



马龙飞,陈顺,庄苏,等. 饲料添加芦丁对肉仔鸡免疫功能和空肠形态、黏膜屏障、抗氧化功能的影响[J]. 南京农业大学学报,2024,47(4):721-730.

MA Longfei, CHEN Shun, ZHUANG Su, et al. Effects of dietary rutin supplementation on immune function, jejunum morphology, mucosal barrier function and antioxidant capacity of broilers[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(4): 721-730.

饲料添加芦丁对肉仔鸡免疫功能和空肠形态、 黏膜屏障、抗氧化功能的影响

马龙飞,陈顺,庄苏,周斌斌,刘慧娟,张佳琦,王恬,王超*

(南京农业大学动物科技学院,江苏南京210095)

摘要: [目的] 前期研究发现饲料添加 250~1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁可提高 21 日龄肉鸡生长性能,本试验进一步研究芦丁对其肠道形态结构、黏膜屏障和抗氧化功能的影响。 [方法] 试验选取 1 日龄健康且体重(43±1)g 相近的雄性 AA 肉鸡 256 只,随机分为 4 组,每组 8 个重复,每个重复 8 只鸡。对照组饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中分别添加 250、500 和 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁。21 日龄时每个重复取 1 只肉鸡屠宰取样测定肠道屏障功能、免疫炎症、抗氧化等相关指标。 [结果] 与对照组相比,饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了肉仔鸡脾脏器官指数、空肠黏膜总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性和总抗氧化能力(T-AOC),以及空肠黏膜中闭合小环蛋白 1(ZO-1)、闭锁蛋白(OCN)、核因子 E2 相关因子 2(Nrf2) 和 SOD mRNA 的表达水平,同时显著降低了血清肿瘤坏死因子 α(TNF-α) 和 D-乳酸(D-LA) 水平、空肠黏膜 TNF-α mRNA 的表达水平($P_T < 0.05$); 与对照组相比,饲料添加 500 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了肉仔鸡法氏囊器官指数、空肠 VH/CD 值,空肠黏膜 T-SOD 活性和 T-AOC,空肠黏膜中 B 细胞淋巴瘤基因 2(Bcl-2)、ZO-1 和 Nrf2 mRNA 的表达水平,并显著降低了血清 TNF-α 水平($P_T < 0.05$); 与对照组和 250、500 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了血清中免疫球蛋白 M(IgM) 和免疫球蛋白 G(IgG) 含量($P_T < 0.05$); 与 500 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了肉仔鸡脾脏器官指数、血清脂多糖(LPS) 水平和 OCN mRNA 表达水平,并显著降低了血清 D-LA 水平($P_T < 0.05$); 与 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了肉仔鸡脾脏器官指数,同时降低了空肠黏膜 TNF-α mRNA 的表达水平($P_T < 0.05$); 与 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 500 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了肉仔鸡空肠黏膜中 Bcl-2 mRNA 的表达水平,并显著降低了血清中 LPS 水平($P_T < 0.05$)。 [结论] 饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 或 500 mg·kg⁻¹ 芦丁均可以促进免疫器官发育,增强免疫能力和改善肉仔鸡空肠形态结构,提高空肠屏障功能,其对肉仔鸡空肠抗氧化功能的改善作用可能与激活 Nrf2 信号通路有关。本试验条件下推荐芦丁适宜添加剂量为 250 mg·kg⁻¹。

关键词: 肉鸡; 芦丁; 肠道功能; 免疫; 抗氧化

中图分类号: S852.6

文献标志码: A

文章编号: 1000-2030(2024)04-0721-10

Effects of dietary rutin supplementation on immune function, jejunum morphology, mucosal barrier function and antioxidant capacity of broilers

MA Longfei, CHEN Shun, ZHUANG Su, ZHOU Binbin, LIU Huijuan, ZHANG Jiaqi, WANG Tian, WANG Chao*

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: [Objectives] Previous studies had found that dietary supplementation of 250-1 000 mg·kg⁻¹ rutin could improve the growth performance of broilers at 21 days of age. This study further investigated the effects of rutin on jejunal morphology, mucosal barrier function and antioxidant capacity of broilers. [Methods] A total of 256 1-day-old male Arbor Acres (AA) broilers with similar body weight(43±1)g were randomly divided into 4 groups with 8 replicates per group and 8 chickens per pen. Broilers in the control group were fed a basal diet, and those in experimental groups were fed the basal diet supplemented with 250, 500 and 1 000 mg·kg⁻¹ rutin, respectively. At 21 days of age, one broiler from each replicate was chosen and slaughtered to analyze the indices of intestinal barrier function, immune inflammation, and antioxidant capacity and other related indices. [Results] Compared with the control group, dietary 250 mg·kg⁻¹ rutin significantly increased spleen organ index, total superoxide dismutase(T-SOD) activity and total antioxidant capacity

收稿日期: 2023-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972598); 江苏省苏北科技计划项目(SZ-HA2021041)

*通信作者: 王超, 副教授, 硕导, 研究方向为动物营养与生理调控, E-mail: wangchao121@njau.edu.cn。

(T-AOC) of jejunal mucosa and closed small cyclic protein-1(ZO-1) in jejunal mucosa of broilers, blocking protein(OCN), nuclear factor E2-related factor 2(Nrf2) and SOD mRNA expression levels, while serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and D-lactic acid(D-LA) levels, and the expression of TNF- α mRNA in jejunal mucosa significantly decreased($P_T < 0.05$). Compared with the control group, dietary 500 mg·kg⁻¹ rutin significantly increased bursal organ index, jejunum VH/CD value, T-SOD activity and T-AOC in jejunal mucosa, B-cell lymphoma gene-2(Bcl-2), ZO-1 and Nrf2 mRNA expressions in jejunal mucosa of broilers. The serum TNF- α level significantly decreased($P_T < 0.05$). Compared with the control group, 250 and 500 mg·kg⁻¹ rutin group, dietary 1 000 mg·kg⁻¹ rutin supplementation significantly increased the serum immunoglobulin M(IgM) and immunoglobulin G(IgG) contents($P_T < 0.05$). Compared with 500 mg·kg⁻¹ rutin group, dietary 250 mg·kg⁻¹ rutin significantly increased spleen organ index, serum lipopolysaccharide(LPS) level and OCN mRNA expression level, and serum D-LA level of broilers significantly decreased($P_T < 0.05$). Compared with 1 000 mg·kg⁻¹ rutin group, dietary 250 mg·kg⁻¹ rutin significantly increased spleen organ index, and TNF- α mRNA expression level in jejunal mucosa of broilers decreased($P_T < 0.05$). Compared with 1 000 mg·kg⁻¹ rutin group, dietary 500 mg·kg⁻¹ rutin significantly increased the expression of Bcl-2 mRNA level in jejunal mucosa, and the serum LPS level of broilers significantly decreased($P_T < 0.05$). [Conclusions] Dietary supplementation of 250 mg·kg⁻¹ or 500 mg·kg⁻¹ rutin could promote the development of immune organs, enhance immune capacity, improve jejunum morphology, and enhance jejunum barrier function of broilers. The improvement of antioxidant function of jejunum of broilers might be related to the activation of Nrf2 signaling pathway. The optimum dosage of rutin was 250 mg·kg⁻¹ under the experimental conditions.

Keywords: broiler; rutin; intestinal function; immune; antioxidant

肉鸡养殖过程中易出现饲养密度大、热应激、氧化应激等问题^[1],导致肉鸡的生长性能降低、免疫力下降、死淘率上升,对家禽养殖产业的发展造成了巨大影响^[2-3]。肠道不仅是肉鸡营养物质消化和吸收的主要场所,更是重要的免疫器官,对肉鸡健康生长具有重要作用^[4]。此外,改善肠道健康还调节营养物质的分配方式,有利于器官发育、组织生长和免疫系统成熟^[5-6]。而植物提取物具有多种生物学功能及高效、安全等特点,可以通过饲料中添加植物提取物以改善肠道形态、黏膜屏障、免疫、抗氧化等,促进动物健康生长和发育。

芦丁又称维生素 P、芸香苷,广泛存在于谷物、蔬菜、水果中,如荞麦、樱桃、橙子^[7]。芦丁作为一种天然黄酮类化合物,具有多种生物学功能,包括抗菌^[8]、抗肿瘤^[9]、调节免疫^[10]、保护肝功能^[11]和提高动物生长性能^[12]等。研究发现,芦丁可缓解甲氨蝶呤诱导的大鼠肠道损伤,其免疫保护作用还具有剂量效应^[13];具有保护组织和器官免受自由基侵害,增强机体抗氧化的作用^[14]。郭旭东等^[15]研究发现,芦丁具有促进大鼠免疫器官胸腺、脾脏的发育,提高机体免疫能力的作用。Caglayan 等^[16]研究发现,芦丁可增强大鼠肝组织抗氧化能力,抑制细胞凋亡,降低组织氧化损伤。芦丁还可以保护肝脏、肾脏、心脏等重要器官免受毒性物质的侵袭^[17],而且芦丁具有提纯工艺成熟、操作简单、成本低等特点^[18]。因其生物学功能多种多样及获取成本低,在动物饲料添加剂领域具有潜在的应用价值与前景。然而,关于芦丁的研究主要集中在大鼠上,在肉鸡上的研究较少。我们前期研究发现低剂量芦丁(250 mg·kg⁻¹)可显著提高肉鸡的体重、日增重和改善饲料转化率^[19],但其促生长作用机制及对肠道功能的影响尚不明确。故本试验拟在前期研究基础上进一步以肉仔鸡肠道为主要研究对象,从肠道形态结构、屏障功能、免疫与抗氧化功能等方面系统研究不同水平芦丁对 21 日龄 AA 肉鸡的影响,探讨日粮添加芦丁改善肉仔鸡生长性能的机制,为其在肉鸡生产中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

以 256 只 1 日龄(43±1)g 雄性爱拔益加(AA)肉鸡为试验对象,将其随机分为 4 组,每组 8 个重复,每个重复 8 只鸡。各组分别在基础饲料中添加 0 mg·kg⁻¹(对照组)和 250、500、1 000 mg·kg⁻¹芦丁。芦丁(化学级,纯度>95%)由上海阿拉丁生物技术股份有限公司提供。基础饲料参照美国国家研究委员会(NRC, 1994)颁布的家禽营养需求标准配制,相应成分和营养水平见表 1。

1.2 饲养管理

消毒 1 周后将各组各个重复的肉鸡在同层高的笼子里饲养,避免层高对其产生的影响,每个笼子 8 只肉鸡,饲养期 21 d。在试验期间,保证肉鸡自由采食新鲜粉料和饮水,前 3 d 房间温度保持(34±1)℃,每周稳定下降 2~3℃,最终温度为 22℃,相对湿度保持在 45%~55%。按照常规程序进行免疫。

表1 基础饲料原料组成及营养组成水平

Table 1 Ingredient compositions and nutrient compositions of basal diets

%

原料组成 Ingredients composition	水平 Level	营养组成 Nutrient composition ²	水平 Level
玉米 Corn	57.02	代谢能 Metabolic energy ³	12.57
豆粕 Soybean meal	31.30	粗蛋白 Crude protein	21.42
玉米蛋白粉 Corn gluten meal	3.70	赖氨酸 Lysine	1.20
豆油 Soy oil	3.00	蛋氨酸 Methionine	0.50
磷酸氢钙 Dicalcium phosphate	2.00	钙 Calcium	1.00
石粉 Limestone	1.20	有效磷 Available phosphorus	0.46
L-赖氨酸盐酸盐 L-lysine hydrochloride	0.33		
DL-蛋氨酸 DL-methionine	0.15		
氯化钠 Sodium chloride	0.30		
预混料 Premix ¹	1.00		
合计 Total	100.00		

注:1)预混料为每千克饲料提供:维生素A,10 000 IU;维生素D₃,3 000 IU;维生素E,30 IU;维生素K₃,1.3 mg;硫胺素,2.2 mg;核黄素,8 mg;烟酸,40 mg;氯化胆碱,600 mg;泛酸钙,10 mg;吡哆醇,4 mg;生物素,0.04 mg;叶酸,1 mg;维生素B₁₂,0.013 mg;铁,80 mg;铜,8 mg;锰,110 mg;锌,65 mg;碘,1.1 mg;硒,0.3 mg。2)营养水平为计算值。3)代谢能单位是MJ·kg⁻¹。

Notes:1)Premix provided per kg diet: vitamin A, 10 000 IU; vitamin D₃, 3 000 IU; vitamin E, 30 IU; vitamin K₃, 1.3 mg; thiamine, 2.2 mg; riboflavin, 8 mg; niacin, 40 mg; choline chloride, 600 mg; calcium pantothenate, 10 mg; pyridoxine, 4 mg; biotin, 0.04 mg; folic acid, 1 mg; vitamin B₁₂, 0.013 mg; iron, 80 mg; copper, 8 mg; manganese, 110 mg; zinc, 65 mg; iodine, 1.1 mg; selenium, 0.3 mg. 2) Nutrient levels are calculated values. 3) The unit of metabolic energy is MJ·kg⁻¹.

1.3 样品采集与处理

试验第21天结束时,20:00断料,保持供水。次日08:00每个重复随机选取1只健康的肉鸡进行称重,颈静脉采集血液、屠宰、随后立即解剖,分离出相应器官(脾脏、胸腺、法氏囊等)并称重。血液室温放置2h后离心(4℃、3 000 r·min⁻¹,15 min),所得上清液置于-80℃冰柜中保存待测。分离、选取肉鸡的空肠肠段组织(约2.0 cm)于4%多聚甲醛溶液中固定后制备肠道切片。另用载玻片刮取肠道黏膜样品于冻存管,置液氮冷冻后存于-80℃超低温冰柜。

1.4 指标测定与方法

1.4.1 肠道渗透性指标的测定 采用南京奥青生物有限公司试剂盒,按说明书测定肉鸡血清中D-乳酸(D-LA)和脂多糖(LPS)含量。

1.4.2 器官指数和免疫指标的测定 取肉鸡胸腺、脾脏和法氏囊等免疫器官(g)与肉鸡活体质量(kg)计算器官指数。取分装好的肉鸡血清测定免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)和肿瘤坏死因子α(TNF-α)等指标,试剂盒购自南京奥青生物有限公司。取21 d肉鸡空肠黏膜样品与9 g·L⁻¹的氯化钠溶液按质量体积比1:9匀浆后离心(4℃、3 000 r·min⁻¹ 15 min),收集上清液并使用南京强科生物技术有限公司试剂盒,按照酶联免疫分析法(ELISA)测定sIgA水平。采用南京建成生物研究所试剂盒测定肉鸡空肠黏膜上清液中总蛋白(TP)含量,计算肠道黏膜中每毫克蛋白含有的sIgA量。

1.4.3 空肠形态组织观察 将空肠组织于4%多聚甲醛中固定48 h,经乙醇、二甲苯处理,石蜡包埋,切片,再用伊红和苏木精染色后置于显微镜(ECLIPSE-80i型,尼康日本)下观察组织形态。用Image Pro Plus软件测量肠道组织切片中肠绒毛高度(VH)、绒毛宽度(VW)和隐窝深度(CD),计算绒毛高度/隐窝深度比值(VH/CD)。

1.4.4 空肠抗氧化酶相关指标测定 取空肠黏膜样品(约100 mg)与生理盐水按质量体积比1:9的比例匀浆,在4℃下以3 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清液,采用相应试剂盒(购自南京建成生物研究所)测定丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和过氧化氢酶(CAT)的活性。

1.4.5 空肠抗氧化、免疫和屏障功能相关基因表达水平的测定 取肠道黏膜组织样品(约100 mg),使用TRIzol试剂(TaKaRa,大连)提取总RNA,通过RT-qPCR检测目的基因mRNA表达量。具体操作根据先前研究进行^[20]。以β-肌动蛋白(β-actin)基因为内参基因,使用2^{-ΔΔCt}方法计算各基因mRNA的相对表达水平^[21]。引物序列见表2。

1.5 数据处理与分析

试验数据采用SPSS 22.0软件进行单因素方差分析,用Duncan's法进行多重比较,采用多项式中的线性和二次项分析不同梯度芦丁的作用效果。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 2 Sequences of primers for quantitative real-time PCR

基因 Gene	登录号 Accession No	引物序列(5'→3') Primers sequence(5'→3')	产物大小/bp Products size
<i>Nrf2</i>	NM_205117.1	CGCTTTCTTCAGGGGTAGCA/AGTTCGGTGCAGAAGAGGTG	170
<i>NQO1</i>	NM_001277621.1	GGCAATGGCAGCAGCAG/AAGCACTCGGGTCTCTGAG	138
<i>SOD</i>	NM_205064.1	CCGGCTTGTCTGATGGAGAT/TGCATCTTTTGGTCCACCGT	124
<i>GSH-Px</i>	NM_001277853.1	GACCAACCCCGCAGTACATCA/GAGGTGCGGGCTTTCTTTTA	205
<i>HO-1</i>	NM_205344.1	TGTCCTCCACGAGTTCAAG/CTCCAGTTGCTGCCATAGAA	181
<i>NF-κB</i>	NM_001001472.2	AACAACCTCAGCCAGACTCC/ATGGCCGTTGTAGTTGGTGG	231
<i>TNF-α</i>	NM_204267.1	AGCAGGGCTGACACGGAT/ATGAAGTGGTGCAGATGGG	216
<i>Myd88</i>	NM_001030962.1	ATCCGGACACTAGAGGGAGG/GGCAGAGCTCAGTGTCCATT	115
<i>IL-2</i>	XM_015276098.2	TTCTATGGGGAGTGGGACA/CACTACATTTTGGCGCTCAC	85
<i>INF-γ</i>	NM_205149.1	CACTGACAAGTCAAAGCCGC/ACCTTCTCAGCCATCAGG	87
<i>Mucin2</i>	JX284122.1	AGCGAGATGTTGGCGATGAT/AAGTTGCCACACAGACCACA	166
<i>OCLN</i>	NM_205128.1	CCGTAACCCCGAGTTGGAT/ATFGAGGCGGTGCTTGATG	214
<i>CLDN2</i>	NM_204202.1	CCCGTCCCGTTGTTGTTTTG/CCCCTTCAACCTTCCCGAAA	126
<i>ZO-1</i>	XM_413773.4	TGTAGCCACAGCAAGAGGTG/CTGGAATGGTCTCTGTGTT	159
<i>Bax</i>	FJ977571.1	AGCTGGCGAACACCATCAAA/AGCAGGATAATTCTGCCCCA	166
<i>Bcl-2</i>	NM_205339.2	CACAGGTGCCTACTGTCTGTT/CACACTGGGATTCTTCCGCT	226
<i>ki67</i>	NM_205505	AGGTCCGTTCCCTCGTT/CATTGTCTGCTGGGTTCATC	270
<i>Caspase-3</i>	NM_204725.1	TGGTGGAGGTGGAGGAGC/CCTGAGCGTGGTCCATCTTT	205
<i>β-actin</i>	NM_205518.1	TGCTGTGTTCCCATCTATCG/TTGGTGACAATACCGTGTCA	150

注:*Nrf2*:核因子 E2 相关因子 2 基因 Nuclear factor erythroid-2 related factor 2 gene;*NQO1*:醌氧化还原酶 1 基因 NADPH quinone oxidoreductase 1 gene;*SOD*:超氧化物歧化酶基因 Superoxide dismutase gene;*GSH-Px*:谷胱甘肽过氧化物酶基因 Glutathione peroxidase gene;*HO-1*:血红素加氧酶 1 基因 Heme oxygenase 1 gene;*NF-κB*:核因子 κB 基因 Nuclear factor kappa-B gene;*TNF-α*:肿瘤坏死因子 α 基因 Tumor necrosis factor-α gene;*Myd88*:髓样分化因子 88 基因 Myeloid differentiation primary response protein 88 gene;*IL-2*:白细胞介素 2 基因 Interleukin-2 gene;*INF-γ*:干扰素 γ 基因 Interferon-γ gene;*Mucin2*:黏液蛋白 2 基因 Mucin2 gene;*OCLN*:闭锁蛋白基因 Occludin gene;*CLDN2*:紧密连接蛋白 2 抗体基因 Claudin 2 gene;*ZO-1*:闭合小环蛋白 1 基因 Zonula occludens-1 gene;*Bax*:Bcl-2 相关 X 蛋白基因 Bcl-2 Associated X gene;*Bcl-2*:B 细胞淋巴瘤 2 基因 B-cell lymphoma-2 gene;*ki67*:ki67 蛋白基因 ki67 protein gene;*Caspase-3*:半胱氨酸蛋白酶 3 基因 Caspase-3 gene;*β-actin*:β-肌动蛋白基因 Beta-actin gene.

2 结果与分析

2.1 不同水平芦丁对肉鸡免疫器官指数的影响

如表 3 所示:与对照组、500 mg·kg⁻¹芦丁组和 1 000 mg·kg⁻¹芦丁组相比,饲料添加 250 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了肉仔鸡脾脏指数($P_T < 0.05$);与对照组相比,饲料添加 500 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了肉仔鸡法氏囊器官指数($P_T < 0.05$),且法氏囊指数与芦丁添加量有显著剂量效应($P_L < 0.05, P_Q < 0.05$),脾脏指数与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$)。各组之间的胸腺器官指数无显著差异。

表 3 不同水平芦丁对肉鸡免疫器官指数的影响

Table 3 Effects of different levels of rutin on immune organ index of broiler

项目 Item	芦丁添加水平/(mg·kg ⁻¹)Rutin supplemental levels				标准误 SE	P 值 P-value		
	0	250	500	1 000		P_T	P_L	P_Q
胸腺指数/(g·kg ⁻¹)Thymus index	2.20	2.63	2.34	2.24	0.10	0.388	0.857	0.178
脾脏指数/(g·kg ⁻¹)Spleen index	0.83 ^b	1.24 ^a	0.94 ^b	0.90 ^b	0.05	0.007	0.868	0.009
法氏囊指数/(g·kg ⁻¹)Bursa index	2.41 ^b	3.14 ^{ab}	3.67 ^a	3.18 ^{ab}	0.15	0.022	0.024	0.031

注:不同小写字母表示组间在 0.05 水平差异显著。 P_T 、 P_L 和 P_Q 分别代表处理、线性和二次性。下同。

Note: The different small letters mean significant difference among the treatments at 0.05 level. P_T , P_L and P_Q stand for treatment, linear, and quadratic linear, respectively. The same below.

2.2 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠黏膜 sIgA 含量和血清免疫球蛋白和炎症因子含量的影响

如表 4 所示:与对照组、250 和 500 mg·kg⁻¹芦丁组相比,饲料中添加 1 000 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了血清中 IgM 和 IgG 含量($P_T < 0.05$),且血清中 IgM 和 IgG 含量与芦丁添加量有显著剂量效应($P_L < 0.05, P_Q < 0.05$);与对照组相比,饲料添加 250 和 500 mg·kg⁻¹芦丁显著降低了血清中 TNF-α 含量($P_T < 0.05$),且 TNF-α 含量与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$)。各组之间的空肠黏膜 sIgA 含量无显著差异。

表4 不同水平芦丁对肉鸡空肠黏膜 sIgA 含量以及血清免疫球蛋白和 TNF- α 含量的影响Table 4 Effects of different levels of rutin on sIgA content in jejunal mucosa, serum immunoglobulin and TNF- α of broilers

项目 Item	芦丁添加水平/(mg·kg ⁻¹) Rutin supplemental levels				标准误 SE	P 值 P-value		
	0	250	500	1 000		P _T	P _L	P _Q
sIgA 含量/($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) sIgA content	9.72	10.14	9.53	10.25	0.15	0.297	0.473	0.609
IgM 含量/(g·mL ⁻¹) IgM content	7.60 ^b	7.26 ^b	7.57 ^b	8.46 ^a	7.72	<0.001	0.001	0.002
IgG 含量/(g·mL ⁻¹) IgG content	512.46 ^b	498.85 ^b	506.10 ^b	563.58 ^a	7.73	0.006	0.009	0.010
TNF- α 含量/(ng·L ⁻¹) TNF- α content	66.31 ^a	57.93 ^b	57.99 ^b	60.87 ^{ab}	1.08	0.010	0.056	0.005

2.3 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠形态组织的影响

如表5所示:与对照组相比,饲料添加 500 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了肉鸡空肠 VH/CD 值($P_T < 0.05$),且肉仔鸡空肠 VH/CD 值与芦丁添加量有显著剂量效应($P_L < 0.05, P_Q < 0.05$)。但各组之间空肠 VH、VW 和 CD 值无显著差异。

表5 不同水平芦丁对肉鸡空肠组织形态的影响

Table 5 Effects of different levels of rutin on jejunum tissue morphology of broilers

项目 Item	芦丁添加水平/(mg·kg ⁻¹) Rutin supplemental levels				标准误 SE	P 值 P-value		
	0	250	500	1 000		P _T	P _L	P _Q
绒毛高度/ μm Villus height (VH)	916.21	958.68	979.88	917.68	26.78	0.815	0.920	0.362
绒毛宽度/ μm Villus width (VW)	165.03	176.08	164.09	169.24	5.18	0.860	0.990	0.790
隐窝深度/ μm Crypt depth (CD)	199.05	183.66	168.62	176.15	5.72	0.286	0.110	0.318
高度/深度 VH/CD	4.62 ^b	5.25 ^{ab}	5.81 ^a	5.32 ^{ab}	0.15	0.038	0.037	0.048

2.4 不同水平芦丁对肉仔鸡血清肠屏障指标的影响

如表6所示:与对照组、500 和 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁显著降低了血清中 D-LA 水平($P_T < 0.05$),且血清中 D-LA 水平与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$);与 250 和 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 500 mg·kg⁻¹ 芦丁显著降低了血清中 LPS 水平($P_T < 0.05$),且血清中 LPS 水平与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$)。

表6 不同水平芦丁对肉鸡血清肠屏障指标水平的影响

Table 6 Effects of different levels of rutin on serum intestinal barrier indexes of broilers

项目 Item	芦丁添加水平/(mg·kg ⁻¹) Rutin supplemental levels				标准误 SE	P 值 P-value		
	0	250	500	1 000		P _T	P _L	P _Q
D-乳酸水平/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) D-LA level	11.72 ^a	9.37 ^b	10.67 ^a	11.39 ^a	0.24	<0.001	0.842	<0.001
脂多糖水平/(EU·mL ⁻¹) LPS level	9.87 ^{ab}	9.72 ^b	9.23 ^b	10.80 ^a	0.19	0.022	0.142	0.017

Note: D-LA: D-lactic acid; LPS: Lipopolysaccharide.

2.5 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠黏膜抗氧化指标的影响

如表7所示:与对照组相比,饲料中添加 250 和 500 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了空肠黏膜中 T-SOD 活性和 T-AOC ($P_T < 0.05$),且空肠黏膜中 T-SOD 活性和 T-AOC 与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$),但各组之间的 CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量无显著差异。

表7 不同水平芦丁对 21 d 肉鸡空肠黏膜中抗氧化指标的影响

Table 7 Effects of different levels of rutin on the activities of antioxidant enzymes in the jejunal mucosa of 21 d broilers

项目 Item	芦丁添加水平/(mg·kg ⁻¹) Rutin supplemental levels				标准误 SE	P 值 P-value		
	0	250	500	1 000		P _T	P _L	P _Q
丙二醛含量/(nmol·mg ⁻¹) MDA content	0.52	0.45	0.51	0.57	0.07	0.429	0.346	0.223
总超氧化物歧化酶活性/(U·mg ⁻¹) T-SOD activity	233.62 ^b	279.66 ^a	275.24 ^a	237.31 ^b	6.67	0.011	0.899	0.001
过氧化氢酶活性/(U·mg ⁻¹) CAT activity	34.40	38.86	37.88	33.93	1.09	0.284	0.803	0.059
谷胱甘肽过氧化物酶活性/(U·mg ⁻¹) GSH-Px activity	15.38	16.44	17.30	15.36	0.45	0.371	0.842	0.106
总抗氧化能力/(U·mg ⁻¹) T-AOC	2.19 ^b	2.44 ^a	2.51 ^a	2.35 ^{ab}	0.04	0.039	0.122	0.013

2.6 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠黏膜炎症基因表达的影响

如图1所示:与对照组和 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁组相比,饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁显著降低了空肠黏膜 TNF- α mRNA 的表达水平($P_T < 0.05$),且 TNF- α mRNA 表达水平与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$),但各组之间的 NF- κ B、Myd88、IL-2 和 INF- γ mRNA 表达水平无显著差异。

2.7 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠黏膜增殖与凋亡基因表达的影响

如图2所示:与对照组和1000 mg·kg⁻¹芦丁组相比,饲料添加500 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了肉仔鸡空肠黏膜中*Bcl-2* mRNA的表达水平($P_T < 0.05$),且*Bcl-2* mRNA在空肠黏膜的表达水平与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$)。但各组之间的*Bax*、*ki67*和*Caspase-3* mRNA表达水平无显著差异。

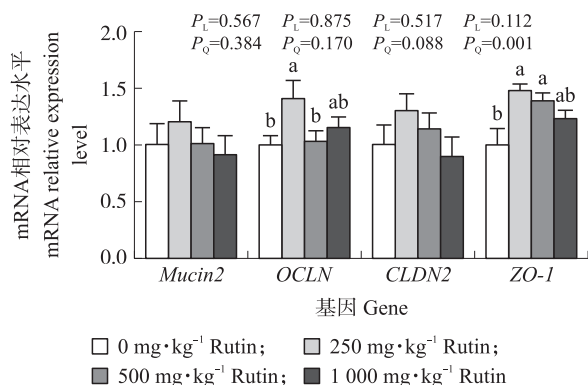


图1 不同水平芦丁对肉鸡空肠炎症相关基因 mRNA 表达水平的影响

Fig. 1 Effects of different levels of rutin on the mRNA expression level of jejunum inflammation related genes in broilers

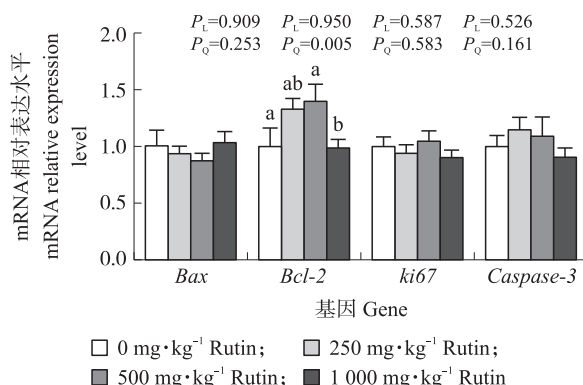


图2 不同水平芦丁对肉鸡空肠增殖凋亡相关基因 mRNA 表达水平的影响

Fig. 2 Effects of different levels of rutin on the mRNA expression level of jejunum proliferation and apoptosis related genes in broilers

2.8 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠黏膜紧密连接蛋白基因表达的影响

如图3所示:与对照组相比,饲料添加250和500 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了空肠黏膜中*ZO-1* mRNA的表达水平($P_T < 0.05$),且*ZO-1* mRNA的表达水平与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$);与对照组和500 mg·kg⁻¹芦丁组相比,饲料添加250 mg·kg⁻¹芦丁显著提高*OCLN* mRNA表达水平($P_T < 0.05$)。各组之间的*Mucin2*和*CLDN2* mRNA表达水平无显著差异。

2.9 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠黏膜抗氧化基因表达的影响

如图4所示:与对照组相比,饲料添加250、500和1000 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了*Nrf2* mRNA的表达水平($P_T < 0.05$);与对照组和1000 mg·kg⁻¹芦丁组相比,饲料添加250 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了*SOD* mRNA表达水平($P_T < 0.05$),且*Nrf2* mRNA的表达水平与芦丁添加量有显著剂量效应($P_L < 0.05$, $P_Q < 0.05$),*HO-1*、*NQO1*、*GSH-Px*和*SOD* mRNA的表达水平与芦丁添加量呈二次曲线相关($P_Q < 0.05$)。

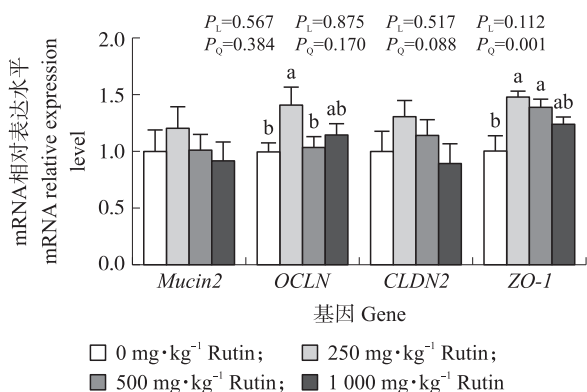


图3 不同水平芦丁对肉鸡空肠紧密连接蛋白相关基因 mRNA 表达水平的影响

Fig. 3 Effects of different levels of rutin on the mRNA expression level of jejunum tight junction protein related genes in broilers

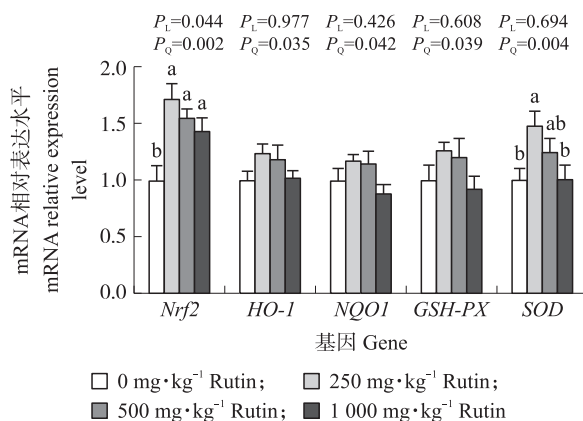


图4 不同水平芦丁对肉鸡空肠抗氧化相关基因 mRNA 表达水平的影响

Fig. 4 Effects of different levels of rutin on the mRNA expression level of jejunum antioxidant related genes in broilers

3 讨论

3.1 不同水平芦丁对肉仔鸡免疫功能的影响

胸腺、脾脏、法氏囊等免疫器官是机体发挥免疫作用的主要场所^[16],并且其发育和成熟也会对动物的生长性能产生影响^[22]。有研究发现,50 mg·kg⁻¹芦丁可显著降低高脂血症引起的脾脏肿大,激活脾脏免疫细胞,增强其免疫功能^[23]。还有研究表明,黄酮类化合物可增加法氏囊指数,提高机体免疫力^[24]。本试验结果表明,饲料添加250和500 mg·kg⁻¹芦丁分别显著提高了肉鸡脾脏和法氏囊器官指数。芦丁具有调节机体免疫的生物学功能,可能与其提高免疫器官指数有关;饲料添加1 000 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了血清中IgM和IgG含量。然而,有研究发现芦丁对肉鸡血清IgG和IgA浓度以及淋巴器官指数无显著影响^[25],这可能与肉鸡的饲养环境与时间有关。sIgA是肠道黏膜免疫的主要效应因子,可阻止抗原及病原微生物进入肠道上皮,并具有清除作用^[26-27],但试验结果表明芦丁对sIgA含量没有显著影响。刘慧娟等^[28]研究发现饲料添加250、500和1 000 mg·kg⁻¹芦丁可显著提高肉仔鸡回肠黏膜sIgA含量,提示芦丁可能主要通过调节回肠黏膜sIgA含量改善肉仔鸡肠道免疫功能。TNF- α 是先天免疫应答后引起代谢级联变化的主要细胞信使之—^[29]。我们前期研究发现芦丁具有抑制促炎因子TNF- α 表达水平的作用,因此,本试验进一步探究芦丁抗炎作用的机制,试验结果显示饲料添加250和500 mg·kg⁻¹芦丁显著降低了血清中TNF- α 含量,添加250 mg·kg⁻¹芦丁显著降低空肠黏膜中TNF- α mRNA的表达水平,提示芦丁可能通过抑制促炎因子TNF- α 的表达水平,降低肠道炎症的发生。Saklani等^[30]研究发现,饲料添加500 mg·kg⁻¹芦丁可显著降低小鼠血清中TNF- α 含量,本试验结果与之相似。综上所述,饲料添加芦丁可以有效促进肉仔鸡免疫器官发育、增强血清和肠道免疫功能,减少肠道炎症发生。

3.2 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠形态结构的影响

肠道形态结构的改变会影响其对营养物质的消化与吸收,故可作为衡量饲料转化率的指标之一^[31]。绒毛高度、绒毛宽度、隐窝深度及绒毛高度/隐窝深度是衡量肠道形态的重要指标,这些指标的改变对肠道吸收营养物质有很大的影响^[32]。研究表明,VH/CD值的升高预示肠道消化和吸收能力的增强^[33]。而Tsujiimoto等^[34]在研究中发现黄酮类化合物对肉鸡十二指肠的VH/CD值有显著提高,提示芦丁可能具有改善肠道形态结构的能力。本试验结果显示,饲料添加500 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了肉仔鸡空肠VH/CD值,这与我们前期研究发现500 mg·kg⁻¹芦丁显著提高了42 d肉鸡空肠VH/CD值的结果一致。Li等^[35]也发现500 mg·kg⁻¹芦丁可显著提高蛋鸡空肠VH/CD值,说明500 mg·kg⁻¹芦丁可通过改善肉仔鸡肠道形态,增强肉仔鸡的肠道消化吸收能力。此外,本试验结果表明,添加500 mg·kg⁻¹芦丁显著增加了21 d肉鸡空肠黏膜中Bcl-2 mRNA的表达水平,Bcl-2是主要的抗凋亡蛋白之一,可通过抑制细胞色素C的释放,增强细胞抗凋亡能力,对组织器官的生长发育有促进作用^[36]。本试验结果提示芦丁改善肉仔鸡肠道形态可能与其通过增强Bcl-2在肠道黏膜中表达水平从而抑制细胞凋亡有关。

3.3 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠屏障功能的影响

肠道屏障的通透性和完整性不仅影响营养物质的消化吸收,同时具有防止病原微生物等进入肠道黏膜组织的作用^[37]。血清中D-LA水平是评价肠道屏障功能的重要指标之一。本试验结果表明饲料中添加250 mg·kg⁻¹芦丁显著降低了21 d肉鸡血清中D-LA水平。D-LA是肠道内细菌的代谢产物^[24-25],通常只存在于肠腔内,但在肠道黏膜屏障功能受损时血清D-LA水平将显著上升^[38-39]。本试验结果提示芦丁具有提高肉仔鸡肠道屏障功能的作用。肠道紧密连接蛋白如OCLN和ZO-1等在肠道黏膜屏障功能方面有重要作用,当细菌破坏肠道黏膜中ZO-1时,肠上皮通透性增加,肠黏膜屏障被破坏^[40]。在本试验中,饲料添加250 mg·kg⁻¹芦丁能够提高空肠黏膜中OCLN和ZO-1 mRNA的表达水平,提示饲料添加芦丁可以一定程度上改善21 d肉鸡肠黏膜屏障功能,这也与芦丁显著降低肉仔鸡血清中D-LA含量的结果相一致。综上,本试验提示饲料添加芦丁可能通过增强肠道黏膜紧密连接蛋白的表达以改善肉仔鸡肠道屏障功能^[41]。Noda等^[42]和Gil-Cardoso等^[43]研究发现膳食黄酮类化合物可以保护ZO-1离域,并抑制ZO-1和OCLN表达水平的降低,增加跨上皮电阻,改善肠道完整性,这可能是芦丁改善肉仔鸡肠道屏障功能的原因之一。

3.4 不同水平芦丁对肉仔鸡空肠抗氧化功能的影响

机体内过量自由基可导致畜禽生产性能下降以及免疫力和抗病力降低,而提高机体抗氧化能力可有

效提升畜禽生产效率^[44]。T-AOC 和 SOD 是机体抗氧化防御中的非酶系抗氧化系统的常见指标^[45]。本试验结果表明,250 和 500 mg·kg⁻¹ 芦丁可显著提高肉仔鸡空肠黏膜中 T-SOD 活性和 T-AOC。试验结果提示芦丁可通过提高非酶系抗氧化系统的作用,增强空肠抗氧化能力。已有研究也表明芦丁水解产物槲皮素可提高仔猪肠道的抗氧化能力,缓解仔猪的肠道损伤^[46]。此外,本试验中进一步对芦丁提高肠道抗氧化能力的相关机制研究发现,添加 250、500 和 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了空肠黏膜中 *Nrf2* mRNA 的表达水平,这与我们前期研究结果一致。*Nrf2* 是机体抗氧化的关键因子,其通过调控 *HO-1*、*NQO1* 等相关基因的表达来提高机体抗氧化能力^[47]。多项研究表明,饲料添加一定水平的类黄酮化合物提高抗氧化酶的表达是通过激活 *Nrf2* 信号通路完成的^[48-49]。饲料添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁显著提高了空肠黏膜中 *SOD* mRNA 表达水平,这与芦丁提高 T-SOD 活性的结果一致。综上所述,芦丁可能通过激活 *Nrf2* 信号通路中相关基因的表达和提高抗氧化酶活性来增强肉仔鸡空肠抗氧化能力,这可能与芦丁具有多酚羟基结构可有效清除自由基有关。本试验结果还显示,与添加 250 mg·kg⁻¹ 芦丁相比,饲料添加 1 000 mg·kg⁻¹ 芦丁显著降低了 *SOD* mRNA 表达水平。

参考文献 References:

- [1] 赵子涛,吴永保,庄蕾,等. 橡胶籽油对热应激肉鸡生长性能及血浆生化、抗氧化和免疫指标的影响[J]. 动物营养学报,2022,34(11):7063-7071.
Zhao Z T, Wu Y B, Zhuang L, et al. Effects of rubber seed oil on growth performance and plasma biochemical, antioxidant and immune parameters of broilers under heat stress[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(11):7063-7071 (in Chinese with English abstract).
- [2] Lan R X, Li Y X, Chang Q Q, et al. Dietary chitosan oligosaccharides alleviate heat stress-induced intestinal oxidative stress and inflammatory response in yellow-feather broilers[J]. Poultry Science, 2020, 99(12):6745-6752.
- [3] Farag M R, Alagawany M. Physiological alterations of poultry to the high environmental temperature[J]. Journal of Thermal Biology, 2018, 76:101-106.
- [4] 朱爱民,尹文帅,周世彬. 非营养性因素对肉鸡肠道健康的影响[J]. 养殖与饲料,2020(4):50-51.
Zhu A M, Yin W S, Zhou S B. Effects of non-nutritive factors on intestinal health of broilers[J]. Animals Breeding and Feed, 2020(4):50-51 (in Chinese).
- [5] Kelly D, Conway S. Genomics at work: the global gene response to enteric bacteria[J]. Gut, 2001, 49(5):612-613.
- [6] Kelly D, King T P. Luminal bacteria and regulation of gut function and immunity[C]//8th Biennial Conference of the Australasian-Pig-Science-Association. South Perth, Australia, 2001.
- [7] Rahman F, Tabrez S, Ali R, et al. Molecular docking analysis of rutin reveals possible inhibition of SARS-CoV-2 vital proteins[J]. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 2021, 11(2):173-179.
- [8] Negahdari R, Bohlouli S, Sharifi S, et al. Therapeutic benefits of rutin and its nanoformulations[J]. Phytotherapy Research, 2021, 35(4):1719-1738.
- [9] 王海波, 占今舜, 王丽媛, 等. 饲料中添加芦丁对湖羊肝脏抗氧化能力和腿肌营养成分的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2022, 58(9):259-263.
Wang H B, Zhan J S, Wang L Y, et al. Effects of rutin on antioxidant capacity of liver and nutritional components of leg muscle in hu sheep[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2022, 58(9):259-263 (in Chinese with English abstract).
- [10] 陈密, 付国香, 董娟娥, 等. 芦丁对草鱼生长性能、体成分、非特异性免疫力和肠道消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(10):4868-4876.
Chen M, Fu G X, Dong J E, et al. Effects of rutin on growth performance, body composition, non-specific immunity and intestinal digestive enzyme activities of grass carp[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(10):4868-4876 (in Chinese with English abstract).
- [11] Huang Y C, Horng C T, Chen S T, et al. Rutin improves endotoxin-induced acute lung injury via inhibition of iNOS and VCAM-1 expression[J]. Environmental Toxicology, 2016, 31(2):185-191.
- [12] Liu Y S, Zhang Y Y, Li J L, et al. Growth performance, carcass traits and digestive function of broiler chickens fed diets with graded levels of corn resistant starch[J]. British Poultry Science, 2020, 61(2):146-155.
- [13] Gautam R, Singh M, Gautam S, et al. Rutin attenuates intestinal toxicity induced by methotrexate linked with anti-oxidative and anti-inflammatory effects[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16:99.
- [14] Hosseinzadeh H, Nassiri-Asl M. Review of the protective effects of rutin on the metabolic function as an important dietary flavonoid[J]. Journal of Endocrinological Investigation, 2014, 37(9):783-788.
- [15] 郭旭东, 刁其玉, 郭宇廷, 等. 芦丁对大鼠免疫器官指数的影响[J]. 动物医学进展, 2011, 32(11):70-72.
Guo X D, Diao Q Y, Guo Y T, et al. Effects of rutin on the immune organ indexes in rats[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2011, 32(11):70-72 (in Chinese with English abstract).
- [16] Caglayan C, Kandemir F M, Darendelioglu E, et al. Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2019, 56:60-68.
- [17] Rahmani S, Naraki K, Roohbakhsh A, et al. The protective effects of rutin on the liver, kidneys, and heart by counteracting organ toxicity caused

- by synthetic and natural compounds[J]. *Food Science & Nutrition*,2022,11(1):39-56.
- [18] 李兰柱,胡红莲,管晓轩,等. 芦丁的生物活性及其在动物生产中的应用研究进展[J]. *畜牧与饲料科学*,2022,43(5):68-73,86.
Li L Z,Hu H L,Guan X X,et al. Advances in biological activities of rutin and its application in animal production[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*,2022,43(5):68-73,86(in Chinese with English abstract).
- [19] Chen S,Liu H J,Zhang J Q,et al. Effects of different levels of rutin on growth performance,immunity,intestinal barrier and antioxidant capacity of broilers[J]. *Italian Journal of Animal Science*,2022,21(1):1390-1401.
- [20] 刘慧娟,张佳琦,庄苏,等. 日粮添加姜黄素对 IUGR 猪肝脏抗氧化功能和脂代谢的影响[J]. *南京农业大学学报*,2022,45(2):359-367. DOI:10.7685/jnau.202104005.
Liu H J,Zhang J Q,Zhuang S,et al. Effects of dietary curcumin on liver antioxidant function and lipid metabolism in IUGR pig[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*,2022,45(2):359-367(in Chinese with English abstract).
- [21] Livak K J,Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J]. *Methods*,2001,25(4):402-408.
- [22] He S J,Yin Q R,Xiong Y J,et al. Effects of dietary fumaric acid on the growth performance,immune response,relative weight and antioxidant status of immune organs in broilers exposed to chronic heat stress[J]. *Czech Journal of Animal Science*,2020,65(3):104-113.
- [23] Manzoni A G,Passos D F,Leitemperger J W,et al. Hyperlipidemia-induced lipotoxicity and immune activation in rats are prevented by curcumin and rutin[J]. *International Immunopharmacology*,2020,81:106217.
- [24] Yang S,Zhang J,Jiang Y,et al. Effects of *Artemisia argyi* flavonoids on growth performance and immune function in broilers challenged with lipopolysaccharide[J]. *Animal Bioscience*,2021,34(7):1169-1180.
- [25] Awad A,Zaglool A W,Khalil S R. Immunohaematological status and mRNA expression of the genes encoding interleukin-6,nuclear-factor kappa B,and tumor-necrosis factor- α in the spleen of broilers supplemented with dietary rutin[J]. *Animal Production Science*,2019,59(8):1454.
- [26] 谢全喜,张建梅,谷巍. 植物乳杆菌对肉鸡生长性能、免疫功能和抗氧化能力的影响[J]. *中国饲料*,2013,14:26-30.
Xie Q X,Zhang J M,Gu W. Effects of lactobacillus plantarum on growth performance,immune function,and antioxidant capacity of broilers[J]. *China Feed*,2013,14:26-30(in Chinese with English abstract).
- [27] Mantis N J,Rol N,Corthésy B. Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut[J]. *Mucosal Immunology*,2011,4(6):603-611.
- [28] 刘慧娟,王超,周斌斌,等. 饲料中添加芦丁对肉鸡回肠形态、免疫、抗氧化及屏障功能的影响[J]. *畜牧兽医学报*,2023,54(2):630-641.
Liu H J,Wang C,Zhou B B,et al. Effects of dietary rutin supplementation on ileum morphology,immunity,antioxidant and barrier function of broilers[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*,2023,54(2):630-641(in Chinese with English abstract).
- [29] Jiang Y,Zhang W H,Gao F,et al. Effect of sodium butyrate on intestinal inflammatory response to lipopolysaccharide in broiler chickens[J]. *Canadian Journal of Animal Science*,2015,95(3):389-395.
- [30] Saklani R,Gupta S K,Mohanty I R,et al. Cardioprotective effects of rutin via alteration in TNF- α ,CRP,and BNP levels coupled with antioxidant effect in STZ-induced diabetic rats[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*,2016,420(2):65-72.
- [31] Dalia A M,Loh T C,Sazili A Q,et al. Influence of bacterial organic selenium on blood parameters,immune response,selenium retention and intestinal morphology of broiler chickens[J]. *BMC Veterinary Research*,2020,16(1):365.
- [32] Barzegar M,Zaghari M,Zhandi M,et al. Effects of zinc dosage and particle size on gut morphology,tight junctions and TNF- α expression in broiler breeder hens[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*,2022,106(4):772-782.
- [33] 程燕东,胡天念,殷桦娟,等. 散养和圈养撒坝猪粪菌移植对小鼠生长性能、养分表观消化率和肠道形态结构的影响[J]. *动物营养学报*,2022,34(12):8129-8137.
Cheng Y D,Hu T N,Yin H J,et al. Effects of fecal microbiota transplantation of free range and captive saba pigs on growth performance,nutrient apparent digestibility and intestinal morphological in mice[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*,2022,34(12):8129-8137(in Chinese with English abstract).
- [34] Tsujimoto Y,Finger L R,Yunis J,et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation[J]. *Science*,1984,226(4678):1097-1099.
- [35] Li H Z,Gu Y F,Jin R,et al. Effects of dietary rutin supplementation on the intestinal morphology,antioxidant capacity,immunity,and microbiota of aged laying hens[J]. *Antioxidants*,2022,11(9):1843.
- [36] 刘晓婷,王延让,张明. 线粒体介导细胞凋亡的研究进展[J]. *环境与健康杂志*,2013,30(2):182-185.
Liu X T,Wang Y R,Zhang M. Mitochondria-mediated apoptosis:a review of recent studies[J]. *Journal of Environment and Health*,2013,30(2):182-185(in Chinese with English abstract).
- [37] Patra A K,Amasheh S,Aschenbach J R. Modulation of gastrointestinal barrier and nutrient transport function in farm animals by natural plant bioactive compounds;a comprehensive review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,2019,59(20):3237-3266.
- [38] Yu H T,Ding X L,Li N,et al. Dietary supplemented antimicrobial peptide microcin J25 improves the growth performance,apparent total tract digestibility,fecal microbiota,and intestinal barrier function of weaned pigs[J]. *Journal of Animal Science*,2017,95(11):5064-5076.
- [39] 胡婷,刘博文,张华,等. 凝结芽孢杆菌 BC-HY1 对蛋雏鸡促生长作用的研究[J]. *动物营养学报*,2022,34(2):939-950.
Hu T,Liu B W,Zhang H,et al. Growth promoting effects of *Bacillus congealus* BC-HY1 on layer chickens[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*,2022,34(2):939-950(in Chinese with English abstract).

- [40] Martens E C, Neumann M, Desai M S. Interactions of commensal and pathogenic microorganisms with the intestinal mucosal barrier[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16:457-470.
- [41] 魏萍, 耿天颖, 王琦, 等. 食淀粉乳杆菌联合芦丁干预 PoRV 感染后肠道紧密连接蛋白及其相关因子变化[J]. *东北农业大学学报*, 2023, 54(3):43-50.
Wei P, Geng T Y, Wang Q, et al. Changes of intestinal tight junction protein and its related factors after *Lactobacillus amylovorus* combined with rutin intervention after PoRV infection [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2023, 54(3):43-50 (in Chinese with English abstract).
- [42] Noda S, Tanabe S, Suzuki T. Differential effects of flavonoids on barrier integrity in human intestinal Caco-2 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(18):4628-4633.
- [43] Gil-Cardoso K, Ginés I, Pinent M, et al. Effects of flavonoids on intestinal inflammation, barrier integrity and changes in gut microbiota during diet-induced obesity[J]. *Nutrition Research Reviews*, 2016, 29(2):234-248.
- [44] 张鹏, 闫盛贤, Ирина П Авловна К, 等. 柳属植物的生物学功能及其在畜禽生产中的应用研究进展[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(8):4785-4792.
Zhang P, Yan S X, Ирина П, et al. Advances in biological functions of *Salix* plants and its application in livestock and poultry production[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(8):4785-4792 (in Chinese with English abstract).
- [45] Bakar E, Ulucam E, Cerkezayabekir A, et al. Investigation of the effects of naringin on intestinal ischemia reperfusion model at the ultrastructural and biochemical level[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 109:345-350.
- [46] 马龙飞, 周斌斌, 刘春雨, 等. 饲料添加芦丁对断奶仔猪回肠形态结构和屏障功能的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2024, 56(2):7-14.
Ma L F, Zhou B B, Liu C Y, et al. Effects of dietary rutin on the morphology and barrier function of ileum in weaned piglets[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2024, 56(2):7-14 (in Chinese with English abstract).
- [47] Guo W J, Liu J X, Sun J X, et al. Butyrate alleviates oxidative stress by regulating NRF2 nuclear accumulation and H3K9/14 acetylation via GPR109A in bovine mammary epithelial cells and mammary glands[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 152:728-742.
- [48] Shen M M, Zhang L L, Chen Y N, et al. Effects of bamboo leaf extract on growth performance, meat quality, and meat oxidative stability in broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2019, 98(12):6787-6796.
- [49] Guo S W, Ma J X, Xing Y Y, et al. *Artemisia annua* L. aqueous extract as an alternative to antibiotics improving growth performance and antioxidant function in broilers[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2020, 19(1):399-409.

责任编辑:周广礼