

1 沙葱黄酮对肉羊生产性能和肠道组织 β -防御素基因表达的影响¹

2 陈圣阳 敖长金* 郑彦楷 陈仁伟 刘旺景 木其尔 白 晨

3 (内蒙古农业大学动物科学学院, 呼和浩特 010018)

4 摘 要: 本试验旨在研究沙葱黄酮对肉羊生产性能和肠道组织免疫因子 β -防御素-1(*sBD-1*)
5 和 β -防御素-2(*sBD-2*)基因表达的影响。选取 60 只健康、体重[(39.9±3.2) kg]相近的 6 月龄
6 小尾寒羊羯羊, 采用单因素完全随机区组设计, 共分为 4 组, 每组 15 只。对照组饲喂基础
7 饲料, 试验组分别饲喂在基础饲料中添加 11(低浓度黄酮组)、22(中浓度黄酮组)和 33 mg/kg
8 沙葱黄酮(高浓度黄酮组)的试验饲料, 共饲喂 70 d, 其中预试期 15 d, 正试期 60 d。每天
9 记录各组羊的采食量, 每隔 15 d 晨饲前空腹称重 1 次。试验结束后每组随机选取 3 只羊进
10 行屠宰, 采集十二指肠、空肠、回肠组织样, 应用实时荧光定量 PCR 进行 *sBD-1* 和 *sB-2* 基
11 因相对表达量的测定。结果表明: 1) 试验第 30~45 天以及第 45~60 天, 各试验组肉羊的平
12 均日采食量均显著高于对照组 ($P<0.05$), 其中以高浓度黄酮组肉羊的平均日采食量最高;
13 试验第 45~60 天, 与对照组相比, 各试验组肉羊的平均日增重显著提高 ($P<0.05$), 料重比
14 显著降低 ($P<0.05$), 其中以中浓度黄酮组肉羊的平均日增重最高, 高浓度黄酮组料重比最
15 低。2) 与对照组相比, 饲料添加 33 mg/kg 的沙葱黄酮显著提高了 *sBD-1* 基因在空肠和回肠
16 中及 *sBD-2* 基因在空肠中的相对表达量 ($P<0.05$), 饲料添加 22 mg/kg 的沙葱黄酮显著提
17 高了 *sBD-2* 基因在十二指肠中的相对表达量 ($P<0.05$)。综上所述, 饲料中添加 22~33 mg/kg
18 的沙葱黄酮能够显著提高肉羊生产性能和 β -防御素 (*sBD-1*、*sBD-2*) 基因在肠道中的表达。

19 关键词: 肉羊; 生产性能; 免疫; β -防御素; 基因表达

20 中图分类号: S963 文献标识码: A 文章编号:

收稿日期: 2017-09-12

基金项目: 国家自然科学基金(31460611)

作者简介: 陈圣阳 (1990-), 男, 山东济宁人, 硕士研究生, 从事动物营养与畜产品品质研究。E-mail: 275338633@qq.com

*通信作者: 敖长金, 教授, 博士生导师, E-mail: changjinao@aliyun.com

21 沙葱 (*Allium mongolicum* Regel) 是百合科葱属植物, 又名“蒙古韭”, 主要分布于我国
22 西北部和内蒙古中西部地区, 是一种营养物质种类丰富和含量较高的优质牧草。沙葱及其提
23 取物对动物机体具有良好的抗氧化活性和免疫调节功能。黄酮类化合物是沙葱脂溶性提取物
24 的主要活性成分之一, 对机体的免疫应答发挥着非常重要的作用。赵春艳等^[1]报道, 沙葱黄
25 酮可通过提高小鼠的免疫器官指数、血液及肝脏的酸性磷酸酶和溶菌酶活性、碳廓清指数、
26 吞噬系数, 进而增强机体非特异性免疫机能。体外研究也表明, 沙葱异黄酮具有一定的清除
27 氧自由基的能力^[2]。沙葱黄酮能够通过促进绵羊外周血淋巴细胞的增殖, 上调白细胞介素 2
28 (*IL-2*) 和 γ -干扰素 (*IFN γ*) 基因的表达, 下调白细胞介素-4 (*IL-4*) 基因的表达, 从而增强
29 机体的免疫调节作用^[3]。

30 抗菌肽是一类小分子肽, 广泛分布在动植物体内, 是哺乳动物抵抗外来抗原物质入侵而
31 启动的第 1 道先天性免疫防线^[4]。 β -防御素是主要由上皮细胞产生的富含半胱氨酸的阳离子
32 抗菌肽, 由 6~8 个半胱氨酸残基组成, 半胱氨酸之间由 3~4 个二硫键连接, 其分子构象稳
33 定, 在动物呼吸道和消化道等上皮组织中发挥着重要的免疫调节作用^[5-6]。 β -防御素相比抗
34 生素具有分子质量小、热稳定性高、水溶性好和不易产生耐药性等诸多优点^[7-8]。通过提高
35 β -防御素的表达来增强肠道免疫功能, 是控制和预防肠道疾病的新策略, 所以, 对 β -防御素
36 进行研究对畜禽疾病预防和治疗、养殖业的健康发展和畜产品的安全生产都有重大意义。大
37 量研究表明, 在舍饲肉羊的饲料中添加沙葱黄酮能够增强其非特异性免疫机能, 降低发病率,
38 加快生长速度^[9-12]。目前已经阐明了沙葱黄酮的提取工艺、组成、结构及其相关免疫活性,
39 但其对舍饲肉羊生产性能及其肠道组织中免疫因子 β -防御素-1(*sBD-1*)和 β -防御素-2(*sBD-2*)
40 基因表达的影响却鲜见报道。因此, 本试验在肉羊饲料中添加不同水平的沙葱黄酮, 探究沙
41 葱黄酮对肉羊生产性能及肠道组织免疫因子 β -防御素 (*sBD-1*、*sBD-2*) 基因表达的影响, 以
42 期为沙葱黄酮在肉羊饲养中的进一步应用提供理论依据。

43 1 材料与amp;方法

44 1.1 试验材料

45 Elx800 多功能酶标仪 (BioTek H4, 美国), 荧光定量 PCR 仪 (Bio-Rad, 美国), 梯
 46 度 PCR 仪 (Veriti Thermal Cycler 4375786, 美国), 高压灭菌锅 (Panasonic MLS-375, 日
 47 本), 电热鼓风干燥箱 (CiMo DHG-9073BS-III, 上海新苗医疗器械制造有限公司), -20 °C
 48 冰箱 (DW-40W255, 青岛海尔股份有限公司), -80 °C 超低温冰箱 (Thermo Forma-8600,
 49 美国), 移液器 (Eppendorf Research Plus, 德国), 低温高速离心机 (Sigma 3K30, 德国),
 50 迷你离心机(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司), 液氮罐 (YDS-10B, 东亚机电工贸有限公
 51 司) 等。

52 1.2 试验设计

53 选取 60 只健康、体重[(39.9±3.2) kg]相近的 6 月龄小尾寒羊羯羊, 采用单因素完全
 54 随机试验设计, 共分为 4 组, 每组 15 只。对照组试验羊饲喂基础饲粮, 试验组试验羊分别
 55 饲喂在基础饲粮中添加 11 (低浓度黄酮组)、22 (中浓度黄酮组) 和 33 mg/kg 沙葱黄酮 (高
 56 浓度黄酮组) 的试验饲粮。基础饲粮组成及营养水平见表 1。

57 表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

58 Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

| 项目 Items | 含量 Content |
|---------------------------|------------|
| 原料 Ingredients | |
| 羊草 Chinese wildrye | 32.00 |
| 苜蓿 Alfalfa | 17.80 |
| 玉米 Corn | 23.00 |
| 小麦麸 Wheat bran | 2.87 |
| 向日葵仁饼 Sunflower seed meal | 16.92 |
| 豌豆茎叶 Pea stalk | 2.45 |
| 苹果渣 Pomace | 2.45 |
| 磷酸氢钙 CaHPO ₄ | 0.72 |
| 食盐 NaCl | 0.79 |
| 预混料 Premix | 1.00 |

| | |
|----------------------|--------|
| 合计 Total | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels | |
| 消化能 ME/(MJ/kg) | 16.88 |
| 粗蛋白质 CP | 16.33 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 37.92 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 29.57 |
| 钙 Ca | 1.39 |
| 磷 P | 0.51 |

59 预混料为每千克饲料提供 Provided the following per kg of the diet: Fe (as ferrous sulfate)
60 25 mg, Zn (as zinc sulfate) 29 mg, Cu (as copper sulfate) 8 mg, Mn (as manganese sulfate) 30
61 mg, I (as potassium iodide) 0.04 mg, Co (as cobaltous sulfate) 0.1 mg, VA 3 200 IU, VD₃ 1 200
62 IU, VE 20 IU。

63 1.3 沙葱黄酮的制备

64 沙葱采自内蒙古自治区阿拉善盟阿拉善左旗，为大棚种植。试验所用沙葱黄酮由本实验
65 室依据萨茹丽等^[13]报道的方法制备。

66 1.4 饲养管理

67 试验开始前 1 周对羊舍进行统一消毒处理，试验期共 75 d，其中预试期 15 d、正试期
68 60 d。试验羊分群饲养，自由饮水。正试期每天分别在 07:00 和 18:00 饲喂 1 次，每次采食
69 时间持续 1.5 h，在每天的 08:30 和 19:30 收集剩料。试验期间各组饲养方式、管理模式及环
70 境条件一致。

71 1.5 生产性能指标的测定

72 正试期内收集剩料称重并记录，计算每组试验羊每天的实际采食量，计算平均日采食量。
73 在试验第 1、15、30、45、60 天晨饲前空腹称重，根据采食量和体重的变化来计算肉羊的料
74 重比和平均日增重，计算公式如下：

75 平均日增重=总增重 (g) /试验天数 (d) ；

76 平均料肉比=平均日采食量 (g) /平均日增重 (g)。

77 1.6 肠道组织样品采集及 *sBD-1*、*sBD-2* 基因相对表达量的测定

78 在试验第 60 天, 每组中随机选取 3 只羊, 经检疫合格后进行屠宰, 快速采集十二指肠、
79 空肠、回肠组织样包入预先准备好的纱布中, 迅速放入液氮, 冷冻后将样品转移到-80 °C 超
80 低温冰箱中保存待测。提取样品总 RNA, 用分光光度计和凝胶电泳测定提取的总 RNA 的纯
81 度及完整性。cDNA 的合成按照试剂盒 (RR047A, TaKaRa) 说明书进行操作。本试验以甘
82 油醛-3-磷酸脱氢酶 (*GAPDH*) 为内参基因, 引物由华大基因股份公司设计合成, 扩增条件:
83 第 1 步, 95 °C, 30 s, 共 1 个循环。第 2 步, 95 °C, 5 s; 60 °C, 30 s, 共 40 个循环。第
84 3 步, 95 °C, 15 s; 60 °C, 30 s; 95 °C, 30 s, 共 1 个循环。引物序列及参数见表 2。

85 表 2 引物序列及参数

86 Table 2 Primer sequences and parameters

| 基因 | 引物序列 | GeneBank 登录号 | 长度 |
|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------|
| Genes | Primer sequences (5'-3') | GeneBank accession number | Length/bp |
| 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 | F: GGTCGGAGTGAACGGATTTG | KY041634.1 | 118 |
| <i>GAPDH</i> | R: TGGCAACGATGTCCACTTTG | | |
| β -防御素-1 <i>sBD-1</i> | F: GTCTAAGCTGCCATAGGAATAAAGC | U75250 | 111 |
| | R: ACTTCTTTCTGCAGCATTTTACTGG | | |
| β -防御素-2 <i>sBD-2</i> | F: ACCTGCTCCTCGTGCTCTTC | NM_001198545 | 105 |
| | R: GCACACAGATGCCTTTCTTCC | | |

87 F=上游引物 forward primer, R=下游引物 reverse primer。

88 1.7 统计分析

89 利用 Excel 2007 软件进行数据整理, 采用 SAS 9.0 软件的 one way-ANOVA 程序进行单

90 因素方差分析，以“平均值±标准误”表示试验结果， $P<0.05$ 为差异显著。

91 2 结 果

92 2.1 沙葱黄酮对肉羊平均日采食量的影响

93 从表3可以看出，试验第1~15天，各组肉羊的平均日采食量与对照组相比无显著差异
 94 ($P>0.05$)；试验第15~30天，以黄酮高浓度组肉羊的平均日采食量最高，显著高于对照组
 95 和其他试验组 ($P<0.05$)，黄酮低浓度组肉羊的平均日采食量显著低于对照组和其他试验组
 96 ($P<0.05$)；试验第30~45天以及第45~60天，各试验组肉羊的平均日采食量均显著高于对
 97 照组 ($P<0.05$)，其中以高浓度黄酮组肉羊的平均日采食量最高。

98 表3 沙葱黄酮对肉羊平均日采食量的影响

99 Table 3 Effects of *Allium mongolicum* Regel flavonoids on average daily feed intake of meat sheep g/d

| 时间 Time | 沙葱黄酮添加量 | | | | P 值 P-value |
|------------------------------------|--|------------------------|------------------------|------------------------|----------------|
| | Supplemental level of <i>Allium mongolicum</i> Regel flavonoids/ (mg/kg) | | | | |
| | 0 | 11 | 22 | 33 | |
| 第1~15天 The 1st to 15th day | 1 149±50 | 1 151±43 | 1 157±40 | 1 184±57 | 0.10 |
| 第15~30天 The 15th to 30th day | 1 148±42 ^b | 1 107±45 ^c | 1 139±42 ^b | 1 192±40 ^a | 0.01 |
| 第30~45天 The 30th to 45th day | 1 244±87 ^b | 1 308±146 ^a | 1 306±122 ^a | 1 337±157 ^a | 0.02 |
| 第45~60天 The 45th to 60th day | 1 409±103 ^b | 1 563±53 ^a | 1 552±68 ^a | 1 593±64 ^a | 0.36 |

100 同列数据肩标无或相同字母表示差异不显著 ($P>0.05$)，不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

101 In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$),

102 while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

103 2.2 沙葱黄酮对肉羊平均日增重的影响

104 从表 4 可以看出, 各组试验羊在的初始体重基本接近 ($P>0.05$), 相差不超过 1.06%。
 105 试验第 1~15 天, 对照组与各试验组肉羊的平均日增重差异不显著 ($P>0.05$); 试验第 15~30
 106 天, 各试验组肉羊的平均日增重显著高于对照组 ($P<0.05$), 其中中浓度黄酮组肉羊的平均
 107 日增重在数值上高于其他 2 个试验组, 但差异不显著 ($P>0.05$); 试验第 30~45 天, 与对
 108 照组相比, 饲料中添加黄酮提高了肉羊的平均日增重, 其中, 高浓度黄酮组肉羊的平均日增
 109 重显著高于对照组 ($P<0.05$), 中浓度黄酮组和低浓度黄酮组有高于对照组的趋势, 但差异
 110 不显著 ($P>0.05$); 试验第 45~60 天, 与对照组相比, 各试验组肉羊的平均日增重显著提
 111 高 ($P<0.05$), 其中以中浓度黄酮组肉羊的平均日增重最高。

112 表 4 沙葱黄酮对肉羊平均日增重的影响

113 Table 4 Effects of *Allium mongolicum* Regel flavonoids on average daily gain of meat sheep

| 项目 Items | 沙葱黄酮添加量 | | | | P 值 P-value |
|--------------------------------------|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------|
| | Supplemental level of <i>Allium mongolicum</i> Regel flavonoids/ (mg/kg) | | | | |
| | 0 | 11 | 22 | 33 | |
| 初始体重 IBW /kg | 42.37±3.25 | 42.48±4.39 | 42.70±5.59 | 42.81±2.95 | 0.47 |
| 平均日增重 Average daily gain/ (g/d) | | | | | |
| 第 1~15 天 The 1st to 15th day | 150.67±56.77 | 156.89±50.35 | 126.22±52.69 | 117.33±53.65 | <0.01 |
| 第 15~30 天 The 15th to 30th day | 194.22±82.37 ^c | 226.67±65.37 ^{ab} | 250.22±75.60 ^a | 239.56±63.73 ^{ab} | 0.02 |
| 第 30~45 天 The 30th to 45th day | 218.67±169.43 ^b | 259.56±50.92 ^{ab} | 279.56±74.34 ^{ab} | 307.56±119.45 ^a | 0.06 |
| 第 45~60 天 The 45th to | 226.22±67.48 ^c | 311.56±60.56 ^{ab} | 318.22±61.61 ^a | 289.33±47.44 ^{ab} | 0.02 |

60th day

114 2.3 沙葱黄酮对肉羊料重比的影响

115 从表 5 可以看出, 试验第 1~15 天, 各组肉羊的料重比相近, 无显著差异 ($P>0.05$);

116 试验第 15~30 天, 与对照组相比, 各试验组肉羊的料重比显著降低 ($P<0.05$), 且高浓度黄

117 酮组肉羊的料重比显著高于低浓度黄酮组和中浓度黄酮组 ($P<0.05$); 试验第 30~45 天, 以

118 对照组肉羊的料重比最高, 显著高于各试验组 ($P<0.05$), 且中浓度黄酮组肉羊的料重比显

119 著低于低浓度黄酮组和高浓度黄酮组 ($P<0.05$); 试验第 45~60 天, 与对照组相比, 各试验

120 组肉羊的料重比显著降低 ($P<0.05$), 且高浓度黄酮组肉羊的料重比显著低于低浓度黄酮组

121 ($P<0.05$), 并有低于中浓度黄酮组的趋势, 但差异不显著 ($P>0.05$)。

122 表 5 沙葱黄酮对肉羊料重比的影响

123 Table 5 Effects of *Allium mongolicum* Regel flavonoids on feed to gain ratio of meat sheep

| 时间 Time | 沙葱黄酮添加量 | | | | P 值 P-value |
|--------------------------------------|--|------------------------|-------------------------|------------------------|----------------|
| | Supplemental level of <i>Allium mongolicum</i> Regel flavonoids/ (mg/kg) | | | | |
| | 0 | 11 | 22 | 33 | |
| 第 1~15 天 The 1st to 15th day | 8.05±0.70 | 8.39±0.33 | 8.37±0.78 | 8.30±0.68 | 0.16 |
| 第 15~30 天 The 15th to 30th day | 6.22±0.47 ^a | 5.01±0.17 ^c | 4.87±0.22 ^c | 5.50±0.22 ^b | 0.02 |
| 第 30~45 天 The 30th to 45th day | 5.91±0.22 ^a | 4.88±0.20 ^b | 4.55±0.17 ^c | 4.97±0.17 ^b | <0.01 |
| 第 45~60 天 The 45th to 60th day | 5.68±0.41 ^a | 5.04±0.58 ^b | 4.66±0.45 ^{bc} | 4.34±0.53 ^c | 0.02 |

124 2.4 沙葱黄酮对肉羊不同肠道组织中 *sBD-1*、*sBD-2* 基因相对表达量的影响

125 由表 6 可知, 高浓度黄酮组空肠和回肠中 *sBD-1* 基因的相对表达量显著高于对照组及

126 其他试验组 ($P<0.05$), 高浓度黄酮组十二指肠中 *sBD-1* 基因的相对表达量与对照组相比无

127 显著差异 ($P>0.05$); 中浓度黄酮组空肠、回肠和十二指肠中和低浓度黄酮组十二指肠和回

128 肠中 *sBD-1* 基因的相对表达量显著低于对照组 ($P<0.05$), 低浓度黄酮组空肠中 *sBD-1* 基因

129 的相对表达量与对照组相比无显著差异 ($P>0.05$)。

130 由表 6 可知，中浓度黄酮组十二指肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量较对照组显著提高
 131 ($P<0.05$)。低浓度黄酮组十二指肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量在数值上高于对照组，但差
 132 异不显著 ($P>0.05$)，高浓度黄酮组十二指肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量显著低于对照组
 133 ($P<0.05$)；高浓度黄酮组和中浓度黄酮组空肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量显著高于对照组
 134 ($P<0.05$)，且高浓度黄酮组空肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量还显著高于中浓度黄酮组
 135 ($P<0.05$)；低浓度黄酮组空肠中以及各试验组回肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量与对照组相
 136 比差异不显著 ($P>0.05$)。

137 表 6 沙葱黄酮对肉羊不同肠道组织中 *sBD-1*、*sBD-2* 基因相对表达量的影响

138 Table 6 Effects of *Allium mongolicum* Regel flavonoids on relative expression levels of *sBD-1* and *sBD-2* genes
 139 in different intestinal tissues of meat sheep

| 基因 Genes | 部 位 Part | 沙葱黄酮添加量 Supplemental level of <i>Allium mongolicum</i> Regel flavonoids/ (mg/kg) | | | | P 值 P-value |
|---------------------------------|-------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|----------------|
| | | 0 | 11 | 22 | 33 | |
| β -防御素 -1 <i>sBD-1</i> | 十二指肠 | 1.00±0.12 ^a | 0.83±0.19 ^b | 0.87±0.18 ^b | 0.96±0.25 ^a | 0.45 |
| | 空肠 | 1.00±0.03 ^{bc} | 1.12±0.02 ^b | 0.99±0.02 ^c | 1.55±0.04 ^a | 0.01 |
| | 回肠 | 1.00±0.02 ^b | 0.89±0.01 ^c | 0.90±0.02 ^c | 1.49±0.05 ^a | 0.02 |
| β -防御素 -2 <i>sBD-2</i> | 十二指肠 | 1.00±0.03 ^b | 1.02±0.02 ^b | 1.41±0.02 ^a | 0.92±0.04 ^c | 0.01 |
| | 空肠 | 1.00±0.09 ^c | 1.02±0.01 ^c | 2.09±0.03 ^b | 2.71±0.04 ^a | <0.001 |
| | 回肠 | 1.00±0.08 | 0.84±0.15 | 0.94±0.17 | 0.94±0.09 | 0.81 |

140

141 3 讨 论

142 3.1 沙葱黄酮对肉羊生产性能的影响

143 饲料成本是决定动物养殖经济效益的一个重要因素。如何提高畜禽的日增重以及降低料
 144 肉比是养殖领域面临的重大挑战。本试验的结果表明，饲料中添加沙葱黄酮后，在试验第 1~
 145 15 天，对照组肉羊的平均日增重与各试验组间无显著差异，从第 15 天开始，沙葱黄酮的促
 146 生长作用开始明显增强，且到试验第 45~60 天时，沙葱黄酮的促生长作用达到最佳，各试验
 147 组肉羊的平均日增重均较对照组显著增加，这说明沙葱黄酮对肉羊促生长效应的发挥需要一
 148 定的时间，即具有一定的时间依赖性。本试验结果显示舍饲肉羊饲料中沙葱黄酮的添加量在
 149 22~33 mg/kg 时平均日增重较高，说明在该添加范量围内，沙葱黄酮对肉羊的生产性能有显

150 著的促进作用。本试验还结果显示,沙葱黄酮的添加量在 22~33 mg/kg 时,在试验第 45~60
151 天时肉羊的料重比最低,说明饲料报酬达到最高。

152 3.2 沙葱黄酮对肉羊肠道免疫的影响

153 肠道屏障是先天免疫系统的重要组成部分,是机体面对外源抗原和毒素的第 1 道屏障
154 [14]。为抵抗外源微生物入侵,淋巴细胞迁移到上皮表面,与此同时,肠道细胞还会产生免
155 疫球蛋白和细胞因子等至黏膜表面以保护和修复小肠屏障[15]。研究表明,动物肠道细胞能
156 够产生内源免疫防御因子,它们具有广泛的抑菌和杀菌作用,能够抵抗细菌、真菌甚至病毒
157 的入侵;另外,它们还能够通过趋化并活化免疫细胞来调控哺乳动物的免疫机能[16],因此
158 本试验选取十二指肠、回肠和空肠 3 个部位来研究沙葱黄酮对肉羊肠道组织免疫因子
159 (*sBD-1*、*sBD-2*) 基因表达的影响。黄酮类化合物是沙葱的主要的活性物质之一,对机体
160 的免疫应答发挥着非常重要的作用。前人研究以小鼠为试验对象,发现饲料中添加 0~80
161 $\mu\text{g/mL}$ 的竹叶黄酮可促进脾细胞 *IFN γ* 基因的表达,促进 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖与
162 分化,进而显著提高小鼠的免疫功能[17]。尹香花等[18]以患有子宫内膜癌的小鼠模型为研究
163 对象,发现大豆苷元和染料木黄酮能够通过调控肿瘤坏死因子- α (*TNF- α*)、白细胞介素- α
164 (*IL-1 α*) 及白细胞介素-6 (*IL-6*) 基因的表达,进而提高机体的免疫功能。研究表明,在肉
165 羊饲料中添加 11~33 mg/kg 沙葱黄酮后可上调白细胞介素-1 β (*IL-1 β*)、白细胞介素-4 (*IL-4*)、
166 *IL-6* 及 *TNF- α* 基因的表达[11]。本试验结果表明,饲喂添加适量沙葱黄酮的饲料后,肉羊空肠
167 和回肠中 *sBD-1* 基因以及在空肠和十二指肠中 *sBD-2* 基因的相对表达量显著提高,这与前
168 人研究结果相吻合。 β -防御素作为肠道细胞产生的内源小分子抗菌肽,发挥着重要的抗菌和
169 免疫调节作用,沙葱黄酮能够通过上调 β -防御素基因的表达来增强肉羊非特异性免疫机能,
170 促进机体生长,但其具体机制有待进一步研究。

171 沙葱作为一种营养物质种类丰富和含量较高的优质牧草,对机体维持最佳免疫状态发挥
172 着重要的作用,在免疫器官和分子水平上以基因转录和蛋白质翻译等多种方式对免疫功能进
173 行调节[19]。动物自身的营养水平、所处环境、内分泌系统及应激等因素都会影响其免疫功
174 能。饲料中蛋白质、脂肪、维生素等营养素的水平对动物免疫功能及状态起着非常重要的作
175 用,营养素缺乏或营养水平降低时容易引起免疫疾病或病菌入侵[20]。免疫系统也可以通过
176 中枢神经系统来调控动物的采食量及其行为,进而影响动物的生长及营养代谢。这些影响动
177 物生长的因素并不是单独影响动物机体,而是具有相互影响的关系,动物的平均日采食量影
178 响平均日增重,平均日增重、平均日采食量共同影响料重比。动物机体免疫力影响动物的健
179 康状态,也直接影响动物的生长性能。本试验结果表明,在肉羊饲料中添加 22~33 mg/kg 的

180 沙葱黄酮能够显著提高免疫因子 β -防御素 (*sBD-1* 和 *sBD-2*) 基因的表达, 能够更有效地改
181 善肉羊回肠、空肠和十二指肠的免疫机能, 进而提高肉羊的采食量和日增重, 降低料重比。
182 目前, 大规模、高密度、集约化的养殖方式, 以及强调发挥最大生产性能的遗传改良等过于
183 追求提高动物生产效率的生产方式, 使动物生产性能受饲养环境影响越发敏感, 细微的环境
184 变化都会使动物发生应激反应。如较差的卫生条件会直接影响动物的生产性能, 无论动物是
185 否表现出临床症状, 生长发育都会受阻。免疫因子主要通过影响神经-内分泌系统及免疫系
186 统改变营养物质代谢分配从而影响动物生产性能^[21]。因此, 能否通过营养调控的方式来减
187 轻或消除免疫应激对动物的影响成为值得研究的一个方向, 其具体机制仍有待进一步研究。

188 ① 结 论

189 ① 饲粮中添加 11~33 mg/kg 的沙葱黄酮均可显著提高肉羊的平均日采食量和平均日增
190 重, 并显著降低料重比, 从而提高生产性能。

191 ② 饲粮中添加 22~33 mg/kg 的沙葱黄酮可显著提高肉羊肠道免疫因子 β -防御素 (*sBD*
192 -1、*sBD-2*) 基因的表达。

193 ③ 综上所述, 饲粮中添加 22~33 mg/kg 的沙葱黄酮可提高肉羊的生产性能, 同时还可
194 改善其十二指肠、空肠和回肠的免疫机能。

195 参考文献:

196 [1] 赵春艳, 敖长金, 张兴夫. 沙葱中黄酮类化合物对小鼠非特异性免疫机能影响的研究[J]. 饲
197 料工业, 2010, 31(18): 11-14.

198 [2] 缪亚娟. 沙葱异黄酮含量测定及其对机体抗氧化与非特异性免疫影响的研究[D]. 硕士学
199 位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009: 38-51.

200 [3] 萨茹丽. 沙葱黄酮提取工艺优化、结构鉴定及其相关生物活性研究[D]. 博士学位论文. 呼
201 和浩特: 内蒙古农业大学, 2014: 18-26.

202 [4] ZHANG G L, ROSS C R, BLECHA F. Porcine antimicrobial peptides: new prospects for
203 ancient molecules of host defense[J]. Veterinary Research, 2000, 31(3): 277-296.

204 [5] TAYLOR K, BARRAN P, DORIN J. Review: structure-activity relationships in beta-defensin

- 205 peptides[J].Biopolymers,2008,90(1):1-7.
- 206 [6] GANZ T. Defensins: antimicrobial peptides of innate
207 immunity.Nat.Rev.Immunol.3,710-720[J].Nature Reviews Immunology,2003,3(9):710-710.
- 208 [7] RÖHRL J,GEISSLER E K,HEHLGANS T.Friend or foe:a novel role of β -defensins in tumor
209 development[J].Oncoimmunology,2012,1(7):1159-1160.
- 210 [8] 马卫明,余锐萍,彭芳珍,等.猪小肠抗菌肽的提取及部分生物学活性研究[J].科学技术与工
211 程,2004,4(3):202-205.
- 212 [9] 木其尔,敖长金,萨茹丽,等.沙葱总黄酮对肉羊抗氧化能力的影响[J].动物营养学
213 报,2016,28(6):1823-1831.
- 214 [10] 陈仁伟.沙葱黄酮对肉羊生产性能及其肉品质的影响[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙
215 古农业大学,2016:19-22.
- 216 [11] 木其尔.沙葱黄酮对肉羊机体抗氧化和免疫功能的影响及其机理研究[D].博士学位论文.
217 呼和浩特:内蒙古农业大学,2016:32-38.
- 218 [12] 萨茹丽,木其尔,王翠芳,等.沙葱黄酮对绵羊外周血淋巴细胞增殖及 *IL-2*、*IL-4*、*IFN- γ*
219 mRNA 表达的影响[J].畜牧兽医学报,2015,46(6):1063-1070.
- 220 [13] 萨茹丽,木其尔,王翠芳,等.沙葱总黄酮提取工艺优化及其体外抗氧化、抗菌作用[J].食品
221 科学,2014,35(24):1-8.
- 222 [14] WELLS J M,LOONEN L M,KARCZEWSKI J M.The role of innate signaling in the
223 homeostasis of tolerance and immunity in the intestine[J].International Journal of Medical
224 Microbiology,2010,300(1):41-48.
- 225 [15] POMORSKAMÓI M,MARKOWSKADANIEL I.Porcine cathelicidins and
226 defensins[J].Medycyna Weterynaryjna,2011,67(1):20-24.
- 227 [16] GALLO R L,KIM K J,BERNFELD M,et al.Identification of CRAMP,a cathelin-related

228 antimicrobial peptide expressed in the embryonic and adult mouse[J].Journal of Biological
229 Chemistry,1997,272(20):13088–13093.

230 [17] 唐浩国,魏晓霞,李叶,等.竹叶黄酮对小鼠脾细胞免疫的分子机制研究[J].食品科
231 学,2007,28(9):523–526.

232 [18] 尹香花,成艳,崔素芬.大豆苷原和染料木黄酮对小鼠子宫内膜癌 TNF- α 、IL-1 α 及 IL-6
233 表达的影响[J].中国现代医学杂志,2010,20(6):832–835.

234 [19] GERSHWIN M E,GERMAN J B,KEEN C L.Nutrition and immunology:principles
235 andpractice[M].New York:Humana Press,2000.

236 [20] BABU U S,RAYBOURNE R B.Impact of dietary components on chicken immune system
237 and *Salmonella* infection.[J].Expert Review of Anti-Infective Therapy,2008,6(1):121–35.

238 [21] 杨华,张韩杰,吴信明,等.微生态制剂对肉羊生长性能和免疫功能的影响[J].家畜生态学
239 报,2015,36(10):27–32.

240

241

242 Effects of *Allium mongolicum* Regel Flavonoids on Performance and β -Defensins Gene

243 Expression in Intestinal Tissue of Meat Sheep

244 CHEN Shenyang AO Changjin* ZHENG Yankai CHEN Renwei LIU Wangjing MU

245 Qier BAI Chen

246 (College of animal science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

247 Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of *Allium mongolicum* Regel

248 flavonoids on performance and the expression of immune factors— β -defensin 1 (*sBD-1*) and

249 β -defensin 2 (*sBD-2*) in intestinal tissue of meat sheep. Single factor completely randomized block

250 design was used in the current study, a total of 60 healthy and six-month-old thin-tailed *Han*

251 wethers with similar body weight [(39.9 \pm 3.2) kg] were randomly divided into 4 groups with 15

252 sheep each. Sheep in control group were fed a basal diet, and those in experimental groups were

253 fed the basal diet supplemented with 11 (low-dose flavonoids group), 22 (mid-dose flavonoids

*Corresponding author, professor, E-mail: changjiniao@aliyun.com (责任编辑 菅景颖)

254 group) and 33 mg/kg *Allium mongolicum* Regel flavonoids (high-dose flavonoids group),
255 respectively. The trial period lasted for 75 d, which consisted of 15 d of pre-feeding period and 60
256 d of formal period. Intake was recorded every day and sheep were weighted before feeding every
257 15 d. At the end of the experiment, three sheep were randomly selected from each group and
258 slaughtered to collect the duodenum, jejunum and ileum tissues. The relative expression levels of
259 genes involved in *sBD-1* and *sBD-2* were measured by real time-qPCR. The results showed as
260 follows: 1) at the 30th to 45th day of experiment, the average daily feed intake of meat sheep in
261 experimental groups was significantly higher than that in control group ($P<0.05$), and the highest
262 average daily feed intake was found in high-dose flavonoids group. At the 45th to 60th day of
263 experiment, the average daily gain was significantly increased and the feed to gain ratio was
264 significantly decreased in experimental groups compared with the control group ($P<0.05$), and the
265 highest average daily gain and the lowest feed to gain ratio were found in mid-dose flavonoids
266 group and high-dose flavonoids group, respectively. 2) Compared with the control group, diet
267 supplemented with 33 mg/kg *Allium mongolicum* Regel flavonoids significantly increased the
268 relative expression levels of *sBD-1* gene in jejunum and ileum and *sBD-2* gene in jejunum
269 ($P<0.05$), and diet supplemented with 22 mg/kg *Allium mongolicum* Regel flavonoids
270 significantly increased the relative expression levels of *sBD-2* gene in duodenum ($P<0.05$). In
271 conclusion, diet supplemented with 33 mg/kg *Allium mongolicum* Regel flavonoids can
272 significantly increase the performance and the expression of β -defensins (*sBD-1* and *sBD-2*) genes
273 in intestine of meat sheep.

274 Key words: meat sheep; performance; immune; β -defensins; gene expression

275

276