

饲料添加中药超微粉对蛋鸡抗氧化能力的影响

桂 珏¹,林文超^{1,2},蒙成文¹,贺建华²,胡 新³,崔亚东³,孔祥峰^{1,2,3*}

¹中国科学院亚热带农业生态研究所 亚热带农业生态过程重点实验室

动物营养生理与代谢过程湖南省重点实验室,长沙 410125;

²湖南农业大学动物科学技术学院,长沙 410128;³ 阜阳师范大学生物与食品工程学院,阜阳 236037

摘要:本文旨在研究饲料添加中药超微粉对蛋鸡抗氧化能力的影响。试验选用43周龄的新杨黑羽蛋鸡576只,随机分为对照组、益母草组(LH)组、女贞子组(LF)、蒲公英组(TH)、LH+LF组、LH+TH组、LF+TH组、LH+LF+TH组,每组8个重复,每个重复9只。分别于试验第60d和120d采样,测定血浆和肝脏氧化-抗氧化指标以及肝脏抗氧化相关基因表达。结果表明:试验第60d时,与对照组相比,LF组和LH+LF组血浆谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)水平分别增加了10.48%和12.06%($P < 0.05$),LF+TH组肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、GSH-PX和过氧化氢酶(CAT)水平以及超氧化物歧化酶-1(SOD-1)和CAT的mRNA表达量分别增加了111.76%、141.32%、140.48%、168.00%和140.00%($P < 0.05$),LH+LF+TH组肝脏GSH-PX和CAT水平以及SOD-1、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和CAT的mRNA表达量分别增加了77.55%、76.19%、211.00%、80.00%和169.00%($P < 0.05$);与LH组和TH组相比,LF+TH组肝脏SOD水平分别增加了125.00%和53.19%($P < 0.05$);与LH+TH组相比,LH+LF组肝脏SOD-1的mRNA表达量增加了121.05%($P < 0.05$)。试验第120d时,与对照组相比,LH+LF组、LF+TH组和LH+LF+TH组血浆SOD水平分别增加了22.44%、16.98%和17.84%($P < 0.05$),LH+LF组肝脏SOD、GSH-PX和CAT水平分别增加了38.46%、43.72%和36.73%($P < 0.05$),LF+TH组肝脏SOD和CAT水平分别增加了35.16%和46.94%($P < 0.05$),LH+LF+TH组肝脏SOD水平增加了54.95%($P < 0.05$)。综上所述,饲料添加益母草、蒲公英和女贞子及其复方超微粉均可不同程度地增强蛋鸡的抗氧化能力,其中LH+LF组、LF+TH组和LH+LF+TH组的效果更佳。

关键词:中药;超微粉;新杨黑羽蛋鸡;抗氧化能力

中图分类号:S831.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)Suppl-0080-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.S.012

Effect of Chinese medicine superfine powder on the antioxidant ability of laying hens

GUI Jue¹, LIN Wen-chao^{1,2}, MENG Cheng-wen¹, HE Jian-hua², HU Xin³, CUI Ya-dong³, KONG Xiang-feng^{1,2,3*}

¹Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region & Hunan Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition Physiology and Metabolic Processes, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of

Sciences, Changsha 410125, China; ²College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

³School of Biology and Food Engineering, Fuyang Normal University, Fuyang 236037, China

Abstract: This study determined the effect of dietary supplementing superfine powder of Chinese medicine on the antioxidant ability of laying hens. A total of 576 Xinyang black feather laying hens at 43 weeks of age were randomly divided into the control, Leonuri Herba (LH), Ligustri Lucidi Fructus (LF), Taraxaci Herba (TH), LH+LF, LH+TH, LF+TH, and LH+LF+TH groups, eight replicates per group and nine hens per replicate. At days 60 and 120 of the trial, the hens were sampled to determine the plasma and liver oxidant-antioxidant indexes, as well as the liver expression of antioxidant-related genes. The re-

收稿日期:2022-10-08

接受日期:2022-11-28

基金项目:阜阳师范大学承接阜阳市科技专项经费市校合作项目(SXHZ2020007);湖南省科技领军人才项目(2019RS3022)

* 通信作者 Tel:86-013875897169; E-mail:nnkxf@isa.ac.cn

sults showed that, at day 60 of the trial, compared with the control group, the plasma levels of glutathione peroxidase (GSH-Px) in LF and LH + LF groups increased by 10.48% and 12.06%, respectively ($P < 0.05$); the liver levels of superoxide dismutase (SOD), GSH-Px, and catalase (CAT) and mRNA expression levels of SOD-1 and CAT in LF + TH group increased by 111.76%, 141.32%, 140.48%, 168.00%, and 140.00%, respectively ($P < 0.05$); the liver levels of GSH-Px and CAT and mRNA expression levels of SOD-1, GPX, and CAT in LH + LF + TH group increased by 77.55%, 76.19%, 211.00%, 80.00%, and 169.00%, respectively ($P < 0.05$). Compared with the LH and TH groups, the liver SOD level in LF + TH group increased by 125.00% and 53.19%, respectively ($P < 0.05$). Compared with the LH + TH group, the liver mRNA expression level of SOD-1 in LH + LF group increased by 121.05% ($P < 0.05$). At day 120 of the trial, compared with the control group, the plasma SOD level in LH + LF, LF + TH, and LH + LF + TH groups increased by 22.44%, 16.98% and 17.84%, respectively ($P < 0.05$). The liver SOD, GSH-PX, and CAT levels in LH + LF group increased by 38.46%, 43.72%, and 36.73%, respectively ($P < 0.05$). The liver SOD and CAT levels in LF + TH group increased by 35.16% and 46.94%, respectively ($P < 0.05$). The liver SOD level in LH + LF + TH group increased by 54.95% ($P < 0.05$). In conclusion, the single or compound superfine powder of LH, LF, and TH could improve the antioxidant ability of laying hens to some extent, among of which the LH + LF, LF + TH, and LH + LF + TH groups present stronger effects.

Key words: Chinese medicine; superfine powder; Xinyang black feather laying hens; antioxidant ability

随着蛋鸡日龄的逐渐增大,其机体机能逐渐退化,且容易发生氧化应激^[1]。在氧化应激代谢活动中积累的活性氧(reactive oxygen species, ROS)容易引起卵巢衰老,从而导致卵母细胞的质量下降,进而影响产蛋量和蛋品质^[2]。同时,机体内的自由基可通过损伤肠道黏膜影响机体对营养物质的消化与吸收,最终影响蛋鸡的机体健康和生产性能^[3]。因此,需要研发有效的抗氧化剂缓解氧化应激对蛋鸡的负面影响。中药具有多成分、多靶点、多功效、无有害残留、不易产生耐药性等优势^[4]。现有研究表明,中药中含有的苯丙烷类、黄酮类、萜类和生物碱类物质具有保护细胞免受氧化应激的功效^[5],白藜芦醇、姜黄素和小檗碱等有效成分可通过限制脂质过氧化、抑制血小板聚集和抑制 ROS 相关的炎症途径清除氧自由基和超氧自由基^[6]。益母草有“妇科圣药”之称,可活血调经、利尿消肿、清热解毒^[7];蒲公英苦寒,善于清热解毒,消痈散结;二者配伍有活血祛瘀、清热解毒、理气止痛之效^[8]。女贞子味甘性凉,可养肝益肾、养精蓄锐^[9],与益母草配伍能增强活血调经之效,与蒲公英配伍可增强清热解毒之效^[8]。三味中药合用可扶正祛邪,在增强机体免疫力的同时活血祛瘀、清热解毒。笔者前期研究发现,益母草、蒲公英、女贞子等中药超微粉对蛋鸡产蛋性能和蛋品质具有一定的促进作用,但其作用机制尚不明确。因此,本文研究饲料添加益母草、女贞子和蒲公英及其复方超微粉对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力的影响,为中药超微粉用于提高蛋鸡的生产性能提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

BCA 试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司,总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)和过氧化氢酶(catalase, CAT)测定试剂盒均购自上海沪宇生物科技有限公司, Evo M-MLV 反转录试剂盒购自艾科瑞生物工程有限公司;肝脏抗氧化相关基因表达分析所用引物由生工生物工程上海股份有限公司合成;微量紫外分光光度计, Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific; PCR 仪, LightCycler[®] 480II, Roche。

1.2 试验动物、分组与饲养管理

试验选用 43 周龄的新杨黑羽蛋鸡 576 只,随机分为 8 组,其中对照组饲喂基础饲料,试验组分别在基础饲料中添加 0.5% 益母草(益母草组, Leonuri Herba, LH)、0.25% 女贞子(女贞子组, Ligustri Lucidi Fructus, LF)、0.25% 蒲公英(蒲公英组, Taraxaci Herba, TH)、0.5% 益母草和 0.25% 女贞子(LH + LF)、0.5% 益母草和 0.25% 蒲公英(LH + TH)、0.25% 女贞子和 0.25% 蒲公英(LF + TH)、0.5% 益母草、0.25% 女贞子和 0.25% 蒲公英(LH + LF + TH)。每组 8 个重复,每个重复 9 只。预饲期为 7 d,正试期为 120 d。基础饲料参照蛋鸡饲养标准(NY/T33-2004)产蛋后期蛋鸡营养需要配制,其组成及营养水平见表 1。预混料为每千克饲料提供:

维生素 A 140 000 IU、维生素 D3 50 000 IU、维生素 E 480 mg、维生素 K3 180 mg、维生素 B1 63 mg、维生素 B2 200 mg、维生素 B6 140 mg、维生素 B12 0.7 mg、烟酸胺 1 000 mg、D-泛酸 500 mg、叶酸 50 mg、D-生物素 5.0 mg、氯化胆碱 900 mg、植酸酶 3 000 IU、铁 2.0 g、铜 0.3 g、锰 1.8 g、锌 2.0 g、碘 70 mg、

硒 9 mg。试验蛋鸡采用 4 层阶梯式笼养,每笼 3 只鸡。蛋鸡自由采食和乳头式饮水器饮水,每日 07:30 和 16:00 各饲喂一次。鸡舍内光照时间为每天 16 h,纵向机械通风,舍内温度控制在 20 ~ 25 ℃。鸡舍采用机械清粪,每天一次。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diets (air-dry basis)

原料 Ingredient	配比 Rate(%)	营养成分 Nutrient *	含量 Content
玉米 Corn	62.59	代谢能 Metabolic energy(MJ/kg)	11.25
豆粕 Soybean meal	23.88	粗蛋白质 Crude protein(%)	14.23
石粉 Limestone	7.94	粗脂肪 Ether extract(%)	9.66
豆油 Soybean oil	0.49	钙 Ca(%)	3.51
蛋氨酸 Methionine	0.10	有效磷 AP(%)	0.34
预混料 Premix	5.00	赖氨酸 Lys(%)	0.71
合计 Total	100.00	蛋氨酸 Met(%)	0.37

注:粗蛋白质和粗脂肪为实测值,其余均为计算值。

Note:Crude protein and ether extract were measured values,while the others were calculated values.

1.3 样品采集与处理

分别于试验第 60 d 和 120 d,每组选取 8 只蛋鸡称重和采样。翅静脉采血 5 mL,肝素抗凝,3 500 r/min 离心 10 min 分离血浆;取肝脏组织,液氮速冻后-80 ℃保存,用于氧化-抗氧化指标、抗氧化相关基因表达分析。

1.4 血浆和肝脏氧化-抗氧化指标测定

称取肝脏组织 0.100 0 g,加入 9 倍冰冷的 PBS 溶液,置于 EP 管中研磨,2 500 r/min 离心 10 min,取上清液。取-20 ℃保存的血浆和肝脏组织匀浆上清液,用 BCA 试剂盒测定肝脏总蛋白质浓度,用生化试剂盒测定 T-AOC 和 MDA 含量,用 ELISA 试剂盒测定 SOD、GSH-PX 和 CAT 水平。操作步骤按照

试剂盒说明书进行。

1.5 肝脏抗氧化相关基因表达分析

取肝脏组织液氮研磨,用 Trizol 法提取总 RNA,用微量紫外分光光度计测定总 RNA 浓度,用 Evo M-MLV 反转录试剂盒将总 RNA 反转录为 cDNA,以 β -actin 为内参基因,用 PCR 仪检测 SOD-1、GPX3 和 CAT 的 mRNA 表达水平。10 μ L 反应体系包括:2 \times SYBR Green Pro Taq HS Premix 5 μ L,上、下游引物各 0.25 μ L(10 μ mol/L),cDNA 2 μ L,ddH₂O 2.5 μ L。PCR 反应条件为:95 ℃预变性 30 s;95 ℃变性 5 s,60 ℃退火 30 s,40 个循环。引物序列见表 2。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 mRNA 的相对表达量。

表 2 实时荧光定量 PCR 所用引物序列

Table 2 Primer sequences used for real-time fluorescence quantitative PCR

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence(5'→3')	基因登录号 Accession No.	产物大小 Product size(bp)
CAT	F:AGATGGCGTATGACCCTAGC R:CCTCTGATAATTGCCACCC	NM_001031215.2	173
GPX3	F:TGGTGCTCTTTGTCAACGTG R:ACTTCAGTGCAGGGAGGATC	NM_001163232.3	174
SOD-1	F:GGGAGGACTGGCAGAAGTAG R:AAACGAGGTCCAGCATTTCC	NM_205064.2	159
β -actin	F:AGTACCCATTGAACACGGT R:ATACATGGCTGGGGTGTGA	NM_205518.2	197

1.6 数据统计与分析

试验数据经 Excel 初步整理后,采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析,Duncan's 法统计各组数据的差异显著性。 $P < 0.05$ 为差异显著, $0.05 \leq P < 0.10$ 为有变化趋势。

2 结果与分析

2.1 血浆氧化-抗氧化指标的变化

由表 3 可知,试验第 60 d 时,与对照组相比,LF 组血浆 SOD 和 GSH-Px 水平分别增加了 11.25% 和 10.48% ($P < 0.05$),LH + LF 组和 LH + TH 组血浆 GSH-Px 水平分别增加了 12.06% 和 12.22% ($P < 0.05$);与 LF + TH 组相比,LF 组血浆 SOD 增加了 11.70% ($P < 0.05$);与 LH + LF + TH 组相比,LF 组血浆 SOD 水平增加了 15.96% ($P < 0.05$);与 LF + TH 和 LH + LF + TH 组相比,LH + LF 组血浆 GSH-Px 水平分别增加了 9.55% 和 9.48% ($P < 0.05$),LH + TH 组血浆 GSH-Px 水平分别增加了 9.71% 和 9.64% ($P < 0.05$)。试验第 120 d 时,与对照组相比,LH 组、TH 组、LH + LF 组、LH + TH 组、LF + TH 组和 LH + LF + TH 组血浆 SOD 水平分别增加了 9.93%、23.31%、22.45%、18.13%、16.98% 和 17.84% ($P < 0.05$),LH 组、LH + LF 组和 LH + TH 组血浆 T-AOC 水平呈升高趋势 ($P = 0.065$),试验组血浆 CAT 水平均呈升高趋势 ($P = 0.065$);与 LH 组相比,TH 组血浆 SOD 水平增加了 12.17% ($P < 0.05$),LH + LF 组血浆 SOD 水平增加了 11.39% ($P < 0.05$)。

2.2 肝脏氧化-抗氧化指标的变化

由表 4 可知,试验第 60 d 时,与对照组相比,LF + TH 组肝脏 T-AOC、GSH-Px、SOD、MDA 和 CAT 水平分别增加了 115.38%、141.32%、111.76%、106.52% 和 140.48% ($P < 0.05$),LH + LF + TH 组肝脏 T-AOC、GSH-Px 和 CAT 水平分别增加了

205.13%、77.55% 和 76.19% ($P < 0.05$);与 LH + LF + TH 组相比,LF + TH 组肝脏 T-AOC 降低了 29.41% ($P < 0.05$),GSH-Px 和 CAT 水平分别增加了 35.92% 和 36.49% ($P < 0.05$)。试验第 120 d 时,与对照组相比,LF 组、LH + LF 组、LF + TH 组和 LH + LF + TH 组肝脏 SOD 水平分别增加了 51.65%、38.46%、35.16% 和 54.95% ($P < 0.05$),LF 组和 LH + LF 组肝脏 GSH-Px 水平分别增加了 40.51% 和 43.72% ($P < 0.05$),LH 组、LF 组、LH + LF 组和 LF + TH 组肝脏 CAT 水平分别增加了 40.82%、59.18%、36.73% 和 46.94% ($P < 0.05$);与 LH + LF 组相比,LF 组肝脏 SOD 和 CAT 水平分别增加了 9.52% 和 16.42% ($P > 0.05$)。

2.3 肝脏抗氧化相关基因表达的变化

由表 5 可知,试验第 60 d 时,与对照组相比,TH 组、LF + TH 组和 LH + LF + TH 组肝脏 SOD-1 的 mRNA 表达量分别增加了 208.00%、168.00% 和 211.00% ($P < 0.05$),LH 组、LF 组、TH 组和 LH + LF + TH 组肝脏 GPX3 的 mRNA 表达量分别增加了 94.00%、92.00%、89.00% 和 80.00% ($P < 0.05$),LF 组、TH 组、LH + LF 组、LF + TH 组和 LH + LF + TH 组肝脏 CAT 的 mRNA 表达量分别增加了 153.00%、159.00%、120.00%、140.00% 和 169.00% ($P < 0.05$);与 LF + TH 组相比,LH + LF + TH 组肝脏 SOD-1 和 CAT 水平分别增加了 16.04% 和 12.08% ($P > 0.05$)。试验第 120 d 时,与对照组相比,LH + LF、LH + TH、LF + TH 和 LH + LF + TH 组肝脏 GPX3 的 mRNA 表达量分别降低了 79.00%、83.00%、92.00% 和 91.00% ($P < 0.05$),LH + TH 组、LF + TH 组和 LH + LF + TH 组肝脏 CAT 的 mRNA 表达量分别降低了 46.00%、73.00% 和 48.00% ($P < 0.05$)。

表 3 饲料添加中药超微粉对蛋鸡血浆氧化-抗氧化指标的影响 ($n = 8$)

Table 3 Effects of dietary supplementation with superfine powder of Chinese medicine on plasma oxidant-antioxidant indexes of laying hens ($n = 8$)

项目 Item	组别 Group								均值标准 误差 SEM	P 值 P-value
	对照 Control	LH	LF	TH	LH + LF	LH + TH	LF + TH	LH + LF + TH		
试验第 60 d Day 60 of the trial										
T-AOC (mmol/L)	0.40	0.47	0.42	0.34	0.44	0.47	0.47	0.40	0.014	0.356
MDA (nmol/mL)	10.57	10.21	9.94	10.95	11.54	10.55	10.69	10.61	0.106	0.113

续表 3 (Continued Tab. 3)

项目 Item	组别 Group								均值标准 误差 SEM	P 值 P-value
	对照 Control	LH	LF	TH	LH + LF	LH + TH	LF + TH	LH + LF + TH		
试验第 60 d Day 60 of the trial										
SOD (ng/mL)	7.38 ^{bc}	7.91 ^{ab}	8.21 ^a	7.94 ^{ab}	7.85 ^{ab}	7.60 ^{abc}	7.35 ^{bc}	7.08 ^c	0.081	0.008
GSH-Px (ng/mL)	173.70 ^c	180.66 ^{abc}	191.91 ^{ab}	183.67 ^{abc}	194.64 ^a	194.92 ^a	177.67 ^{bc}	177.78 ^{bc}	1.947	0.006
CAT (pg/mL)	626.33	612.08	666.19	652.26	611.43	618.48	610.13	602.30	5.057	0.131
试验第 120 d Day 120 of the trial										
T-AOC (mmol/L)	0.49	0.56	0.45	0.46	0.56	0.54	0.44	0.41	0.016	0.065
MDA (nmol/mL)	10.39	10.09	9.75	10.98	10.73	10.55	10.69	10.61	0.095	0.068
SOD (ng/mL)	6.95 ^c	7.64 ^b	6.84 ^c	8.57 ^a	8.51 ^a	8.21 ^{ab}	8.13 ^{ab}	8.19 ^{ab}	0.115	<0.001
GSH-Px (ng/mL)	166.62	163.81	163.26	168.51	168.56	164.52	171.16	173.91	1.301	0.540
CAT (pg/mL)	605.83	639.37	634.35	642.12	648.92	618.70	620.40	628.91	3.799	0.065

注:同行数据肩标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Data in the same row with different superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), the same below.

表 4 饲料添加中药超微粉对蛋鸡肝脏氧化-抗氧化指标的影响 ($n = 8$)Table 4 Effects of dietary supplementation with superfine powder of Chinese medicine on liver oxidant-antioxidant indexes of laying hens ($n = 8$)

项目 Item	组别 Group								均值标准 误差 SEM	P 值 P-value
	对照 Control	LH	LF	TH	LH + LF	LH + TH	LF + TH	LH + LF + TH		
试验第 60 d Day 60 of the trial										
T-AOC (U/mg)	0.78 ^c	1.00 ^{bc}	1.41 ^{bc}	1.28 ^{bc}	1.15 ^{bc}	1.02 ^{bc}	1.68 ^b	2.38 ^a	0.099	<0.001
MDA (nmol/mg prot)	0.46 ^{bc}	0.23 ^c	0.51 ^{bc}	0.45 ^{bc}	0.20 ^c	0.41 ^{bc}	0.95 ^a	0.64 ^{ab}	0.051	0.003
SOD (U/mL)	0.68 ^{cd}	0.64 ^d	0.78 ^{cd}	0.94 ^{bc}	0.71 ^{cd}	0.85 ^{bcd}	1.44 ^a	1.07 ^{bc}	0.042	<0.001
GSH-Px (U/g)	5.30 ^{cd}	4.94 ^d	6.11 ^{cd}	7.49 ^{bc}	5.86 ^{cd}	7.34 ^{bc}	12.79 ^a	9.41 ^b	0.395	<0.001
CAT (U/mg)	0.42 ^c	0.43 ^c	0.47 ^c	0.58 ^{bc}	0.48 ^c	0.57 ^c	1.01 ^a	0.74 ^b	0.031	<0.001
试验第 120 d Day 120 of the trial										
T-AOC (U/mg)	1.83 ^a	1.85 ^a	2.08 ^a	1.06 ^b	1.12 ^b	1.24 ^b	1.02 ^b	0.95 ^b	0.083	<0.001
MDA (nmol/mg prot)	0.53	1.24	1.34	0.83	0.70	1.17	0.33	0.06	0.111	0.094
SOD (U/mL)	0.91 ^c	1.19 ^{abc}	1.38 ^{ab}	0.92 ^c	1.26 ^{ab}	1.10 ^{bc}	1.23 ^{ab}	1.41 ^a	0.038	0.001
GSH-Px (U/g)	7.48 ^{cd}	8.85 ^{abcd}	10.51 ^{ab}	6.90 ^d	10.75 ^a	8.20 ^{bcd}	8.20 ^{bed}	9.84 ^{abc}	0.309	0.006
CAT (U/mg)	0.49 ^d	0.69 ^{ab}	0.78 ^a	0.52 ^{cd}	0.67 ^{abc}	0.56 ^{bed}	0.72 ^{ab}	0.65 ^{abcd}	0.021	0.001

表 5 饲料添加中药超微粉对蛋鸡肝脏抗氧化相关基因表达的影响 ($n = 8$)Table 5 Effects of dietary supplementation with superfine powder of Chinese medicine on the liver expression of antioxidant-related genes of laying hens ($n = 8$)

项目 Item	组别 Group								均值标准 误差 SEM	P 值 P-value
	对照 Control	LH	LF	TH	LH + LF	LH + TH	LF + TH	LH + LF + TH		
试验第 60 d Day 60 of the trial										
SOD-I	1.00 ^{bc}	1.27 ^{bc}	1.64 ^b	3.08 ^a	1.68 ^b	0.76 ^c	2.68 ^a	3.11 ^a	0.147	<0.001
GPX3	1.00 ^{bc}	1.94 ^a	1.92 ^a	1.89 ^a	1.71 ^{ab}	0.74 ^c	1.62 ^{ab}	1.80 ^a	0.102	0.008

续表 5 (Continued Tab. 5)

项目 Item	组别 Group								均值标准 误差 SEM	P 值 P-value
	对照 Control	LH	LF	TH	LH + LF	LH + TH	LF + TH	LH + LF + TH		
试验第 60 d Day 60 of the trial										
CAT	1.00 ^c	1.14 ^c	2.53 ^{ab}	2.59 ^a	2.20 ^{ab}	1.47 ^{bc}	2.40 ^{ab}	2.69 ^a	0.143	0.001
试验第 120 d Day 120 of the trial										
SOD-1	1.00 ^{ab}	1.33 ^a	1.36 ^a	1.76 ^a	1.09 ^{ab}	0.80 ^{ab}	0.32 ^b	0.33 ^b	0.118	0.016
GPX3	1.00 ^{ab}	1.39 ^a	1.38 ^a	0.55 ^{bc}	0.21 ^c	0.17 ^c	0.08 ^c	0.09 ^c	0.089	<0.001
CAT	1.00 ^{ab}	0.71 ^{bc}	1.20 ^a	0.95 ^{ab}	0.94 ^{ab}	0.54 ^{cd}	0.27 ^d	0.52 ^{cd}	0.055	<0.001

3 讨论与结论

机体内的过氧化氢、羟自由基和超氧阴离子等 ROS 累积过多易引起脂质过氧化, 损害正常的组织和细胞功能^[10]。SOD 是生物体内最重要的抗氧化酶之一, 在应激条件下产生的 SOD 可减少 ROS 的合成, 防止氧化应激^[11]。GSH-Px 是一种重要的过氧化物降解酶, 通过将过氧化氢分解为水而降低 ROS 水平, 有利于维持机体内的氧化-抗氧化平衡^[12]。研究表明, 提高机体抗氧化酶水平可改善家禽抗氧化系统的稳态^[13]。

在本研究中, 饲料添加中药超微粉可明显提高试验第 60 d 蛋鸡肝脏抗氧化酶水平及相关基因表达, 但试验第 120 d 相应指标未出现明显提高, 可能是因为产蛋后期蛋鸡机体代谢功能和抗氧化能力下降, 脂质过氧化的积累导致抗氧化酶水平降低^[14], 进而影响蛋鸡抗氧化能力^[15]。Gu 等报道, 随着年龄的增加, 蛋鸡生理功能下降, 血清和肝脏中抗氧化酶水平下降, 而 MDA 浓度升高^[14]。

本研究中, 各组中药超微粉均可提高血浆 SOD 和 GSH-Px 水平, 说明中药超微粉可通过提高抗氧化酶水平改善蛋鸡抗氧化能力。其中, 饲料添加益母草可提高血浆 SOD 和肝脏 CAT 水平以及肝脏 GPX 基因表达, 可能与益母草中含有可改善氧化-抗氧化平衡的活性成分有关。例如, 益母草中的黄酮类物质可显著清除羟自由基^[16], 水苏碱可抑制人脐静脉内皮细胞缺氧复氧所致的 MDA 含量增加、SOD 和 GSH-Px 水平降低^[17]。Huang 等^[18]报道, 饲料添加 0.4% 益母草超微粉可显著提高鹌鹑的血清抗氧化酶水平、降低血清 MDA 含量, 进而增强机体的抗氧化能力。饲料添加女贞子可提高血浆和肝脏中 SOD 和 GSH-Px 水平、肝脏 CAT 水平及其 GPX 和 CAT 基因表达, 可能与女贞子中的三萜类化合物有关。女贞子中的熊果酸具有明显的自由基清除作用和抗氧化能力^[19], 齐墩果酸可增加糖尿病大鼠肝脏

SOD 和 GSH-Px 水平、降低 MDA 含量^[15]; 女贞子可增加 D-半乳糖诱导的氧化衰老小鼠神经元 Cu/Zn-SOD、Mn-SOD 和 CAT 基因的表达^[20]。另外, 饲料添加蒲公英可提高血浆 SOD 水平、肝脏 T-AOC 水平及其 SOD、GPX 和 CAT 基因的表达, 可能与其中含有可上调抗氧化酶的成分有关。蒲公英中的菊苣酸具有抗氧化能力^[21], 饲料添加蒲公英可有效提高月鳢的肌肉抗氧化酶水平和相关基因表达、抑制 MDA 水平^[22]。

另外, 饲料添加益母草和女贞子、女贞子和蒲公英超微粉以及益母草、女贞子和蒲公英超微粉均可提高血浆 SOD 水平、肝脏 SOD、T-AOC、GSH 和 CAT 水平以及肝脏 SOD 和 CAT 基因表达, 且在提高肝脏抗氧化酶水平和 SOD-1 基因表达方面优于女贞子超微粉, 说明不同中药在增强产蛋后期蛋鸡抗氧化能力方面具有协同效应。在中药配伍方面, 女贞子具有补益肝脏作用, 益母草可活血祛瘀、清热解毒, 蒲公英可平衡女贞子的温补之力^[23]; 在中药有效成分方面, 益母草中的生物碱、女贞子中的三萜类和蒲公英中的有机酸类成分均具有抗氧化活性, 配伍后可提高机体抗氧化酶活性来清除肝脏中的自由基, 减少脂质过氧化^[19,21]。周子晖等在蛋鸡饲料中添加益母草、蒲公英等中药组方, 可提高蛋鸡血清抗氧化酶含量, 并改善蛋鸡生产性能和蛋品质^[24]; 在药物溶出度方面, 单味中药超微粉的溶出度低于复方中药超微粉, 可能会影响其在体内的生物利用度和药效的发挥^[25]。

综上所述, 在饲料中添加益母草、蒲公英和女贞子的单味或复方超微粉可通过提高血浆和肝脏抗氧化酶水平、上调肝脏 SOD-1、GPX3 和 CAT 基因表达, 增强产蛋后期蛋鸡的抗氧化能力。其中, LH + LF 组、LF + TH 组和 LH + LF + TH 组在增强蛋鸡抗氧化能力方面效果更佳。考虑到添加成本, 推荐 0.25% 女贞子和 0.25% 蒲公英为理想中药超微粉添加剂。

参考文献

- 1 Xie T, Bai SP, Zhang KY, et al. Effects of *Lonicera confusa* and Astragali Radix extracts supplementation on egg production performance, egg quality, sensory evaluation, and antioxidative parameters of laying hens during the late laying period [J]. *Poult Sci*, 2019, 98:4838-4847.
- 2 Liu X, Lin X, Zhang S, et al. Lycopene ameliorates oxidative stress in the aging chicken ovary via activation of Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Aging*, 2018, 10:2016-2036.
- 3 Yara S, Lavoie J C, Beaulieu J F, et al. Iron-ascorbate-mediated lipid peroxidation causes epigenetic changes in the antioxidant defense in intestinal epithelial cells: impact on inflammation [J]. *PLoS One*, 2013, 8:e63456.
- 4 Su T, Qiu Y, Hua X, et al. Novel opportunity to reverse antibiotic resistance: to explore traditional Chinese medicine with potential activity against antibiotics-resistance bacteria [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11:610070.
- 5 Zhang Q, Liu J, Duan H, et al. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: An important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress [J]. *J Adv Res*, 2021, 34:43-63.
- 6 Song L, Zhang J, Lai R, et al. Chinese herbal medicines and active metabolites: potential antioxidant treatments for atherosclerosis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:675999.
- 7 Miao LL, Zhou QM, Peng C, et al. *Leonurus japonicus* (Chinese motherwort), an excellent traditional medicine for obstetrical and gynecological diseases: A comprehensive overview [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117:109060.
- 8 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Volume I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- 9 Gao L, Li C, Wang Z, et al. *Ligustri Lucidi Fructus* as a traditional Chinese medicine: a review of its phytochemistry and pharmacology [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29:493-510.
- 10 Lakshmi D, Gopinath K, Jayanthi G, et al. Ameliorating effect of fish oil on acrylamide induced oxidative stress and neuronal apoptosis in cerebral cortex [J]. *Neurochem Res*, 2012, 37:1859-1867.
- 11 Surai PF, Kochish II, Fisinin VI, et al. Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: an update [J]. *Antioxidants*, 2019, 8:235.
- 12 Heng N, Gao S, Chen Y, et al. Dietary supplementation with natural astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* improves antioxidant enzyme activity, free radical scavenging ability, and gene expression of antioxidant enzymes in laying hens [J]. *Poult Sci*, 2021, 100:101045.
- 13 Alagawany M, Abd El-Hack ME. The effect of rosemary herb as a dietary supplement on performance, egg quality, serum biochemical parameters, and oxidative status in laying hens [J]. *J Anim Feed Sci*, 2015, 24:341-347.
- 14 Liu Y, Li Y, Liu HN, et al. Effect of quercetin on performance and egg quality during the late laying period of hens [J]. *Br Poult Sci*, 2013, 54:510-514.
- 15 Gao D, Li Q, Li Y, et al. Antidiabetic and antioxidant effects of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait in alloxan-induced diabetic rats [J]. *Phytother Res*, 2009, 23:1257-1262.
- 16 Shang X, Pan H, Wang X, et al. *Leonurus japonicus* Hoult.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152:14-32.
- 17 Yin J, Zhang ZW, Yu WJ, et al. Stachydrine, a major constituent of the Chinese herb *Leonurus heterophyllus* sweet, ameliorates human umbilical vein endothelial cells injury induced by anoxia-reoxygenation [J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38:157-171.
- 18 Huang WQ. Effects of *Leonurus japonicus* micropowder on laying performance, egg quality and serum antioxidant capacity of primiparous quail [J]. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med (黑龙江畜牧兽医)*, 2018, 23:156-159.
- 19 Yu ZL, Zeng WC. Antioxidant, antibrowning, and cytoprotective activities of *Ligustrum robustum* (Roxb.) Blume extract [J]. *J Food Sci*, 2013, 78:C1354-1362.
- 20 Liu B, Ma R, Zhang J, et al. Preventive effect of small-leaved kuding tea (*Ligustrum robustum* (Roxb.) Blume) polyphenols on *D*-galactose-induced oxidative stress and aging in mice [J]. *Evid-based Complement Alternat Med*, 2019, 2019:3152324.
- 21 Epure A, Parvu AEE, Vlase L, et al. Phytochemical profile, antioxidant, cardioprotective and nephroprotective activity of romanian chicory extract [J]. *Plants*, 2020, 10:64.
- 22 Zhao L, Zhao JL, Bai Z, et al. Polysaccharide from dandelion enriched nutritional composition, antioxidant capacity, and inhibited bioaccumulation and inflammation in *Channa asiatica* under hexavalent chromium exposure [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 201:557-568.
- 23 Chen ZW, Ren MX, Guo L, et al. Treatment of the infertility of Yang deficiency and cold application with modified Yanghe decoction [J]. *Chin J Clinic (中国临床医生杂志)*, 2022, 50:1128-1130.
- 24 Zhou ZZ, Kong XH, Hu X, et al. Effect of traditional Chinese medicine compound on production performance, egg quality and antioxidant ability in egg laying hens [J]. *Anim Husb Vet Med (畜牧与兽医)*, 2022, 54:122-126.
- 25 Song N, Bai J, Li Y, et al. Comparative study of the stripping curve of Sanhuang Xiexin compound granules and single herb formula granules in four mediums [J]. *J Pharmac Res (药学研究)*, 2016, 35:341-343, 369.