

陈志炫, 陈蕙如, 陈丹心, 等. 中草药提取复合物对乳鸽肠道微生物、生产性能和免疫器官指数的影响 [J]. 福建农业学报, 2022, 37 (8): 1048–1055.

CHEN Z X, CHEN H R, CHEN D X, et al. Effects of A Chinese Herbal Extract on Gut Microbiota, Meat Production, and Immune Organ Indices of Squabs [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37 (8): 1048–1055.

中草药提取复合物对乳鸽肠道微生物、生产性能和免疫器官指数的影响

陈志炫¹, 陈蕙如², 陈丹心¹, 林友钧²

(1. 泉州市农业科学研究所, 福建 泉州 362212; 2. 泉州市本草赋医药科技有限公司, 福建 泉州 362104)

摘要:【目的】探究以三辛酸甘油酯、桃金娘烯醇、肉豆蔻酸异丙酯、薄荷醇和樟脑为主要成分的中草药提取复合物 T 对大肠杆菌的抑制作用及对乳鸽肠道微生物、生产性能、免疫器官指数、肉品质和血清生化指标的影响。

【方法】采用液体培养基抑制测定法, 以质量浓度为 100 mg·L⁻¹ 和 50 mg·L⁻¹ 的氨苄西林作为对照, 测定体积分数为 1.000 0%、0.500 0%、0.250 0%、0.125 0%、0.062 5%、0.031 3%、0.015 6% 和 0.007 8% 的复合物 T 对大肠杆菌的抑制作用。再选取由亲鸽哺育至 10 日龄的白卡奴乳鸽 180 只, 随机分为 3 组, 每组 5 个重复, 每个重复 12 只, 分别设置为对照组 (CT 组)、饲喂基础饲料、试验组 T1 组和 T2 组。试验组分别在基础饲料中添加 313 mg·kg⁻¹ 和 625 mg·kg⁻¹ 的复合物 T。通过人工灌喂的方式饲喂乳鸽至 30 日龄, 并测定复合物 T 对乳鸽肠道微生物、生产性能、免疫器官指数、肉品质和血清生化指标的影响。【结果】1) 从体积分数为 0.062 5% 开始, 复合物 T 对大肠杆菌的抑制率随着浓度的减少而开始下降; 体积分数为 0.031 3% 以上的复合物 T 对大肠杆菌的抑制率均显著高于两个抗生素对照组 ($P < 0.05$); 复合物 T 对大肠杆菌在 12 h 和 24 h 的半抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 0.063 2% 和 0.042 6%。2) T2 组肠道内的双歧杆菌显著高于其他各组 ($P < 0.05$); T2 组肠道内的乳酸菌显著高于 CT 组 ($P < 0.05$)。3) T2 组的料重比显著低于 CT 组 ($P < 0.05$); T2 组的法氏囊指数、胸肌率都显著高于 CT 组 ($P < 0.05$)。4) 对于胸肌肉的 pH 值、失水率和剪切力, 以及谷草转氨酶、血清肌酐、尿素氮和尿酸等 4 个血清生化指标, 各组之间都没有显著差异 ($P > 0.05$)。【结论】复合物 T 对大肠杆菌具有很好的抑制作用, 可以促进肠道有益菌的生长, 对乳鸽的生长性能和免疫功能具有一定的促进作用, 适宜添加量为 625 mg·kg⁻¹。

关键词: 三辛酸甘油酯; 桃金娘烯醇; 肉豆蔻酸异丙酯; 薄荷醇; 樟脑; 乳鸽; 人工灌喂

中图分类号: S 836

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2022) 08-1048-08

Effects of A Chinese Herbal Extract on Gut Microbiota, Meat Production, and Immune Organ Indices of Squabs

CHEN Zhixuan¹, CHEN Huiru², CHEN Danxin¹, LIN Youjun²

(1. Quanzhou Institute of Agricultural Science, Quanzhou, Fujian 362212, China; 2. Quanzhou FECO Cityherbs Medicinal Technology Co., Ltd., Quanzhou, Fujian 362104, China)

Abstract: 【Objective】Effects dietary inclusion of Chinese herbal extract, Compound T, on *Escherichia coli* and gut microbiota populations, meat productivity, and immune organ indices of squabs were studied. 【Method】Based on a liquid medium inhibition assay, the inhibition rates on *E. coli* of Compound T (containing mainly the effective compounds of tricaprilin, myrtenol, isopropyl myristate, menthol, and camphor) in the volume percentages of 1.0000%, 0.5000%, 0.2500%, 0.1250%, 0.0625%, 0.0313%, 0.0156%, and 0.0078%, along with 100 mg·L⁻¹ and 50 mg·L⁻¹ of ampicillin as control, were determined. One-hundred-eighty 10-d-old white Carneau squabs raised by their parent pigeons were randomly divided into 3 groups with 5 replicates of 12 birds each. The squabs in Group CT were fed on a basal diet as control, while those in Group T1 and Group T2 on the basal diet with 313 mg·kg⁻¹ and 625 mg·kg⁻¹ Compound T, respectively, by

收稿日期: 2022-03-08 初稿; 2022-03-25 修改稿

作者简介: 陈志炫 (1986-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 家禽营养与饲料 (E-mail: chenzhixuancau@126.com)

基金项目: 福建省科技计划引导性项目 (2020N0056)

introgastic oral feeding till they were 30-d-old. Gut microbiota population, muscle buildup, immune organ indices, meat quality, and serum biochemistry of the birds were measured. 【Result】 (1) The inhibition of Compound T on *E. coli* declined after 0.0625% with reducing dosage. Nonetheless, the rate was significantly higher than those of the two antibiotic control groups so long as the dosage was greater than 0.0313% ($P<0.05$). The half inhibitory concentrations, IC_{50} , of Compound T at 12 h and 24 h were 0.0632% and 0.0426%, respectively. (2) The gut microbiota in the squabs of Group T2 had significantly more *Bifidobacteria* than the other groups ($P<0.05$) and significantly more *Lactobacillus* than CT ($P<0.05$). (3) The average feed-to-weight gain ratio of the squabs in Group T2 was significantly lower and the Fabricii index and breast muscle proportion significantly higher than those in Group CT ($P<0.05$). (4) There were no significant differences among the groups on pH, water loss, and breast meat shear measurement, nor on the serum aspartate aminotransferase, creatinine, urea nitrogen, and uric acid indices ($P>0.05$). 【Conclusion】 Compound T displayed a significant inhibitory effect on *E. coli*. It also improved the probiotic population in the guts, meat quality and productivity, as well as immune functions of the squabs fed with the supplementation at a rate of 625 mg·kg⁻¹.

Key words: Tricaprilin; myrtenol; isopropyl myristate; menthol; camphor; squab; introgastic oral feeding

0 引言

【研究意义】从2020年7月1日起，我国全面禁止了含有促生长类药物（除中药类外）的饲料添加剂，因此寻找有效的替代抗生素的产品成为科研人员的重点研究方向。中草药的应用在我国有着悠久的历史，从中草药中寻找替代抗生素的产品成为研究热点^[1]。【前人研究进展】桃金娘是中国南方地区民间传统常用中草药，以“通经活血，收敛止血”的功效收载于《兽药国家标准（化学药品、中药卷）第一册》中，但对于桃金娘在畜禽养殖中的应用研究处于初始阶段，尤其是兽药新产品的开发与应用尚未起步^[2]。有研究表明，桃金娘烯醇对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等多种细菌有很好的抑制作用^[2-3]，但将其作为饲料添加剂应用于畜禽中却少有报道。三辛酸甘油酯^[4-5]、薄荷醇^[6-8]和樟脑^[9-10]，这三者也都具有很好的抗菌活性，并在猪、鸡、日本鹌鹑等畜禽的应用上显示出对提高饲料利用率和生长性能以及改善肠道菌群具有一定的效果。【本研究切入点】和桃金娘烯醇一样，肉豆蔻酸异丙酯也具有很好的抗菌活性^[11]，但却少有报道将肉豆蔻酸异丙酯作为饲料添加剂应用于畜禽中。在已有报道的关于替代抗生素产品的研究中，大多是以鸡、鸭、猪等畜禽作为实验动物^[1, 12-13]，而较少以鸽子作为试验动物的报道。在前期研究中，根据中药方剂“君臣佐使”的配伍理论，我们提取了以桃金娘为主药，配以薄荷、没药等中草药的有效成分。通过体外抑菌试验确定所筛选出的中草药复方提取物的抑菌效果，接着对有良好抑菌效果的中草药复方提取物进行GC-MS分析化合物组成，最后确定了一个以三辛酸甘油酯、桃金娘烯醇、肉豆蔻酸异丙酯、薄荷醇和樟脑为主要成分的复合物（命名为复合物T）。复合物T作为一个替代抗生素的新产品还需要

通过体内外的试验来进一步验证。【拟解决的关键问题】利用乳鸽为晚成雏需要亲鸽子哺育的特性，以10日龄白卡奴乳鸽作为试验动物，通过人工灌喂的方式进行喂养至30日龄，以期替代抗生素产品的研究工作提供新的试验动物模型。同时，通过进一步的体外抑菌试验和应用于乳鸽的养殖试验，以验证复合物T作为替代抗生素备选产品的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

复合物T的组成成分为三辛酸甘油酯11%、桃金娘烯醇3.5%、肉豆蔻酸异丙酯11%、薄荷醇8%、樟脑6.5%，酒精为介质，占60%。其中，三辛酸甘油酯、肉豆蔻酸异丙酯、薄荷醇和樟脑均购自上海麦克林生化科技有限公司，桃金娘烯醇购自上海源叶生物科技有限公司，酒精购自西陇科学股份有限公司。大肠杆菌（*Escherchia coli*）菌种编号为ATCC8739，购自上海鲁微科技有限公司。

1.2 不同用量复合物T对大肠杆菌抑制率的测定

采用液体培养基抑制测定法，将培养好的大肠杆菌菌液10 μL和LB液体培养基180 μL加入96孔板的试验孔中，置于TECAN Infinite 200 PRO多功能酶标仪中进行37℃孵育培养，在OD₆₀₀达到0.5时，分别加入10 μL的体积分数分别为20.000 0%，10.000 0%，5.000 0%，2.500 0%，1.250 0%，0.625 0%，0.312 5%，0.156 3%的复合物T和质量浓度为2 000 mg·L⁻¹，1 000 mg·L⁻¹的氨苄西林溶液。试验组复合物T的体积分数以二倍稀释法，分别为1.000 0%，0.500 0%，0.250 0%，0.125 0%，0.062 5%，0.031 3%，0.015 6%和0.007 8%，各试验组分别记为C1、C1/2、C1/4、C1/8、C1/16、C1/32、C1/64、C1/128；阳性对照组氨苄西林质量浓度则为100 mg·L⁻¹，50 mg·L⁻¹，

分别记为 AMP100, AMP50。同时设定一组无添加的阴性对照组。每组 8 个重复。在添加复合物 T 或氨苄西林后的 1、2、3、4、6、8、12、16、20、24 h 分别测定 OD₆₀₀, 并计算抑制率及 12 h 和 24 h 的半抑制浓度 (IC₅₀)。

试验组抑制率/%=(1-试验组 OD₆₀₀ 值/阴性对照组 OD₆₀₀ 平均值)×100;

阳性对照组抑制率/%=(1-阳性对照组 OD₆₀₀ 值/阴性对照组 OD₆₀₀ 平均值)×100

1.3 乳鸽养殖试验设计

随机选取健康、体重均匀的, 由亲鸽哺育至 10 日龄的白卡奴乳鸽 180 只, 称取每只乳鸽的体重 (BW), 保证各处理初始体重无显著差异 ($P>0.05$), 乳鸽采购自福建集盛鸽业股份有限公司。将乳鸽随机分为 3 组, 每组 5 个重复, 每个重复 12 只乳鸽。其中处理 1 为对照组 (CT 组), 饲喂基础饲料; 处理 2 为试验 T1 组, 饲喂基础饲料添加 313 mg·kg⁻¹ 复合物 T; 处理 3 为试验 T2 组, 饲喂基础饲料添加 625 mg·kg⁻¹ 复合物 T。基础饲料为参照 NRC (1994) 营养需要配制的粉状配合饲料, 其组成及营养水平见表 1。所有乳鸽采用人工灌喂的方式进行饲喂, 饲养至 30 日龄, 灌喂前先将饲料与水按 1:2 的比例混合成粥样, 人工灌喂养殖标准见表 2。饲养过程中, 确保乳鸽可自由饮水, 并保证鸽舍通风良好, 光照、温度和湿度按种鸽养殖标准进行操作。

1.4 检测指标和方法

1.4.1 肠道微生物的测定 第 30 日龄, 每个重复分别采集新鲜粪便, 参照 GB 4789.2—2016《食品微生物学检验 菌落总数测定》进行肠道微生物菌群的培养和菌落总数的测定。其中, 大肠杆菌用麦康凯培养基进行 37 ℃ 有氧培养, 双歧杆菌和乳酸菌分别用 TPY 培养基和 MRS 培养基进行 37 ℃ 厌氧培养。麦康凯培养基和 MRS 培养基均采购自广东环凯微生物科技有限公司, TPY 培养基采购自北京陆桥技术股份有限公司。数据结果以 lgCFU·g⁻¹ 为单位。

1.4.2 生长性能的测定 第 30 日龄时, 空腹 12 h 后逐只称取各乳鸽的体重, 计算乳鸽试验期间所增长的体重, 再结合乳鸽灌喂养殖标准计算平均日增重和料重比。同时, 记录每天乳鸽的死亡数, 计算存活率。

1.4.3 免疫器官指数的测定 第 30 日龄, 每重复随机抽取 3 只体重相近的乳鸽进行屠宰, 分别取脾脏、胸腺、法氏囊, 并剔除附着的组织用滤纸吸干血水后称鲜重, 并参照高玉云等^[14]的方法计算免疫器官指数。

表 1 基础饲料组成及营养水平 (风干基础)
Table 1 Nutritional composition of basal diet (air-dry basis)
%

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels ^②	含量 Content
玉米 Corn	59.85	粗蛋白质 CP	18.95
豆粕 Soybean meal	32.00	代谢能 ME/(MJ·kg ⁻¹)	12.26
次粉 Wheat middling	1.50	蛋白质能量比 P/E/(g·MJ ⁻¹)	15.46
豆油 Soybean oil	2.40	有效磷 AP	0.35
石粉 Limestone	1.60	钙 Ca	0.97
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.40	赖氨酸 Lys	0.94
食盐 NaCl	0.25	蛋氨酸 Met	0.36
预混料 Premix ^①	1.00	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.67
合计 Total	100.00		

①预混料为每千克饲料提供: VA 6 750 IU, VD 2 000 IU, VE 19.50 mg, VK₃ 1.50 mg, VB₁ 1.50 mg, VB₂ 5.50 mg, VB₆ 3.50 mg, VB₁₂ 0.05 mg, 叶酸 0.80 mg, 烟酰胺 14 mg, 泛酸 9 mg, Fe 100 mg, Cu 12 mg, Mn 72 mg, Zn 65.5 mg, Se 0.3 mg, I 1.5 mg。②饲料营养水平为计算值。

①Per kg premix forage provided 6 750 IU VA, 2 000 IU VD, 19.50 mg VE, 1.50 mg VK₃, 1.50 mg VB₁, 5.50 mg VB₂, 3.50 mg VB₆, 0.05 mg VB₁₂, 0.80 mg folic acid, 14 mg nicotinic acid, 9 mg pantothenic acid, 100 mg Fe (as ferrous sulfate), 12 mg Cu (as copper sulfate), 72 mg Mn (as manganese sulfate), 65.5 mg Zn (as zinc sulfate), 0.3 mg Se (as sodium selenite), and 1.5 mg I (as potassium iodide)。②Dietary nutrient levels were calculated.

表 2 试验乳鸽人工灌喂养殖标准
Table 2 Standard for introgastric oral feeding squabs

日龄 Days of age	灌喂量 Feeding amount/mL	标准体重 Body weight/g	日龄 Days of age	灌喂量 Feeding amount/mL	标准体重 Body weight/g
10	90	280	20	120	380
11	90	290	21	120	390
12	90	300	22	130	400
13	100	310	23	130	410
14	100	320	24	130	420
15	100	330	25	140	430
16	110	340	26	140	440
17	110	350	27	140	450
18	110	360	28	150	460
19	120	370	29	150	470

1.4.4 屠宰性能的测定 根据 NY/T 823—2020《家禽生产性能名词术语和度量计算方法》规定的方法, 测定屠宰率、半净膛率、全净膛率、腹脂率、

胸肌率、腿肌率。

1.4.5 肉品质的测定 根据 NY/T 2793—2015《肉的食用品质客观评价方法》规定的方法测定左侧胸肌 45 min 的 pH (pH_{45 min}) 和 24 h 的 pH (pH_{24 h})、失水率和剪切力，其中，失水率采用蒸煮损失来衡量。测定仪器为德国 DOSTMANN PH5 肉类食品酸度计和 C-LM 3B 数显式肌肉嫩度仪。

1.4.6 血清生化指标的测定 在屠宰前，用真空采血管进行翅静脉采血 5 mL，倾斜静置，待血清渗出后，-4 ℃ 和 3 000 r·min⁻¹ 条件下离心 15 min，取上清液，分装于 EP 管中，置于-80 ℃ 冻存。谷草转氨酶活性和尿酸含量的测定采用购自北京盒子生工科技有限公司的试剂盒，血清肌酐含量和尿素氮含量的测定采用购自上海晶抗生物工程有限公司的试剂盒，测定仪器为瑞士 TECAN Infinite 200 PRO 多功能酶标仪。

1.5 数据分析

试验数据用平均值±标准差表示，采用 SAS

9.2 统计软件中的 ANOVA 过程进行单因子方差分析，使用 Duncan 氏法进行多重比较，以 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同用量复合物 T 对大肠杆菌的抑制率

如表 3 所示，体积分数为 1.000 0%、0.500 0%、0.250 0%、0.125 0% 和 0.062 5% 的复合物 T 对大肠杆菌的抑制率均显著高于其他各组；从体积分数为 0.062 5% 开始，复合物 T 对大肠杆菌的抑制率随着体积分数的减少而显著下降；在 12 h，体积分数为 0.062 5% 及以上的复合物 T 与 AMP100 对大肠杆菌的抑制率均没有显著性差异 ($P>0.05$)，并且均显著高于 AMP50 ($P<0.05$)；在 24 h，除了体积分数 0.015 6% 和 0.007 8%，其他体积分数的复合物 T 对大肠杆菌的抑制率都显著高于两个抗生素对照组 ($P<0.05$)。

表 3 不同用量复合物 T 对大肠杆菌的抑制率
Table 3 Inhibition on *E. coli* by Compound T in different concentrations %

时间 Time/h	AMP100	AMP50	C1	C1/2	C1/4	C1/8	C1/16	C1/32	C1/64	C1/128
1	4.71±1.77 g	2.34±1.52 g	31.15±1.12 a	28.41±0.61 ab	22.33±1.52 d	26.05±1.45 bc	23.85±2.19 cd	11.19±2.71 e	8.35±5.48 f	5.17±5.02 g
2	7.56±4.62 f	3.18±2.67 f	52.85±2.18 ab	48.75±1.70 bc	44.87±2.57 c	51.84±8.88 b	56.88±4.40 a	26.95±3.34 d	15.26±5.19 e	7.83±6.81 f
3	22.94±7.44 c	6.19±4.41 d	61.11±2.28 a	57.40±2.35 a	52.31±7.51 a	58.81±9.98 a	53.83±13.35 a	32.08±11.46 b	21.23±8.59 c	6.48±8.31 d
4	19.55±7.61 cd	13.37±6.65 d	62.77±2.96 a	60.68±2.77 ab	54.29±9.38 ab	50.23±12.10 b	54.80±13.95 ab	27.84±12.77 c	25.57±12.60 c	6.91±9.68 e
6	27.39±15.11 b	8.26±12.63 c	66.01±4.19 a	66.45±2.46 a	60.88±8.81 a	55.12±10.02 a	59.55±13.84 a	35.13±12.48 b	29.20±18.42 b	6.74±10.69 c
8	43.78±16.67 b	6.86±15.46 d	68.90±5.82 a	68.55±2.43 a	59.73±12.93 a	54.35±12.50 ab	59.78±18.59 a	44.61±18.88 b	28.08±15.96 c	8.60±6.79 d
12	75.19±6.72 a	39.48±20.55 c	75.06±1.62 a	73.44±2.21 a	68.92±9.25 a	66.23±12.48 ab	74.99±4.36 a	55.54±19.21 b	32.15±15.92 c	17.99±7.92 d
16	61.78±18.94 bc	31.57±20.98 de	77.51±1.84 a	76.84±2.39 a	76.01±2.42 ab	66.77±8.81 abc	75.18±4.92 ab	58.18±20.44 c	44.06±21.47 d	18.69±8.72 e
20	41.26±14.16 c	18.24±16.77 d	78.51±2.90 a	78.44±2.20 a	77.51±3.68 a	73.54±9.13 a	79.23±2.55 a	57.23±20.97 b	44.20±23.92 c	13.64±9.24 d
24	38.27±11.22 c	16.34±15.84 d	80.06±2.35 a	79.32±1.83 a	79.00±1.99 a	75.53±9.75 a	80.40±1.20 a	61.12±21.86 b	43.72±24.17 c	12.80±9.11 d

同行数据后不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。下表同。
Data with different small letter superscripts on same row mean significant difference among different treatments ($P<0.05$). Same for below.

在 12 h 和 24 h，复合物 T 对大肠杆菌的 IC_{50} 的计算值分别为 0.063 2% 和 0.042 6%。根据上述结果，在后续的乳鸽养殖试验中，选择体积分数为 0.062 5% 和 0.031 3% 的复合物 T 作为两个试验因子。

2.2 复合物 T 对乳鸽肠道微生物的影响

如表 4 所示，对于大肠杆菌，T1 组和 T2 组两个

试验组的均值均小于对照组，但各组之间无显著性差异 ($P>0.05$)；对于双歧杆菌，T2 组显著高于 CT 组和 T1 组 ($P<0.05$)，而 CT 组和 T1 组之间无显著性差异 ($P>0.05$)；对于乳酸菌，T2 组显著高于 CT 组 ($P<0.05$)，而 T1 组与 CT 组之间无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 4 复合物 T 对乳鸽肠道微生物的影响

Table 4 Effect of Compound T on gut microflora of squabs

指标 Items	lgCFU·g ⁻¹		
	CT	T1	T2
大肠杆菌 <i>Escherchia coli</i>	7.90±0.33 a	7.62±0.32 a	7.44±0.65 a
双歧杆菌 <i>Bifidobacteria</i>	9.42±0.36 b	9.51±0.15 b	10.05±0.13 a
乳酸菌 <i>Lactobacillus</i>	9.24±0.14 b	9.33±0.08 ab	9.53±0.17 a

2.3 复合物 T 对乳鸽生长性能的影响

如表 5 所示, 各组之间的 10 日龄体重均无显著性差异 ($P>0.05$), 达到了对试验样本选择的要求; T2 组的 30 日龄体重显著高于 CT 组 ($P<0.05$), 而 T1 组与 CT 组之间无显著差异 ($P>0.05$); T2 组的平均日增重显著高于 CT 组 ($P<0.05$), 而 T1 组与 CT 组之间无显著差异 ($P>0.05$); T2 组的料重比显著低于 CT 组 ($P<0.05$), 而 T1 组与 CT 组之间无显著差异 ($P>0.05$); 各组之间存活率无显著差异 ($P>0.05$)。

表 5 复合物 T 对乳鸽生长性能的影响

Table 5 Effect of Compound T on growth of squabs

指标 Items	CT	T1	T2
10日龄体重 BW at 10 days of age/g	279.85±3.83 a	279.69±2.18 a	280.73±4.35 a
30日龄体重 BW at 30 days of age/g	471.85±3.54 b	477.35±6.10 ab	484.99±5.39 a
平均日增重 ADG/(g·d ⁻¹)	9.60±0.27 b	9.88±0.26 ab	10.21±0.32 a
料重比 F/G	4.46±0.12 a	4.33±0.12 ab	4.19±0.13 b
存活率 Surviving rate/%	96.67±4.56 a	96.67±7.45 a	96.67±4.56 a

2.4 复合物 T 对乳鸽免疫器官指数的影响

如表 6 所示, T2 组的法氏囊指数显著高于 CT 组 ($P<0.05$), 而 T1 组与 CT 组之间没有显著差异 ($P>0.05$); 对于脾脏指数和胸腺指数, T2 组

表 6 复合物 T 对乳鸽免疫器官指数的影响

Table 6 Effect of Compound T on immune organ indices of squabs

指标 Items	CT	T1	T2
脾脏指数 Thymus index	0.75±0.06 a	1.19±0.39 a	1.24±0.30 a
胸腺指数 Spleen index	3.26±1.92 a	1.97±1.11 a	3.39±0.64 a
法氏囊指数 Bursa of Fabricii index	0.96±0.24 b	1.38±0.34 ab	1.63±0.19 a

的均值最大, 但各组之间都没有显著性差异 ($P>0.05$)。

2.5 复合物 T 对乳鸽屠宰性能的影响

如表 7 所示, 总体上, 相对于 CT 组, T1 组和 T2 组的屠宰性能较好; 其中, T2 组的胸肌率显著高于 CT 组 ($P<0.05$), T1 组的胸肌率也高于 CT 组, 但两者之间无显著差异 ($P>0.05$); 对于屠宰率、半净膛率、全净膛率、腹脂率和腿肌率, 各组之间均无显著差异 ($P>0.05$)。

表 7 复合物 T 对乳鸽屠宰性能的影响

Table 7 Effect of Compound T on slaughter performance of squabs

指标 Items	CT	T1	T2
屠宰率 Slaughter rate	82.75±0.44 a	84.18±1.43 a	84.51±1.09 a
半净膛率 Semi-eviscerated rate	69.67±0.94 a	71.83±2.17 a	71.76±0.97 a
全净膛率 Eviscerated rate	54.59±1.86 a	55.84±2.11 a	54.27±2.96 a
腹脂率 Abdominal fat rate	1.22±0.51 a	1.35±0.25 a	0.96±0.29 a
胸肌率 Breast muscle rate	25.03±1.38 b	27.98±1.69 ab	28.84±2.73 a
腿肌率 Leg muscle rate	8.05±0.84 a	8.55±0.82 a	9.50±0.65 a

2.6 复合物 T 对乳鸽肉品质的影响

如表 8 所示, 对于 pH_{45 min} 和 pH_{24 h}, 各组的均值都较为接近, 无显著差异 ($P>0.05$); T1 组失水率的均值最大, 但各组之间均无显著性差异 ($P>0.05$); T1 组剪切力的均值最小, 但各组之间均无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 8 复合物 T 对乳鸽胸肌肉品质的影响

Table 8 Effect of Compound T on breast meat quality of squabs

指标 Items	CT	T1	T2
pH _{45 min}	6.52±0.05 a	6.57±0.08 a	6.46±0.11 a
pH _{24 h}	6.39±0.09 a	6.41±0.08 a	6.37±0.11 a
失水率 Water loss rate/%	31.26±5.43 a	35.42±2.15 a	34.16±2.24 a
剪切力 Shear force/kgf	2.45±1.15 a	1.14±0.32 a	2.20±0.55 a

2.7 复合物 T 对乳鸽血清生化指标的影响

如表 9 所示, T2 组谷草转氨酶的均值最大, 但各组之间均无显著差异 ($P>0.05$); T2 组的血清肌酐均值最小, 但各组之间均无显著差异 ($P>0.05$); T1 组尿素氮的均值最大, 但各组之间均无显著差异 ($P>0.05$); 各组尿酸的均值相近, 并且都无显著

表 9 复合物 T 对乳鸽血清生化指标的影响
Table 9 Effect of Compound T on serum biochemical indices of squabs

指标 Items	CT	T1	T2
谷草转氨酶 Aspartate aminotransferase/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	37.49 $\pm$ 19.85 a	54.95 $\pm$ 16.77 a	65.93 $\pm$ 26.71 a
血清肌酐 Serum creatinine/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	363.35 $\pm$ 125.12 a	374.86 $\pm$ 167.31 a	268.12 $\pm$ 58.10 a
尿素氮 Urea nitrogen/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.99 $\pm$ 1.10 a	2.08 $\pm$ 1.55 a	0.71 $\pm$ 0.74 a
尿酸 Uric acid/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.08 $\pm$ 0.04 a	0.10 $\pm$ 0.03 a	0.09 $\pm$ 0.03 a

差异 ($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 人工灌喂乳鸽作为试验动物的效果

乳鸽在孵出后发育还不充分，绒羽稀疏，眼睛未睁开，因此，在自然条件下，乳鸽出壳后需要在亲鸽的保护下，通过喂饲由嗉囊腺分泌的主要含蛋白质和脂肪的鸽乳使其睁眼、丰羽并充分发育^[15]。这一哺育过程大约需要 30 d。鸽乳开始为乳糜状，随着时间的推移，亲鸽初步消化的饲料占鸽乳的比例越来越高，从 9 d 开始就基本为经嗉囊浸润的半消化饲料和消化液的混合物^[15]，25 d 后亲鸽吐喂减少，逼迫乳鸽自行采食。本试验通过模拟亲鸽哺喂的过程，将 10 日龄白卡奴乳鸽通过人工灌喂的方式喂养至 30 日龄，试验乳鸽的采食可以被精确地控制，试验过程和相关数据采集达到良好的预期效果。

3.2 复合物 T 对微生物的影响

根据前期的研究基础，我们筛选了一个以三辛酸甘油酯、桃金娘烯醇、肉豆蔻酸异丙酯、薄荷醇和樟脑为主要成分的复合物 T 作为替代抗生素的备选产品。其中，三辛酸甘油酯常作为乳化剂和载体应用于医药当中^[16]，将其应用到青年猪上可改变肠道菌群^[4]。桃金娘烯醇对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等多种细菌具有抑制作用^[2-3]。革兰氏阴性菌，尤其是绿脓杆菌对肉豆蔻酸异丙酯具有很强的敏感性^[11]。作为传统的中草药，薄荷和樟脑都具有很好的抗炎活性、抗氧化活性及抗菌活性^[6,17-18]，对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等革兰氏阴性菌都均具有显著的抑制作用^[6,9]。在饲料中添加樟脑可抑制日本鹌鹑肠道大肠杆菌的生长，并促进肠道乳酸菌的增长^[10]。这些报道和本试验的结果是相一致的，体外的抑制结果表明复合物 T 对于大肠杆菌有很好的抑制作用，并且体积分数 0.031 3% 以上的复合物 T 对大肠杆菌的抑制率超过了质量浓度为 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氨苄西林溶液。相对于对照组，复合物 T 以 625 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的添加更能促进乳鸽肠道内双歧杆菌和乳酸菌的生长。

3.3 复合物 T 对乳鸽生长性能的影响

有报道指出，三辛酸甘油酯可以刺激鲤鱼幼仔的生长并提高存活率^[19-20]，且可以提高断奶仔猪的生长性能^[5]和青年猪的饲料转化率^[4]。在鸡、猪等畜禽上的应用显示，薄荷醇可以提高饲料利用率、生长性能、血液生化指标等^[7-8]。Sedaghat 等^[10]却发现饲料中仅添加樟脑却对日本鹌鹑的体重和饲料转化率没有显著的影响。前人的报道显示，桃金娘烯醇有很好的抗炎活性^[21]，可以加速人和老鼠胃溃疡的治愈^[22]；肉豆蔻酸异丙酯作为一类重要的香料和乳化剂，可直接添加在食品中以改善食品的香气与口感^[23]，但将这二者作为饲料添加剂应用于畜禽中却少有报道。本试验的结果显示复合物 T 以 625 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的添加可以促进乳鸽的生长和提高饲料转化率。

3.4 复合物 T 对乳鸽免疫器官指数的影响

利用胸腺指数、法氏囊指数和脾脏指数来评价禽类的免疫状态是通常的做法^[12]，免疫器官指数的提高说明饲料中的添加物能够影响家禽的免疫应答^[14]。前人的研究结果表明，三辛酸甘油酯可促进断奶仔猪免疫球蛋白 A(IgA) 的分泌，并降低白细胞介素 6(IL-6) 的水平，从而提高断奶仔猪的免疫功能^[5]。50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的桃金娘烯醇可抑制哮喘模型大鼠的免疫因子白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 及丙二醛 (MDA)，增加干扰素 γ (INF- γ)、白细胞介素 10(IL-10)及超氧化物歧化酶 (SOD)^[24]。薄荷醇也可以调节白细胞介素 1 α (IL-1 α)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)^[25]，并可改善公鸡的免疫性能^[26]。在饲料添加樟脑可增强日本鹌鹑对绵阳红细胞、禽流感病毒和新城疫病毒的体液免疫反应^[10]。肉豆蔻酸异丙酯常作为促渗剂和佐剂应用于医药当中^[27]，但关于其对机体免疫的影响的研究却鲜有报道。在本试验中，复合物 T 以 625 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的添加可以显著提高乳鸽的法氏囊指数，表明复合物 T 能影响乳鸽的免疫器官功能，但其对免疫功能的具体影响还需要后续的研究来进一步明确。

3.5 复合物 T 对乳鸽屠宰性能和肉品质的影响

屠宰性能是肉禽重要的生产指标，可以直接衡

量养殖情况的经济效益。本试验的结果表明在基础饲料中添加复合物 T 可以提高乳鸽的屠宰性能, 以添加 $625 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的效果最好, 尤其是胸肌率, 得到显著提高。

随着消费需求从数量到质量的提升, 肉品质也成为畜禽养殖中越来越重要的经济指标。pH、剪切力和失水率是评价肉品质的重要指标。pH 值直接反映着肉的酸味, 剪切力衡量肉的嫩度。失水率也叫持水性, 衡量肉在外界环境的作用下保持其原有水分的能力^[14]。本试验结果显示, 对于这 3 个指标, 各组之间的没有显著差异, 说明在饲料中添加复合物 T 并不会影响乳鸽的肉品质。

3.6 复合物 T 对乳鸽血清生化指标的影响

一般药物进入血液后, 其代谢主要是经过肝脏来完成, 而肾脏是药物排泄的主要途径^[28-29]。谷草转氨酶是评价肝功能的重要指标之一, 其活性的增加提示着肝脏细胞损害的增多^[28]。本试验的结果显示, 空白试验组和两个试验组之间的谷草转氨酶都没有显著的差异, 说明在饲料中添加 $313 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $625 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的复合物 T 不会影响乳鸽的肝功能。临床上对血清肌酐、尿素氮和尿酸的检测是了解肾功能的主要方法^[28-29]。本试验对这三个指标的检测显示, 各组之间也都没有显著的差异, 说明在饲料中添加 $313 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $625 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的复合物 T 无肾功能损害, 无细胞毒性。

4 结论

以三辛酸甘油酯、桃金娘烯醇、肉豆蔻酸异丙酯、薄荷醇、樟脑为主要成分的复合物 T 对大肠杆菌 (菌种编号为 ATCC8739) 具有很好的抑制作用, 并可促进肠道有益菌的生长, 对乳鸽的生长性能具有一定的促进作用, 适宜添加量为 $625 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此, 复合物 T 可作为替代抗生素的备选产品做进一步的研究。

参考文献:

- [1] CUI Y, HAN C, LI S, et al. High-throughput sequencing-based analysis of the intestinal microbiota of broiler chickens fed with compound small peptides of Chinese medicine [J]. *Poultry Science*, 2021, 100 (3): 100897.
- [2] 刘伟, 赵武, 孟菲, 等. 桃金娘化学成分及生物活性的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41 (3): 241-244.
- [3] SELVARAJ A, VALLIAMMAI A, SIVASANKAR C, et al. Antibiofilm and antivirulence efficacy of myrtenol enhances the antibiotic susceptibility of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10 (1): 21975.
- [4] LAI W K, YEN H C, LIN C S, et al. The effects of dietary medium-chain triacylglycerols on growth performance and intestinal microflora in young pigs [J]. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2014, 23 (4): 331-336.
- [5] CUI Z, WANG X, HOU Z, et al. Low-protein diet supplemented with medium-chain fatty acid glycerides improves the growth performance and intestinal function in post-weaning piglets [J]. *Animals*, 2020, 10 (10): E1852.
- [6] LIM H W, KIM D H, KIM S H, et al. Antimicrobial effect of *Mentha piperita* (peppermint) oil against *Bacillus Cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Cronobacter sakazakii*, and *Salmonella Enteritidis* in various dairy foods: preliminary study [J]. *Journal of Milk Science and Biotechnology*, 2018, 36: 146-154.
- [7] ABDEL-WARETH A A A, KEHRAUS S, SÜDEKUM K H. Peppermint and its respective active component in diets of broiler chickens: Growth performance, viability, economics, meat physicochemical properties, and carcass characteristics [J]. *Poultry Science*, 2019, 98 (9): 3850-3859.
- [8] 宫汝淳, 赵杨, 崔晓漫, 等. 薄荷提取物对夏季高温期蛋鸡生产性能、蛋品质及血液生化指标的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57 (8): 210-214.
- [9] GONG R C, ZHAO Y, CUI X M, et al. Effect of mint extract on the production performance, egg quality and blood biochemical indexes of laying hens at high temperature in summer [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2021, 57 (8): 210-214. (in Chinese)
- [10] DONATO R, SANTOMAURO F, BILIA A R, et al. Antibacterial activity of Tuscan *Artemisia annua* essential oil and its major components against some foodborne pathogens [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64 (2): 1251-1254.
- [11] SEDAGHAT A, KARIMI TORSHIZI M A. Immune responses, intestinal microbiota, performance and blood characteristics of Japanese quail fed on diets containing camphor [J]. *Animal*, 2017, 11 (12): 2139-2146.
- [12] CARDOSO V M, SOLANO A, PRADO M, et al. Investigation of fatty acid esters to replace isopropyl myristate in the sterility test for ophthalmic ointments [J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2006, 42 (5): 630-634.
- [13] 刘娇, 常文环, PIRZADO Shoaib Ahmed, 等. 植物精油对大肠杆菌攻毒肉鸭生长性能、血清生化指标和免疫功能的影响 [J]. 动物营养学报, 2020, 32 (8): 3670-3680.
- [14] LIU J, CHANG W H, PIRZADO S A, et al. Effects of plant essential oil on growth performance, serum biochemical indexes and immune function of ducks challenged by *Escherichia coli* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32 (8): 3670-3680. (in Chinese)
- [15] USHIDA K, MAEKAWA M, ARAKAWA T. Influence of dietary supplementation of herb extracts on volatile sulfur production in pig large intestine [J]. *Journal of Nutritional Science & Vitaminology*,

- 2002, 48 (1) : 18–23.
- [14] 高玉云, 张杏莉, 孔邱林, 等. 有机酸和精油复合微囊包被物对肉鸡生长性能、免疫器官指数、屠宰性能、肉品质和血清生化指标的影响 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29 (8) : 2923–2930.
- GAO Y Y, ZHANG X L, KONG Q L, et al. Effects of microencapsulated essential oils and organic acids on growth performance, immune organ indexes, slaughter performance, meat quality and serum biochemical indexes of broilers [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29 (8) : 2923–2930. (in Chinese)
- [15] DING J, LIAO N, ZHENG Y, et al. The composition and function of pigeon milk microbiota transmitted from parent pigeons to squabs [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1789.
- [16] 姜珊, 周伶俐, 唐星, 等. 拉洛他赛自乳化释药系统的制备及大鼠体内药动学研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2020, 18 (1) : 1–14.
- JIANG S, ZHOU L L, TANG X, et al. Preparation and evaluation of larotaxel self-emulsifying drug delivery system and pharmacokinetic study in rats [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutics*, 2020, 18 (1) : 1–14. (in Chinese)
- [17] STRINGARO A, COLONE M, ANGIOLELLA L. Antioxidant, antifungal, antibiofilm, and cytotoxic activities of *Mentha* spp. essential oils [J]. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 2018, 5 (4) : E112.
- [18] 董杰. 樟脑精油对大肠杆菌抑菌机制的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- DONG J. *Antibacterial mechanism of camphor essential oil on E. coli*[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020. (in Chinese)
- [19] FONTAGNÉ S, BURTAIRE L, CORRAZE G, et al. Effects of dietary medium-chain triacylglycerols (tricaprylin and tricaproin) and phospholipid supply on survival, growth and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae [J]. *Aquaculture*, 2000, 190 (3–4) : 289–303.
- [20] FONTAGNÉ S, PRUSZYNSKI T, CORRAZE G, et al. Effect of coconut oil and tricaprylin vs. triolein on survival, growth and fatty acid composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae [J]. *Aquaculture*, 1999, 179 (1–4) : 241–251.
- [21] GOMES B S, NETO B P S, LOPES E M, et al. Anti-inflammatory effect of the monoterpene myrtenol is dependent on the direct modulation of neutrophil migration and oxidative stress [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2017, 273: 73–81.
- [22] VIANA A, LOPES M, OLIVEIRA F, et al. (-)-Myrtenol accelerates healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats and in human gastric adenocarcinoma cells [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2019, 854: 139–148.
- [23] 郝凤岭, 丁斌, 刘群, 等. 食用香料肉豆蔻酸异丙酯的合成新方法 [J]. *粮食与油脂*, 2015, 28 (8) : 66–69.
- HAO F L, DING B, LIU Q, et al. A new method for synthesis of an edible spice about isopropyl myristate [J]. *Cereals & Oils*, 2015, 28 (8) : 66–69. (in Chinese)
- [24] BEJESHK M A, SAMAREH FEKRI M, NAJAFIPOUR H, et al. Anti-inflammatory and anti-remodeling effects of myrtenol in the lungs of asthmatic rats: Histopathological and biochemical findings [J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2019, 47 (2) : 185–193.
- [25] YADAV N, CHANDRA H. Modulation of alveolar macrophage innate response in proinflammatory-, pro-oxidant-, and infection-models by mint extract and chemical constituents: Role of MAPKs [J]. *Immunobiology*, 2018, 223 (1) : 49–56.
- [26] 李守杰, 常振华, 薛文娟. 精油和低聚糖替代抗生素对公鸡生长性能、养分利用率及免疫性能的影响 [J]. *中国饲料*, 2018 (22) : 47–51.
- LI S J, CHANG Z H, XUE W J. Supplementation of essential oil and oligosaccharide substitute of antibiotic on growth performance, nutrient digestibility and immunity of male broilers [J]. *China Feed*, 2018 (22) : 47–51. (in Chinese)
- [27] EICHNER A, STAHLBERG S, SONNENBERGER S, et al. Influence of the penetration enhancer isopropyl myristate on stratum corneum lipid model membranes revealed by neutron diffraction and ²H NMR experiments [J]. *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes*, 2017, 1859 (5) : 745–755.
- [28] YANG F, PEI R, ZHANG Z, et al. Copper induces oxidative stress and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in chicken hepatocytes [J]. *Toxicology in Vitro*, 2019, 54: 310–316.
- [29] SCOPE A, SCHWENDENWEIN I, STANCLOVA G, et al. Exogenous creatinine clearance indexed to body surface area allows estimation of GFR and across species comparison [J]. *Research in Veterinary Science*, 2021, 135: 36–41.

(责任编辑：林海清)