

三种白术提取物对雏鸡新城疫抗体水平的影响

曹 琪,王 萍,吉木依哈木,唐 颖,王思芦*

(西昌学院动物科学学院,四川 西昌 615013)

摘要:为了探讨白术对雏鸡体液免疫功能的影响,以黄芪多糖为阳性对照,采用Elisa法分别检测了三种白术提取物在连续给药8 d和15 d后对雏鸡新城疫抗体水平的影响。结果表明,连续给药8 d后,与空白组相比,各组差异均不显著,其中高剂量白术醇提取物和黄芪多糖分别使新城疫抗体水平提高了15.35% ($P>0.05$)和15.32% ($P>0.05$)。连续给药15 d后,与空白组相比,各组抗体水平均有不同程度的升高,其中高剂量白术水提物和低剂量白术醇提取物分别使抗体水平升高了61.37% ($P<0.05$)和32.57% ($P<0.05$);与阳性组相比,高剂量白术水提物使抗体水平显著提高了45.02% ($P<0.05$)。高剂量白术水提物连续给药15 d对雏鸡体液免疫增强效果最好。

关键词:白术;三种提取物;新城疫;抗体

中图分类号:S858.31 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2018)04-0014-03

The Effect of Three Kinds of Extract of *Atractylodes Macrocephala* on Newcastle Disease Antibody in Chickens

CAO Qi, WANG Ping, JIMU Yi ha mu, TANG Yin, WANG Si-lu*

(School of Animal Science, Xichang university, Xichang, Sichuan 615013, China)

Abstract: In order to explore the effect of *Atractylodes macrocephala* (AM) on humoral immunity in chickens, three kinds of extract of AM were prepared. Astragalus polysaccharides (APS) was used for positive control, the different extracts were added into the feedstuff of chickens. The levels of Newcastle disease antibody in chickens of each group were respectively detected by ELISA after 8 days and 15 days continuous administration. The results showed that, after continuous administration of 8 days, compared with the blank group, the differences among groups were not significant. The high dose of AM ethanol extract and APS increased the antibody level of Newcastle disease by 15.35% ($P>0.05$) and 15.32% ($P>0.05$) respectively. After continuous administration of 15 days, compared with the blank group, the level of antibody in each group increased in varying degrees. High dose AM aqueous extract and low dose AM ethanol extract increased the antibody level by 61.37% ($P<0.05$) and 32.57% ($P<0.05$) respectively. Compared with the positive group, the high dose of AM aqueous extract increased the antibody level by 45.02% ($P<0.05$). The high dose of AM aqueous extract was continuous administrated for 15d had the best effect on enhancing the humoral immunity of chickens.

Keywords: *Atractylodes macrocephala*; three kinds of extracts; Newcastle disease; antibody

0 引言

目前,许多鸡的病毒性传染病如新城疫、法氏囊病、禽流感等主要通过相关疫苗的免疫接种来进行疾病的预防,但在生产实践中疫苗的免疫效果受到很多因素如疫苗质量、免疫程序、母源抗体、免疫应激、饲养管理等的影响,导致临床上疫苗的免疫效果参差不齐,免疫失败仍然会发生疫情。免疫增

强剂可以通过调节动物的细胞或体液免疫功能,增强疫苗的免疫效果,如黄芪多糖在畜禽生产上应用广泛,具有良好的经济和社会效益。白术(*Atractylodes macrocephala*, AM)别名桴蓰、于术、冬白术、浙术等,属于菊科苍术属多年生草本植物,以根茎入药。现代研究表明白术具有抗炎镇痛^[1-2]、提高免疫^[3]、抗溃疡^[4]、抗氧化^[5]、抗菌抗肿瘤^[6]等多种药用功能。本试验以白术的三种提取物作为研究对

收稿日期:2018-05-14

基金项目:西昌学院大学生课外科研项目(2016KW084),2017年国家级“大学生创新创业训练计划”立项项目,四川省科技厅应用基础研究面上项目(17YYJC0847),攀西动物疫病检测与防控四川省高校重点实验室基本科研业务费项目(341B)。

作者简介:曹琪(1997—),女,四川眉山人,本科,研究方向:中兽医。*为通讯作者。

象,探讨其对雏鸡体液免疫功能的影响,为白术作为免疫增强剂在生产实践中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

健康青脚麻鸡 20 日龄 70 羽,购自西昌安宁镇农贸市场,雏鸡饲料购自新希望股份有限公司。

1.1.2 试验器材

酒精灯、铁架台、圆底烧瓶、冷凝管、牛角管、锥形瓶、电磁炉、量筒、电子天平、旋转蒸发仪等,均由动科院基础医学实验室提供。

1.1.3 试验药品与试剂

白术、黄芪多糖(宁夏牧川生物科技有限公司,批号 20170324)、新城疫疫苗(青岛易邦生物工程有限公司,批号 160010201)、新城疫抗体 Elisa 试剂盒(武汉纯度生物科技有限公司,批号 20171011)、无水乙醇等,均由动科院基础医学实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 制备三种白术提取物

将干燥白术适当粉碎后,分别制备 3 种提取物。通过煎煮法制备白术水提物:称取 400 g 白术加入适量超纯水,武火煮沸后以文火煎煮 30 min 后过滤,保留滤液,将滤渣重复以上步骤煎煮 2 次,合并滤液煮沸浓缩至 4 000 mL,待冷却后分装,冷藏备用;以浸提法制备白术醇提物:取 400 g 白术以 80%乙醇浸泡 6 d,过滤取滤液,充分回收乙醇后,得到醇提物沉淀,以 400 mL 超纯水制备成混悬液;通过水蒸气法提取白术挥发油:将 150 g 白术置于圆底烧瓶内,加入适量蒸馏水进行煮沸,收集含挥发油的水蒸气冷凝液 100 mL,冷藏备用。

1.2.2 动物分组与处理

将 70 羽 20 日龄雄性雏鸡常规饲养 2 d 后,点眼接种新城疫疫苗后随机分为 7 个组,分别为空白组、白术醇提物(AMC)低浓度组(5 mg/mL)、AMC 高浓度组(10 mg/mL)、白术水提物(AMS)低浓度组(0.5 mg/mL)、AMS 高浓度组(1 mg/mL)、白术挥发油组(10 mg/mL)以及阳性药物组,每组 10 羽。除了空白组和阳性组外,各试验组每天取 80 ml 以上不同浓度的提取物分别与 150 g 饲料混匀后给药;阳性组每天以黄芪多糖 1.5 g 与 150 g 饲料混匀给药;除空白组按常规饲养外,其余各组每天给药 1 次,其余时间正常饲养管理,连续给药 16 d。各组分别于给药后第 8 d 和 15 d 分别翼下静脉采血分离血清,-20 ℃冻存待测。

1.2.3 3 种白术提取物对雏鸡新城疫抗体水平的影响

通过鸡新城疫抗体 Elisa 试剂盒对各组血清的抗体浓度进行检测,具体操作按试剂盒说明书进行。

1.2.4 数据处理

各组数据以 $\bar{X} \pm SE$ 表示,经过 SPSS 20.0 单因素方差分析,比较各组间的差异显著性,以评价不同的白术提取物对雏鸡体液免疫的影响。

2 结果

2.1 三种白术提取物的制备

以药材质量与各提取物的终体积计算不同提取物的生药浓度,结果表明,白术水提液的终浓度为 0.1 g/mL、白术醇提液的终浓度为均为 1 g/mL,白术挥发油的终浓度为 1.5 g/mL,使用时根据 1.2.2 的要求稀释后给药。

2.2 三种白术提取物对雏鸡新城疫抗体水平的影响

结果表明,给药 8 d 后,各组与空白组相比,抗体水平均无显著差异,其中高剂量白术醇提物组和阳性组的新城疫抗体水平分别升高了 15.35% ($P>0.05$)和 15.32% ($P>0.05$);与阳性组比,除了白术醇提物低剂量组的抗体水平显著低于阳性组 ($P<0.05$),其余各白术提取物对新城疫抗体水平的影响差异均不显著,其中高剂量白术醇提物的效果与黄芪多糖最接近。

给药 15 d 后,与空白组相比,各组的新城疫抗体水平均有不同程度的升高,其中效果最好的是高剂量白术水提物,血清抗体浓度升高了 61.37% ($P<0.05$),其次是低剂量白术醇提物,使抗体浓度提高 32.57% ($P<0.05$);与黄芪多糖相比,高剂量白术水提物使抗体水平显著提高了 45.02% ($P<0.05$),其余白术提取物对雏鸡体液免疫的促进作用均不同程度优于黄芪多糖,但差异均不显著。试验结果提示,白术水提物及醇提物可能含有促进雏鸡体液免

表 1 白术对雏鸡新城疫抗体水平的影响 (n=10)		
组别	8 d 后抗体质量浓度/ (pg·ml ⁻¹)	15 d 后抗体质量浓度/ (pg·ml ⁻¹)
空白组	601.64±38.45 ^{ab}	430.94±41.52 ^c
低剂量 AMC 组	531.39±75.46 ^b	571.29±52.21 ^{ab}
高剂量 AMC 组	693.97±44.44 ^a	521.22±38.02 ^{bc}
低剂量 AMS 组	562.94±24.26 ^{ab}	491.25±74.89 ^{bc}
高剂量 AMS 组	580.39±46.74 ^{ab}	695.40±52.98 ^a
AM 挥发油组	598.79±35.98 ^{ab}	482.53±40.94 ^{bc}
黄芪多糖组	693.81±52.83 ^a	479.50±45.78 ^{bc}

注:同列数据上标不同小写字母表示差异显著, $P<0.05$ 。

疫功能的有效成分,而白术挥发油在本次供试剂量下对体液免疫无显著影响。

3 讨论

3.1 白术提取物的生物活性

据报道,白术的生物活性成分主要是水溶性多糖和挥发油类如苍术酮、白术内酯类等^[6-8]。黄利等^[3]报道白术水提液能拮抗环磷酰胺引起的小鼠白细胞总数下降、胸腺萎缩、提高巨噬细胞功能及血清溶血素。此外,白术水提物还具有调节炎症细胞因子IL-2、IL-17,纠正免疫紊乱的作用^[4]。本试验结果表明高剂量的白术水提物可显著提高雏鸡的新城疫抗体水平,提示白术水提物可促进B细胞功能,与以上研究结论一致。

研究发现,白术醇提物能抑制二甲苯、角叉菜胶、醋酸等炎症刺激因子引起的急性炎症,并具有镇痛作用^[1],还能抑制弗氏完全佐剂引起的关节炎及炎症细胞因子^[2],表明白术醇提物含有抗炎活性成分。本试验尚未发现白术醇提物有明显的免疫增强作用。

白术挥发油的主要成分是莪术烯,具有抗肿瘤作用^[6],抗氧化作用^[9]。此外,关晓辉等^[10]报道白术挥发油能增强巨噬细胞吞噬功能及迟发变态反应,可能通过提高机体非特异性免疫发挥抗癌作用。

本试验发现白术挥发油对雏鸡的特异性免疫功能没有显著影响,表明白术挥发油的可能通过其他途径影响动物免疫功能。

3.2 白术对鸡免疫功能的影响

侯凯俪等^[11]以黄芪为阳性对照,比较分析了白术水煎剂对鸡新城疫疫苗免疫效果的影响,结果表明口服黄芪及白术水煎剂于二免后1周,雏鸡的抗体效价显著高于空白对照组。李婉雁等^[12]比较了白术多糖、黄芪多糖对雏鸡脾脏淋巴细胞体外增殖的影响,结果表明白术多糖抗应激能力优于黄芪多糖,可提高淋巴细胞在热应激环境的增殖的能力。本试验以黄芪多糖为阳性对照,发现在连续给药15 d后,高剂量白术水提物的体液免疫增强效果显著优于黄芪多糖,其中活性成分可能是水溶性白术多糖,可将其作为免疫增强剂进行应用。

3.3 白术在家禽养殖方面的应用前景

目前,国内外都在积极倡导绿色生态养殖,生产无公害动物性食品,而采用天然、高效、无毒、无残留的中药作为免疫增强剂不但可以提高疫苗免疫效果,还能作为抗生素替代品有效防治动物疫病,提高养殖的经济效益,满足社会需求。本试验研究表明,白术的水提物具有显著的免疫活性,可提高雏鸡体液免疫功能,具有较大的开发和应用价值。

参考文献:

- [1] 赵桂芝,浦锦宝,周洁,等.白术醇提物的抗炎镇痛活性研究[J].中国现代应用药学,2016,33(12):1507-1512.
- [2] 赵桂芝,徐攀,浦锦宝,等.白术醇提物对佐剂性关节炎大鼠足跖肿胀度和炎性细胞因子的影响[J].浙江中医药大学学报,2017,41(01):32-37.
- [3] 黄利,李利民,唐丽燕.白术水煎剂对小鼠免疫功能的影响[J].中药药理与临床,2012,28(1):114-115.
- [4] 朱慧敏,朱杭溢,陈武,等.白术水提物对溃疡性结肠炎大鼠炎性因子的影响[J].浙江中医杂志,2014,49(1):51-53.
- [5] 嵇志红.白术水提物对血管性痴呆大鼠学习记忆及皮层SOD、MDA含量的影响[J].大连大学学报,2017,38(6):73-76.
- [6] 张雪青,邵邻相,吴文才,等.白术挥发油抑菌及抗肿瘤作用研究[J].浙江师范大学学报(自然科学版),2016,39(4):436-442.
- [7] 孙文平,李发胜,陈晨,等.白术多糖对小鼠免疫功能调节的研究[J].中国微生态学杂志,2011,23(10):881-882+886.
- [8] 谢锋.白术不同提取物免疫佐剂作用的研究[D].杭州:浙江大学,2012.
- [9] 李昕,何花,肖木欣,等.白术挥发油对小鼠耐缺氧能力的影响[J].湖南师范大学学报(医学版),2012,9(3):17-20.
- [10] 关晓辉,曲娴,杨志萍,等.白术挥发油对小鼠免疫功能的影响[J].北华大学学报(自然科学版),2001(2):122-124.
- [11] 侯凯俪,翟利娟,葛佳静,等.白术水煎剂对鸡新城疫疫苗免疫效果的影响[J].中兽医医药杂志,2012,31(5):25-27.
- [12] 李婉雁,田允波,许丹宁,等.白术、灵芝、黄芪多糖对鸡脾淋巴细胞增殖的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2014(1):23-26.

(责任编辑:曲继鹏)