

霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡器官指数和血清指标的影响

王平¹, 王涛¹, 胡晓飞², 王全亮³, 彭峰⁴, 杨小进⁵, 杨明凡¹, 尹清强^{1*}

¹河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州

²河南省农业科学院动物免疫学重点实验室, 河南 郑州

³河南广安生物科技股份有限公司, 河南 郑州

⁴河南省正阳种猪场, 河南 驻马店

⁵洛阳欧科拜克生物技术股份有限公司, 河南 洛阳

Email: wangping@henau.edu.cn, *qqy1964@126.com

收稿日期: 2021年2月3日; 录用日期: 2021年2月19日; 发布日期: 2021年3月4日

摘要

目的: 本文旨在研究含有黄曲霉毒素B₁ (AFB₁)和玉米赤霉烯酮(ZEA)饲料中添加生物解毒剂对肉鸡器官指数和血清指标的影响。方法: 选取22日龄健康罗斯308肉仔鸡150只, 随机分为3个组, 每组5个重复, 每个重复10只鸡。分组为: 1) 基础日粮; 2) 基础日粮 + AFB₁ 50 μg/kg + ZEA 500 μg/kg; 3) 基础日粮 + AFB₁ 50 μg/kg + ZEA 500 μg/kg + 生物解毒剂。结果: 结果表明: 添加生物解毒剂显著提高肉鸡肝脏和脾脏指数、小肠和大肠相对长度($P < 0.05$), 增加了血清中谷丙转氨酶、总蛋白、白蛋白和甘油三酯含量($P < 0.05$), 降低了血清内毒素($P > 0.05$)和碱性磷酸酶($P < 0.05$)。结论: 这表明在含AFB₁ 50 μg/kg + ZEA 500 μg/kg饲料中添加生物解毒剂能够缓解毒素对机体的损伤。

关键词

黄曲霉毒素B₁, 玉米赤霉烯酮, 生物解毒剂, 肉鸡, 器官指数, 血清指标

Effect of Mycotoxin Biological Antidote on Organ Index and Serum Index of Broilers

Ping Wang¹, Tao Wang¹, Xiaofei Hu², Quanliang Wang³, Feng Peng⁴, Xiaojin Yang⁵, Mingfan Yang¹, Qingqiang Yin^{1*}

¹College of Animal Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou Henan

²Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou Henan

³Henan Guangan Biotechnological Co. Ltd., Zhengzhou Henan

*通讯作者。

文章引用: 王平, 王涛, 胡晓飞, 王全亮, 彭峰, 杨小进, 杨明凡, 尹清强. 霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡器官指数和血清指标的影响[J]. 微生物前沿, 2021, 10(1): 1-6. DOI: 10.12677/amb.2021.101001

⁴Zhengyang Pig Farm in Henan Province, Zhumadian Henan

⁵Luoyang Okbk Biotechnology Co., Ltd., Luoyang Henan

Email: wangping@henau.edu.cn, *qqy1964@126.com

Received: Feb. 3rd, 2021; accepted: Feb. 19th, 2021; published: Mar. 4th, 2021

Abstract

Objective: This study was conducted to investigate the effects of mycotoxin biological antidote (MBDP) on organ index and serum index of broilers fed with diets containing aflatoxin B₁ and zearalenone. **Method:** A total of 150 of 22-day-old Rose 308 broilers were randomly distributed into 3 groups. The broilers from group 1 to group 3 were fed with basal diet, basal diet containing AFB₁ 50 µg/kg + ZEA 500 µg/kg and basal diet containing AFB₁ 50 µg/kg + ZEA 500 µg/kg + MBDP, respectively. **Result:** The results showed that adding MBDP significantly increased liver and spleen index ($P < 0.05$), the relative length of small intestine and large intestine and the content of alanine-transferase (ALT), total protein, albumin and triglyceride in serum ($P < 0.05$), decreased endotoxin ($P > 0.05$) and alkaline phosphatase ($P < 0.05$) in serum. **Conclusion:** It could be concluded that adding MBDP in basal diet containing AFB₁ 50 µg/kg + ZEA 500 µg/kg could alleviate mycotoxin hazard.

Keywords

Aflatoxin B₁, Zearalenone, Mycotoxin-Biodegradation Preparation, Broilers, Organ Index, Serum Index

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

霉菌毒素污染问题关系到饲料安全，动物生产和食品安全，甚至还威胁到人类自身健康[1]。目前，畜牧业因霉菌毒素污染所造成的经济损失十分严重。在各种霉菌毒素中，黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)和玉米赤霉烯酮(ZEA)被认为是分布范围广和危害较大的两种。对所有品种的家禽来说，黄曲霉毒素都有极大危害，可以导致肝胆肿大、受损；肠道、皮肤出血，甚至产生癌变。ZEA 可以降低机体的细胞免疫和体液免疫功能[2]，诱发肝脏、肾脏细胞结构功能的损伤，同时诱发炎症反应，从而造成细胞氧化损伤[3]。目前研究主要集中于单一 AFB₁ 或 ZEA 的吸收、代谢和危害，对于两种毒素的交互作用、叠加毒性的危害研究较少。并且霉菌毒素的脱毒方法主要集中在物理方法，如吸附剂法。吸附剂可以与毒素分子结合形成一种动物肠道不能消化吸收的物质，动物通过排泄排出体外，给环境也造成污染。本文利用有益菌制备生物解毒剂，研究生物解毒剂降解缓解 AFB₁ 和 ZEA 对肉鸡器官及血清生化指标的影响。

2. 材料与方法

2.1. 材料

生物解毒剂：枯草芽孢杆菌、干酪乳杆菌、产朊假丝酵母在的饲料中含量分别为： 1×10^7 、 1×10^6 、 1×10^7 CFU/g。

霉菌毒素降解酶：由河南德邻生物制品有限公司提供，降解 AFB₁ 的酶活单位为 2000 U/g，降解 ZEA 的酶活单位为 18,000 U/g。酶活定义为：在 37℃，pH 6.0 的条件下，每小时转化 1 pmol 霉菌毒素所需的酶量，即为一个霉菌毒素分解酶活性单位，以 U 表示。

霉变玉米：市购，经测定 AFB₁ 含量为 69 μg/kg，ZEA 含量为 60 μg/kg。

霉菌毒素的制备：取活化过的黄曲霉孢子，将其涂布于 PDA 固体培养基，30℃ 培养至孢子大量产生时收获(约 120 h)。在平板内加入适量高压灭菌的生理盐水(含 0.05% 的 Tween 80)，用高压过的涂布棒将平板上的孢子缓慢刮下，形成孢子浓度约为 1×10^8 CFU/mL 的黄曲霉孢子悬液。取粉碎后的玉米 80 g (过 8 目筛)，装入 250 ml 锥形瓶内，加水 40 mL 搅拌均匀后，加棉塞高压蒸汽灭菌 20 min。待冷却后接种上述配制成的黄曲霉孢子悬液 2 mL，用高压灭菌玻璃棒搅拌均匀后置于 30℃ 恒温培养箱内，约 7 d 后收获。放室温晾干，约 5~6 d 后粉碎过 20 目筛，避光保存。德国拜发公司检测 AFB₁ 和 ZEA 试剂盒步骤测得 AFB₁ 的含量为 2547 μg/kg，ZEA 含量为 5 μg/kg。

ZEA 纯品：购于 Sigma 公司。

2.2. 试验动物及设计

选择 22 日龄健康且体重无差异的罗斯 308 肉鸡 150 只，分为 3 个处理组，每个处理组 5 个重复，每个重复 10 只。本试验中动物管理遵照河南农业大学动物护理和使用道德准则。试验设计与分组如下：

1 组：为对照组，饲喂基础日粮(基础日粮中含 AFB₁ 14.45 μg/kg、ZEA 58.58 μg/kg)。

2 组：基础日粮 + 50 μg/kg AFB₁ + 500 μg/kg ZEA。

3 组：基础日粮 + 50 μg/kg AFB₁ + 500 μg/kg ZEA + 生物解毒剂。

基础日粮配方按照 NRC (1994) 的肉仔鸡饲养标准配制。日粮配方及营养成分见表 1。用霉变玉米、制备的霉菌毒素和 ZEA 纯品调整每组毒素含量。

Table 1. Feed compositions and nutrient levels in the later stage of broilers (% air dry matter)

表 1. 肉鸡后期日粮的组成及营养水平(%，风干基础)

原料 Composition	1	2	3
玉米 Corn meal	65	0	0
豆粕 Soybean meal	27	27	27
霉变玉米 Moldcorn meal	0	65	65
鱼粉 Fish meal	1	1	1
豆油 Soybean oil	3	3	3
石粉 CaCO ₃	1.3	1.3	1.3
磷酸氢钙 CMP	1.4	1.4	1.4
蛋氨酸 Methionine	0.1	0.1	0.1
食盐 Salt	0.3	0.3	0.3
麦麸 Wheat bran	0.6	0.6	0.6
氯化胆碱 Choline chloride	0.1	0.1	0.1
预混料 Premix	0.2	0.2	0.2
总计 Total	100	100	100
营养水平 Nutrient levels			
代谢能(MJ/Kg)	12.70	12.70	12.70
粗蛋白 CP	19.11	19.66	19.19
粗脂肪 EE	5.51	5.39	5.50

Continued

钙 Ca	1.01	1.03	1.03
总磷 TP	0.42	0.45	0.45
有效磷 AP	0.16	0.18	0.18
赖氨酸 Lys	0.93	0.93	0.93
蛋氨酸 Met	0.30	0.30	0.30

注: 预混料包括(每 kg 全价料中计): VA 12,000 IU; VD3 3000 IU; VE 20 IU; VK3 1.0 mg; VB1 2.0 mg; VB6 3.5 mg; VB12 0.01 mg; 铜 Cu (as copper sulfate) 8 mg; 铁 Fe (as ferrous sulfate) 100 mg; 锰 Mn (as manganese sulfate) 80 mg; 锌 Zn (as zinc oxide) 60 mg; 碘 I (as calcium iodate) 0.45 mg; 硒 Se (as sodium selenite) 0.35 mg; 生物素 Biotin 0.15 mg; 叶酸 Folic acid 1.25 mg; 核黄素(VB2, riboflavin) 6 mg; 烟酸(尼克酸) Nicotinic acid 35 mg; 泛酸钙 10 mg。粗蛋白、钙、总磷含量为测定值, 其余为计算值。

2.3. 肉鸡器官指数和长度的测定

在 42 d 时, 每组取 6 只鸡, 公母各半, 进行屠宰并进行器官指数的测定。称量肌胃、心脏、肝脏、脾的重量。器官指数 (%) = 器官重量/鸡只活体重。用尺子测量肠道各部位的长度, 肠道的相对长度 (cm/kg) = 肠道长度/活体重。

2.4. 血液生化指标以及血清中内毒素含量的测定

在 42 d 屠宰试验时, 从每个重复中分别选择一只接近平均体重的鸡颈动脉采血, 每只采血 5 mL, 3000 rpm 离心 10 min, 取血清, 使用血液生化半自动分析仪测定葡萄糖、尿素、甘油三酯、高密度脂蛋白、总胆固醇、低密度脂蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、总蛋白、白蛋白、球蛋白。血清中内毒素(ET)含量按照上海谷研 ET ELISA 试剂盒检测。

2.5. 数据统计与分析

试验数据经 Excel 初步整理后, 采用 Design-Expert 8.0.6 软件对响应面数据进行分析。采用 SPSS17 统计分析软件对各组数据进行方差分析和 Duncan 多重比较, 差异显著用 $P < 0.05$ 表示, 所有结果均以平均值 \pm 标准差表示。

3. 结果与分析

3.1. 日粮中添加霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡器官指数和肠道相对长度的影响

由表 2 可知, 添加生物解毒剂的 C 组肝脏、脾脏相对重量明显高于其他组 ($P < 0.05$), A 和 B 组肝脏、脾脏相对重量差异不显著 ($P > 0.05$); 试验各组的心脏、肌胃无显著差异 ($P > 0.05$)。C 组的小肠、大肠相对长度显著高于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$)。

Table 2. Effect of adding MBDP on organ indices or intestine relative length of broilers (%)

表 2. 日粮中添加霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡器官指数和肠道相对长度的影响(%)

组别 Groups	1	2	3
心脏 Heart	0.54 \pm 0.04	0.53 \pm 0.05	0.48 \pm 0.04
肝脏 Liver	1.89 \pm 0.14 ^b	1.83 \pm 0.18 ^b	2.43 \pm 0.17 ^a
脾脏 Spleen	0.13 \pm 0.04 ^b	0.11 \pm 0.04 ^b	0.20 \pm 0.04 ^a
肌胃 Gizzard	2.06 \pm 0.26	2.11 \pm 0.33	1.71 \pm 0.35
小肠 Small intestine/(cm/kg)	5.47 \pm 0.56 ^b	5.53 \pm 0.58 ^b	6.11 \pm 0.83 ^a
大肠 The large intestine/(cm/kg)	4.31 \pm 0.15 ^{ab}	3.96 \pm 0.46 ^b	4.56 \pm 0.34 ^a

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表相同。In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

3.2. 血清生化指标的变化

从表 3 可知, B 组血清内毒素含量显著高于 A ($P < 0.05$), C 组内毒素含量与 A 组和 B 组差异不显著, 由此可知生物解毒剂具有降低内毒素的功效。

Table 3. Effect of adding MBDP on serum endo-toxin content of broilers (EU)

表 3. 日粮中添加霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡血清内毒素含量的影响(EU)

组别 Groups	1	2	3
内毒素含量 Endo-toxin content	2011.28 ± 56.87 ^b	2144.87 ± 46.21 ^a	2043.59 ± 42.37 ^{ab}

由表 4 可知, C 组血清中谷丙转氨酶、总蛋白、白蛋白和甘油三酯含量显著地高于 A 和 B 组($P < 0.05$); 而 C 组血清中碱性磷酸酶却显著地低于 B 组($P < 0.05$), 但高于 A 组($P < 0.05$)。说明生物解毒剂具有缓解霉菌毒素的危害及保护组织免受损伤的功能。

Table 4. Effect of adding MBDP on serum biochemical parameters of broilers

表 4. 日粮中添加霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡血清生化指标的影响

项目 Items	1	2	3
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	1.47 ± 0.15 ^b	2.00 ± 0.50 ^b	2.70 ± 0.20 ^a
谷草转氨酶 AST/(U/L)	286.33 ± 41.77	290.97 ± 14.37	319.83 ± 20.92
谷草/谷丙 AST/ALT	132.67 ± 1.15	128.73 ± 8.60	125.79 ± 13.04
碱性磷酸酶 ALP/(U/L)	2421.67 ± 358.46 ^c	7387.67 ± 661.67 ^a	5086.67 ± 443.59 ^b
总蛋白 TP/(g/L)	31.50 ± 3.14 ^b	31.87 ± 3.19 ^b	43.60 ± 8.84 ^a
白蛋白 ALB/(g/L)	11.63 ± 0.67 ^b	11.77 ± 0.32 ^b	13.33 ± 0.65 ^a
球蛋白 GLB/(g/L)	19.87 ± 2.55	20.1 ± 3.29	30.27 ± 8.41
白蛋白/球蛋白 A/G	0.57 ± 0.06	0.57 ± 0.12	0.47 ± 0.12
尿素 UREA/(mmol/L)	0.65 ± 0.06	0.70 ± 0.14	0.72 ± 0.06
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	7.65 ± 1.62	7.74 ± 2.96	7.46 ± 2.55
总胆固醇 CHOL/(mmol/L)	3.03 ± 0.20	3.50 ± 0.68	3.94 ± 0.42
甘油三酯 TG/(mmol/L)	0.50 ± 0.07 ^b	0.53 ± 0.06 ^b	0.73 ± 0.05 ^a
高密度脂蛋白 HDLD/(mmol/L)	2.18 ± 0.20	2.43 ± 0.25	2.60 ± 0.30
低密度脂蛋白 LDLD/(mmol/L)	0.61 ± 0.10	0.82 ± 0.34	0.99 ± 0.17

4. 讨论

4.1. 霉菌毒素生物解毒剂对器官指数的影响

家禽对 AFB₁ 比较敏感, 而对 ZEA 则敏感度较低。黄曲霉毒素引起家禽内脏器官和免疫功能造成损伤。肉鸡 ZEA 中毒症状也会表现为胫骨软骨发育不良。Danicke 等[4]研究结果发现, 用自然霉变的玉米饲喂蛋鸡 16 周, 1580 μg/kg 的 ZEA 可以导致肉鸡的心脏、肝脏、肾脏和小肠重量下降。侯然然等[5]研究表明喂含 0.1 mg/kg 黄曲霉毒素 B1 饲料肉仔鸡肝脏、胰腺指数增大。本研究结果显示, 与基础日粮相比, 饲喂含有 50 μg/kg AFB₁ + 500 μg/kg 的饲料对肉鸡心脏、肝脏、脾脏、肌胃、小肠、大肠的指数无显著变化。与前人研究结果不同, 其原因可能是与毒素含量有关, 并且基础日粮中也含有一定量的毒素。添加生物降解剂组肉鸡肝脏和脾脏指数、小肠和大肠相对长度增加。肖丹等[6]研究表明在含 50 μg/kg AFB₁ 日粮中添加霉菌毒素分解酶枯草杆菌制剂能够增加脾脏指数, 与本结果一致。

4.2. 霉菌毒素生物解毒剂对肉鸡血清生化指标及内毒素含量的影响

在碱性环境中可以水解磷酸酯的一组酶类被称为碱性磷酸酶(ALP),在组织和体液中广泛存在。肝胆发生疾病时,碱性磷酸酶合成和释放增加,其活性升高。当发生阻塞性黄疸、肝硬化和肝坏死疾病时,其活性明显升高[5]。Madeha等[7]研究发现,用2.7 mg/kg ZEA 饲喂大鼠,大鼠血清中ALP含量上升。本试验中混合毒素B组的ALP含量显著高于对照组A组和霉菌毒素生物解毒剂C组,说明霉菌毒素生物解毒剂具有减缓霉菌毒素诱发的组织细胞损伤的功能。Schell等[8][9]认为血清总蛋白和白蛋白水平的降低可以作为检验黄曲霉毒素中毒症发生的指标。本试验中添加霉菌毒素生物解毒剂C组总蛋白和白蛋白含量显著高于对照组和毒素组B组,间接说明霉菌毒素生物解毒剂可以促进肝脏合成蛋白的能力。

内毒素是大多数革兰氏阴性菌细胞壁的结构成分,内毒素热稳定性好,而且可以在空气中积聚,进入家禽的肠道和血液后对其生长造成不利的影响[10]。可导致畜禽的心肌、肝、肾以及胃肠道等多个功能器官组织损伤[11]。本试验中霉菌毒素生物解毒剂组的内毒素低于霉菌毒素组,间接说明霉菌毒素生物解毒剂具有抑制内毒素的分泌或降解内毒素的作用,对家禽有良好的解毒效果。

基金项目

河南省自然科学基金[182300410029];新乡市重大科技专项[ZD19005]。

参考文献

- [1] Zinedine, A., Soriano, J.M., Molto, J.C. and Manes J. (2007) Review on the Toxicity, Occurrence, Metabolism, Detoxification, Regulations and Intake of Zearalenone: An Oestrogenic Mycotoxin. *Food & Chemical Toxicology*, **45**, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.030>
- [2] 姜淑贞, 杨维仁, 杨在宾, 王淑静, 刘法孝, Chi, F. 玉米赤霉烯酮饲料添加蒙脱石对断奶仔猪脾脏和外周血免疫指标的影响[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(7): 60-65.
- [3] 韩建鑫, 何剑斌, 高锋, 杨淑华, 梁甜甜, 董双, 张焱, 龙淼. 原花青素对玉米赤霉烯酮致小鼠肝脏、肾脏氧化损伤的保护作用[J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(2): 402-406.
- [4] Danicke, S., Ueberschar, K., Halle, I., Matthes, S., Valenta, H. and Flachowsky, G. (2002) Effect of Addition of a Detoxifying Agent to Laying Hen Diets Containing Uncontaminated or Fusarium Toxin-Contaminated Maize on Performance of Hens and on Carryover of Zearalenone. *Poultry Science*, **81**, 1671-1680. <https://doi.org/10.1093/ps/81.11.1671>
- [5] 侯然然, 郑姗姗, 张敏红, 冯京海, 马爱平, 谢鹏. 甘露寡糖对饲喂含黄曲霉毒素B1日粮肉仔鸡生长性能、血清指标及器官指数的影响[J]. 动物营养学报, 2008, 20(2): 146-151.
- [6] 肖丹, 赵怡, 杨桂林, 唐荣, 倪学勤, 曾东, 胡正茂, 潘康成. 霉菌毒素分解酶枯草杆菌制剂对日粮含AFB1的艾维肉鸡的解毒效果研究[J]. 中国预防兽医学报, 2019, 41(5): 514-519.
- [7] Al-Seeni, M., El-Sawi, N., Shaker, S. and Al-Amoudi, A. (2011) Investigation of the Biochemical and Histological Changes Induced by Zearalenone Mycotoxin on Liver in Male Mice and the Protective Role of Crude Venom Extracted from Jellyfish *Cassiopea andromeda*. *Food and Nutrition Sciences*, **2**, 314-322. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.24045>
- [8] Schell, T.C., Lindemann, M.D., Kornegay, E.T., Blodgett, D.J. and Doerr, J.A. (1993) Effectiveness of Different Types of Clay for Reducing the Detrimental Effects of Aflatoxin-Contaminated Diets on Performance and Serum Profiles of Weanling Pigs. *Journal of Animal Science*, **71**, 1226-1231. <https://doi.org/10.2527/1993.7151226x>
- [9] Schell, T. (1996) Effects of Feeding Aflatoxin-Contaminated Diets with and without Clay to Weanling and Growing Pigs on Performance, Liver Function, and Mineral Metabolism. *Journal of Animal Science*, **71**, 1209-1218. <https://doi.org/10.2527/1993.7151209x>
- [10] 董小英, 唐胜球, 李海云. 内毒素对家禽的影响及其防治措施[J]. 饲料工业, 2005(11): 24-27.
- [11] 梅贤良, 张旭红. 内毒素与多系统器官功能衰竭[J]. 新医学, 1992(4): 216-217.