

而目前有关壳聚糖对禽类免疫机能作用效果的研究较少。朱立贤等(2003)研究了不同添加水平的壳聚糖(0, 200, 600, 1000mg/kg)对肉仔鸡免疫功能的影响, 发现日粮中添加600mg/kg壳聚糖时, 肉仔鸡(2周龄)的法氏囊、脾脏指数显著高于其它剂量组, 而新城疫抗体水平则以壳聚糖浓度为200mg/kg时最高; 同时组织切片结果表明, 600mg/kg壳聚糖对法氏囊组织学结构产生显著影响, 而200mg/kg、1000mg/kg壳聚糖对脾脏的影响程度大于600mg/kg壳聚糖组^[54]。此外, 柯叶艳等(2001)发现, 在肉用鹌鹑日粮中添加3%壳聚糖可使法氏囊重量增加18.4%($P<0.01$), T淋巴细胞转化率提高42.15%($P<0.05$)^[55]。史彬林等(2005)对雄性肉仔鸡的研究中发现, 在28日龄时添加0.10%~0.50%的壳聚糖可刺激外周血液中淋巴细胞的增殖^[56]。吕丹娜等(2006)关于不同脱乙酰度的壳聚糖对肉仔鸡免疫功能影响的试验结果表明, 与对照组比较, 添加壳聚糖组对肉仔鸡全期的新城疫抗体水平有提高的趋势, T淋巴细胞也有提高趋势^[57]。日粮中添加0.5%的壳聚糖使肉仔鸡胸腺和法氏囊重量及器官指数有增加的趋势, 但对肉仔鸡脾脏的生长有抑制效应(吴秋小, 2003)^[58]。

关于壳聚糖的免疫活性机理存在多方面的说法。有的学者认为, 壳聚糖使巨噬细胞增多的机理是: 1)壳聚糖为阳性趋化剂, 吸引单核细胞从血管中游出聚集在组织中形成巨噬细胞。2)壳聚糖直接刺激局部组织, 促使细胞增生, 继而演变为巨噬细胞。还有学者认为, pH 7.4的体液中, 淋巴细胞最为活跃, 能直接杀死癌细胞。但在癌细胞内及偏酸性的体液中, 淋巴细胞不活跃, 作用迟钝。壳聚糖能吸附 H^+ , 可提高 HCO_3^- 浓度, 能使体液pH倾向碱性, 造成淋巴细胞攻击癌细胞的环境, 对改善内环境 H^+ 有效。壳聚糖在吸附 H^+ 之后, 由于带有大量的 $-NH_3^+$, 使亲和性增强, 可以活化巨噬细胞, 使其吞噬能力增强, 直接增加杀伤癌细胞的能力; 它还可以活化T淋巴细胞, 促使其释放出各种淋巴因子, 从而起到杀伤胞内微生物(结核菌, 真菌和病毒等)和癌细胞的作用^[59]。

1.2.3 壳聚糖对血液相关指标的影响

许多试验证实, 壳聚糖能影响血清中的相关指标。目前研究最多的是与脂肪代谢相关的指标, 如血脂、胆固醇、甘油三酯和脂肪酸等。刘海英和马小珍等的试验结果一致表明, 壳聚糖能有效地降低肉仔鸡血液中的胆固醇和甘油三酯含量^[60, 61]。吴加罗等(1996)的试验也表明, 大鼠摄入一定剂量的壳聚糖能有效地抑制血清总胆固醇(TC)升高($P<0.01$), 但能使高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)升高($P<0.01$); 同时表明, 壳聚糖降低血清总胆固醇(TC)效应可能主要表现在降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)上, 而对HDL-C有升高作用(吴加罗, 1996)^[62]。董爱森等(2001)报道, 每日灌胃100、200、400 mg/kg的复方壳聚糖可显著降低高脂血症老

龄大鼠和成年大鼠的血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平,而升高HDL-C的水平,抑制蛋黄乳液诱发的老年小鼠高胆固醇血症^[65]。杨正平等(2007)的试验结果显示,在试验第21天,壳聚糖各添加组的总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)含量与对照组相比,差异不显著($P>0.05$)。在试验第42天时,壳聚糖各组与对照组相比,显著降低了血清中胆固醇和甘油三酯含量,说明对脂类代谢有影响。

除脂类代谢相关指标外,日粮中添加壳聚糖也会影响糖和蛋白代谢相关指标以及与生长有关的内分泌激素指标。杨正平等(2007)试验结果表明^[64],在试验第28天,壳聚糖组和对照组的血清中葡萄糖(Glu)、总蛋白(TP)、尿酸(UA)以及IGF-1、GH的差异未达到显著水平。但到试验第42天,血清中TP、IGF-1和GH含量相比对照组却显著升高($P<0.05$),血清中葡萄糖和尿酸含量虽有下降但差异仍不显著($P>0.05$),这说明壳聚糖对肉仔鸡的作用后期效果比前期明显,其中又以100 mg/kg壳聚糖组效果最佳。血糖含量可在一定程度上反映动物机体糖代谢功能是否正常。高血糖的产生与机体产生胰岛素耐受有关。壳聚糖可通过强化胰岛素功能使血糖含量降低,始终处于正常范围,避免出现糖代谢紊乱。试验中发现添加壳聚糖后肉鸡的血糖、血脂水平降低,蛋白质合成代谢水平升高,这在一定程度上表明,壳聚糖可通过提高血清中GH和IGF-1水平来改善肉鸡的生长性能。这与一些外国研究者的研究结果一致(Kobayashi, 2002)^[65]。壳聚糖干扰脂肪消化的可能机制是壳聚糖与胃酸作用形成凝胶,在肠道pH环境下不能被降解,它能吸收胆汁酸和胆固醇(Gallaher, 2000),并形成混合物随粪便排出体外,从而减少了脂肪的吸收(Deuchi, 1995)^[66-67]。血清中总蛋白与尿酸浓度能准确反映机体蛋白质代谢、肝功能与肾功能正常与否。壳聚糖组可显著提高42天血清中TP含量($P<0.05$),并在一定程度上降低了UA含量。Tang等(2005)研究发现,向断奶仔猪日粮中添加250 mg/kg的低分子壳聚糖显著提高了血清总蛋白含量并降低了血清尿素氮含量^[68]。GH/IGF-1轴是生长轴的重要组成部分,与动物机体的蛋白质、糖、脂类代谢紧密相连,其主要功能在于调控畜禽生长,反映动物营养与生长状况。体内IGF-1水平受GH的调控,IGF-1对GH的分泌亦有负反馈作用。IGF-1相对稳定,是反映动物生长速度的重要指标之一。IGF-1水平下降是动物遭受免疫应激的一个重要标志,表明营养物质由维持机体生长向免疫系统转移。杨正平等(2007)试验结果表明,100 mg/kg和150 mg/kg壳聚糖添加组均能显著提高第42天血清中GH和IGF-1含量,维持GH/IGF-1轴的正常。Tang等的研究结果表明,日粮中添加250 mg/kg低分子壳聚糖可显著提高血清中GH和IGF-1浓度,并提高了肝脏和肌肉中IGF-1mRNA表达水平。并得出结论:低分子量壳聚糖提高动物生长性能及蛋白质合成代谢的可能机制是促进了GH的生成,并进一步增加IGF-1的合成和释放。当畜禽遭受免疫应激的情况下,体内的炎性因子大量分泌,IGF-1水平降低,导致GH/IGF-1轴异常,进而导致糖、蛋白质、脂肪代谢紊乱,生长速度减慢。

此外,孙萍等(2007)试验研究结果表明^[69],水溶性壳聚糖对糖尿病(DM)小鼠有

显著降低血糖、增加肝糖原作用,其作用有剂量效应,而对正常小鼠血糖无明显影响。提示水溶性壳聚糖降低血糖、增加肝糖原的作用可能与调节机体糖代谢、促进肝糖原合成、减少肝糖原分解有关。水溶性壳聚糖溶于水后可形成凝胶状,在胃肠道内形成凝胶池,调节葡萄糖吸收,减缓葡萄糖向小肠绒毛膜扩散和吸收,从而起到降血糖作用。目前,很多市售降糖药物容易造成低血糖现象,而水溶性壳聚糖对正常小鼠的血糖没有影响,初步显示水溶性壳聚糖不会影响正常的糖代谢过程。

1.2.4 抑菌作用和对肠道系统的影响

自1979年Allan发现壳聚糖抑菌活性后,许多学者开展了广泛的研究,发现壳聚糖广谱的抑菌抑毒能力优于其他许多抗生素,且副作用小,特别是对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、杆菌和霉菌等多种致病菌有显著的抑菌作用。壳聚糖的最小抑菌浓度测定试验结果表明,对于多数参测菌株,壳聚糖的最小抑菌浓度多在0.03%~0.06%(W/V)之间,说明壳聚糖的抑菌能力很强;同时也看到最小抑菌浓度与细菌的种类相关,不同的细菌,最小抑菌浓度不同(管云林,1997)^[70]。荆迎军(2006)试验结果提示,无论是革兰氏阳性菌还是革兰氏阴性菌,壳聚糖抑菌趋势都一致^[71]。郑连英等报道,对于革兰氏阴性菌,随壳聚糖分子量的减小,抑菌作用逐渐增强;对革兰氏阳性菌正好相反^[72]。车炳坤等(2000)报道,壳聚糖在浓度为0.6%时,大部分菌属的革兰氏阴性菌约有50%~70%的菌株被抑制,浓度为1%时,抑菌率达70%~100%;壳聚糖对革兰氏阳性菌及白色念珠菌的敏感性高于革兰氏阴性菌,浓度为0.5%时,对革兰氏阳性菌的抑菌率高达75%~100%,而对大部分菌属的革兰氏阴性菌的抑菌率只有20%~30%;浓度为0.3%时,55%的白色念珠菌被抑制,浓度为0.6%时,抑菌率达82%^[73]。

据许多研究者的研究结果,壳聚糖除革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌有抑菌作用之外,对其它菌群也有影响。宋献周等(2000)研究表明,壳聚糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、产气荚膜杆菌均有抑制作用,并且抑菌效果随壳聚糖相对分子质量的降低而增高^[74]。刘艳如等(2001)观察了水溶性壳聚糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、八叠球菌及放线菌5460的抑菌效果,发现壳聚糖对上述各种菌均有抗菌作用^[75]。朱立贤(2002)报道,壳聚糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌均有抑制作用,壳聚糖浓度为0.062%时,即可起到一定的抑菌效果^[76]。郝刚等(2005)试验结果表明,壳聚糖对大肠杆菌、鸡白痢沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和禽多杀性巴氏杆菌等4种鸡常见病原菌均具有抑制作用^[77]。张澄波等(1993)报道,给昆明小鼠腹腔注射壳聚糖(300mg/kg·次,3次),然后以金葡菌或大肠杆菌进行腹腔感染,结果体重增加,死亡率降低^[78]。张燕婉和王光华(1991)发现,pH 5.5、浓度为0.5%的壳聚糖溶液对体外培养的金黄色葡萄球菌有明显的抑菌作用^[79]。陈超群等(2000)给昆明小鼠分别灌胃壳聚糖的冰醋酸溶液400mg/kg·d(试验组)和0.5%冰醋酸(对照

组), 连续7天, 而后检测两组肠道菌群的变化。结果发现, 试验组双歧杆菌、乳杆菌数量比对照组明显增多($P < 0.05$), 大肠杆菌、肠球菌数量在两组间无明显差异, 说明壳聚糖溶液能促进双歧杆菌和乳酸杆菌的增殖^[80]。

对于壳聚糖的抑菌机理, 目前有着不同的解释。Helander等(2001)通过检测脂蛋白发现, 壳聚糖对埃希氏大肠杆菌的细胞壁造成了破坏^[81]。结果显示, 壳聚糖对细菌细胞壁与细胞膜都有一定的作用, 使其通透性增加, 造成细胞质物质外流, 达到抑菌的效果。Hadwiger等(1984)推测, 壳聚糖上带正电荷的游离胺基与细菌的细胞壁结合而阻碍细菌的增殖, 从而起到抑菌作用^[82]。Leuba和Stossel(1986)推测, 可能是壳聚糖干扰了细菌的细胞膜功能造成细菌体内物质的流失^[83]。郑连英等(1999)考察了不同分子量壳聚糖的抑菌性能, 认为对革兰氏阳性菌, 壳聚糖的分子量增大, 抗菌作用增强, 因为大分子形成致密外膜, 阻止营养物质进入细菌细胞^[84]。对革兰氏阴性菌, 随壳聚糖分子量减小, 抗菌作用增强, 因为分子量越小, 越容易进入细胞壁的空隙结构内, 干扰细胞的新陈代谢, 达到杀菌的目的。而宋献周和沈月新(2000)推测, 可能是低分子量的壳聚糖通过进入菌体细胞内, 与带负电荷的细胞质发生作用, 扰乱细胞正常代谢, 从而实现抑菌作用^[85]。管云林等与夏文水等分别采用金黄色葡萄球菌(*Strepcomyces aureus*)和埃希氏大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为试验菌株, 发现随壳聚糖分子量的降低, 其抗菌性能增强^[86]。而UENO等(1997)报道, 对*S. aureus*和*E. coli*, 平均分子量小于5000的壳聚糖不仅没有抗菌作用, 反而能促进细菌的生长, 而分子量为9300的壳聚糖几乎可以完全抑制细菌生长^[87]。Yousook等报道, 分子量为4万的壳聚糖在浓度为0.5%时, 对*S. aureus*和*E. coli*的杀灭率为90%; 分子量为18万的壳聚糖在浓度为0.05%时, 对*S. aureus*和*E. coli*的杀灭率几乎为100%^[88]。

也有少数研究报道表明, 日粮中添加壳聚糖对肠道系统有影响, 如对肠道绒毛形态密度和肠道挥发性脂肪酸有一定的影响。王秀武等(2005)研究结果显示, 与对照组相比, 壳聚糖组微绒毛变细, 而且密度有增加的趋势, 表现出小肠吸收机能提高。其机制可能与壳聚糖抑制肠道微生物, 改善了肠内微环境利于肠黏膜上皮生长发育有关^[89]。王秀武等(2005)还研究了海洋寡聚糖(壳寡糖)对仔猪结肠内容物营养成分、肠黏膜形态和肠道微生态的影响, 发现与对照组相比, 壳寡糖组十二指肠绒毛长度、回肠绒毛长度和回肠肠壁厚度极显著增加($P < 0.01$), 盲肠绒毛长度和肠壁厚度显著增加($P < 0.05$), 十二指肠隐窝深度极显著降低($P < 0.01$)^[90]。绒毛高度与细胞数量呈显著相关, 只有成熟的绒毛细胞才具有养分吸收功能。因此绒毛高时, 成熟细胞多, 养分吸收能力强。隐窝深度反映了细胞的生成率, 隐窝变浅, 表明细胞成熟率上升, 分泌功能强。肠壁厚度增大可增强回肠的蠕动能力, 使食糜与绒毛细胞接触更充分, 利于营养物质的吸收。陈振兴等(2001)观察不同剂量复方壳聚糖对小鼠消化功能的影响, 发现复方壳聚糖可显著提高小鼠胃肠的蠕动能力^[91]。

1.2.5 对营养物质消化吸收的影响

壳聚糖在各生长阶段均能减少肉鸡肝脏和腹部脂肪的沉积,其中6周龄时肝脂率和腹脂率降低明显(刘海英等,2003)^[92]。在鸡日粮中添加壳聚糖减少了腹脂吸收率和腹脂量,Kobayashi等通过肉仔鸡试验结果表明^[93],添加壳聚糖能减少脂肪的吸收而降低体脂量(Shigeki等,1997)^[94]。如饲喂高脂肪混合饲料的大鼠,同时加入壳聚糖2周后,试验组粪中脂肪含量明显高于对照组(Kanauchi等,1994)^[95]。Razdan和Pettersson(1994)报道,在饲料中添加30g/kg壳聚糖可使肉仔鸡的脂肪回肠消化率降低26%^[96]。Razdan和Pettersson等(1996)将224只1日龄肉仔鸡分成4组,分别饲喂玉米-玉米淀粉基础日粮以及添加15g/kg低、中或高粘度壳聚糖的日粮,以研究不同粘度壳聚糖对肉仔鸡的影响,结果表明,与基础日粮组相比,高粘度壳聚糖组肉仔鸡粗蛋白和粗脂肪的回肠消化率显著降低,3种壳聚糖组肉仔鸡脂肪回肠消化率比基础日粮组平均降低8%,且以采食高粘度壳聚糖日粮的肉仔鸡粗脂肪回肠消化率降低幅度最大^[97]。可见,壳聚糖粘度会影响日粮中脂肪的消化率。

壳聚糖由于组成中的葡聚糖胺链带有4价铵离子,因此具有较高的阴离子交换性能,可作为一种弱阴离子交换树脂,且在体外具有非常强的粘滞性(Furda,1983)^[98],所以这两种性质都可能成为其发挥降胆固醇作用的原因。作为一种阴离子交换树脂,带正电荷的壳聚糖与负电性的胆汁酸结合排出体外,使重吸收进入肝脏中的胆汁减少,胆囊排空,而胆囊中必须有一定量的胆汁酸储备,这就促使血浆或肝脏中胆固醇被转化为胆汁酸,以维持胆汁酸储备,从而降低了血浆或肝脏中胆固醇浓度(Cynthia等,2000)^[99];此外壳聚糖与胆汁酸结合排出体外,脂肪没被乳化就会影响脂肪的消化吸收,从而降低了血清中甘油三酯含量(Cynthia等,2000)。Cynthia等研究表明,饲料中添加壳聚糖可使胆固醇吸收效率降低74.9%($P<0.05$),粪中胆汁酸的排出增加4.5倍($P<0.05$),粪脂排出增加7.5倍($P<0.05$),说明壳聚糖可引起胆汁酸和脂肪排出增加,胆固醇吸收降低。Deuchi等(1994)提出了不同的降脂机理^[100],即壳聚糖在胃中不被胃酸溶解,而与日粮脂肪混合形成壳聚糖-脂肪复合物,该复合物进入小肠后形成胶体,可吸附脂肪、胆固醇和胆汁,阻止脂解作用,使未消化脂肪、胆固醇、胆汁与壳聚糖凝胶随粪便排出,从而降低了机体对脂肪和胆固醇的吸收。Razdan等(1997)研究表明,饲料中壳聚糖可使肉仔鸡十二指肠内胆汁酸浓度和血浆总胆固醇含量降低,与基础饲料组相比,壳聚糖饲料组总胆汁酸浓度降低55%,说明饲料壳聚糖可能导致胆汁酸损失增加,从而降低了胆汁酸浓度^[101]。

除脂肪外,关于壳聚糖对其他营养物质消化代谢影响的研究报道极少。陈振兴等(2001)^[102]曾就复方壳聚糖对消化功能的影响进行了研究,结果表明,复方壳聚糖可显著提高小鼠胃肠的蠕动能力,并可增强胃蛋白酶的活力,提示壳聚糖可能会提高日粮蛋白质的消化率。也有资料表明,壳聚糖可使小肠微绒毛高度增加,密度加大,使小肠吸收面积扩大,有利于营养物质的吸收(王秀武等,2003)^[103]。然而,Razdan和

Pettersson(1996)研究发现,饲喂含有1.5%高粘度壳聚糖的日粮,可显著减少肉仔鸡对粗蛋白(N×6.25)的回肠消化率^[97]。此外,还降低了矿物质元素钙、磷的表现利用率(赫刚,2005)^[104]。

壳聚糖分子中含有大量游离-NH₂,且-NH₂邻位是-OH,可吸引氢键,也吸引盐键,形成具有类似网状结构的笼形分子,从而对金属离子有着稳定的吸附能力^[105]。壳寡糖有促进钙、铁等必需矿物质吸收的效率^[106]。王秀武(2004)^[107]试验结果表明,日粮中添加0.1%壳聚糖,可以提高肉仔鸡对重要生命元素Ca、P、Mg、Zn、Cu和Mn的利用率,同时还可增加Pb和Al元素的排除量。也有试验表明,日粮中添加壳聚糖能使机体内Ca、P、Mg、Zn、Cu和Mn等元素利用率提高,其原因可能是由于壳聚糖增加了消化道黏膜的通透性,使金属离子的吸收增加。此外,由于壳聚糖能抑制脂类物质的吸收^[107、108],所以对脂溶性维生素有吸收不足的潜在危险。

1.3 论文总体研究思路

长期以来,为了防止或减轻畜禽腹泻等综合症,普遍在畜禽饲料中添加抗生素、化学合成药物类抗菌促生长饲料添加剂。然而,随着畜牧养殖业的发展,畜禽饲料中添加的激素、抗生素类产品带来的负面影响已引起人们的注意。越来越多的研究结果表明,这些添加剂的长期使用会引起病原微生物产生抗药性,并使药物在畜产品及环境中残留,严重威胁着人类健康和生态环境安全。近年来,随着全球性食品安全和环保意识的普及与提高,禁止抗生素添加剂在畜牧生产中应用的呼声越来越高。提高畜禽免疫功能和营养素利用率,生产绿色、安全畜产品,是二十一世纪全球高效低耗少污染养殖业发展的必然趋势,因此,寻求绿色饲料添加剂替代抗生素已成为动物营养与饲料科学研究的热点。甲壳素的脱乙酰产物——壳聚糖,具有独特的物化性质和生理功能。近年来,壳聚糖在医药、食品、化妆品、包装、农业及环保等诸多方面已经开始应用,且前景良好。壳聚糖作为一种天然、绿色的环保高分子物质,具有可生物降解性、可食性及生物相容性等特点,并且安全无毒,对环境无公害。有研究表明,甲壳素和壳聚糖及其衍生物作为饲料添加剂能增强机体免疫机能、提高动物抗应激、抗疾病能力、改善动物生产性能,且具有无残留、不易产生耐药性等优点,因此,壳聚糖作为新型绿色饲料添加剂已引起研究者的广泛关注。

综合前人研究报道可以看出,目前国内外关于壳聚糖降低肉仔鸡脂肪消化吸收的研究报道很多,但关于其对肉仔鸡生长性能、免疫功效、肠道系统影响的研究较少或结果不尽一致。针对上述情况,本课题即在前人研究的基础上,探讨壳聚糖对肉仔鸡生产性能及相关激素、免疫功能、肠道系统及一些血液指标的影响,为壳聚糖在肉仔鸡日粮中的科学应用提供理论依据。

本论文拟研究以下几方面内容:

(1)壳聚糖对肉仔鸡生长性能的影响;

- (2) 壳聚糖对肉仔鸡免疫功能的影响；
- (3) 壳聚糖对肉仔鸡血液指标的影响；
- (4) 壳聚糖对肉仔鸡肠道系统相关指标的影响。

2 试验研究

2.1 壳聚糖对肉仔鸡生长性能的影响

2.1.1 引言

壳聚糖作为自然界唯一的碱性多糖,具有优良的生物相容性,可被溶菌酶溶解,也可生物降解,其降解产物无毒,并能被生物体完全吸收,且来源丰富,在医药、食品、化妆品、农业及环境等方面应用较为广泛。而壳聚糖作为一种极有潜力的绿色饲料添加剂,只是在近几年才开始进行研究和开发的。目前关于壳聚糖对肉仔鸡脂肪代谢影响的研究报道较多,但对肉仔鸡生长性能影响的研究报道较少,而且报道结果不一。一些研究表明,壳聚糖能促进肉仔鸡生长,但也有研究表明,壳聚糖对肉仔鸡生长无影响或有负效应。综合这些报道结果,壳聚糖对肉仔鸡生长性能的影响可能与添加剂量有关,即较高剂量的壳聚糖抑制生长,而较低剂量的壳聚糖促进生长。目前,关于壳聚糖在肉仔鸡日粮中的适宜添加量报道不一,且壳聚糖影响肉仔鸡生长的确切机理还有待于通过大量的研究进行探讨。针对以上情况,本试验在肉仔鸡日粮中添加不同剂量的壳聚糖,研究壳聚糖对肉仔鸡生长性能的影响,旨在探讨壳聚糖的添加剂量与促生长效果之间的关系,并筛选出壳聚糖的适宜添加剂量,为壳聚糖在实际生产中的应用提供理论依据。

2.1.2 材料与方法

2.1.2.1 试验材料

试验用所用壳聚糖由山东济南海德贝海洋生物工程有限公司提供,脱乙酰度为90.52%。

2.1.2.2 试验动物与试验设计

试验采用单因子随机试验设计方法,选择1日龄健康AA雄性肉仔鸡240只,随机分成6个日粮处理组,每个处理设5个重复,每个重复8只鸡。六种日粮分别是在基础日粮中添加0(对照组)、50、200、500、1000和2000mg/kg的壳聚糖配制而成(见表1)。

表 1 试验设计

Table 1 Experimental design

处理 Treatment	I	II	III	IV	V	VI
壳聚糖添加水平 Levels of chitosan(mg/kg)	0	50	200	500	1000	2000

2.1.2.3 基础日粮组成

试验以玉米和大豆粕为主要原料,按照肉仔鸡生长发育阶段配制基础日粮。试验分 0~3 周龄和 4~6 周龄两阶段进行,基础日粮配方和营养水平详见表 2。各组试验日粮均以粉料形式饲喂。

表 2 基础日粮组成及营养水平 (%)

Table 2 Composition and nutritional levels of basal diets (%)

项目 Items		
组成 Ingredients	1-21d	21-42d
玉米 Corn	52.69	58.98
豆粕 Soybean meal	40.00	33.80
豆油 Soybean oil	3.00	3.00
石粉 Limestone	1.10	1.80
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.90	1.25
食盐 Salt	0.37	0.37
蛋氨酸 Met	0.19	0.07
赖氨酸 Lys	0.05	0.03
微量元素预混剂 Microelement premix	0.50	0.50
维生素预混剂 Vitamin premix	0.20	0.20
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient level		
代谢能 ME(MJ/kg)	12.71	12.78
粗蛋白 CP	21.37	18.99
钙 Ca	1.08	1.03
总磷 Total P	0.62	0.55
赖氨酸 Lys	1.25	1.10
蛋氨酸 Met	0.54	0.39

注: 每 kg 基础日粮中添加(Supplemental trace elements and vitamins within a kilogram of basic diet): Fe (as ferrous sulfate) 80mg; Zn (as zinc sulfate) 80mg; Mn(as manganese sulfate) 80mg; Cu (as copper sulfate) 8mg; I (as calcium iodate) 0.35 mg; Se (as sodium selenite) 0.15 mg; V_D 1250IU, V_E 15IU, V_K 2.2mg, V_{B1} 1.5mg, V_{B2} 8.0mg, V_{B6} 2.5mg, V_{B12} 0.011mg, 烟酸 nicotinic acid 44mg, 泛酸 (VB₃) 11mg, 叶酸 folic acid 0.9mg, 生物素 biotin 0.11mg, 胆碱 choline 550mg.

2.1.2.4 饲养管理

试验前对鸡舍、用具进行消毒处理。试验鸡采用肉鸡笼单层笼养,每一处理的五

个重复组按鸡笼的位置不同分开排列,以消除环境因素的影响。鸡笼均采用红外线加热装置自动控温,试验期内保持 24 h/d 恒定光照和机械通风制度,在前 3 d 内舍温保持 33℃,之后每周降低 3℃,直至降到 24℃后保持恒定不变。试验期内每天人工清粪一次。试验鸡自由采食,自由饮水,按常规免疫程序进行免疫,并于 8 日龄皮下注射新城疫油苗进行加强接种。各组的试验条件均保持一致。每天观察鸡群精神状态,其余管理同肉鸡常规饲养管理。

2.1.2.5 试验方法与检测指标

试验全期以重复组为单位,准确记录不同阶段的采食量并观察鸡群的变化。在 14、28 和 42 日龄末,逐只鸡进行早晨空腹称重,分别计算 14、28 和 42 日龄试验鸡的平均体重,并计算 1~14、14~28、28~42 及 1~42 日龄试验鸡平均采食量、平均料肉比及平均日增重,以此评定壳聚糖对肉仔鸡生长性能的影响。

2.1.2.6 数据统计分析

试验数据利用 SAS(SAS Institute 8.01, 1998) 软件的统计程序进行统计分析。

2.1.3 结果与分析

2.1.3.1 壳聚糖对肉仔鸡平均日增重的影响

表 3 列出了不同处理组肉仔鸡的平均日增重。结果表明:1~14 日龄期间,除 2000 mg/kg 之外,其他壳聚糖组肉仔鸡平均日增重高于对照组,其中 50 mg/kg 组平均日增重最高,高于对照组 8.01%;15~28 日龄期间,除 2000 mg/kg 壳聚糖组之外,其他壳聚糖组肉仔鸡平均日增重高于对照组,其中 200 mg/kg 组比其他壳聚糖组高,比对照组高 7.99%;29~42 日龄期间,较低添加量(50 mg/kg 和 200 mg/kg)壳聚糖组肉仔鸡平均日增重高于对照组,分别高 3.73%和 15.35%。壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果表明,在 1~14 日龄和 29~42 日龄的试验期间,随着壳聚糖添加剂量的增高,肉仔鸡平均日增重呈一定的一次线性剂量依赖关系($P_1=0.106$, 0.107)。

由表 3 和图 1 可知,整个试验期间(1~42 日龄),与对照组相比,50 和 200 mg/kg 壳聚糖组的肉仔鸡平均日增重高于对照组,分别提高了 4.86%和 10.21%,但从回归分析结果看,未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

综合上述试验结果可知,日粮中添加适量的壳聚糖可促进肉仔鸡的生长,添加水平较低时,促生长效果较好;尤以 200 mg/kg 壳聚糖组效果最佳;但添加水平较高时,反而未表现出明显的促生长效果。

表 3 壳聚糖对肉仔鸡平均日增重的影响 (g/d)

Table 3 The effects of chitosan on average daily gain in broilers (g/d)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
1-14d	28.20	30.46	28.90	28.36	28.77	27.71	0.696	0.106	0.276
15-28d	56.93	59.57	61.48	57.36	57.23	55.16	2.813	0.218	0.473
29-42d	67.30	69.81	77.63	66.53	62.76	61.36	4.699	0.107	0.269
1-42d	50.81	53.28	56.00	50.75	49.59	48.08	2.838	0.429	0.603

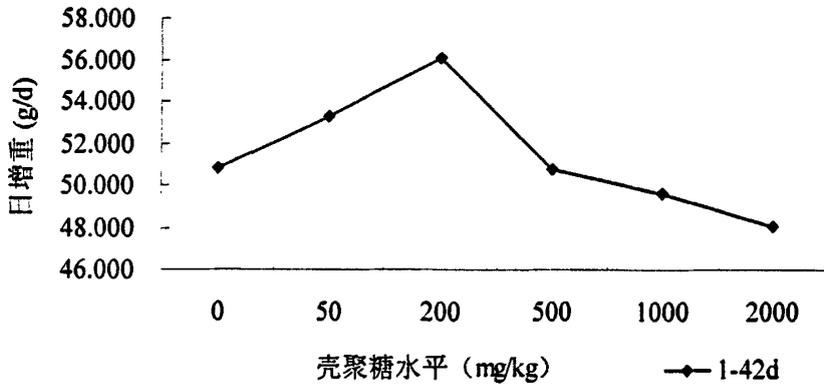


图 1 肉仔鸡平均日增重(1~42 d)

Fig.1 The average daily gain of broilers (1~42 d)

2.1.3.2 壳聚糖对肉仔鸡平均日采食量的影响

表 4 列出了不同处理组肉仔鸡的平均日采食量。结果表明：与对照组相比，1~14 日龄期间，壳聚糖组的肉仔鸡平均采食量均有增加趋势，其中 500 mg/kg 壳聚糖组效果最佳，比对照组高 3.99%；15~29 日龄期间，50、200 和 500 mg/kg 壳聚糖组的肉仔鸡平均日采食量与对照组相比有所增加。在 29~42 日龄期间，50 和 200 mg/kg 壳聚糖组的肉仔鸡平均日采食量高于对照组，其中 200 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡平均日采食量最高，比对照组高 10.73%。在各期试验期间，壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 4 壳聚糖对肉仔鸡平均日采食量的影响 (g/d)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
1-14d	39.34	40.83	40.17	40.91	39.48	39.90	0.828	0.676	0.913
15-28d	109.18	112.54	111.60	111.24	108.42	107.25	4.013	0.361	0.664
29-42d	147.16	147.54	162.95	144.46	145.34	141.27	10.610	0.384	0.688
1-42d	98.56	100.30	104.91	98.87	97.75	96.14	4.786	0.382	0.687

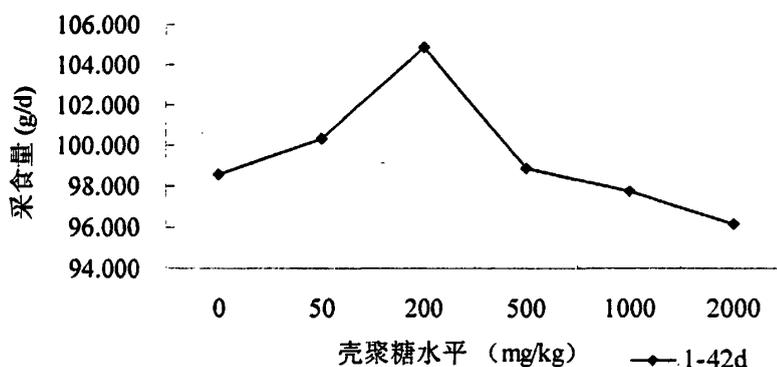


图 2 肉仔鸡平均日采食量(1~42 d)

Fig.2 The average daily feed intake of broilers (1~42 d)

从表 4 和图 2 可见, 试验全期(1~42 日龄) 较高添加剂量(1000 和 2000 mg/kg) 组肉仔鸡平均采食量低于对照组, 其余的高于对照组。200 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡平均采食量最高, 相对与对照组提高了 6.44%。在全期试验期间, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

综合肉仔鸡全期试验结果可知, 日粮中添加适量的壳聚糖可促进肉仔鸡的采食量, 添加水平较低时, 促生长效果较好; 尤以 200 mg/kg 壳聚糖组效果最佳; 但添加水平较高时, 反而未表现出明显的促生长效果。在试验全期, 平均采食量呈先增加而后再下降的趋势。

2.1.3.3 壳聚糖对肉仔鸡料肉比的影响

表 5 列出了不同处理组对肉仔鸡料肉比的影响。结果表明: 与对照组相比, 1~14 日龄期间, 50、200、1000 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡料肉比低于对照组, 其中 50 mg/kg

壳聚糖组的效果最佳, 比对照组低 4.29%。1~14 日龄期间, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现二次曲线下降趋势($P_2=0.08$); 15~28 日龄期间, 50、200、1000 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡料肉比低于对照组, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现二次曲线下降趋势($P_2=0.08$); 29~42 日龄期间, 50、200、500 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡的料肉比低于对照组, 其中 200 mg/kg 组的效果最佳, 低于对照组 4.11%。但未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 5 壳聚糖对肉仔鸡平均料肉比的影响

Table 5 The effects of chitosan on the ratio of feed to gain in broilers

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
1-14d	1.40	1.34	1.39	1.44	1.37	1.44	0.024	0.080	0.223
15-28d	1.92	1.89	1.82	1.94	1.89	1.94	0.060	0.080	0.201
29-42d	2.19	2.11	2.10	2.17	2.32	2.30	0.111	0.844	0.553
1-42d	1.83	1.78	1.77	1.85	1.86	1.90	0.053	0.349	0.297

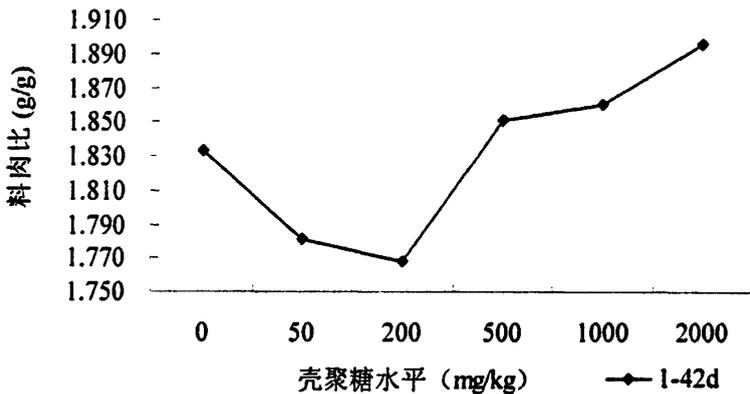


图 3 肉仔鸡料肉比(1~42 d)

Fig.3 The ratio of feed to gain in broilers (1~42 d)

从表 5 和图 3 可见, 全期试验期间(1~42 日龄), 较低剂量(50 和 200 mg/kg)壳聚糖组肉仔鸡料肉比低于对照组。50 mg/kg 壳聚糖组比对照组降低了 2.73%, 200 mg/kg 壳聚糖组相对于对照组降低了 4.54%。此外, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

综合肉仔鸡全期试验结果可知,日粮中添加适量的壳聚糖可降低肉仔鸡的料肉比,添加水平较低时,促生长效果较好;尤以 200 mg/kg 壳聚糖组效果最佳;但添加水平较高时,反而未表现出明显的促生长效果。

2.1.4 讨论

目前国内外已有一些关于壳聚糖对肉仔鸡生长性能影响的报道。Kobayashi 等(2002)在玉米—豆粕型基础日粮中分别加入 50 mg/kg 壳聚糖饲喂蛋公雏(8~29 日龄),结果表明,添加壳聚糖可以抑制脂肪沉积,并不会降低饲料利用率^[9]。Razdaz 和 Pettersson(1994)试验发现,在肉仔鸡基础日粮中添加 30 mg/kg 的壳聚糖,进行到试验第 10 天和第 18 天时,饲料转化率升高($P<0.05$)^[14]。马小珍等(2001)给肉仔鸡饲喂壳聚糖添加量为 10、20 和 30g/kg 的日粮,结果表明,壳聚糖添加量为 10 与 20g/kg 日粮组肉仔鸡生长速度显著高于对照组,添加 30g/kg 时反而抑制生长,这可能因为壳聚糖添加水平升高会干扰脂肪代谢、减少脂肪吸收,进而减少体脂沉积。Fuentes 等(1999)试验得出结论,在产蛋鸡日粮中添加 20、30g/kg 壳聚糖对蛋鸡的产蛋量、采食量、饲料转化率及蛋重等指标均无产生显著影响。王秀武(2003)研究结果表明,日粮中添加 0.1%的壳聚糖可显著提高肉仔鸡增重($P<0.05$),8 周龄体重比对照组提高 18%,料重比较对照组降低 3.4%^[15]。朱立贤等(2003)研究了日粮中添加低剂量壳聚糖(0、200、600、1000 mg/kg)对 1、2 周龄肉仔鸡的影响,发现随着壳聚糖添加浓度的上升,肉仔鸡生产性能呈上升趋势^[13]。史彬林(2005)在肉仔鸡日粮添加 200~300 mg/kg 壳聚糖均表现出一定的促生长作用,添加量为 500 mg/kg 时促生长作用最明显,而当添加量达到 5000 mg/kg 时,未表现出促生长效果^[16]。郭玉英(2005)的研究证实,肉仔鸡的生长速度还受壳聚糖的脱乙酰度、添加日龄、添加量、添加方法和其他可能因素的影响^[25]。综合上述情况,壳聚糖在日粮中添加量过大会使肉仔鸡生长性能降低,而在一定添加剂量范围内会促进生长。

本次试验结果表明,添加剂量为 50、200 mg/kg 壳聚糖组与对照组相比,表现出了不同程度的促生长作用,其中 200 mg/kg 壳聚糖组促生长效果最好,其平均采食量、日增重及饲料转化效率最佳;而较高剂量的壳聚糖组不仅未表现出促进生长效果,而且饲料转化效率也下降。这进一步说明了壳聚糖的促生长效果与壳聚糖的添加剂量有关,低剂量壳聚糖具有较好的促生长作用,而高剂量的壳聚糖不能促进甚至抑制动物的生长。

2.1.5 小结

通过本次试验初步得出:日粮壳聚糖对肉仔鸡的促生长作用与其添加剂量有关,添加 200 mg/kg 时,促生长作用最明显。添加量高于 200 mg/kg 时,肉仔鸡生长性能却有下降趋势。

2.2 壳聚糖对肉仔鸡免疫功能的影响

2.2.1 引言

近年来,国内外对壳聚糖的生物学功能,尤其免疫功能有较多研究。虽然壳聚糖不能被机体消化吸收,但一些研究结果表明,壳聚糖能增强机体的非特异性免疫,具有较强的抗肿瘤活性,这主要归因于它可提高体内巨噬细胞的活性。壳聚糖分子结构中的氨基可被机体免疫系统识别,在一定程度上活化巨噬细胞,刺激血液循环中抗体的产生。也有研究表明,口服壳聚糖可增强机体的细胞免疫功能和体液免疫功能。壳聚糖可活化T淋巴细胞,加速T细胞的成熟和分化,促进T淋巴细胞释放免疫因子,激发机体细胞免疫应答,从而提高机体全身免疫应答水平。陈利玉等^[10]发现重组日本血吸虫铁蛋白(rSjFer)与壳聚糖结合后经滴鼻免疫,小鼠血中IgG和IgA均有明显提高。有人研究日粮中添加不同水平壳聚糖对肉仔鸡免疫指标的影响,结果发现,壳聚糖能增强肉仔鸡的免疫机能,并且存在剂量依赖关系。目前关于壳聚糖对家禽免疫功能影响的研究虽有一些报道,但在机理研究方面不够深入,尤其在壳聚糖对肉仔鸡外周血T淋巴细胞亚群的影响方面尚未见报道。本试验即在前人研究的基础上,探讨壳聚糖对肉仔鸡新城疫抗体滴度、外周血T淋巴细胞亚群、吞噬细胞及血清中IgA、IgM、IgG的影响,旨在为揭示壳聚糖对肉仔鸡的免疫作用机理提供依据。

2.2.2 试验材料与方法

2.2.2.1 试验材料

同试验一。

2.2.2.2 试验动物与试验设计

同试验一。

2.2.2.3 基础日粮组成

同试验一,详见表1。

2.2.2.4 测定指标与测定方法

2.2.2.4.1 新城疫抗体滴度(HI)

2.2.2.4.1.1 试剂、试验器材

病毒液、生理盐水;96孔塑料血凝板、离心机、振荡器、微量取样器。

2.2.2.4.1.2 测定方法

试样采集:试验肉鸡8日龄用新城疫IV系苗滴鼻点眼接种,同时皮下注射新城疫油苗加强接种。分别于28和42日龄时,每重复组随机抽取1只鸡(每处理组共5只)

进行采血，制备血清，采用微量血球血凝抑制试验法测定血清新城疫(ND)抗体滴度。

0.5%鸡红细胞的制备：取肝素抗凝血，3000 r/min 离心，弃去上清液，将红细胞泥用生理盐水洗涤、离心3次，之后，按1:200加入生理盐水，混匀。

微量血球血凝抑制法(HI)(傅先强, 1997)：在U型96孔塑料血凝板的每一排加样孔中，用微量取样器从第1孔到第12孔的每孔中加入25 μ L稀释液(生理盐水)。然后，在第一孔中加入25 μ L被检血清，用移液枪吹打混匀后吸取25 μ L移入第2孔，如此连续稀释到第12孔，从第12孔中吸取25 μ L弃去。每孔加入含四个单位的病毒液25 μ L，在振荡器上振荡1~2 min，放置20 min(18~22 $^{\circ}$ C)。每孔加入0.5%红细胞悬液，振荡1~2 min，放置60 min后判定结果。

2.2.2.4.2 T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及CD4⁺/CD8⁺比值

2.2.2.4.2.1 试剂、试验器材

淋巴细胞分层液(上海恒信化学试剂有限公司)，单抗CD3、CD4、CD8(USA，鼠抗鸡)由Southern Biotech公司提供，PBS(pH=7.4，C=0.01mol/L)，微量取样器，低温泡沫盒，冰浴盒，振荡器，水平式离心机(TDL-5-A)，肝素抗凝真空管(南昌市赣达医疗器械有限公司)，生物安全柜(哈东联实验仪器厂)，流式细胞仪(Becton Dickinson, FACSCalibur)。

2.2.2.4.2.2 测定方法

28和42日龄时，每重复组随机抽取1只鸡(每处理组共5只)，取新鲜鸡血于肝素钠抗凝采血管中，用微量取样器取血1mL(注意沿管壁取血，防止破坏红细胞)，迅速加入PBS(低温)1mL，充分混匀(速度不宜太快)，在盛有2 mL淋巴细胞分层液(预置于室温)的试管中沿管壁缓慢加入上述血液和PBS混合液，离心2000 r/min 25分钟，用一次性吸管吸取乳白色淋巴细胞层液体到预冷的离心管中，迅速放于冰浴盒中，加适量PBS(1~2mL)，尽量使每管液体量相同，4 $^{\circ}$ C下2000 r/min离心15分钟，倾弃上清液，加适量PBS，混匀，4 $^{\circ}$ C下2000 r/min离心10分钟，加入PBS 500 μ L，充分混匀，分装200 μ L混悬液两份，分别加入10 μ L CD4单抗、CD8单抗及CD3单抗，充分混匀，避光低温孵育30分钟，加PBS于0.5刻度线处，4 $^{\circ}$ C下1500 r/min离心5分钟，加PBS后上流式细胞仪测定。在流式细胞仪上用CELLQUEST软件获取1万个细胞，圈门淋巴细胞，获得CD3⁺、CD4⁺及CD8⁺比例，并计算CD4⁺/CD8⁺比值。

2.2.2.4.3 单核-巨噬细胞吞噬指数

2.2.2.4.3.1 试剂、试验器材

印度墨汁(北京市西中化工厂生产)、0.1%Na₂CO₃溶液、生理盐水；723分光光度计(上海精密科学仪器有限公司制造)、电子天平、微量取样器(芬兰产)。

2.2.2.4.3.2 测定方法

采用碳廓清试验方法进行测定。试验进行至 28 日龄，早 8:00 从各处理的每重复组中选 1 只体重接近于组内平均体重的肉仔鸡称重。将印度墨汁(北京市西中化工厂生产)用生理盐水按 1:4 进行稀释后，每只鸡翅静脉注射 3mL 左右(2mL/kg 体重)。注射后立即计时，间隔 2 min(T_2)和 10 min(T_{10})时分别从翅静脉取血 40 μ L，迅速加到含 4 mL 0.1% Na_2CO_3 溶液的玻璃小瓶中摇匀，用 721 分光光度计于 600 nm 波长处比色，测定光密度 OD 值(以下分别用 OD_2 和 OD_{10} 表示 2 min 和 10 min 时所取血样稀释液的光密度)，用 0.1% Na_2CO_3 溶液做空白对照。然后处死鸡，取肝脏和脾脏称重，按如下公式计算碳廓清指数 K 值和吞噬指数 a 值。

$$\text{碳廓清指数 } k = (\lg \text{OD}_2 - \lg \text{OD}_{10}) / 8$$

$$\text{吞噬指数 } a = \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重}) \times k^{1/3}$$

OD_2 : 2 min 测得的光密度值

OD_{10} : 10 min 测得的光密度值

2.2.2.4.4 血清免疫球蛋白 (IgA、IgM) 及 IgG

2.2.2.4.4.1 试剂及试验器材

IgA 反应剂和抗血清液、IgM 反应剂和抗血清液、IgG 反应剂和抗血清液(均由潍坊三维生物工程集团有限公司提供)，蒸馏水，能在波长 340nm 及 700nm 处测定的生化分析仪。

2.2.2.4.4.2 测定方法

免疫比浊法：血清中 IgA、IgM、IgG 与其相应特异性抗体在液相中相遇，立即形成抗原—抗体复合物，并产生一定的浊度。浊度高低与样品中 IgA、IgM、IgG 含量成正比。

2.2.2.5 试验数据处理

试验数据利用 SAS 软件(SAS Institute, 1998)的统计程序进行统计分析。

2.2.3 结果与分析

2.2.3.1 壳聚糖对肉仔鸡新城疫抗体滴度(HI)的影响

表 6 和图 4 列出了不同处理组对肉仔鸡新城疫抗体滴度(HI)的影响。28 日龄时，壳聚糖组肉仔鸡新城疫抗体滴度均高于对照组。与对照组相比，50 和 200 mg/kg 壳聚糖组提高了 6.60%，500 mg/kg 壳聚糖组提高了 8.69%，1000 mg/kg 壳聚糖组最高，比对照组高 12.05%，2000 mg/kg 壳聚糖组比对照组高 11.24%；42 日龄时，除 2000 mg/kg 壳聚糖组，其他处理组肉仔鸡新城疫抗体滴度高于对照组，并出现随添加剂量

的增加,先增加再减少的趋势。其中 200 mg/kg 壳聚糖组最高,比对照组高 5.49%。但从回归分析结果看,均未呈现出一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 6 壳聚糖对肉仔鸡血清新城疫抗体滴度的影响

Table 6 The effects of chitosan on ND antibody titer in serum of broilers (Log₂)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
28d	8.63	9.20	9.20	9.38	9.67	9.60	0.467	0.221	0.348
42d	9.10	9.20	9.60	9.50	9.20	9.00	0.447	0.663	0.104

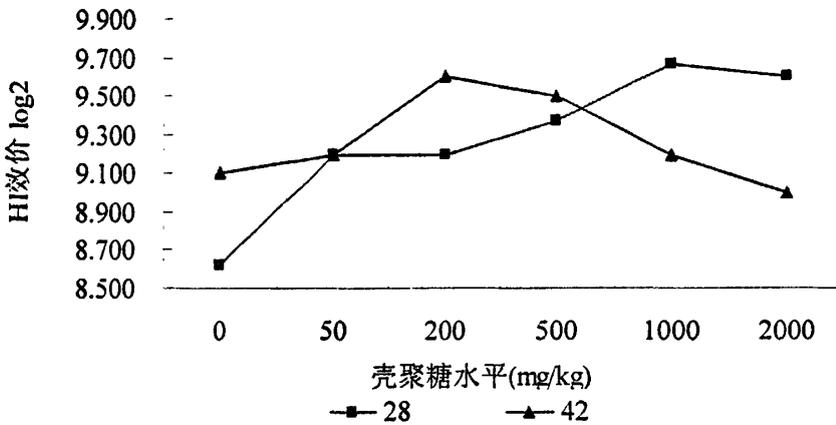


图 4 肉仔鸡血清中新城疫抗体滴度

Fig.4 The ND antibody titer in serum of broilers

综合肉仔鸡全期试验结果可知,日粮中添加适量的壳聚糖可提高肉仔鸡的新城疫抗体滴度。在 28 日龄时添加水平较高(1000 和 2000 mg/kg)时,HI 效价较高;而在 42 日龄时添加水平较低(200 和 500 mg/kg)时,HI 效价较高,尤以 200 mg/kg 壳聚糖组效果最佳。

2.2.3.2 壳聚糖对肉仔鸡 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺比值的影响

从表 7、图 5、图 6 及图 7 可见,28 和 42 日龄时各壳聚糖添加组肉仔鸡血液中 CD3⁺、CD4⁺及 CD8⁺含量测定值大多数高于对照组,其中添加量为 1000 mg/kg 时三种 T 淋巴细胞亚群的含量均表现出较高水平。但从回归分析结果看,在 28 日龄时,仅有 CD8⁺含量随壳聚糖添加量的增加呈显著的二次曲线上升变化(P=0.038),而 CD3⁺和

CD4⁺则未出现明显的剂量依赖关系;在 42 日龄时, CD3⁺呈现较明显的一次线性($P=0.051$)或二次曲线($P=0.074$)上升趋势, CD4⁺也呈显著的一次线性($P=0.010$)或二次曲线($P=0.038$)升高, 而 CD8⁺则未出现明显的剂量依赖关系。

表 7 壳聚糖对肉仔鸡外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺的影响

Table 7 The effects of chitosan on CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood of broilers

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
CD3 ⁺ (%)									
28d	28.22	31.05	28.72	22.80	31.98	27.47	4.462	0.873	0.986
42d	25.37	32.32	27.02	32.46	37.05	35.28	3.543	0.051	0.070
CD4 ⁺ (%)									
28d	16.07	21.07	21.64	17.78	23.16	17.23	3.709	0.848	0.615
42d	17.04	21.22	18.16	21.46	23.14	21.24	1.630	0.128	0.075
CD8 ⁺ (%)									
28d	17.31	16.22	18.99	19.71	23.51	13.14	2.826	0.540	0.040
42d	15.19	17.48	17.10	18.60	20.58	15.80	2.304	0.940	0.200
CD4 ⁺ /CD8 ⁺									
28d	0.93	1.30	1.07	0.90	0.99	1.31	0.199	0.120	0.070
42d	1.12	1.21	1.06	1.15	1.12	1.36	0.164	0.010	0.010

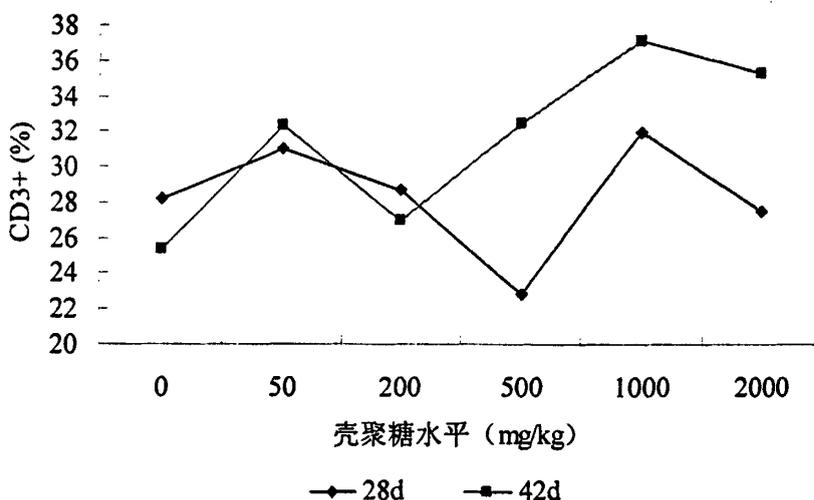


图 5 肉仔鸡外周血中 CD3⁺

Fig. 5 CD3⁺ in peripheral blood of broilers

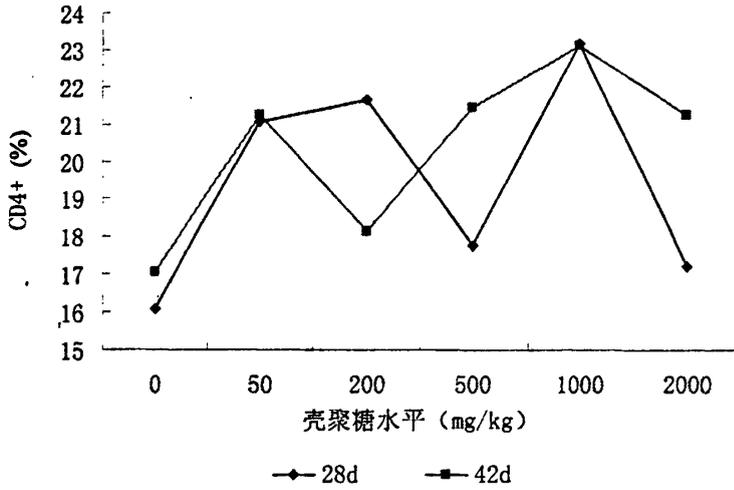


图 6 肉仔鸡外周血中 CD4⁺

Fig. 6 CD4⁺ in peripheral blood of broilers

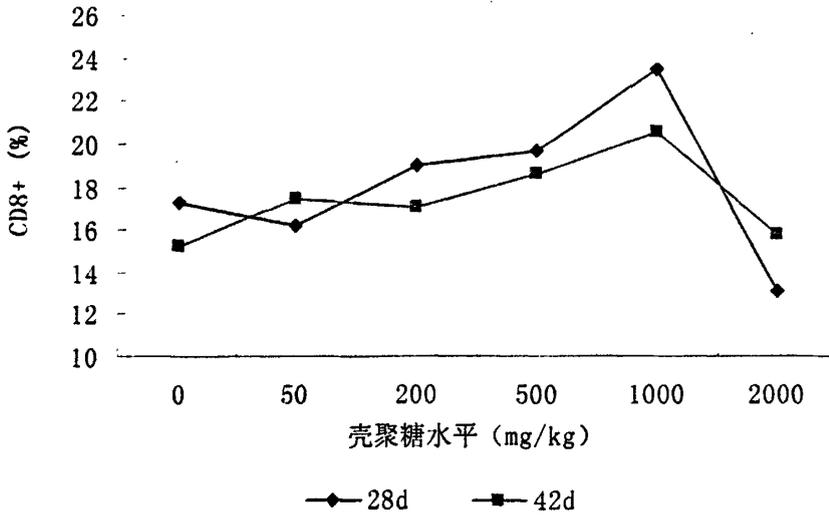


图 7 肉仔鸡外周血中 CD8⁺

Fig. 7 CD8⁺ in peripheral blood of broilers

从表 7 和图 8 可见, CD4⁺/CD8⁺比值不论在 28 或 42 日龄时均以 2000 mg/kg 的处理组最高。从回归分析结果看, CD4⁺/CD8⁺比值在 28 日龄时呈现一定的一次线性(P=0.126)或二次曲线(P=0.069)升高趋势, 而在 42 日龄时则呈极显著的一次线性(P=0.010)或二次曲线(P=0.008)剂量依赖关系。

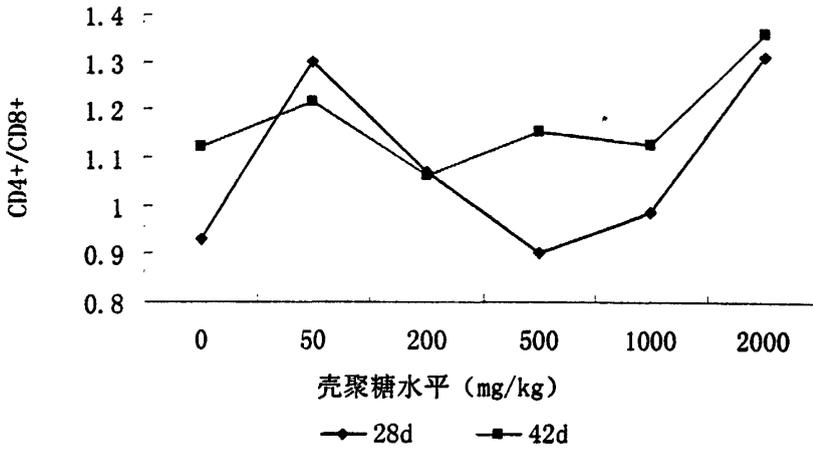


图 8 肉仔鸡外周血中 CD4⁺/DC8⁺

Fig. 8 CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood of broilers

综合肉仔鸡全期试验结果可知，日粮中添加适量的壳聚糖对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群有影响。壳聚糖添加水平较高(1000 mg/kg)时，对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群的影响最明显；在 42 日龄时，CD3⁺、CD4⁺及 CD4⁺/CD8⁺呈现一定的一次线性或二次曲线升高趋势。

2. 2. 3. 3 壳聚糖对肉仔鸡血液单核-巨噬细胞吞噬指数的影响

从表 8 和图 9 列出 28 日龄时壳聚糖对肉仔鸡血液单核-巨噬细胞吞噬指数。壳聚糖组的肉仔鸡血清单核-巨噬细胞吞噬指数均高于对照组，其中 50 mg/kg 壳聚糖组效果最佳，比对照组高 67.98%。但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 8 壳聚糖对肉仔鸡外周血单核-巨噬细胞吞噬指数的影响

Table 8 The effects of chitosan on phagocytic index of monocyte-macrophage in peripheral blood of broilers

时间 Time	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
28d	7.34	12.33	10.34	12.03	11.07	10.87	3.120	0.546	0.504

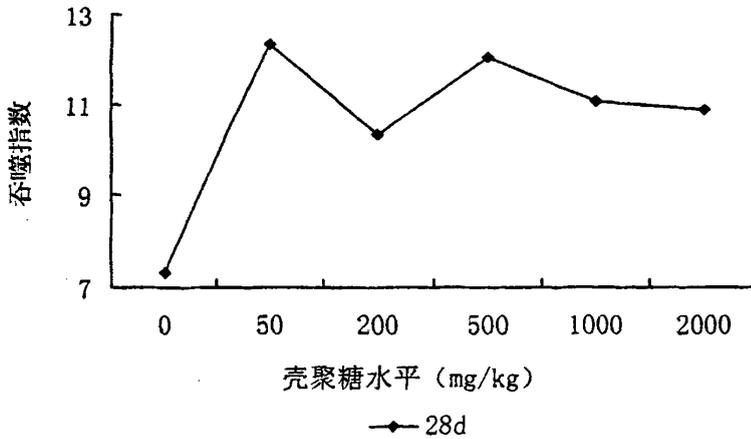


图9 肉仔鸡外周血单核-巨噬细胞吞噬指数

Fig. 9 The phagocytic index of monocyte-macrophage in peripheral blood of broilers

2.2.3.4 壳聚糖对肉仔鸡血清中 IgA、IgM、IgG 的影响

从表9和图10可见,28日龄时较高剂量壳聚糖组的肉仔鸡血清 IgA 高于对照组。500、1000、2000 mg/kg 壳聚糖组分别比对照组高出 44.44%、251.85%、144.44%。其中 1000 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡血清中 IgA 的含量高;42日龄时,壳聚糖组肉仔鸡血清中 IgA 均高于对照组,并出现随剂量得增加而先增加再减少的趋势。其中 500 mg/kg 壳聚糖组的肉仔鸡血清中 IgA 的含量高,比对照组高出 21.56%。但壳聚糖剂量效应的回归分析结果都未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

从表9和图11可见,28日龄时,除 200 mg/kg 壳聚糖组之外其他壳聚糖组肉仔鸡血清 IgM 高于对照组。其中 1000 mg/kg 壳聚糖组 IgM 含量最高,高于对照组 74.05%;42日龄时,壳聚糖组肉仔鸡血清中 IgM 均高于对照组,其中 1000 mg/kg 壳聚糖组 IgM 含量高,比对照组高出 17.91%。但壳聚糖剂量效应的回归分析结果都未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

从表9和图12可见,28日龄时,除 2000 mg/kg 壳聚糖组之外其他壳聚糖组肉仔鸡血清 IgG 高于对照组,并出现随剂量得增加而先增加再减少的趋势,其中 500 mg/kg 壳聚糖组 IgG 含量最高,高于对照组 60.87%;42日龄时,壳聚糖组肉仔鸡血清中 IgG 均高于对照组,也出现随剂量得增加而先增加再减少的趋势,其中 1000 mg/kg 壳聚糖组 IgG 含量最高,比对照组高 62.50%。壳聚糖剂量效应的回归分析结果显示,42日龄时呈现出一定的二次曲线剂量依赖关系($P_2=0.066$)。

表 9 壳聚糖对肉仔鸡血清免疫球蛋白 A、M、G 的影响

Table 9 Effects of chitosan on serum immunoglobulin A, M, and G in broilers

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次	二次
								Linear	Quadratic
IgA (g/L)									
28d	0.027	0.020	0.017	0.039	0.095	0.066	0.036	0.166	0.217
42d	0.167	0.167	0.180	0.203	0.197	0.174	0.023	0.875	0.488
IgM (g/L)									
28d	0.131	0.132	0.114	0.168	0.228	0.136	0.047	0.573	0.219
42d	0.296	0.319	0.334	0.310	0.349	0.332	0.022	0.410	0.565
IgG (g/L)									
28d	0.023	0.024	0.026	0.037	0.028	0.019	0.007	0.586	0.322
42d	0.032	0.037	0.044	0.047	0.052	0.040	0.006	0.602	0.066

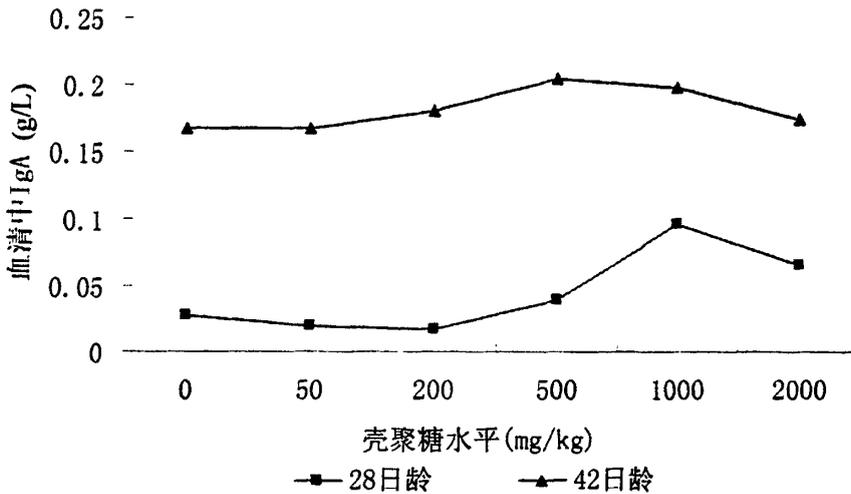


图 10 肉仔鸡血清免疫球蛋白 A

Fig.10 The contents of IgA in serum of broilers

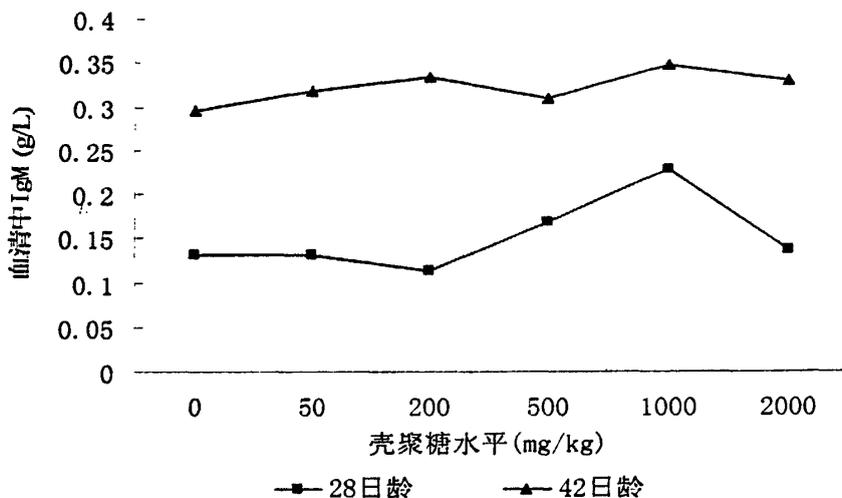


图 11 肉仔鸡血清免疫球蛋白 M

Fig.11 The contents of IgM in serum of broilers

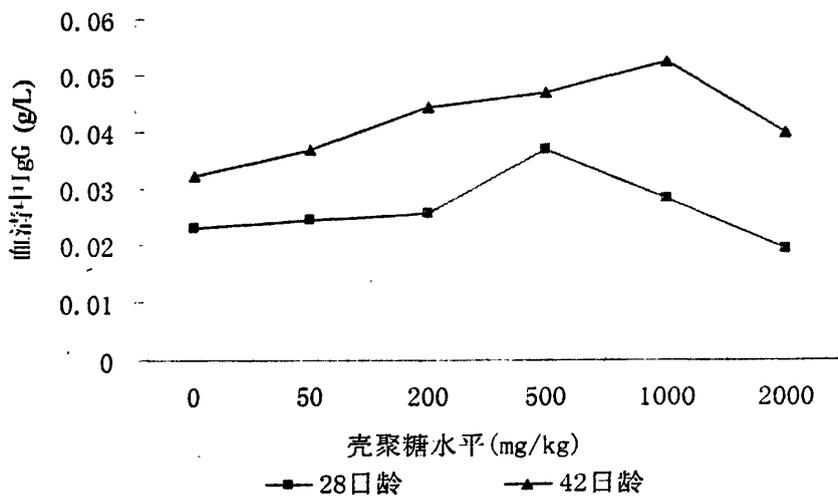


图 12 肉仔鸡血清免疫球蛋白 G

Fig.12 The contents of IgG in serum of broilers

综合上述情况，从试验全期看来，一定剂量的壳聚糖能提高肉仔鸡血清中免疫球蛋白的含量。对于免疫球蛋白 A 而言，添加 500 mg/kg 壳聚糖组效果最佳；对于免疫球蛋白 M 和免疫球蛋白 G 而言，添加 1000 mg/kg 壳聚糖组的效果最佳。

2.2.4 讨论

2.2.4.1 壳聚糖对肉仔鸡新城疫抗体滴度(HI)的影响

新城疫抗体滴度是反映鸡新城疫免疫状态的指标,也是反映特异性体液免疫功能的指标。朱立贤(2003)试验发现,壳聚糖在肉仔鸡日粮添加浓度为 200 mg/kg 时,新城疫抗体水平显著高于其他剂量,其抗感染保护作用也明显优于其他各组^[44]。本试验研究结果表明,肉仔鸡日粮中添加一定水平的壳聚糖能提高新城疫抗体滴度,对于肉仔鸡新城疫抗体滴度较低剂量(200 mg/kg)的壳聚糖组的效果最佳。

2.2.4.2 壳聚糖对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

目前,关于壳聚糖对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群影响的研究报道尚未见报道,然而在其他动物上的研究报道已有少量。T 淋巴细胞亚群的稳定是维持机体正常免疫调节功能所必需的,是评估机体细胞免疫功能的重要指标。CD3⁺抗体检测 T 淋巴细胞总数;CD4⁺是辅助/诱导细胞(Th/Ti)的标志,具有辅助 T 细胞转变为效应 T 细胞、B 细胞生成抗体和巨噬细胞活化等功能;CD8⁺是抑制性 T 细胞(Ts)的标志,维持机体内免疫系统的稳定。CD4⁺和 CD8⁺细胞是机体免疫调节的枢纽,CD4⁺/CD8⁺值较高时,表明机体处于较好的免疫状态,而当 CD4⁺/CD8⁺值不在一定的范围时,可能会导致各种免疫疾病发生。本试验研究结果表明,肉仔鸡日粮中添加一定水平的壳聚糖能增加外周血 T 淋巴细胞亚群。一定剂量的壳聚糖使肉仔鸡血液中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺值有所增加,且随添加剂量增加呈一次线性或二次线性上升趋势,而且在 42 日龄时,CD3⁺、CD4⁺及 CD4⁺/CD8⁺值表现出了更为明显的剂量依赖关系。

2.2.4.3 壳聚糖对肉仔鸡血液单核-巨噬细胞吞噬指数的影响

吞噬细胞是机体天然抵抗力的一个重要组成部分,也是非特异性免疫不可缺少的成分,因此,测定机体吞噬细胞的功能,对了解机体的非特异性免疫功能具有非常重要的意义。近些年来,关于壳聚糖对机体免疫功能的影响已被国际所公认。壳聚糖能增强机体的非特异性免疫,具有较强的抗肿瘤活性,其机理主要是提高巨噬细胞的活性。壳聚糖分子上有大量带正电荷的氨基,巨噬细胞和 T 淋巴细胞表面带有负电荷,正负电荷相互吸引可激活这些免疫细胞。魏涛等(2000)报道,壳聚糖具有增强巨噬细胞吞噬功能、细胞免疫功能、体液免疫功能等作用^[45]。东市朗和户仓清一利用甲壳质及其衍生物进行巨噬细胞活化实验,结果表明,脱去 30%乙酰基的甲壳质(DAC-30)、脱去 70%乙酰基的甲壳质(DAC-70)以及梭甲基(CM)甲壳质(取代率 80%)等均有极强的巨噬细胞活化能力,其中以 DAC-70 作用最强^[29]。Kosaka 等(1996)给狗的皮下埋植壳聚糖,结果发现,埋植壳聚糖的试验组在埋植后 24~96 小时内,其血液中白细胞,尤其是嗜中性粒细胞的数量增加^[30]。用化学发光分析法(Chemiluminescence, CL)测定表明,对照组手术后 24~120 小时内巨噬细胞活性显著减少,而埋植壳聚糖的试验

组却保持较高的巨噬细胞活性,说明壳聚糖可以防止外科手术造成的免疫抑制,是一种有效的免疫增强剂。此外,房国坚(1995)也报道,几丁质对小鼠吞噬细胞的吞噬功能具有明显的促进作用^[11]。本次实验结果表明,日粮中添加一定水平的壳聚糖能提高肉仔鸡血液单核-巨噬细胞吞噬指数,添加剂量为 500 mg/kg 的壳聚糖组的效果最佳。

2.2.4.4 壳聚糖对肉仔鸡血清免疫球蛋白(IgA、IgM、IgG)的影响

应自忠(2000)对小鼠的研究发现,壳聚糖能使小鼠外周血液中淋巴细胞总数和 T 淋巴细胞阳性率明显增高^[15]。还研究表明,当壳聚糖活化 T 细胞后,就可以向 B 细胞发出生产抗体群的指令,起到间接活化 B 细胞的作用,从而产生各种免疫球蛋白(IgG, IgM, IgA, IgE, IgD), IgG 可与具有相应受体的吞噬细胞、NK 细胞结合,从而对细菌等颗粒抗原发挥调理作用,进一步增强巨噬细胞的吞噬功能或产生 ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用),也就是说在增强体液免疫的同时,又增强非特异性免疫功能。本次实验结果表明,日粮壳聚糖能提高肉仔鸡血清中免疫球蛋白 IgA、IgM、IgG 的水平,以 500 和 1000 mg/kg 壳聚糖组效果较好。

2.2.5 小结

通过本次试验初步得到如下结论:日粮中添加一定剂量的壳聚糖可使肉仔鸡血清中新城疫抗体滴度和免疫球蛋白 IgA、IgM、IgG 的水平,以及血液单核-巨噬细胞吞噬指数有所提高,还能增加外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺和 CD8⁺ 的含量及 CD4⁺/CD8 比值,从而提高肉仔鸡的细胞免疫和体液免疫功能。

2.3 壳聚糖对肉仔鸡血液指标的影响

2.3.1 引言

目前,壳聚糖对肉仔鸡血液指标的影响方面的报道较多。朱立贤等研究发现,肉鸡饲料中添加400 mg/kg 壳聚糖对肉鸡血清胆固醇含量有降低作用^[10]。刘海英和马小珍等的试验结果也表明,壳聚糖能有效地降低肉仔鸡血液中的胆固醇和甘油三酯含量。杨正平等(2007)研究发现,壳聚糖添加组(100 mg/kg)与对照组相比,显著降低了血清中胆固醇和甘油三酯含量^[6]。试验中还发现添加壳聚糖后肉鸡血清中TP、IGF-1和GH含量相比对照组却显著升高($P<0.05$),血糖、血脂水平降低,蛋白质合成代谢水平升高,这在一定程度上表明壳聚糖可通过提高血清GH和IGF-1水平来改善肉鸡的生长性能。Tang等研究表明,日粮中添加250 mg/kg低分子壳聚糖可显著提高血清中GH和IGF-1浓度,并提高了肝脏和肌肉中IGF-1mRNA表达水平^[6],提示低分子量壳聚糖提高动物生长性能及蛋白质合成代谢的可能机制是促进了GH的生成,并进一步增加IGF-1的合成和释放。这些研究结果说明,日粮中添加一定剂量的壳聚糖能降低肉仔鸡血清中胆固醇和甘油三酯含量,并能提高血清中GH和IGF-1浓度。本试验即在前人研究的基础上,探讨壳聚糖对肉仔鸡部分血液生化指标的影响,以期从血液指标的角度探讨壳聚糖对肉仔鸡生长发育的影响机理。

2.3.2 试验材料与方法

2.3.2.1 试验材料

同试验一。

2.3.2.2 试验动物与试验设计

同试验一。

2.3.2.3 基础日粮组成

同试验一。

2.3.2.4 测定指标及方法

2.3.2.4.1 血清胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)

胆固醇由CHOD-PAP法(酶比色法),用紫外分光光度计比色测定,试剂来源于温州津马生物科技股份有限公司。

甘油三酯由GPO-PAP法(酶比色法),仪器及试剂来源同TC。

2.3.2.4.2 血清生长激素(GH)、类胰岛素生长因子-I (IGF-I)、促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(Cort)

按照放免试剂盒提供的方法测定，所用试剂盒购于北京华英生物技术研究所。

2.3.2.5 试验数据处理

试验数据利用 SAS 软件(SAS Institute, 1998)的统计程序进行统计分析。

2.3.3 结果与分析

2.3.3.1 壳聚糖对肉仔鸡血清胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)的影响

表 10 壳聚糖对肉仔鸡血清胆固醇和甘油三酯的影响

Table 10 Effects of chitosan on serum cholesterol and triglyceride in broilers

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
TC (mmol/L)									
28d	3.41	3.22	3.26	3.41	3.58	3.40	0.126	0.394	0.399
42d	2.87	2.82	2.63	2.66	2.73	2.66	0.045	0.086	0.070
TG (mmol/L)									
28d	0.47	0.36	0.34	0.37	0.31	0.31	0.058	0.158	0.260
42d	0.58	0.30	0.26	0.35	0.43	0.39	0.068	0.068	0.122

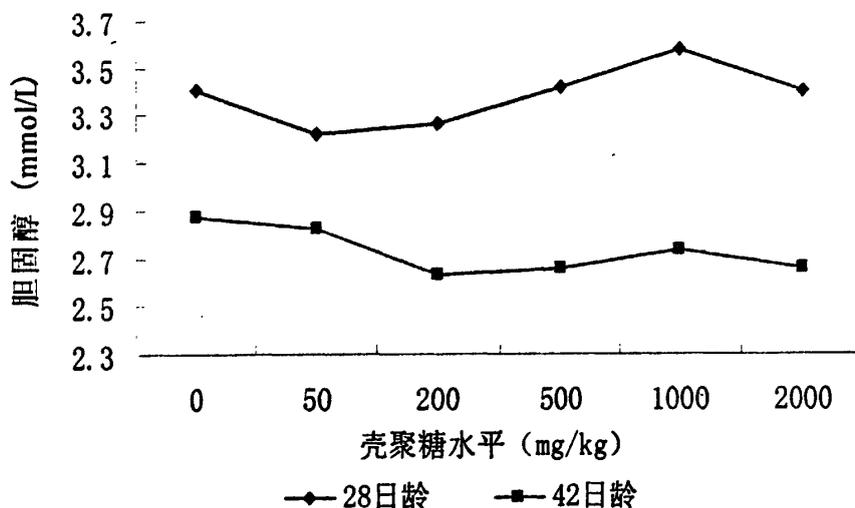


图 13 肉仔鸡血清胆固醇

Fig.13 The serum cholesterol of broilers

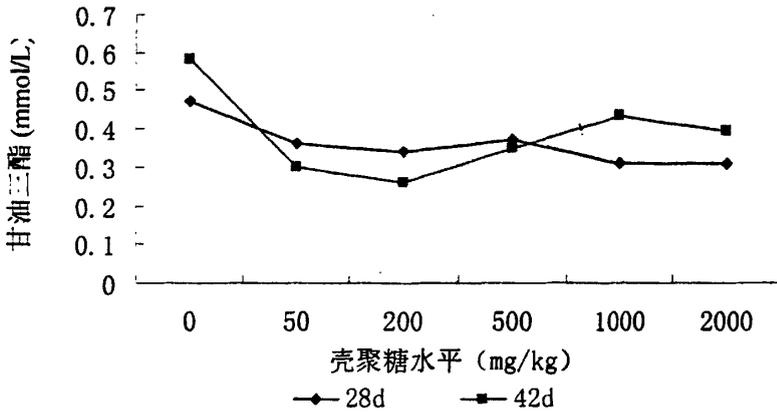


图 14 肉仔鸡血清甘油三酯

Fig.14 The serum triglyceride of broilers

从表 10 和图 13 可见, 28 日龄时较低剂量壳聚糖组肉仔鸡血清胆固醇浓度低于对照组。42 日龄时, 壳聚糖组均低于对照组, 呈现一定的一次线性($P_1=0.086$)或二次曲线($P_2=0.070$)降低趋势。其中 200 mg/kg 降低幅度最大, 比对照组低 8.63%。

从表 10 和图 14 可见, 28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡的血清甘油三酯浓度均低于对照组, 并呈现一定的一次线性下降趋势($P_1=0.158$)。其中 1000 和 2000 mg/kg 壳聚糖组的血清甘油三酯最低, 低于对照组 34.04%。42 日龄时, 壳聚糖组血清甘油三酯浓度均低于对照组, 其中 200 mg/kg 壳聚糖组的效果最佳, 比对照组低 55.17%, 呈现一定的一次线性($P_1=0.068$)或二次曲线($P_2=0.122$)降低趋势。

2.3.3.2 壳聚糖对肉仔鸡血清中激素水平的影响

表 11 和图 15 列出了壳聚糖对肉仔鸡血清生长激素的影响。14 日龄时, 除 50 mg/kg 壳聚糖组其他壳聚糖组肉仔鸡血清生长激素浓度均高于对照组, 并呈现一定的一次线性($P_1=0.059$)和二次曲线($P_2=0.133$)升高趋势。其中最高剂量(2000 mg/kg)壳聚糖组的生长激素的浓度最高, 比对照组高 19.62%; 28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡血清中生长激素浓度均高于对照组, 并呈现随剂量的增加生长激素的浓度先增加再减少的趋势。其中 200mg/kg 壳聚糖组生长激素浓度最高, 高于对照组 21.36%。28 日龄时, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果都未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系; 42 日龄时, 除 2000 mg/kg 组, 其他壳聚糖组肉仔鸡血清中生长激素浓度高于对照组, 其中 200 mg/kg 壳聚糖组生长激素浓度最高, 高于对照组 23.13%。42 日龄时, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现一次线性($P_1=0.070$)或二次曲线($P_2=0.175$)升高趋势。

表 11 壳聚糖对肉仔鸡血清生长激素、
类胰岛素生长因子-I、促肾上腺皮质激素、血清皮质酮的影响

Table 11 Effects of chitosan on serum growth hormone, insulin-like growth factor-I,
adrenocorticotrophic hormone and corticosterone in broilers

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
GH (ng/mL)									
14d	4.69	4.10	4.89	5.30	5.24	5.61	0.509	0.059	0.133
28d	4.26	4.48	5.17	5.02	4.92	4.73	0.401	0.698	0.431
42d	4.54	4.68	5.59	4.58	4.59	4.14	0.257	0.070	0.175
IGF-I (ng/mL)									
14d	154.83	170.18	179.86	170.13	163.12	173.02	21.468	0.847	0.982
28d	147.86	142.03	179.25	158.87	135.36	138.01	13.404	0.224	0.478
42d	133.36	148.05	152.65	157.92	129.30	136.68	14.428	0.467	0.215
ACTH (pg/mL)									
14d	23.38	19.83	22.66	20.69	17.72	18.43	1.456	0.026	0.037
28d	1942	20.67	22.06	19.05	21.85	20.24	1.402	0.473	0.690
42d	17.50	15.89	19.11	17.52	14.92	14.89	1.184	0.037	0.092
Cort (ng/mL)									
14d	336.40	361.14	327.25	323.74	403.45	348.29	29.904	0.533	0.553
28d	407.93	270.93	358.57	348.97	315.36	326.89	19.817	0.396	0.617
42d	365.85	317.17	302.01	352.54	328.16	331.84	23.838	0.980	0.997

从表 11 和图 16 可见, 14 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡血清中类胰岛素生长因子-I 浓度均高于对照组。其中 200 mg/kg 壳聚糖组类胰岛素生长因子-I 浓度最高, 高出对照组 16.17%; 28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡血清中类胰岛素生长因子-I 浓度均高于对照组。其中 200 mg/kg 壳聚糖组类胰岛素生长因子-I 浓度最高, 高于对照组 16.17%; 42 日龄时, 较低剂量(50 mg/kg、200 mg/kg、500 mg/kg)壳聚糖组肉仔鸡血清中类胰岛素生长因子-I 浓度分别高于对照组 7.00%、10.33%、14.14%。较高剂量(1000 和 2000 mg/kg)壳聚糖组血清中类胰岛素生长因子-I 浓度均低于对照组。从回归分析结果看, 各日龄时血清 IGF-I 均未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

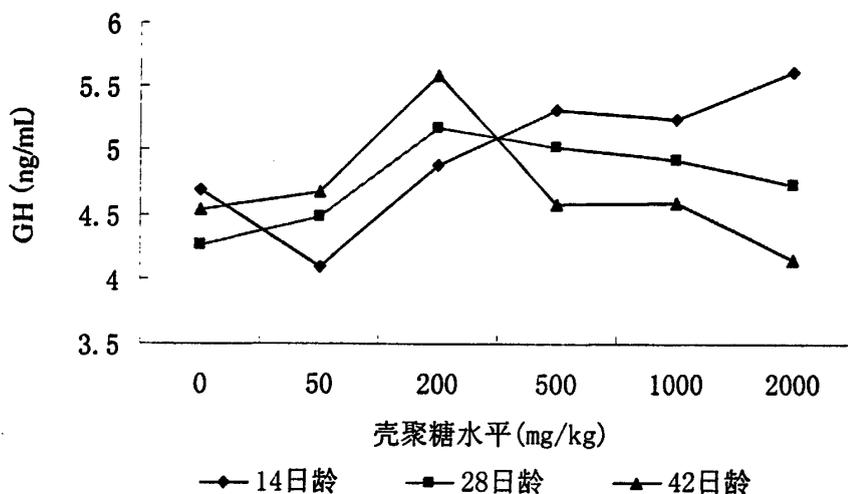


图 15 肉仔鸡血清生长激素

Fig.15 The serum growth hormone of broilers

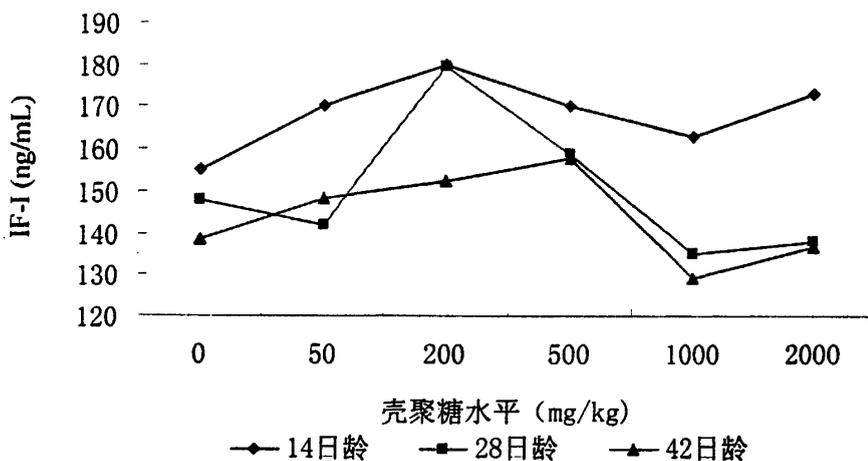


图 16 肉仔鸡血清类胰岛素生长因子-I

Fig.16 The serum insulin-like growth factor-I of broilers

表 11 和图 17 列出了壳聚糖对肉仔鸡血清中促肾上腺皮质激素的影响。14 日龄时,壳聚糖组肉仔鸡血清中促肾上腺皮质激素均低于对照组,其中较高剂量(1000 和 2000 mg/kg)壳聚糖组促肾上腺皮质激素浓度较低,分别低于对照组 24.21%和 21.17%。

14 日龄时, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现出显著的一次线性($P_1=0.026$)和二次曲线($P_2=0.037$)线性剂量依赖关系; 28 日龄时, 只有 500 mg/kg 壳聚糖组血清中促肾上腺皮质激素浓度低于对照组, 并未呈现出一次线性或二次曲线剂量依赖关系; 42 日龄时, 200 和 500 mg/kg 壳聚糖组高于对照组, 其余壳聚糖组肉仔鸡血清中促肾上腺皮质激素浓度低于对照组, 并呈现随剂量先增加再减少的趋势。较高剂量(1000 和 2000 mg/kg)壳聚糖组促肾上腺皮质激素浓度较低, 分别低于对照组 14.74% 和 14.91%。42 日龄时, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现出显著的一次($P_1=0.037$)线性剂量依赖关系。

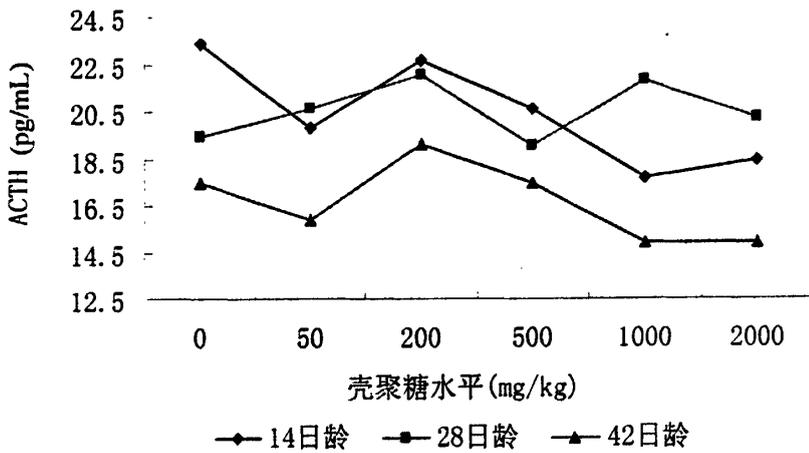


图 17 肉仔鸡血清促肾上腺皮质激素

Fig.17 The serum adrenocorticotrophic hormone of broilers

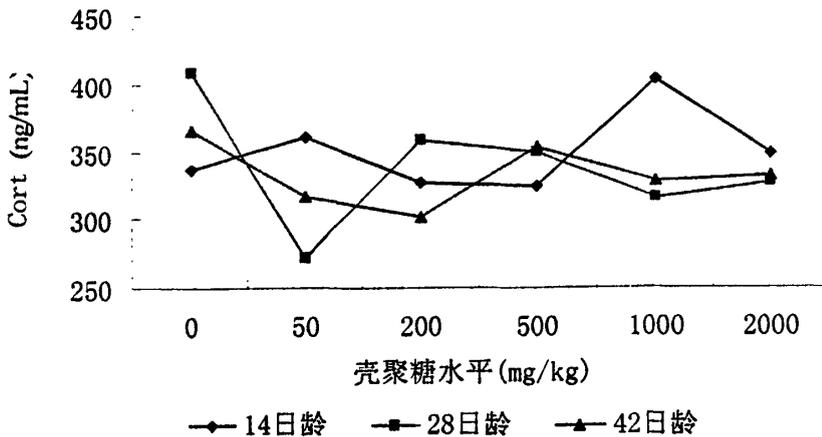


图 18 肉仔鸡血清皮质酮

Fig.18 The serum corticosterone of broilers

表 11 和图 18 显示出壳聚糖对肉仔鸡血清中皮质酮的影响。14 日龄时, 200 和 500 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡血清中皮质酮浓度低于对照组, 线性回归分析结果未呈现出一次线性或二次曲线剂量依赖关系; 28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡血清中皮质酮浓度均低于对照组, 其中 50 mg/kg 壳聚糖组皮质酮浓度最低, 低于对照组 33.58%。并线性回归分析结果未呈现出一次线性或二次曲线剂量依赖关系; 42 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡血清中皮质酮浓度均低于对照组, 其中较低剂量(50 和 200 mg/kg)壳聚糖组的皮质酮(Cort)浓度较低, 分别低于对照组 13.31%和 17.45%。42 日龄时, 壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

综合上述情况, 从全期实验结果来看, 日粮中添加一定剂量的壳聚糖可提高肉仔鸡血清中生长激素和类胰岛素生长因子-I 浓度, 降低肉仔鸡血清中促肾上腺皮质激素和皮质酮浓度。

2.3.4 讨论

2.3.4.1 壳聚糖对肉仔鸡血清胆固醇和甘油三酯的影响

血清中总胆固醇、甘油三酯是反映动物机体脂类代谢功能正常与否的两个重要指标。近些年来, 关于壳聚糖对肉仔鸡血清和肌肉中胆固醇、甘油三酯的研究较多。刘海英等(2003)试验结果表明, 日粮中添加 0.5%、1%、2%、3%、4%壳聚糖均可不同程度降低肉鸡血清中总胆固醇、甘油三酯、总脂含量^[60]。Razdan 等(1997)在 1 日龄肉仔鸡的日粮中添加 3%脱乙酰度为 89%的壳聚糖, 第 12 天血浆总胆固醇及高密度胆固醇的浓度显著下降^[61]。王述柏等(1998)在肉鸡饲料中添加 2%的壳聚糖(脱乙酰度为 91%), 经过 30 天的试验, 血清胆固醇含量比对照组降低 43.06mg/100mL, 腿肌和胸肌中胆固醇含量分别较对照组降低 5.08%和 4.96%^[17]。Nogueira 等(1999)报道, 在 8 周龄蛋鸡饲料中添加 2%或 3%壳聚糖可显著降低蛋黄中胆固醇含量^[24]。张丽英等(1998)在试验组蛋鸡饲料中添加 4%的壳聚糖, 血清和蛋黄胆固醇的含量分别由对照组的(108.11±12.80)mg /100mL 和(21.04±1.12)mg/g 降低至试验组的(85.94±10.78)mg/100mL 和(19.02±1.05)mg/g, 尤其在添加猪大油情况下效果更为明显。蛋黄中胆固醇含量低, 可能与血清胆固醇浓度的降低有关^[4]。本次试验结果表明, 日粮壳聚糖能降低肉仔鸡血清中胆固醇和甘油三酯, 200mg/kg 壳聚糖组的效果最佳。

2.3.4.2 壳聚糖对肉仔鸡血清中激素水平的影响

目前, 关于壳聚糖对肉仔鸡血清中与生长有关的激素和血清应激激素的报道较少。GH 的基本生理功能是刺激所有机体组织的发育, 增加体细胞的体积和数目, 它影响几乎所有的组织类型, 包括骨、软骨、脂肪组织、免疫系统和生殖系统, 各器官在 GH 的影响下生长变大, 骨骼增长导致机体的增高, 对脑组织和造血系统也有作用。禽类 GH 由 190 个左右氨基酸组成, 具有刺激蛋白质沉积、骨长度增加和限制脂肪沉

积的全身性作用,同时对鸡的多种生长性状有显著影响。类胰岛素生长因子(IGFs)是一类既有胰岛素样合成代谢作用,又有促生长作用的单链多肽。IGF-I是由第12号染色体的基因编码的含有70个氨基酸的碱性肽,结构与胰岛素相似,可以介导GH对机体的促生长作用,能刺激组织细胞的分化和增殖并产生胰岛素样作用(赵咏梅,2005)^[111]。GH/IGF-I轴是生长轴的重要组成部分,与动物机体的蛋白质、糖、脂类代谢紧密相连,其主要功能在于调控畜禽生长状况。体内IGF-I水平受GH的调控,IGF-I对GH的分泌亦有负反馈作用。IGF-I相对稳定,是反映动物生长速度的重要指标之一。IGF-I水平下降是动物遭受免疫应激的一个重要标志,表明营养物质由维持机体生长向免疫系统转移。杨正平等(2007)试验结果表明100 mg/kg和150 mg/kg壳聚糖添加组均能显著提高第42天血清中GH和IGF-I含量,维持GH/IGF-I轴的正常^[66]。Tang等的研究结果表明,日粮中添加250 mg/kg低分子壳聚糖可显著提高血清中GH和IGF-I浓度,并提高肝脏和肌肉中IGF-I mRNA表达水平^[66]。并得出结论,低分子量壳聚糖提高动物生长性能及蛋白质合成代谢的可能机制是促进了GH的生成,并进一步增加IGF-I的合成和释放。当畜禽遭受免疫应激的情况下,体内的炎症因子大量分泌,IGF-I水平降低,导致GH/IGF-I轴异常,进而导致糖、蛋白质、脂肪代谢紊乱,生长速度减慢。

促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(Cort)是家禽体内两种重要的应激激素,是衡量动物机体应激反应强弱的重要指标,其含量越高,说明机体的应激反应越强。应激能激活下丘脑-垂体-肾上腺轴,导致血浆中促肾上腺皮质激素和皮质酮升高。皮质醇是肾上腺皮质束状带及网状带分泌的糖皮质激素。其分泌因素受下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统的影响。当处于应激状态时,各种刺激通过神经通路进入大脑皮层及边缘系统,再由此发出信号进入下丘脑,内侧下丘脑促垂体区的一些神经元可将神经信号转换成激素信号,使CRH分泌增加,CRH经垂体门进入腺垂体,刺激ACTH的释放,ACTH作用于肾上腺皮质,使皮质醇分泌增加(陆晓军等,2002)^[112]。

本次试验结果表明,肉仔鸡日粮壳聚糖能提高血清中生长激素和类胰岛素生长因子,其中较低剂量200 mg/kg壳聚糖的效果较好。这也可能是壳聚糖能促进肉仔鸡生长性能原因。日粮壳聚糖能降低血清中促肾上腺皮质激素和皮质酮水平,其中较低剂量的效果较明显。这说明壳聚糖有抗免疫应激作用,但其确切的机理有待于进一步研究。

2.3.5 小结

通过本次试验初步得出:日粮中添加一定剂量的壳聚糖能降低肉仔鸡血清胆固醇和甘油三酯,提高生长激素和类胰岛素生长因子-I,同时降低促肾上腺皮质激素和皮质酮。表明日粮壳聚糖能够通过提高GH和IGF-I的分泌来促进生长,并在一定程度上缓解由应激反应所引起的生长性能下降和应激激素水平升高。

2.4 壳聚糖对肉仔鸡肠道系统相关指标的影响

2.4.1 引言

已有研究表明,虽然壳聚糖在胃里不能被消化吸收,但当到达肠道时可被乳酸杆菌利用。在鸡饲料中添加壳聚糖,可使鸡肠道中的双歧杆菌增殖,阻止有害菌生长,产生大量消化乳糖所需的乳糖酶,这对消化乳糖有困难的家禽来讲是非常有意义的。陈超群等(2000)给昆明小鼠分别灌胃壳聚糖的冰醋酸溶液 400mg/kg.d(试验组)和 0.5%冰醋酸(对照组),连续 7 天,而后检测两组肠道菌群的变化^[60]。结果发现,试验组双歧杆菌、乳杆菌数量比对照组明显增多($P<0.05$),大肠杆菌、肠球菌数量在两组间无明显差异,说明壳聚糖溶液能促进双歧杆菌、乳酸杆菌的增殖。史彬林(2005)研究发现,日粮中添加壳聚糖可使肉仔鸡肠道乳酸杆菌有增加的趋势,而大肠杆菌有减少趋势,其中添加 0.05%壳聚糖组的效果最好^[113]。朱立贤(2002)报道,壳聚糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌均有抑制作用,壳聚糖浓度为 0.062%时即可起到一定的抑菌效果^[79]。车炳坤等(2000)报道壳聚糖在浓度为 0.6%时,大部分菌属的革兰氏阴性菌约为 50%~70%的菌株被抑制^[73];浓度为 1%时,抑菌率达 70%~100%;壳聚糖对革兰氏阳性菌及白色念珠菌的敏感性高于革兰氏阴性菌,浓度为 0.5%时,对革兰氏阳性菌的抑菌率高达 75%~100%,而对大部分菌属的革兰氏阴性菌的抑菌率只有 20%~30%;浓度为 0.3%时,55%的白色念珠菌被抑制,浓度为 0.6%时,抑菌率达 82%。目前也有壳聚糖对肉仔鸡肠道微绒毛形态和挥发性脂肪酸的相关报道,但添加剂量方面说法不一,值得进一步研究。综合上述情况,本次试验即在前人研究的基础上,探讨壳聚糖对肉仔鸡肠道菌群(大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌)、肠道挥发性脂肪酸(乙酸、丙酸、丁酸)及微绒毛形态(肠绒毛长度、宽度、隐窝深度)的影响,旨在为揭示壳聚糖对肉仔鸡肠道系统的作用机理提供依据。

2.4.2 试验材料与方法

2.4.2.1 试验材料

同试验一。

2.4.2.2 试验动物与试验设计

同试验一。

2.4.2.3 试验日粮

同试验一。

2.4.2.4 测定指标与测定方法

2.4.2.4.1 肠道微生物指标

2.4.2.4.1.1 测定指标

测定盲肠、回肠内容物中大肠杆菌、乳酸杆菌和双歧杆菌含量。

2.4.2.4.1.2 样品的采集

试验开始后分别于 28、42 日龄，每组随机抽取一只鸡屠宰后剖腹，在盲肠、回肠入口处用细线扎住，然后将扎口的盲肠取下来(保持盲肠内容物与外界隔绝，以防污染)，分别装入事先备好的塑料小袋中，封口后速冻贮于 -80°C 低温冰柜。用于测定内容物中大肠杆菌、乳酸杆菌和双歧杆菌含量。

2.4.2.4.1.3 测定方法

将冻存的样品在室温自然解冻，无菌称取盲肠食糜 1 g，加入 10 mL 灭菌生理盐水，充分摇匀，进行逐级 10 倍稀释，直到 10^{-8} 稀释度，取所选定的梯度 0.1 mL 细菌稀释液接种到相应的培养基上(大肠杆菌需氧培养、乳酸杆菌和双歧杆菌均厌氧培养)，在 37°C 培养箱中培养 24 小时后进行计数。各种细菌所选用的培养基如下：

大肠杆菌：用伊红美蓝琼脂。

乳酸杆菌培养基(LBS)：蛋白陈 10.0 g、磷酸氢二钾 2.0 g、牛肉膏 10.0 g、乙酸钠 5.0 g、酵母浸膏 5.0 g、柠檬酸铵 2.0 g、葡萄糖 20.0 g、硫酸镁 0.3 g、吐温-80 1.0 mL、硫酸锰 0.25 g、琼脂 20.0 g、蒸馏水 1L。配好后加热融化，用冰乙酸调 pH 至 5.4，倾注于亨氏管中， 121°C 灭菌 30 min，滚管，备接菌。

双歧杆菌培养基(改良 BM)：蛋白陈 10.0 g、酵母浸膏 10.0 g、胰胨 20.0 g、葡萄糖 20.0 g、琼脂 20.0 g。吐温-80 2 mL、蒸馏水 666 mL、西红柿汁 333ml、半胱氨酸 0.50g、碳酸钙 10.0g，用 NaOH 调 pH 至 6.6~7.0，倾注于亨氏管中， 121°C 灭菌 30 min，滚管，备接菌。

2.4.2.4.2 盲肠内容物 VFA 含量

2.4.2.4.2.1 测定指标

测定盲肠内容物中乙酸、丙酸及丁酸的含量。

2.4.2.4.2.2 样品的采集

分别于 14、28 和 42 日龄，从各处理组的重复组中随机选 1 只鸡屠宰，立即剖腹取盲肠，并立即结扎后冷冻保存。

2.4.2.4.2.3 测定方法

将冷冻盲肠内容物解冻后，取 1g 加 3 mL 蒸馏水(稀释 4 倍)，混匀，在 4°C 下测定盲肠内容物中乙酸、丙酸及丁酸的含量 12000 rpm 离心 20 min，取上清液 1mL，加

25%偏磷酸:甲酸(3:1)的混合溶液 0.25 mL, 在 4℃ 下静置半小时后, 在气相色谱仪上测乙酸、丙酸、丁酸浓度。

用美国惠普气相色谱仪测定。色谱条件: 色谱柱为内径 3 mm 长 2 m 不锈钢柱, 担体为 Chromosob W (10%的 FFAP(聚乙醇与 2-硝基对苯二甲基的反应产物)加 1%的 H₃PO₄), 柱温 140℃, 汽化室温度 200℃, 检测器温度为 240℃, 空气压力 0.35 kg/cm², 流量 140mL/min, 氢气流量 0.7 kg/cm², 氮气流量 100 mL/min, 灵敏度为 10, 衰减为 128, 进样量为 1μL。

2.4.2.4.3 肠道绒毛形态

2.4.2.4.3.1 测定指标

测定十二指肠、空肠及回肠绒毛高度、宽度及隐窝深度。

2.4.2.4.3.2 测定方法

于 14、28 和 42 日龄时从每个处理的各重复组中随机选取 1 只鸡(每处理 5 只), 颈静脉放血屠宰, 立即解剖摘取十二指肠、空肠、回肠, 取 1cm 左右的小段, 用 0.9% NaCl 将其冲洗干净, 而后平铺在滤纸上将液体吸干, 马上浸入 4%甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 连续切片, 厚度 7μm, HE 染色, 光学显微镜下用显微测微尺测量各肠段微绒毛高度、宽度和隐窝深度。每张组织切片选较长的 10 根绒毛, 测绒毛高度、宽度及隐窝深度(王政富等, 2002)^[59]。

2.4.2.5 试验数据统计

试验数据利用 SAS 软件(SAS Institute, 1998)的统计程序进行统计分析。

2.4.3 结果与分析

2.4.3.1 壳聚糖对肠道微生物的影响

表 12 和图 19 列出了壳聚糖对肉仔鸡盲肠和回肠内容物中大肠杆菌的影响。28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡盲肠内容物中大肠杆菌量均低于对照组, 其中 200 mg/kg 壳聚糖组最低, 比对照组低 18.85%。42 日龄时, 壳聚糖组大肠杆菌数量均低于对照组, 并呈现出极显著的一次线性($P_1=0.002$)或二次曲线($P_2=0.007$)剂量依赖关系; 此外, 42 日龄时壳聚糖组肉仔鸡回肠内容物中大肠杆菌均低于对照组, 其中 1000 mg/kg 壳聚糖组最低, 比对照组低 65.18%。壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现一定的二次曲线($P_2=0.123$)剂量依赖关系。

表 12 壳聚糖对肉仔鸡盲肠和回肠内容物中大肠杆菌的影响 (Log^{CFU}/g)

Table 12 The effects of chitosan on *E. coli* in digesta of cecum and ileum in broilers (Log^{CFU}/g)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
盲肠 Cecum 28d	6.95	6.67	5.64	6.70	6.73	6.84	0.319	0.177	0.333
盲肠 Cecum 42d	6.99	6.88	6.71	6.31	6.86	6.32	0.185	0.002	0.007
回肠 Cleum 42d	3.59	2.77	2.54	1.31	1.25	2.47	1.110	0.771	0.123

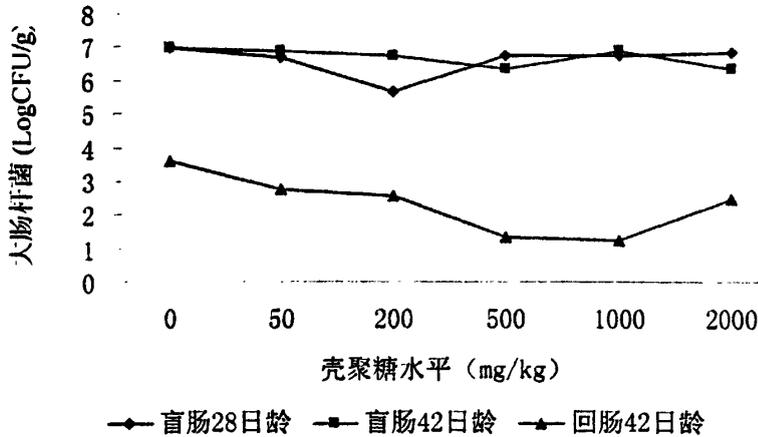


图 19 肉仔鸡盲肠、回肠内容物中大肠杆菌

Fig.19 *E. coli* in digesta of cecum and ileum in broilers

从表 13 和图 20 可见壳聚糖对肉仔鸡盲肠和回肠内容物中乳酸杆菌的影响。28 日龄时，200、1000 及 2000 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡盲肠内容物中乳酸杆菌数量分别高于对照组 0.11%、1.89%、2.67%，并随剂量增加呈极显著的二次曲线($P_2=0.005$) 剂量依赖关系。42 日龄时，除 2000 mg/kg 组，其他壳聚糖组肉仔鸡盲肠内容物中乳酸杆菌数量均高于对照组，其中 1000 mg/kg 组效果最好，比对照组高 2.67%。回归分析结果表明，随壳聚糖剂量增加呈现出显著的一次线性($P_1=0.054$)和二次曲线($P_2=0.031$) 剂量依赖关系；此外，42 日龄时壳聚糖组回肠内容物中乳酸杆菌均高于对照组，并随壳聚糖剂量增加呈现极显著的一次线性($P_1=0.006$)或显著的二次曲线($P_2=0.014$) 剂量依赖关系。其中 2000 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡回肠乳酸杆菌数量最高，比

对照组高 9.04%。

表 13 壳聚糖对肉仔鸡盲肠和回肠内容物中乳酸杆菌的影响 (Log CFU/g)

Table 13 The effects of chitosan on Lactobacilli in digesta of cecum and ileum in broilers (Log CFU/g)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
盲肠 Cecum 28d	8.98	8.87	8.99	9.15	9.22	8.67	0.230	0.405	0.005
盲肠 Cecum 42d	8.45	8.57	8.64	8.58	8.67	8.07	0.316	0.054	0.031
回肠 Ileum 42d	7.52	7.59	7.53	7.52	7.73	8.20	0.243	0.006	0.014

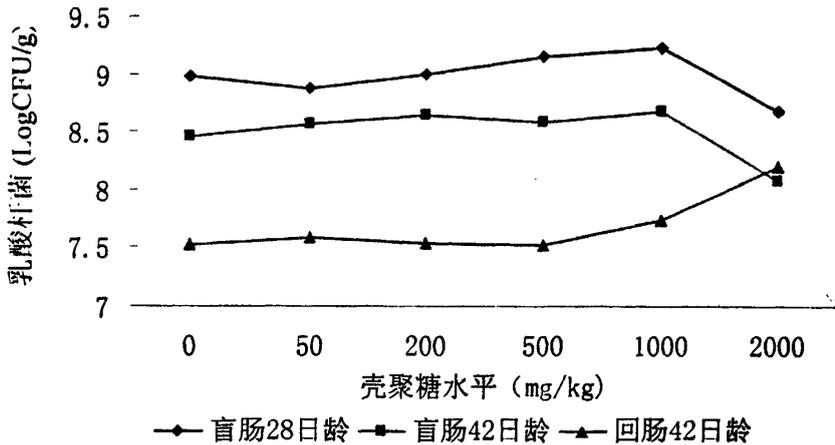


图 20 肉仔鸡盲肠、回肠内容物中乳酸杆菌

Fig.20 Lactobacilli in digesta of cecum and ileum in broilers

从表 14 和图 21 可见壳聚糖对肉仔鸡盲肠和回肠内容物中双歧杆菌的影响。28 日龄时，除 200 mg/kg 组，其他壳聚糖组肉仔鸡盲肠内容物中双歧杆菌数量均高于对照组，其中 50 mg/kg 组最高，比对照组高 4.59%。回归分析结果表明，随壳聚糖剂量增加呈现显著的一次线性 ($P_1=0.044$) 和二次曲线 ($P_2=0.093$) 剂量依赖关系。42 日龄时，除最高剂量 2000 mg/kg 之外，其他壳聚糖组双歧杆菌数量均高于对照组，其

中 500 mg/kg 壳聚糖组效果最好，比对照组高 2.40%。壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现出二次曲线 ($P_2= 0.094$) 剂量依赖关系；此外，42 日龄时壳聚糖组肉仔鸡回肠内容物中双歧杆菌均高于对照组，其中 2000 mg/kg 壳聚糖组最高，比对照组高 17.75%。壳聚糖剂量效应的线性回归分析结果呈现显著的一次线性 ($P_1=0.035$) 和一定的二次曲线 ($P_2= 0.096$) 剂量依赖关系。

表 14 壳聚糖对肉仔鸡盲肠和回肠内容物中双歧杆菌的影响 ($\text{Log}^{\text{CFU/g}}$)

Table 14 The effects of chitosan on Bifidobacterium in digesta of cecum and ileum in broilers ($\text{Log}^{\text{CFU/g}}$)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)							P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000	SEM	一次 Linear	二次 Quadratic
盲肠 Cecum 28d	8.93	9.34	8.87	9.22	8.96	8.94	0.244	0.044	0.093
盲肠 Cecum 42d	9.17	9.20	9.33	9.39	9.33	9.07	0.196	0.317	0.094
回肠 Ileum 42d	6.93	7.72	7.40	7.43	7.43	8.16	0.432	0.035	0.096

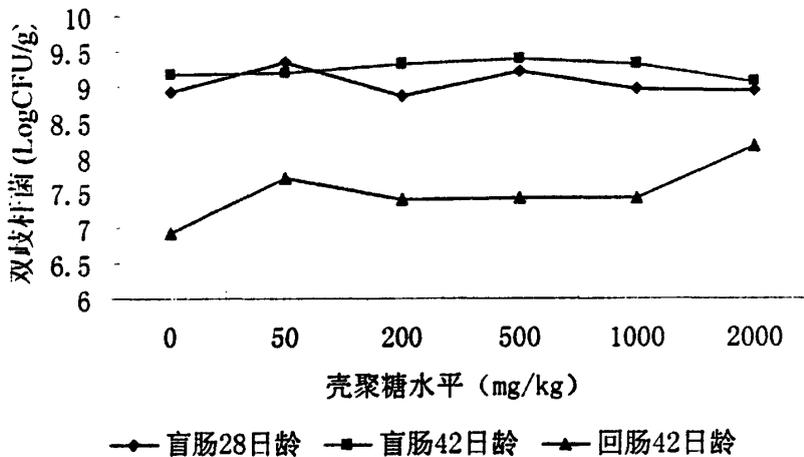


图 21 肉仔鸡盲肠、回肠内容物中双歧杆菌

Fig.21 Bifidobacterium in digesta of cecum and ileum in broilers

从全期试验结果来看，日粮中添加一定剂量的壳聚糖能降低盲肠和回肠内容物中大肠杆菌数量，增加乳酸杆菌和双歧杆菌的数量，并且，壳聚糖剂量效应的回归分析

结果呈现一定的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

2.4.3.2 壳聚糖对盲肠内容物中 VFA 的影响

表 14 和图 22 列出了壳聚糖对肉仔鸡盲肠内容物中乙酸的影响。28 日龄时,壳聚糖组肉仔鸡盲肠乙酸含量均高于对照组,其中较低剂量(50 和 200 mg/kg)壳聚糖组乙酸含量较高,分别比对照组高 36.19%和 48.94%。但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系;42 日龄时,200 和 2000 mg/kg 壳聚糖组低于对照组,壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一定的一次线性($P_1=0.171$)和二次曲线($P_2=0.090$)剂量依赖关系。

表 14 和图 23 列出了壳聚糖对肉仔鸡盲肠中丙酸的影响,28 日龄时,壳聚糖组肉仔鸡盲肠中丙酸含量均高于对照组,其中较低剂量(50 和 200 mg/kg)的壳聚糖组丙酸含量较高,分别比对照组高 25.90%和 34.69%,但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系;42 日龄时,50 mg/kg、500 mg/kg 和 1000 mg/kg 壳聚糖组高于对照组,其他壳聚糖组低于对照组,壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 15 壳聚糖对肉仔鸡盲肠内容物中乙酸、丙酸及丁酸含量的影响

Table 15 Effects of chitosan on the content of acetic acid, propionic acid, and butyric acid in cecum digesta in broilers

项 目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
乙酸 Acetic acid (mmol/L)									
28d	99.83	135.96	148.69	101.69	122.55	100.47	15.868	0.220	0.431
42d	160.63	220.86	158.58	187.95	220.63	149.17	21.018	0.171	0.090
丙酸 Propionic acid (mmol/L)									
28d	28.57	35.97	38.48	29.19	34.91	28.78	5.309	0.482	0.641
42d	44.58	48.99	32.08	48.42	55.76	39.60	5.433	0.782	0.212
丁酸 Butyric acid (mmol/L)									
28d	44.03	57.76	53.01	45.22	47.76	57.56	8.832	0.407	0.492
42d	100.92	113.88	86.09	121.42	119.35	82.11	14.386	0.168	0.050

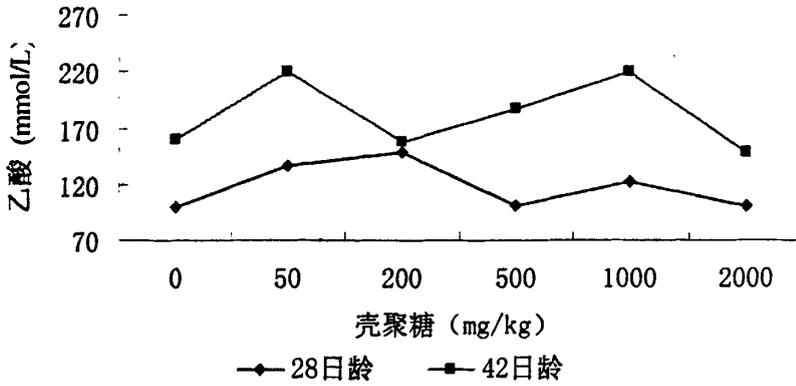


图 22 肉仔鸡盲肠内容物中乙酸含量

Fig. 22 The content of acetic acid in cecum digesta of broilers

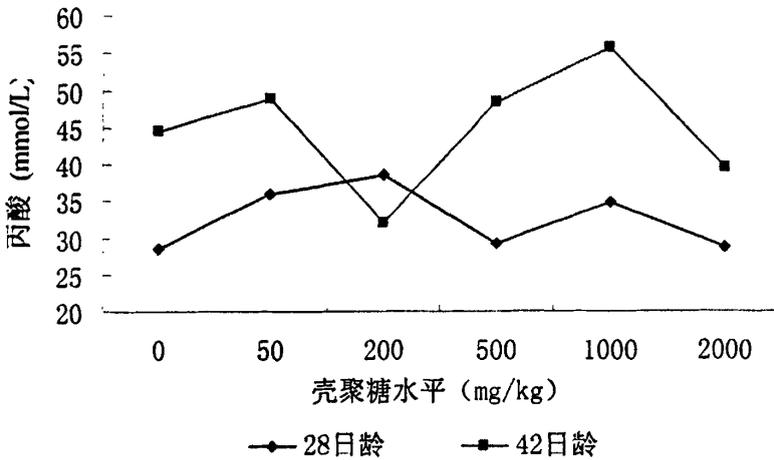


图 23 肉仔鸡盲肠内容物中丙酸含量

Fig. 23 The content of propionic acid in cecum digesta of broilers

表 14 和图 24 列出了肉仔鸡盲肠中丁酸的影响。28 日龄时，壳聚糖组肉仔鸡盲肠中丁酸含量均高于对照组，呈现随壳聚糖剂量增加而先减少再增加的趋势。其中剂量(50 mg/kg 和 2000 mg/kg)的壳聚糖组丁酸含量较高，分别比对照组高 31.18%和 30.73%，但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系；42 日龄时，200 mg/kg 和 2000 mg/kg 壳聚糖组低于对照组，其他壳聚糖组高于对照组，壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一次线性($P_1=0.168$)或二次曲线($P_2=0.050$)剂量依赖关系。

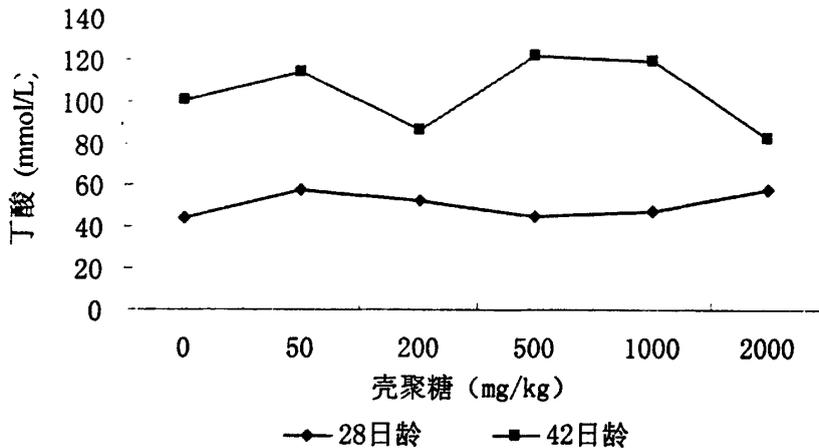


图 24 肉仔鸡盲肠内容物中丁酸含量

Fig. 24 The content of butyric acid in cecum digesta of broilers

综合上述情况, 28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡盲肠的乙酸、丙酸、丁酸的含量均高于对照组, 但未出现线性依赖关系。42 日龄时, 200 mg/kg 和 2000 mg/kg 壳聚糖组肉仔鸡盲肠乙酸、丙酸、丁酸的含量均低于对照组, 其他壳聚糖组高于对照组。

2.4.3.3 壳聚糖对小肠绒毛形态的影响

表 16 和图 25 列出了壳聚糖对 28 日龄肉仔鸡小肠绒毛高度的影响。结果表明, 28 日龄时, 壳聚糖组肉仔鸡十二指肠绒毛高度随剂量先增加再减少, 除 2000 mg/kg, 其他壳聚糖组绒毛高度均高于对照组, 500 mg/kg 组绒毛高度最高, 高于对照组 6.42%。从回归分析结果看, 随着壳聚糖添加剂量的增加, 十二指肠呈现一次线性 ($P_1=0.144$) 和二次曲线 ($P_2=0.065$) 升高趋势。此外, 所有壳聚糖组空肠和回肠绒毛高度均高于对照组, 但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次或二次剂量依赖关系。

表 16 壳聚糖对小肠绒毛高度的影响 (μm)Table 16 Effects of chitosan on height of gut villi in broilers (μm)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
28d									
12 指肠 Duodenum	1897.23	1899.08	1977.96	2019.16	1938.57	1810.89	54.928	0.144	0.065

空肠	1535.21	1542.38	1709.19	1659.99	1611.03	1584.92	67.589	0.846	0.703
Jejunum									
回肠	827.71	900.64	881.55	1052.43	881.21	846.51	116.927	0.248	0.516
Ileum									
42d									
12 指肠	1919.93	1921.24	1979.58	2071.28	1999.36	1974.01	75.261	0.063	0.119
Duodenum									
空肠	1580.70	1631.32	1727.12	1782.31	1854.53	1768.80	65.866	0.067	0.013
Jejunum									
回肠	872.71	939.50	991.72	1057.61	882.88	855.89	64.984	0.120	0.090
Ileum									

表 16 和图 26 列出了壳聚糖对 42 日龄肉仔鸡小肠绒毛高度的影响。结果表明, 42 日龄时, 所有壳聚糖组十二指肠绒毛高度均高于对照组, 并随剂量先增加再减少, 其中 500 mg/kg 组绒毛高度最高, 高于对照组 7.88%。壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一定的一次线性($P_1=0.063$)和二次曲线($P_2=0.119$)剂量依赖关系。此外, 壳聚糖组空肠和回肠的绒毛高度均高于对照组, 前者以 1000 mg/kg 壳聚糖组最高, 高于对照组 17.32%, 且壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一次线性($P_1=0.067$)和极显著的二次曲线($P_2=0.013$)剂量依赖关系; 后者以 500 mg/kg 壳聚糖组最高, 高于对照组 21.19%, 且壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一定的一次线性($P_1=0.120$)和二次曲线($P_2=0.090$)剂量依赖关系。

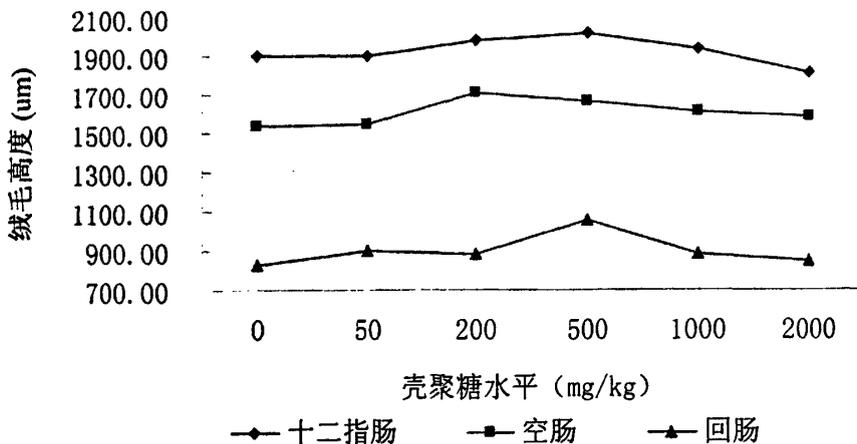


图 25 肉仔鸡小肠绒毛高度(28 日龄)

Fig. 25 The height of gut villi of broilers(28d)

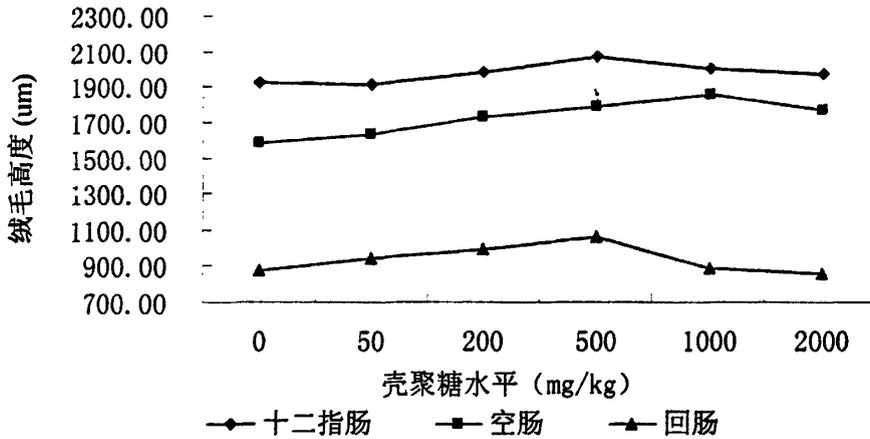


图 26 肉仔鸡小肠绒毛高度(42日龄)

Fig. 26 The height of gut villi of broilers(42d)

表 17 壳聚糖对小肠绒毛宽度的影响 (um)

Table 17 Effects of chitosan on width of gut villi in broilers (um)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan (mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
28d									
12 指肠 Duodenum	205.43	199.39	199.14	176.65	183.23	199.00	7.852	0.126	0.075
空肠 Jejunum	209.78	188.15	184.30	199.09	204.93	213.15	7.365	0.573	0.550
回肠 Ileum	211.91	199.09	192.66	186.92	202.98	210.56	13.678	0.576	0.569
42d									
12 指肠 Duodenum	252.58	235.28	219.49	224.01	228.46	205.83	13.790	0.155	0.372
空肠 Jejunum	223.05	214.24	218.35	220.16	225.85	226.64	13.412	0.501	0.479
回肠 Ileum	253.16	240.60	232.59	233.62	226.00	231.13	11.637	0.182	0.061

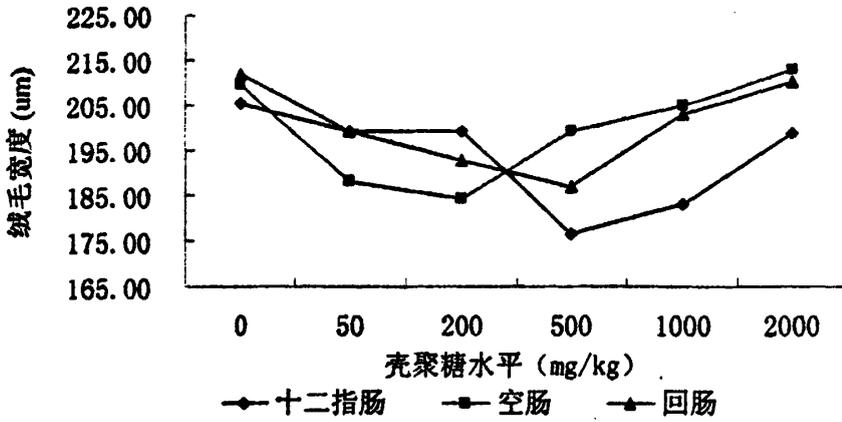


图 27 肉仔鸡小肠绒毛宽度 (28 日龄)

Fig. 27 The width of gut villi of broilers (28d)

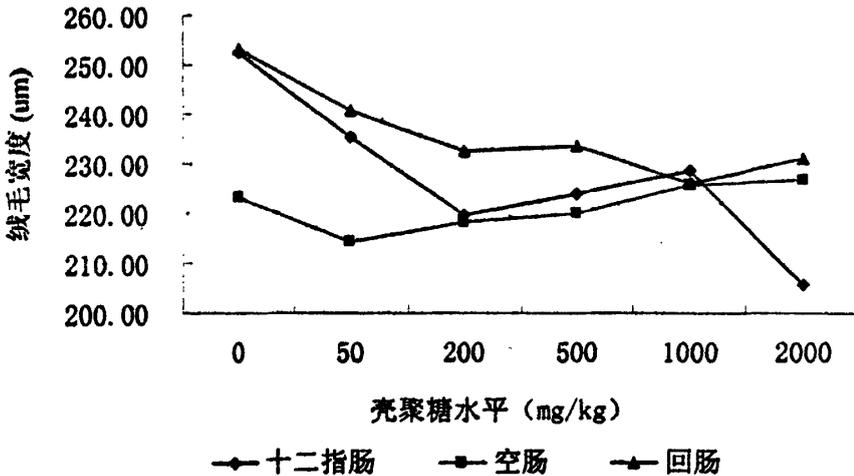


图 28 肉仔鸡小肠绒毛宽度 (42 日龄)

Fig. 28 The width of gut villi of broilers (42d)

表 17 和图 27 列出了壳聚糖对 28 日龄肉仔鸡小肠绒毛宽度的影响。结果表明，28 日龄时，所有壳聚糖组十二指肠绒毛宽度均低于对照组，其中以 500 mg/kg 壳聚糖组最低，低于对照组 14.01%。从回归分析结果看，十二指肠绒毛宽度壳聚糖添加

剂量增加, 呈现一次线性($P_1=0.126$)或二次曲线($P_2=0.075$)下降趋势。除最高剂量 2000 mg/kg, 其他壳聚糖组空肠绒毛宽度均低于对照组, 其中以 200 mg/kg 壳聚糖组最低, 低于对照组 12.15%。但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。此外, 壳聚糖组回肠绒毛宽度均低于对照组, 其中以 500 mg/kg 壳聚糖组最低, 低于对照组 11.79%。但从统计分析结果看, 未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 17 和图 28 列出了壳聚糖对 42 日龄肉仔鸡肠道绒毛宽度的影响。结果表明, 42 日龄时, 所有壳聚糖组十二指肠绒毛宽度均低于对照组, 并呈现一定的一次线性($P_1=0.155$)剂量依赖关系, 其中以 2000 mg/kg 壳聚糖组最低, 低于对照组 18.51%。除 1000 和 2000mg/kg 壳聚糖组外, 其他壳聚糖组肉仔鸡空肠绒毛宽度均低于对照组, 其中以 50 mg/kg 壳聚糖组最低, 低于对照组 3.95%, 但未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。此外, 所有壳聚糖组回肠绒毛宽度均低于对照组, 其中以 1000 mg/kg 壳聚糖组最低, 低于对照组 10.73%, 并呈现一定的一次线性($P_1=0.182$)或二次曲线($P_2=0.061$)剂量依赖关系。

表 18 壳聚糖对小肠绒毛隐窝深度的影响 (μm)Table 18 Effect of chitosan on recess depth of gut villi in broilers (μm)

项目 Item	壳聚糖水平 Level of chitosan(mg/kg)						SEM	P 值 P-Value	
	0	50	200	500	1000	2000		一次 Linear	二次 Quadratic
28d									
12 指肠 Duodenum	199.39	201.30	202.24	205.62	209.72	207.08	6.859	0.385	0.496
空肠 Jejunum	171.49	190.65	182.93	189.25	180.29	189.44	6.613	0.481	0.780
回肠 Ileum	177.59	200.22	188.84	188.95	185.62	187.81	15.928	0.891	0.986
42d									
12 指肠 Duodenum	222.24	241.18	236.63	239.38	231.61	254.27	21.496	0.089	0.062
空肠 Jejunum	185.62	191.14	189.76	194.77	217.80	199.61	9.657	0.140	0.074
回肠 Ileum	187.84	206.14	219.83	190.25	187.78	189.01	11.637	0.080	0.063

表 18 和图 29 列出了壳聚糖对 28 日龄肉仔鸡小肠绒毛隐窝深度的影响。结果表明, 28 日龄时, 壳聚糖组十二指肠绒毛隐窝深度测定值均高于对照组, 其中以 1000 mg/kg 壳聚糖组最高, 高于对照组 5.18%, 但壳聚糖剂量效应的回归分析结果未呈现一次线性或二次曲线剂量依赖关系。此外, 壳聚糖组空肠和回肠的绒毛隐窝深度均高于对照组, 且均以最低剂量 50 mg/kg 壳聚糖组最高, 分别高于对照组 11.17%和 12.74%。但壳聚糖剂量效应的回归分析结果亦均未呈现显著的一次线性或二次曲线剂量依赖关系。

表 18 和图 30 列出了壳聚糖对 42 日龄肉仔鸡肠道绒毛隐窝深度的影响。结果表明, 42 日龄时, 壳聚糖组十二指肠绒毛隐窝深度均高于对照组, 其中以 2000 mg/kg 壳聚糖组最高, 高于对照组 14.41%。从回归分析结果看, 随壳聚糖剂量增加, 十二指肠绒毛隐窝深度呈现一次线性($P_1=0.089$)或二次曲线($P_2=0.062$)上升趋势。壳聚糖组空肠绒毛隐窝深度均高于对照组, 以 1000 mg/kg 壳聚糖组最高, 高于对照组 17.34%。壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一定的一次线性($P_1=0.140$)和二次曲线($P_2=0.074$)剂量依赖关系。除 1000mg/kg 壳聚糖组, 其他壳聚糖组回肠绒毛隐窝深度均高于对照组, 且以 200 mg/kg 壳聚糖组最高, 高于对照组 17.03%。壳聚糖剂量效应的回归分析结果呈现一定的一次线性($P_1=0.080$)或二次曲线($P_2=0.063$)剂量依赖关系。

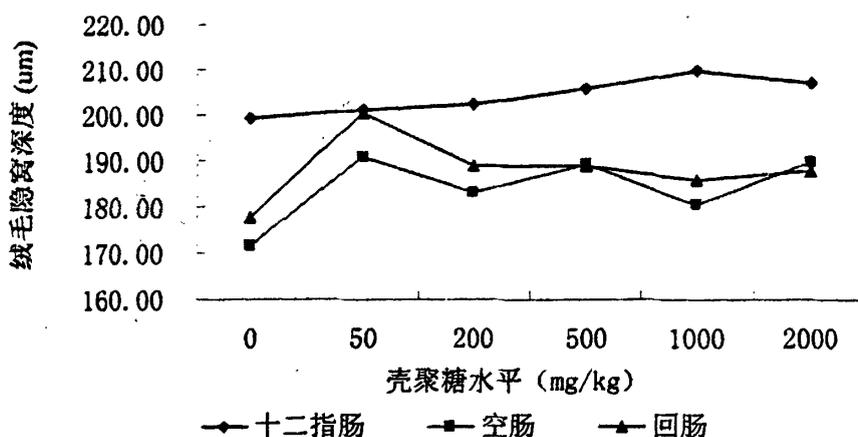


图 29 肉仔鸡小肠绒毛隐窝深度(28日龄)

Fig.29 The recess depth of gut villi of broilers(28d)

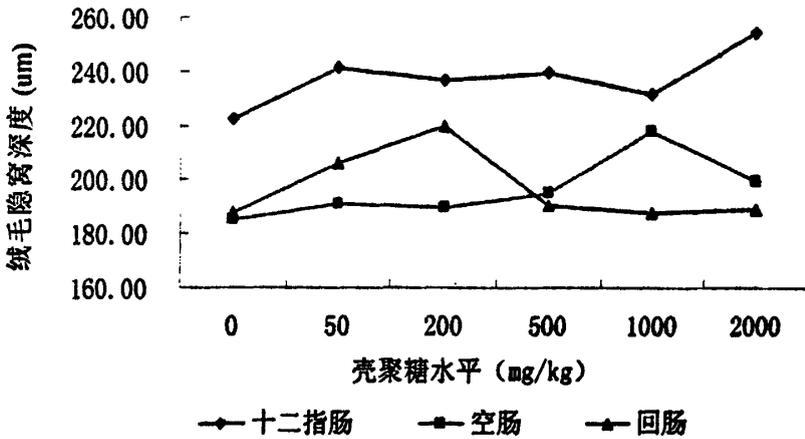


图 30 肉仔鸡小肠绒毛隐窝深度(42 日龄)

Fig.30 The recess depth of gut villi of broilers(42d)

综合上述情况,日粮中添加一定剂量的壳聚糖能提高十二指肠、空肠及回肠的绒毛高度和隐窝深度,降低绒毛宽度。

2.4.4 讨论

2.4.4.1 壳聚糖对肉仔鸡肠道微生物的影响

目前,关于壳聚糖对微生物的影响已有较多报道。宋献周等(2000)研究表明,壳聚糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、产气荚膜杆菌均有抑制作用,并且抑菌效果随壳聚糖相对分子质量的降低而增高^[74]。郝刚等(2005)试验结果表明,壳聚糖对大肠杆菌、鸡白痢沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和禽多杀性巴氏杆菌等4种鸡常见病原菌均具有抑制作用^[75]。张澄波等(1993)报道,给昆明小鼠腹腔注射壳聚糖(300mg/kg/次,3次),然后以金葡菌或大肠杆菌进行腹腔感染,结果体重增加,死亡率降低^[76]。陈超群等(2000)给昆明小鼠分别灌胃壳聚糖的冰醋酸溶液400mg/kg.d(试验组)和0.5%冰醋酸(对照组),连续7天,而后检测两组肠道菌群的变化。结果发现,试验组双歧杆菌、乳杆菌数量比对照组明显增多($P<0.05$),大肠杆菌、肠球菌数量在两组间无明显差异,说明壳聚糖溶液能促进双歧杆菌、乳酸杆菌的增殖^[80]。本次试验也得到类似研究结果,日粮中添加一定剂量的壳聚糖能降低盲肠和回肠内容物中大肠杆菌数量,增加乳酸杆菌和双歧杆菌的数量,添加剂量较高的壳聚糖组效果较好。

2.4.4.2 壳聚糖对肉仔鸡肠道挥发性脂肪酸的影响

有少数报道表明,壳聚糖对机体肠道挥发性脂肪酸(动物消化道内容物乙酸、丙酸、丁酸含量)有一定的影响。Kobayashi (1991)报道,低聚糖具有促进消化道乳酸杆菌、双歧杆菌、链球菌等有益菌的增殖,并因此提高肠道内容物中挥发性脂肪酸,降低 pH 值^[114]。丁晓岚等(2005)研究认为,壳聚糖促进肉仔鸡生长的机理与壳聚糖可增加盲肠内容物 VFA 含量、降低 pH 值,改善消化道内环境有关。然而,壳聚糖的添加剂量增加到 0.5%时,虽然可提高盲肠内容物的 VFA 含量、降低 pH 值,但其生长性能并没有得到改善,说明盲肠 VFA 含量并不是愈高愈好,应该有一适宜范围。本试验结果表明,日粮中添加壳聚糖可在一定程度上提高肉仔鸡盲肠内容物中乙酸、丙酸和丁酸的含量,有利于肠道内环境的改善^[33]。

2.4.4.3 壳聚糖对肉仔鸡肠道微绒毛形态度的影响

肠道绒毛是动物肠道吸收营养物质的特有结构,它的高度、宽度及隐窝深度直接影响肠道的吸收面积。通常,微绒毛高度增加、宽度减小及隐窝深度增加,可促进小肠吸收面积增加,有利于营养物质的吸收。绒毛高度与细胞数量呈显著相关,只有成熟的绒毛细胞才具有养分吸收功能。因此绒毛高时,成熟细胞多,养分吸收能力强。隐窝深度反映了细胞的生成率,隐窝变浅,表明细胞成熟率上升,分泌功能强。此外,肠壁厚度增大可增强回肠的蠕动能力,使食糜与绒毛细胞接触更充分,利于营养物质的吸收。

近几年少数研究报道表明,日粮中添加壳聚糖可对肠道绒毛形态结构产生影响。王秀武等(2005)试验研究结果显示,壳聚糖组微绒毛变细,而且密度有增加的趋势,表现出小肠吸收机能提高。其机制可能与壳聚糖抑制肠道微生物,改善了肠内微环境利于肠黏膜上皮生长发育有关^[10]。王秀武等(2005)还发现,与对照组相比,壳聚糖组仔猪十二指肠绒毛长度、回肠绒毛长度和回肠肠壁厚度极显著增加($P < 0.01$),盲肠绒毛长度和肠壁厚度显著增加($P < 0.05$);十二指肠隐窝深度极显著降低($P < 0.01$)^[10]。丁晓岚等(2005)试验结果表明,与对照组相比,添加壳聚糖可使肉仔鸡的小肠绒毛变高、变细,绒毛密度加大,尤以添加 0.02%~0.3%的壳聚糖效果较好,表现出小肠的吸收机能增强^[33]。而添加 0.5%壳聚糖时,对小肠的绒毛结构没有明显的改善,反而小肠绒毛长度趋于变短、绒毛宽度趋于变宽、绒毛密度趋于降低。本次试验研究结果表明,日粮中添加一定剂量的壳聚糖能提高十二指肠、空肠及回肠的绒毛高度和绒毛隐窝深度,降低绒毛宽度,其中添加剂量为 200 mg/kg 和 500 mg/kg 的壳聚糖组效果较好。壳聚糖能促进肠道绒毛的生长发育,改善了消化道结构,加强了消化道对营养物质的吸收功能。

2.4.5 小结

通过本次试验初步得出:日粮中添加一定剂量的壳聚糖能优化肉仔鸡肠道菌群,

在一定程度上增加盲肠挥发性脂肪酸，并可促进肠道微绒毛的生长发育，改善消化道结构，加强消化道对营养物质的吸收功能，进而促进生长性能。

3 论文总体讨论与结论

3.1 总体讨论

3.1.1 壳聚糖的促生长效果与添加剂量的关系

目前国内外已有一些关于壳聚糖对肉仔鸡生长性能影响的研究报道。Razdaz 和 Pettersson(1994) 试验发现, 在肉仔鸡基础日粮中添加 30 mg/kg 的壳聚糖, 饲料转化率升高($P<0.05$)^[14]。张克胜等(2005) 试验表明, 壳聚糖对肉鸡的生长和饲料转化率均具有很强的促进作用, 在日粮中添加 200g/t 的壳聚糖对肉鸡体均重和料重比都有显著影响^[12]。Fuentes 等(1999) 试验得出结论, 在产蛋鸡日粮中添加 20 或 30 mg/kg 壳聚糖对蛋鸡的产蛋量、采食量、饲料转化率及蛋重等指标均未产生显著影响^[19]。王秀武(2003) 研究结果表明, 日粮中添加 0.1% 的壳聚糖可显著提高肉仔鸡增重($P<0.05$), 8 周龄体重较对照组提高 18%, 料重比较对照组降低 3.4%^[15]。朱立贤等(2003) 研究了日粮中添加低剂量壳聚糖(0、200、600、1000 mg/kg) 对 1、2 周龄肉仔鸡的影响, 发现随着壳聚糖添加浓度的上升, 肉仔鸡生产性能呈上升趋势^[13]。史彬林(2005) 在肉仔鸡日粮添加 200 mg/kg~300 mg/kg 壳聚糖均表现出一定的促生长作用, 添加量为 500 mg/kg 时促生长作用最明显, 而当添加量达到 5000 mg/kg 时, 未表现出促生长效果^[56]。从前人的研究结果可以看出, 壳聚糖的促生长作用与添加剂量有关, 但适宜的添加剂量不尽一致, 这可能是由于壳聚糖的来源、分子量及脱乙酰度等不同所致。据郭玉英(2005) 研究证实, 除添加剂量外, 肉仔鸡的生长速度还受壳聚糖的脱乙酰度、添加日龄、添加方法及其他可能因素的影响^[25]。

本次试验结果表明, 在本试验条件下, 添加剂量为 50 和 200 mg/kg 的壳聚糖组与对照组相比, 均表现出了不同程度的促生长作用, 其中 200 mg/kg 壳聚糖组促生长效果最好, 其平均采食量、日增重及饲料转化效率最佳; 而较高剂量的壳聚糖组不仅未表现出促进生长效果, 而且饲料转化效率有所下降。这进一步说明了壳聚糖的促生长效果与壳聚糖的添加剂量有关, 低剂量壳聚糖具有较好的促生长作用, 而高剂量的壳聚糖不能促进甚至抑制动物的生长。

3.1.2 壳聚糖对肉仔鸡免疫功能的影响及其与生长性能的关系

壳聚糖能增强机体的非特异性免疫, 具有较强的抗肿瘤活性, 机理主要是提高巨噬细胞的活性。新城疫抗体滴度是反映鸡新城疫免疫状态的指标, 也是反映特异性体液免疫功能的指标。朱立贤(2003) 试验发现, 壳聚糖添加浓度为 200 mg/kg 时, NDV 抗体水平显著高于其他剂量, 其抗感染保护作用也明显优于其他各组^[16]。T 淋巴细胞亚群的稳定是维持机体正常免疫调节功能所必需的, 是评估机体细胞免疫功能的重要指标。CD3⁺ 抗体检测 T 淋巴细胞总数; CD4⁺ 是辅助/诱导细胞(Th/Ti) 的标志, 具有辅助 T 细胞转变为效应 T 细胞、B 细胞生成抗体和巨噬细胞活化等功能; CD8⁺ 是抑制性 T 细胞(Ts) 的标志, 维持机体内免疫系统的稳定。CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞是机体免疫调节的

枢纽, $CD4^+/CD8^+$ 值较高时, 表明机体处于较好的免疫状态, 而当 $CD4^+/CD8^+$ 值不在一定的范围时, 可能会导致各种免疫疾病发生。吞噬细胞是机体天然抵抗力的重要组成部分, 也是非特异性免疫不可缺少的成分, 因此, 测定机体吞噬细胞的功能, 对了解机体的非特异性免疫功能具有非常重要的意义。魏涛等(2000)报道, 壳聚糖具有增强巨噬细胞吞噬功能、细胞免疫功能、体液免疫功能等作用^[6]。应自忠(2000)对小鼠的研究发现, 壳聚糖能使小鼠外周血液中淋巴细胞总数和 T 淋巴细胞阳性率明显增高^[35]。还研究表明, 当壳聚糖活化 T 细胞后, 就可以向 B 细胞发出生产抗体群的指令, 起到间接活化 B 细胞的作用, 从而产生各种免疫球蛋白(IgG, IgM, IgA, IgE, IgD), IgG 可与具有相应受体的吞噬细胞、NK 细胞结合, 从而对细菌等颗粒抗原发挥调理作用, 进一步增强巨噬细胞的吞噬功能或产生 ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用), 也就是说在增强体液免疫的同时, 又增强非特异性免疫功能。

关于壳聚糖对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群影响的研究尚未见报道, 本次试验采用先进的流式细胞分析技术, 测定了肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 。本试验研究结果表明, 肉仔鸡日粮中添加一定水平的壳聚糖能提高新城疫抗体滴度、外周血 T 淋巴细胞亚群 ($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 和 $CD8^+$)、血液单核-巨噬细胞吞噬指数及血清中免疫球蛋白 IgA、IgM、IgG 的水平。综合前人的研究报道和本试验结果认为, 壳聚糖通过增强肉仔鸡细胞免疫、体液免疫及非特异性免疫, 提高肉仔鸡抗疾病和抗应激能力, 其添加剂量以 1000 mg/kg 时效果较好。而壳聚糖促生长效果最佳的剂量是 200 mg/kg, 由此可见, 壳聚糖低剂量促进生长, 高剂量增强免疫功能。

3.1.3 壳聚糖对肉仔鸡血清指标的影响及其与生长性能的关系

血清中总胆固醇、甘油三酯是反映动物机体脂类代谢功能正常与否的重要指标。近些年来, 关于壳聚糖对肉仔鸡血清和肌肉中胆固醇、甘油三酯的研究较多。刘海英等(2003)试验结果表明, 日粮中添加 0.5%、1%、2%、3%、4%壳聚糖均可不同程度降低肉鸡血清中总胆固醇、甘油三酯、总脂含量^[60]。Sugano(1980)等报道, 在高胆固醇日粮中添加壳聚糖时, 可使大鼠血浆胆固醇降低, 但不影响其采食量和生长。当壳聚糖含量提高时, 会进一步降低血浆胆固醇, 同时抑制生长^[11]。本次试验研究结果表明, 日粮壳聚糖能降低肉仔鸡血清中胆固醇和甘油三酯, 200mg/kg 壳聚糖组的效果最佳。同时, 添加剂量为 50、200 mg/kg 的壳聚糖组与对照组相比, 均表现出了不同程度的促生长作用, 其中 200 mg/kg 壳聚糖组促生长效果最好, 其平均采食量、日增重及饲料转化效率最佳; 而较高剂量的壳聚糖组不仅未表现出促进生长效果, 而且饲料转化效率也下降。由此可见, 日粮壳聚糖在一定剂量范围内即能降低肉仔鸡血清中胆固醇和甘油三酯, 同时还对生长性能无抑制作用, 甚至有促生长作用。本次试验结果表明, 添加剂量较低的时候效果较好, 其中 200 mg/kg 的壳聚糖组的效果最佳。

另外, GH 的基本生理功能是刺激所有机体组织的发育, 增加体细胞的体积和数

目。禽类 GH 由 190 个左右的氨基酸组成, 具有刺激蛋白质沉积、骨长度增加和限制脂肪沉积的全身性作用, 同时对鸡的多种生长性状有显著影响。类胰岛素生长因子 (IGFs) 是一类既有胰岛素样合成代谢作用, 又有促生长作用的单链多肽。IGF-I 可以介导 GH 对机体的促生长作用, 能刺激组织细胞的分化和增殖并产生胰岛素样作用^[11]。GH/IGF-I 轴是生长轴的重要组成部分, 与动物机体的蛋白质、糖、脂类代谢紧密相连, 其主要功能在于调控畜禽生长状况。IGF-I 水平下降是动物遭受免疫应激的一个重要标志。促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和皮质酮 (Cort) 是家禽体内两种重要的应激激素, 是衡量动物机体应激反应强弱的重要指标, 其含量越高, 说明机体的应激反应越强。本论文的生长试验结果表明, 添加 200mg/kg 壳聚糖组促生长效果最佳。对于肉仔鸡血液指标液也是 200mg/kg 壳聚糖组较好, 能降低血清中胆固醇和甘油三酯浓度、提高血清中生长激素 (GH) 和类胰岛素生长因子 (IGF-I) 的浓度、降低皮质酮 (Cort) 水平。这些结果提示, 日粮中添加低剂量壳聚糖能促进 GH 与 IGF-I 的合成和释放, 同时降低血清中 Cort 水平, 这可能是壳聚糖能促进肉仔鸡生长的主要原因。

3.1.4 壳聚糖对肉仔鸡肠道系统的影响及其与生长性能的关系

目前, 已有一些研究表明壳聚糖对机体肠道系统有影响。陈超群等 (2000) 给昆明小鼠分别灌胃壳聚糖的冰醋酸溶液 400mg/kg·d (试验组) 和 0.5% 冰醋酸 (对照组), 连续 7 天, 而后检测两组肠道菌群的变化。结果发现, 试验组双歧杆菌、乳杆菌数量比对照组明显增多 ($P < 0.05$), 大肠杆菌、肠球菌数量在两组间无明显差异, 说明壳聚糖溶液能促进双歧杆菌和乳酸杆菌的增殖^[90]。还有少数报道表明, 壳聚糖对动物肠道挥发性脂肪酸有一定的影响。Kobayashi (1991) 报道, 低聚糖可促进消化道乳酸杆菌、双歧杆菌、链球菌等有益菌的增殖, 并因此提高肠道内容物中挥发性脂肪酸含量, 降低 pH 值^[114]。丁晓岚等 (2005) 研究认为, 壳聚糖促进肉仔鸡生长的机理与壳聚糖可增加盲肠内容物 VFA 含量、降低 pH 值, 改善消化道内环境有关。然而, 壳聚糖的添加剂量增加到 0.5% 时, 虽然可提高盲肠内容物的 VFA 含量、降低 pH 值, 但其生长性能并没有得到改善, 说明盲肠 VFA 含量并不是愈高愈好, 应该有一适宜范围^[93]。

王秀武等 (2005) 试验结果显示, 壳聚糖组微绒毛变细, 而且密度有增加的趋势, 表现出小肠吸收机能提高。其机制可能与壳聚糖抑制肠道微生物, 改善了肠内微环境, 利于肠黏膜上皮生长发育有关^[90]。绒毛高度与细胞数量呈显著相关, 只有成熟的绒毛细胞才具有养分吸收功能。因此绒毛高时, 成熟细胞多, 养分吸收能力强。隐窝深度反映了细胞的生成率, 隐窝变浅, 表明细胞成熟率上升, 分泌功能强。肠壁厚度增大可增强回肠的蠕动能力, 使食糜与绒毛细胞接触更充分, 利于营养物质的吸收。丁晓岚等 (2005) 试验结果表明, 日粮中添加壳聚糖可使肉仔鸡的小肠绒毛变高、变细, 绒毛密度加大, 尤以添加 0.02%~0.3% 的壳聚糖效果较好, 表现出小肠的吸收机能增强^[93]。而添加 0.5% 壳聚糖时, 对小肠的绒毛结构没有明显的改善。本次试验结果表

明,日粮中添加一定剂量的壳聚糖能提高十二指肠、空肠及回肠的绒毛高度和隐窝深度,降低绒毛宽度,其中添加剂量为 200 和 500 mg/kg 的壳聚糖组效果较好。壳聚糖能促进肠道绒毛的生长发育,改善了消化道结构,加强了消化道对营养物质的吸收功能。

本次试验发现,日粮中添加一定剂量的壳聚糖能降低盲肠和回肠内容物中大肠杆菌数量增加乳酸杆菌和双歧杆菌的数量、提高肉仔鸡盲肠内容物中乙酸、丁酸和总酸的含量、能提高十二指肠、空肠及回肠的绒毛高度和绒毛隐窝深度,降低绒毛宽度。综合前人研究和本次研究结果认为,壳聚糖促进肉仔鸡生长的机理之一是:壳聚糖增加盲肠内容物 VFA 含量,降低肠道中的有害菌,促进有益菌的增殖,改善消化道内环境,促进肠道微绒毛的生长发育,加强了消化道对营养物质的吸收功能,从而促进肉仔鸡生长性能。

3.2 论文总体结论

在本试验条件下,初步得到如下结论:

(1)壳聚糖的促生长效果与壳聚糖的添加剂量有关,壳聚糖的添加量较低时促生长效果较好,尤以 200 mg/kg 为佳;

(2)日粮中添加壳聚糖可提高肉仔鸡的细胞免疫和体液免疫功能,但不同免疫指标所需的适宜添加剂量略有差异。对新城疫抗体滴度和单核-巨噬细胞吞噬指数而言,壳聚糖添加量为 50~200 mg/kg 时效果较好,而对外周血 T 淋巴细胞亚群($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 和 $CD8^+$)和免疫球蛋白而言,添加量为 500~1000 mg/kg 时效果较好;

(3)日粮壳聚糖能降低肉仔鸡血清中胆固醇和甘油三酯含量及皮质酮水平,提高血清中生长激素和类胰岛素生长因子水平,且以添加量 200 mg/kg 时效果最佳;

(4)日粮中添加一定剂量的壳聚糖能降低盲肠和回肠内容物中大肠杆菌数量,增加乳酸杆菌和双歧杆菌的数量,提高盲肠内容物中挥发性脂肪酸含量,添加量以 500~1000 mg/kg 效果较好。此外,添加量 50~2000 mg/kg 壳聚糖组的肉仔鸡肠道微绒毛高度和隐窝深度有所增加,绒毛宽度有所减小。

3.3 创新点

本试验从淋巴细胞亚群层次上探讨了壳聚糖对肉仔鸡细胞免疫功能的影响;并在研究壳聚糖对肉仔鸡生长性能和免疫功能影响的基础上,从促生长激素、应激激素和肠道 VFA、绒毛形态角度,较为系统地探讨了壳聚糖对肉仔鸡的促生长机理。在研究内容方面具有明显创新。

3.4 还需进一步研究探讨的问题

(1)本试验未深入研究壳聚糖增强免疫功能的机理。所以关于增强免疫功能的机

理需要进行进一步的研究。

(2) 本试验所用壳聚糖的脱乙酰度为 90.52%，是否不同脱乙酰度的壳聚糖所发挥的功能也不同，还有待于进一步研究。

(3) 本试验结果表明，较高剂量壳聚糖对肠道细菌和免疫功能的影响都较好，所以壳聚糖是否通过改善肠道环境，增强免疫功能有待进一步研究。

(4) 本论文由于条件所限，壳聚糖的添加量尽设了 6 个水平，应减少各剂量之间的跨度，进行进一步研究。

致 谢

本论文是在恩师史彬林教授的不倦教诲和悉心指导下完成的，三年来，恩师渊博的知识、严谨的治学态度和孜孜不倦的学习精神给予我极大的影响，使我终生受益。恩师在学习和生活上给予的支持和帮助是我论文得以完成的前提和保证，借此机会向恩师表示诚挚的谢意！在论文完成期间，得到了闰素梅教授的大力支持和帮助，在此表示衷心的感谢！

本论文在具体实施期间，得到了内蒙古农业大学曹贵方教授、王秀梅实验师、张爱荣高级实验师、敖力格日玛实验师、以及博士研究生乔良、李慧英、郭晓宇、硕士研究生张彩芬、高义彪、任海军、方丽惠、利明、郭元晟、崔玉铭、王海鹤、王淑琴、齐利枝的大力支持和无私帮助，在此一并表示诚挚的感谢！

最后在论文完成之际，特向我的亲人朋友表达我最衷心的感谢！

参 考 文 献

- 1 汪志君. 碘量法测定壳聚糖中的胺基[J]. 化学世界, 1999, (1):22-23.
- 2 胡征林. 积多善(甲壳素)的临床应用[J]. 蛇志, 1998, 10 (1).
- 3 何萍芬. 人体必需的第六大生命要素甲壳素·壳糖胺[J]. 中国公共卫生, 1998, 14 (3): 187-189.
- 4 陈耀华. 人类第6生命要素—甲壳质(几丁质)[J]. 医学院学报, 1999, 20 (5): 48-53.
- 5 顾云, 王绿娅等. 几丁聚糖对小鼠免疫调节的研究[J]. 广东卫生防疫, 1999, 25 (1).
- 6 魏涛, 唐粉芳, 高兆兰等. 壳聚糖降血脂、降血糖及增强免疫作用的研究[J]. 食品科学, 2000, 21 (4):49-52.
- 7 席鹏彬, 郑春田等. 壳聚糖及其在家禽饲料中的应用[J]. 饲料工业, 2003, 24 (11): 32- 36.
- 8 张丽英, 王宝维, 阎桂玲等. 壳聚糖对产蛋鸡血清和蛋黄中胆固醇含量的影响[J]. 饲料研究, 1998, (10):31-32.
- 9 Kobyaashi S, Terashima Y, Itoh H. Eeffets of dietary chitosan on fat deposition and Lipase activity in digesta in broiler chickens[J]. British Poultry Science, 2002, (43):270-273.
- 10 张丽英, 王宝维等. 壳聚糖对肉鸡体内胆固醇及 PUFA 含量的影响[J]. 中国家禽, 1998, (1):19-20.
- 11 卢美鸾, 宋玉芳等. 壳聚糖复合剂在家禽养殖中替代抗生素的研究[J]. 环境化学, 2007, 3 (2):255-257.
- 12 张克胜, 管其红, 吴海泉等. 壳聚糖对肉鸡生长发育的影响[J]. 安徽农业科学, 2005, 33 (5): 856-868.
- 13 朱立贤, 宋志刚, 林海等. 壳聚糖对肉仔鸡生长与免疫功能的影响研究[J]. 中国饲料, 2003, (4):15-17.
- 14 Razdan A, Pettesrson D. Eeffet of chitin and chitosan on nutrient digestibiliyt and plasma lipid concentrations in broiler chiekens [J]. Br. J. Nutr, 1994, 72 (2):277-288.
- 15 王秀武. 壳聚糖对肉仔鸡肠道主要菌群、小肠微绒毛密度、免疫功能及生产性能的影响[J]. 动物营养学报, 2003, 15 (4):32-35.
- 16 吕丹娜, 刘正伟, 许丽等. 不同脱乙酰度壳聚糖对肉仔鸡生长性能与免疫功能得影响[J]. 中国家禽, 2006, 28 (20):20-23.
- 17 王述柏. 壳聚糖对肉鸡生产性能及血液生化指标的影响[J]. 中国饲料, 1998, (12):19-20.
- 18 Sugano M, Fujikawa T. A novel use of Chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats[J]. American Journal of Cain. Nutrition, 1980, 33 (4):787-793.
- 19 Fuentes M, Aguiar E. The effect of shark cartilage and chitosan added to hen diets on egg yolk and plasma lipids [J]. Pout. Sic, 1999, 78 (suppl):79-82.
- 20 王敦, 徐英男, 崔少伟等. 虫源性壳聚糖对产蛋鸡生产性能及蛋品质的影响[J]. 中国家禽,

- 2004, 26 (17):8-9.
- 21 马小珍, 杨焯等. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能和脂肪代谢的影响[J]. 福建农业学报, 2001, 16 (4):30-31.
 - 22 郝刚. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能与免疫功能的影响[J]. 中国饲料, 2005, (24)19-21.
 - 23 刘海英, 于淼等. 壳聚糖对肉鸡生长性能、脂肪代谢的影响[J]. 饲料博览, 2003, (5):1-2.
 - 24 Nogueira C M, Zapata J F, Fuentes M F, Freitas E R, Craveiro A A, Aguiar C M. The effect of supplementing layer diets with shark cartilage or chitosan on egg components and yolk lipids [J]. Br. Poult Sci, 2003, 44 (2):218-223.
 - 25 郭玉英. 壳聚糖对不同品种不同日龄仔鸡生长饲料报酬的影响[J]. 江西饲料, 2005, (6):24-29.
 - 26 Shibata Y, et al. Alveolar macrophage priming by intravenous administration of chitin particles, polymers of N-acetyl-D-glucosamine in mice [J]. Infect Immun, 1997, 65 (5): 1734 -1741.
 - 27 Tokura S, Tamura H, Azuma I. Immunological aspects of chitin and chitin derivatives administered to animals [J]. EXS, 1999, (87):279-292.
 - 28 Nishimura K, et al. Macrophage activation with multi-porous beads prepared from partially deacetylated chitin [J]. Biomed Mater Res, 1986, 20 (9):1359-1372.
 - 29 严金龙, 许琦, 蔡照盛等. 甲壳低聚糖的制备、特性与应用研究进展[J]. 安徽化工, 2005, 31 (1):24-27.
 - 30 Kosaka T, et al. Effect of chitosan implantation on activation of canine macrophages and polymorphonuclear cells after surgical stress[J]. Vet Med Sci, 1996, 58 (10):963-967.
 - 31 房国坚. 几丁质对肿瘤及免疫作用的试验研究[J]. 浙江省医学科学院学报, 1995, (9): 26-27.
 - 32 张澄波. 脱乙酰壳多糖的抗细菌感染作用[J]. 首都医学院学报, 1993, 14 (3):175-176.
 - 33 丁晓岚. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能的影响及其促生长机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2005, 12-58.
 - 34 石建明. 壳多糖免疫调节作用的实验观察[J]. 上海免疫学杂志, 1999, 19 (2):116-118.
 - 35 应自忠, 张慧等. 壳聚糖对荷瘤小鼠红细胞免疫功能的影响[J]. 中国公共卫生, 2000, 16 (9): 831-834.
 - 36 谢勇, 龚燕锋, 周南进等. 胃黏膜局部免疫反应在以壳聚糖为佐剂的幽门螺杆菌疫苗免疫保护中的作用[J]. 中华医学杂志, 2005, 83 (3):26-29.
 - 37 谢勇, 龚燕锋, 周南进等. 以壳聚糖为佐剂的幽门螺杆菌蛋白抗原对幽门螺杆菌感染的免疫保护作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2005, 25 (10):813-814.
 - 38 常海艳, 陈建军, 方芳等. 流感病毒灭活疫苗新型佐剂-壳聚糖增强免疫作用研究[J]. 中国生物制品学杂志, 2004, 17 (6):383-384.
 - 39 陈利玉, 易新元, 曾宪芳等. 日本血吸虫重组铁蛋白的黏膜免疫效果研究[J]. 中国寄生虫学

- 与寄生虫病杂志, 2004, 22 (3):129-130.
- 40 Bacon A, Makin J, Sizer P J, et al. Carbohydrate biopolymers enhance antibody responses to mucosally delivered vaccine antigens [J]. *Infection and Immunity*, 2000, 68 (10):57-64.
 - 41 Mills K H, Cosgrove C, McNeela E A, et al. Protective levels of diphtheria-neutralizing antibody induced in healthy volunteers by unilateral priming-boosting intranasal immunization associated with restricted edipsilateral mucosal secretory immunoglobulin a [J]. *Infection and Immunity*, 2003, 71 (2):726-727.
 - 42 Seferian P G, Martinez M L. Immune stimulating activity of two new chitosan containing adjuvant formulations [J]. *Vaccine*, 2000, 19 (6):661-662.
 - 43 Bivas-Benita M, Laloup M, Verstehey S, et al. Generation of *Toxoplasma gondii* GRA1 protein and DNA vaccine loaded chitosan particles: preparation, characterization, and preliminary in vivo studies [J]. *Int J Pharm*, 2003, 266 (1~2):17-18.
 - 44 McNeela E A, O'Connor D, Jabbal-Gill I, et al. A mucosal vaccine against diphtheria: formulation of cross reacting material (CRM197) of diphtheria toxin with chitosan enhances local and systemic antibody and TH2 responses following nasal delivery [J]. *Vaccine*, 2000, 19 (9-10):1188-1197.
 - 45 Kang M L, Kang S G, Jiang H L, et al. In vivo induction of mucosal immune responses by intranasal administration of chitosan microspheres containing *Bordetella bronchiseptica* DNT [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2006, 63 (2):215-216.
 - 46 Porporatto C, Bianco I D, Cabanillas A M, et al. Early events associated to the oral co-administration of type II collagen and chitosan: induction of anti-inflammatory cytokines [J]. *Int. Immunol*, 2004, 16 (3):433-434.
 - 47 胡思隽. 壳聚糖与免疫调节 [J]. *江西医药*, 1999, 41 (10):803-805.
 - 48 Illum L, Jabbal-Gill I, Hinchcliffe M, et al. Chitosan as a novel nasal delivery system for vaccines [J]. *Adv. Drug Deliv. Rev*, 2001, (5):181-182.
 - 49 Porporatto C, Bianco I D, Cabanillas A M, Correa S G. Early events associated to the oral co-administration of type II collagen and chitosan: induction of anti-inflammatory cytokines [J]. *Int. Immunol*, 2004, 16 (3):433.
 - 50 Gallaher C, Munion M J, Hesslink R. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats [J]. *J. Nutri. Sci*, 2000, 130:2753-2759.
 - 51 Lim B O, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto U, Hung P, Sugano M. Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats [J]. *J. Nutr*, 1997, 127(5):663-667.
 - 52 Sugano M, Watanabe S, Kishi A. Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats [J]. *Lipids*, 1988, 23:187.

- 53 Lim B O, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto U, Hung P, Sugano M. Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats [J]. *J. Nutr*, 1997, 127 (5):668-669.
- 54 朱立贤, 宋志刚, 林海等. 壳聚糖对肉仔鸡生长与免疫功能的影响研究 [J]. *中国饲料*, 2003, (4):15-17.
- 55 陈杰, 韩正康, 王国杰等. 壳聚糖对肉用鹤鹑生产性能、脂免疫及内分泌机能的影响 [J]. *动物营养学报*, 2001, (4):49.
- 56 史彬林, 李德发, 朴香淑等. 壳聚糖对肉仔鸡生长及免疫功能的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2005, 41 (1):9-11.
- 57 吕丹娜, 刘正伟, 王喜明等. 不同脱乙酰度壳聚糖对肉仔鸡生长性能与免疫功能的影响 [J]. *中国家禽*, 2006, 28 (20):20-23.
- 58 吴秋小, 黄冠庆, 曾得寿等. 壳聚糖对 0~3 周龄三黄肉仔鸡生产性能和免疫力影响的初探 [J]. *饲料工业*, 2003, 28 (2): 46-48.
- 59 王政富, 霍雁峰, 张莹等. 不同碳水化合物对早期断奶仔猪小肠组织结构的影响 [J]. *广东畜牧兽医科技*, 2002, 27 (4):22-24.
- 60 刘海英. 壳聚糖对肉鸡生产性能和脂肪代谢的影响 [J]. *饲料博览*, 2003, (5):1-3.
- 61 马小珍, 杨焯, 谢新东等. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能和脂肪代谢的影响 [J]. *福建农业学报*, 2001, 16 (4):30-34.
- 62 吴加罗. 壳聚糖对大鼠血脂水平的影响 [J]. *营养学报*, 1996, (2):197-198.
- 63 董爱森等. 复方壳聚糖对高脂血症作用的研究 [J]. *福建医药杂志*, 2001, 23 (2):104-106.
- 64 杨正平, 刘福柱, 灯兴照等. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能及血清生化指标的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2007, 43 (7):28-31..
- 65 Kobayashi S, Terashima Y, Itoh H. Effects of dietary chitosan on fat deposition and lipase activity in digesta in broiler chickens [J]. *Bri Poult Sci*, 2002, 43:270-273.
- 66 Deuchi K, Kanauchi O, Imasato Y, et al. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1995, 59: 786-790.
- 67 Gallaher C, Munion J, Hesslink R, et al. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion [J]. *J. Nutri*, 2000, 130:2753-2759.
- 68 Tang Z R, Yin Y L, Charles M N, et al. Effects of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan-oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-1 mRNA expression in early-weaned piglets [J]. *Domest Anim Endocrin*, 2005, 28: 430-441.
- 69 孙萍, 朱立华, 杨桂文等. 水溶性壳聚糖的降血糖作用研究 [J]. *山东医药*, 2007, 47 (10):23-24.
- 70 管云林, 付强等. 分子量对壳聚糖抗菌性的影响 [A]. *中国甲壳资源研究开发应用学术研讨会文集(下册)* [C], 1997, 35-36.

- 71 荆迎军, 郝友进, 渠晖等. 壳聚糖抑菌活性分析及其抑菌机理的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006, 31 (6):361-375.
- 72 郑连英, 朱江峰, 孙昆山等. 壳聚糖的抗菌性能研究[J]. 材料科学与工程, 2000, 18 (2):22-23.
- 73 车炳坤, 刘彩怡, 龙峰等. 甲壳胺体外抑菌活性试验研究[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(3): 212-213.
- 74 宋献周. 不同平均分子量的 α -壳聚糖的抑菌作用[J]. 上海水产大学学报, 2000, 9 (2): 138-141.
- 75 刘艳如, 余萍, 郑冶等. 水溶性壳聚糖的抑菌作用研究[J]. 中国海洋药物, 2001, 80 (2): 42- 45.
- 76 朱立贤, 宋志刚等. 壳聚糖的体外抑菌试验[J]. 饲料博览, 2002, (11):38-39.
- 77 郝刚, 许丽等. 壳聚糖对鸡常见病原菌的体外抑菌试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005, (7):45-46.
- 78 张澄波, 陈瑞, 赵慧芳等. 脱乙酰壳多糖的抗细菌感染作用[J]. 首都医学院学报, 1993, 14 (3): 175-177.
- 79 张燕婉. 壳聚糖对五种食物中霉菌生长的影响[J]. 微生物学通报, 1991, 18 (6): 344- 347.
- 80 陈超群, 任林, 吴移谋等. 壳聚糖对小鼠肠道菌群的影响[J]. 实用预防医学, 2003, 7 (6): 413-414.
- 81 Helander I M, Nurmiaho-Lassila E L, Ahvenainen R, et al. Chitosan disrupts the properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria [J]. Inter. J. Food Microbio, 2001, 71: 1221-1227.
- 82 Hdawiger L A, Firsten B, Rigglema R C. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen nintearentions increases crop yields [A]. Cmun Chitlsnanad Related Enzymes [M]. New York : Aedaemie Press. 1984, 291-306.
- 83 Leuba J L, Stossel P. Chitosan and other Polyamines:antigungal activity and interaction with biology membranes[A]. Chiun in Nature and Technology [M]. New York: Plernum Press. 1986, 215-234.
- 84 郑连英, 朱江峰, 孙昆山等. 不同分子量壳聚糖的抗菌性能研究[A]. 第二届甲壳素化学与应用研讨会论文集[C], 中国化学会, 1991, 311-315.
- 85 宋献周. 不同平均分子量的 α -壳聚糖的抑菌作用[J]. 上海水产大学学报, 2000, 9 (3): 138-141.
- 86 管云林, 付强, 郎铁柱等. 分子量对壳聚糖抗菌性的影响[A]. 中国甲壳资源研究开发应用学术研讨会论文集(下册)[C], 青岛:中国药学会海洋药物专业委员会, 中国海洋湖沼学会药物学分会, 1997, 35-36.
- 87 UENO K, et al. Applications of chitin and chitosan [J]. Adv in Chitin Sci, 1997, 2:102-106.
- 88 YOUSOOK S. The antibi otic effect of chitosan on.bacteria of varying cell well composition [J]. Adv in Chitin Sci, 1997, 2:890-896.
- 89 王秀武, 张丽, 杜显光等. 壳聚糖对肉仔鸡矿物质微量元素代谢、肠道菌群及微绒毛形态密度的影响[J]. 中国粮油学报, 2004, 19 (6):94-97.

- 90 王秀武, 张丽, 杜昱光等. 海洋寡聚糖对仔猪结肠内容物营养成分、肠道形态和肠道微生态的影响[J]. 中国动物保健, 2005, (1):31-32.
- 91 陈振兴, 叶美美, 朱惠等. 复方壳聚糖对消化功能的影响[J]. 海峡药学, 2001, 13 (4):24-25.
- 92 刘海英, 于淼等. 壳聚糖对肉鸡生长性能、脂肪代谢的影响[J]. 饲料博览, 2003, (5):1-3.
- 93 Kobayashi S, Terashima Y, Itoh H. Effects of dietary chitosan on fat deposition and lipase activity in digestainbroilerchickens[J]. British Poultry Science, 2002, 43 (2):270-273.
- 94 Shigeki. 壳聚糖对脂肪代谢的调控及饲用效果[J]. 张倩摘译, 国外畜牧科技, 1997, (2):26-28.
- 95 Deuchi K, Kanauchi O, Imasato Y, et al. Decreasing effect of chitosan on the apparent digestibility by rats fed a high fat diet[J]. Biosci Biotech Biochem, 1994, 58:1613-1616.
- 96 Razdan A, Pettersson D. Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens[J]. British Journal of Nutrition, 1994, 72 (2): 277-288.
- 97 Razdan A, Pettersson D. Hypolipidaemic.gastrointestinal and related responses of broiler chickens to chitosans of different viscosity [J]. British Journal Nutrition, 1996, 76 (3): 387-397.
- 98 Furda I, Vahouny G V, Satchithanandam S. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat [J]. Am J Clin Nutr, 1983, 38 (2): 278-284.
- 99 Cynthia M. G, Jessa M, Robert H, Jr J W. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats [J]. J. Nutr, 2000, 130:2753-2759.
- 100 Deuchi K, Kanauchi O, Imasato Y, Kobayashi E. Decreasing effect of chitosan on the apparent digestibility by rats fed a high fat diet [J]. Biosci. Biotech. Biochem, 1994, (58): 1613-1616.
- 101 Razdan A, Pettersson D, Pettersson J. Broiler chicken body weights, feed intakes, plasma lipid and small-intestinal bile acid concentrations in response to feeding of chitosan and pectin [J]. Br J Nutrition, 1997, 78 (2): 283-291.
- 102 陈振兴, 叶美美等. 复方壳聚糖对消化功能的影响[J]. 海峡药学, 2001, 13 (4):24-25.
- 103 王秀武, 白雪芳等. 壳寡糖对肉仔鸡肠道主要菌群、小肠微绒毛密度、免疫功能及生产性能的影响[J]. 动物营养学报, 2003, 15 (4):32-35.
- 104 赫刚, 许丽等. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能与免疫功能得影响[J]. 中国饲料, 2005, 24:19-31.
- 105 郭振楚. 壳聚糖及其衍生物与金属配位的研究进展[A]. 第二届甲壳素化学与应用研讨会论文集[C], 1999,16-23.
- 106 夏文水. 壳聚糖的生理活性及其在食品中的应用[J]. 中国食品学报, 2003, 3 (1):77-81.
- 107 王秀武, 张丽, 杜昱光等. 壳聚糖对肉仔鸡矿物质微量元素代谢、肠道菌群及微绒毛形态密度的影响[J]. 中国粮油学报, 2004, 19 (6):94-97.
- 108 柯叶艳, 陈杰, 韩正康等. 壳聚糖对肉用鹌鹑生产性能、脂肪代谢、免疫及内分泌机能的影响

- [J]. 动物营养学报, 2001, 13 (4):49-53.
- 109 马小珍, 杨焯, 谢新东等. 壳聚糖对肉仔鸡(公鸡)生长性能和脂肪代谢的影响[J]. 福建农业学报, 2000, 16 (4):30-34.
- 110 朱立贤, 宋志刚, 袁磊等. 壳聚糖对肉仔鸡生产性能和血清胆固醇含量的影响[J]. 中国饲料, 2002, (17):19-20.
- 111 赵咏梅. GH-IGF-I 轴的作用机制 [J]. 四川医学, 2005, 26 (7):808-810.
- 112 陆晓军, 杨秋平, 卢振霞等. 振动和噪声对动物 ACTH 和皮质酮的影响 [J]. 吉林大学学报, 2002, 32 (4):75-77.
- 113 史彬林. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能和免疫功能的影响及其机理的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005, 23-65.
- 114 Kobayashi S, Itoh H. Effect of dietary chitin and chitosan on growth and abdominal fat deposition in chicken [J]. Japanese Poultry Science, 1991, 28:88-94.

作者简介

金晓, 女, 蒙古族, 1984年4月出生于内蒙古自治区兴安盟科右中旗, 2005年毕业于内蒙古农业大学动物科学专业, 获农学学士学位。2005年, 开始攻读内蒙古农业大学动物科学与医学学院动物营养与饲料科学专业硕士学位。

攻读硕士学位期间发表的论文有:

1. 金晓, 史彬林, 李慧英, 张彩芬等. 壳聚糖对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 饲料工业, 2008, 29(6): 40-46.
2. 张彩芬, 史彬林, 金晓等. Effects of Dietary Supplementation of Chitosan on Growth Performance and Serum IGF- I and GH in Piglets [J]. 动物营养学报, 2008, 20(2): 191-195.