

韩坤良, 林文超, 蒙成文, 等. 复方中药超微粉对蛋鸡产蛋性能、生殖激素及相关基因表达的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(3): 374-381.
HAN Kunliang, LIN Wenchao, MENG Chengwen, et al. Effects of compound Chinese medicine ultrafine powders on egg production, reproductive hormone, and related gene expression in laying hens[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(3): 374-381.

复方中药超微粉对蛋鸡产蛋性能、生殖激素及相关基因表达的影响

韩坤良^{1,2}, 林文超¹, 蒙成文¹, 兰伟³, 胡新³, 崔亚东³, 孔祥峰^{1,3}

(1 中国科学院亚热带农业生态研究所/动物营养生理与代谢过程湖南省重点实验室, 湖南长沙 410125; 2 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃兰州 730030; 3 阜阳师范大学生物与食品工程学院, 安徽阜阳 236037)

摘要:【目的】研究复方中药超微粉对蛋鸡产蛋性能、生殖激素及相关基因表达的影响。【方法】试验选取 307 日龄的新杨黑羽蛋鸡 216 只, 随机分为 3 组, 每组 8 个重复, 每个重复 9 只; 对照组饲喂基础饲料, 试验组分别在基础饲料中添加 0.5% 丹参 *Salvia miltiorrhiza*+0.25% 女贞子 *Ligustrum lucidum*+0.25% 蒲公英 *Taraxacum mongolicum*(复方 1)、0.3% 益母草 *Leonurus japonicus*+0.2% 丹参+0.25% 女贞子+0.25% 蒲公英(复方 2)的超微粉, 均以质量分数计; 预试期 7 d, 正试期 120 d。测定产蛋性能、蛋品质、血浆生殖激素水平, 用 RT-PCR 技术检测蛋品质相关基因表达。【结果】与对照组相比, 试验 1~30、31~60 和 1~120 d, 复方 1 组产蛋率分别增加 7.56%、4.00% 和 5.31% ($P<0.05$); 试验 1~120 d, 复方 2 组产蛋率增加 5.22% ($P<0.05$); 试验第 60 天, 复方 1 组血浆雌二醇水平、输卵管 *PMCA1* 的 mRNA 相对表达量分别增加 21.45% 和 77.00% ($P<0.05$), 复方 2 组输卵管 *KCNA1* 的 mRNA 相对表达量增加 70.00% ($P<0.05$); 第 90 天, 复方 1 和 2 组蛋壳厚度分别增加 12.12% 和 9.09% ($P<0.05$); 第 120 天, 复方 1 和 2 组输卵管 *CA2* 的 mRNA 相对表达量分别增加 86.00% 和 66.00% ($P<0.05$), 复方 2 组输卵管 *CDH6*、*KCNA1* 和 *SLC26A9* 的 mRNA 相对表达量分别增加 99.00%、86.00% 和 99.00% ($P<0.05$)。【结论】饲料添加由益母草、丹参、女贞子和蒲公英组成的复方中药超微粉可增加蛋鸡的产蛋率, 改善蛋品质, 增加生殖激素水平, 上调蛋壳形成相关基因的 mRNA 表达, 且复方 1 的效果更佳。

关键词: 中药超微粉; 蛋鸡; 产蛋性能; 蛋品质; 生殖激素; 基因表达

中图分类号: S828

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)03-0374-08

Effects of compound Chinese medicine ultrafine powders on egg production, reproductive hormone, and related gene expression in laying hens

HAN Kunliang^{1,2}, LIN Wenchao¹, MENG Chengwen¹, LAN Wei³, HU Xin³, CUI Yadong³, KONG Xiangfeng^{1,3}

(1 Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences/Hunan Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition Physiology and Metabolic Processes, Changsha 410125, China; 2 College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730030, China; 3 School of Biology and Food Engineering, Fuyang Normal University, Fuyang 236037, China)

Abstract: 【Objective】This study was aimed to determine the effect of compound Chinese medicine ultrafine powders on egg laying performance, reproductive hormone, and related gene expression in laying hens.

收稿日期: 2022-06-29 网络首发时间: 2023-03-17 15:51:26

首发网址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20230316.0908.002.html>

作者简介: 韩坤良, 博士研究生, 主要从事家禽营养调控研究, E-mail: 623757876@qq.com; 通信作者: 孔祥峰, 研究员, 博士, 主要从事畜禽肠道微生态调控研究及中药饲料添加剂研发, E-mail: nkxf@isa.ac.cn

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

【Method】 A total of 216 Xinyang black-feather laying hens (307-day-old) were selected and randomly divided into three groups with eight replicates in each group and nine in each replicate. The control group was fed the basal diet, and the experimental groups were fed basal diets supplemented with 0.5% *Salvia miltiorrhiza* (SM) + 0.25% *Ligustrum lucidum* (LL) + 0.25% *Taraxacum mongolicum* (TM)(compound 1), and 0.3% *Leonurus japonicus* (LJ) + 0.2% SM + 0.25% LL + 0.25% TM (compound 2) ultrafine powders, respectively. The pre-trial period was seven days, and the formal trial period was 120 days. Egg production performance, egg quality, and plasma reproductive hormone level were determined. The expressions of genes related to egg quality were detected by RT-PCR technology. **【Result】** Compared with the control group, during days 1–30, 31–60, and 1–120 of the trial, the egg laying rates of the compound 1 group increased by 7.56%, 4.00%, and 5.31% ($P<0.05$), respectively, and during 1–120 days the egg laying rate of the compound 2 group increased by 5.22% ($P<0.05$). On day 60 after treatment the plasma estradiol level and relative expression of oviduct *PMCA1* mRNA increased by 21.45% and 77.00% ($P<0.05$), respectively, in the compound 1 group, and the relative expression of oviduct *KCNA1* mRNA increased by 70.00% ($P<0.05$) in the compound 2 group. On day 90, the thickness of the eggshells increased by 12.12% and 9.09% ($P<0.05$), respectively, in the compound 1 and 2 groups. On day 120, the relative expressions of oviduct *CA2* mRNA increased by 86.00% and 66.00% ($P<0.05$), respectively, in the compound 1 and 2 groups, and the relative expressions of oviduct *CDH6*, *KCNA1* and *SLC26A9* mRNA increased by 99.00%, 86.00% and 99.00% ($P<0.05$), respectively, in the compound 2 group. **【Conclusion】** Dietary supplementation with compound Chinese medicine ultrafine powders consisting of LJ, SM, LL, and TM could increase the egg production rate, improve egg quality of laying hen, increase the level of reproductive hormone, and up-regulate mRNA expressions of genes associated with eggshell formation. In addition, compound 1 presents the better effect.

Key words: Chinese medicine ultrafine powders; Laying hen; Egg production performance; Egg quality; Reproductive hormone; Gene expression

我国是世界上最大的鸡蛋生产国和消费国,鸡蛋产量约占全球总产量的 45%,且呈逐年上升趋势^[1]。随着人们对食品安全的关注,畜禽养殖中饲用抗生素引起的副作用日益受到重视,我国于 2020 年 7 月 1 日全面禁止抗生素作为添加剂在饲料中使用。因此,开发和推广能有效替代抗生素类生长促进剂的新型、绿色饲料添加剂已成为当务之急^[2]。中药具有无残留、毒副作用小和不易产生耐药性等优点,可促进动物新陈代谢、增加生产性能、改善产品品质,是新一代安全性能较好的饲料添加剂^[3]。例如,饲料添加女贞子 *Ligustrum lucidum* 可显著增加产蛋后期蛋鸡产蛋率,显著降低料蛋比、死淘率和破软蛋率^[4];饲料添加益母草 *Leonurus japonicus* 可在一定程度上延长种鸡的产蛋时间,增加产蛋数量;饲料添加蒲公英 *Taraxacum mongolicum* 可改善家禽的生产性能^[5]。目前,复方中药在蛋鸡生产上的应用已有很多研究,但复方中药超微粉对产蛋后期蛋鸡产蛋性能和蛋品质的影响及其机理鲜见报道。益母草可活

血调经、清热解毒,蒲公英可清热解毒利尿,女贞子可清热、补益肝肾,丹参 *Salvia miltiorrhiza* 可通经、活血祛瘀。本试验以“凉血利尿、祛瘀调经”为组方原则,选用一定比例的益母草、女贞子、蒲公英和丹参等中药材组方后进行超微粉碎,研究其对产蛋后期蛋鸡产蛋性能和蛋品质的影响,并从生殖激素分泌及相关基因表达方面探讨其作用机理,为中药复方超微粉作为新型饲料添加剂用于蛋鸡生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物、分组及饲养管理

试验选用 307 日龄的健康新杨黑羽蛋鸡 216 只,随机分为 3 组,每组 8 个重复,每个重复 9 只。试验开始前各组产蛋率和体质量均无显著差异。对照组饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中添加复方 1(0.5% 丹参+0.25% 女贞子+0.25% 蒲公英)、复方 2(0.3% 益母草+0.2% 丹参+0.25% 女贞子+0.25% 蒲公英)的超微粉(以质量分数计)。试验

所用中药购自阜阳药材加工厂。基础饲粮参照蛋鸡饲养标准 (NY/T33—2004)^[6] 产蛋后期蛋鸡营养需要配制,其组成及营养水平见表 1。饲养试验在安徽阜阳徽思远生态农业有限公司开展,蛋鸡采用 4 层阶梯笼饲养。预试期 7 d,正试期 120 d。试验期间每天光照 16 h,自由饮水,每天喂食 2 次 (09:00、15:00),室温保持在 18~23 ℃。

表 1 基础饲粮组成及营养水平¹⁾
Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diets

项目 Item	成分 Ingredient	w/%
原料 Ingredient	玉米 Corn	62.69
	豆粕 Soybean meal	23.88
	石粉 Limestone	7.94
	豆油 Soybean oil	0.49
	蛋氨酸 Met	0.10
	预混料 Premix	5.00
	合计 Total	100.00
营养成分 Nutrient	粗蛋白质 Crude protein	14.23
	粗脂肪 Crude fat	9.66
	钙 Ca	3.51
	有效磷 Available P	0.34
	赖氨酸 Lys	0.71
	蛋氨酸 Met	0.37
代谢能/(MJ·kg ⁻¹) Metabolic energy		11.25

1) 风干基础;预混料为每千克饲粮提供:维生素A 1.4×10⁵ IU, 维生素D₃ 5×10⁴ IU, 维生素E 480 mg, 维生素K 3 180 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, 烟酰胺 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, Fe 2.0 g, Cu 0.3 g, Mn 1.8 g, Zn 2.0 g, I 70 mg, Se 9 mg, 植酸酶 3 000 IU;粗蛋白质和粗脂肪为实测值,其余均为计算值

1) Air-dry basis; The premix provides the following per kg of diets: Vitamin A 1.4×10⁵ IU, Vitamin D₃ 5×10⁴ IU, Vitamin E 480 mg, Vitamin K 3 180 mg, Vitamin B₁ 63 mg, Vitamin B₂ 200 mg, Vitamin B₆ 140 mg, Vitamin B₁₂ 0.7 mg, nicotinic acid 1 000 mg, D-pantothenic acid 500 mg, folic acid 50 mg, D-biotin 5.0 mg, choline chloride 900 mg, Fe 2.0 g, Cu 0.3 g, Mn 1.8 g, Zn 2.0 g, I 70 mg, Se 9 mg, and phytase 3 000 IU; Crude protein and crude fat are measured values, while the others are calculated values

1.2 样品采集与处理

分别于试验第 30、60、90 和 120 天从每个重复随机选取 3 枚鸡蛋用于蛋品质测定。试验第 60 和 120 天,于每组随机选取 8~10 只体质量相

近且健康状态良好的蛋鸡,禁饲 12 h(不禁水)后称质量,翅静脉采集血液 10 mL 于采血管中,肝素抗凝,4 ℃、3 500 r/min 离心 10 min,获得血浆样品,-20 ℃ 条件下保存,用于生殖激素含量测定;颈动脉放血处死,解剖采集输卵管子宫部样品,液氮速冻后-80 ℃ 条件下保存,用于相关基因表达分析。

1.3 产蛋性能测定

试验期间,以重复为单位记录每天的产蛋数和产蛋量,统计各重复蛋鸡试验期间的耗料量,计算产蛋率、平均蛋质量、平均日采食量和料蛋比。

1.4 蛋品质测定

利用蛋壳强度测定仪测定蛋壳强度;利用游标卡尺测量蛋样纵径与横径,计算蛋形指数 (纵径/横径);利用多功能蛋品检测仪测定蛋质量、哈氏单位、蛋白高度和蛋黄颜色;利用蛋壳厚度计测定蛋壳厚度;利用电子天平称量蛋黄和蛋壳质量,计算蛋黄、蛋壳和蛋清指数,具体方法参考文献 [7]。

1.5 血浆生殖激素水平测定

用 ELISA 试剂盒 (湖南科航生物科技有限公司) 检测血浆中促黄体生成素 (Luteinizing hormone, LH)、雌二醇 (Estradiol, E2) 和促卵泡激素 (Follicle-stimulating hormone, FSH) 等激素水平,具体操作按照试剂盒说明书进行。

1.6 基因表达水平检测

按照 RT-PCR 步骤要求,取输卵管子宫部组织液氮研磨,用 Trizol 法提取总 RNA,用 Nanodrop 2000 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 (艾科瑞生物工程有限公司) 将总 RNA 反转录为 cDNA,以 β -actin 基因为内参,用 PCR 仪 (LightCycler® 480II, Roche) 检测蛋壳形成相关基因的 mRNA 表达水平。20 μ L 反应体系包括:2×SYBR Green Pro Taq HS Premix 10 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.4 μ L, cDNA 0.8 μ L, ddH₂O 8.4 μ L。PCR 反应条件为:95 ℃ 预变性 30 s; 95 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 退火/延伸 30 s, 40 个循环。所用引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成,引物序列见表 2。用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算 mRNA 的相对表达量。

1.7 数据分析与处理

试验数据经 Excel 2016 整理后,采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 并采用 Duncan's 法进行多重比较。P < 0.05 为差异显著, 0.05 ≤ P < 0.10 为有变化趋势, 数据结果以“平均值±标准差”表示。

表 2 实时定量 PCR 引物序列
Table 2 Primer sequences used for RT-PCR

基因名称 Gene name	登录号 Accession number	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物大小/bp Product size
β-肌动蛋白 β-actin	NM_205518.1	F: TGTTACCAACACCCACACCC R: TCCTGAGTCAAGCGCCAAAA	110
血小板反应蛋白2 THBS2	NM_001001755.1	F: TGTATGTGGCGAAAGGGTCC R: TGATTGGCTCCTCTGGCATC	125
钙黏蛋白6 CDH6	NM_001001758.2	F: TGTGCTGTGTGCAACGACTA R: CAGGCCTGGCAACTCTTTCT	245
钾离子通道 KCNAI	XM_004938075.3	F: TGCGGTACTTCGACCCTTTG R: GCTGGTATTCTCCCTCTGGC	243
碳酸酐酶2 CA2	XM_046910455.1	F: CTGACTACTCCACCACTGCA R: GCTCTGACTTCCCTGCTCTT	182
钙离子转运酶 I PMCA1	XM_046906440.1	F: GCTGTGGTCTGTTTTCTGG R: ACAAGATCTGACCACGACGT	197
溶质转运蛋白 SLC26A9	XM_040691172.2	F: GACCTACTGCTCACCCTGT R: GTTGGAGAGGCGCTTTCAAA	231

2 结果与分析

2.1 复方中药超微粉对蛋鸡产蛋性能的影响

由表 3 可知, 与对照组相比, 试验 1~30 d, 复方 1 组料蛋比降低 4.98%($P<0.05$); 试验 1~30、31~60 和 1~120 d, 复方 1 组产蛋率分别增加 7.56%、4.00% 和 5.31%($P<0.05$); 试验 1~120 d, 复方 2 组产蛋率增加 5.22%($P<0.05$)。饲料中添加复方中药超微粉对产蛋各期平均蛋质量及平均日采食量均无显著影响 ($P>0.05$)。

表 3 复方中药超微粉对蛋鸡产蛋性能的影响¹⁾

Table 3 Effect of compound Chinese medicine ultrafine powders on egg-laying performance of laying hen					
试验期/d Test period	组别 Group	产蛋率/% Laying rate	平均日采食量/g Average daily feed intake	平均蛋质量/g Average egg mass	料蛋比 Feed to egg ratio
1~30	对照 Control	84.26±1.58b	113.06±1.47a	51.71±1.24a	2.61±0.04a
	复方1 Compound 1	90.63±0.65a	116.06±1.03a	53.49±1.74a	2.48±0.02b
	复方2 Compound 2	86.30±2.12ab	117.48±1.69a	53.74±1.75a	2.55±0.03ab
31~60	对照 Control	84.91±1.32b	105.70±1.20a	49.70±1.83a	2.53±0.07a
	复方1 Compound 1	88.31±0.99a	109.23±1.04a	52.05±0.42a	2.37±0.02a
	复方2 Compound 2	87.62±0.69ab	108.70±1.61a	52.92±0.29a	2.37±0.03a
61~90	对照 Control	79.36±1.56a	105.50±1.74a	52.28±0.57a	2.36±0.04a
	复方1 Compound 1	83.96±2.39a	106.94±1.41a	50.32±0.43a	2.48±0.08a
	复方2 Compound 2	85.55±1.81a	107.10±1.58a	51.38±0.58a	2.42±0.06a
91~120	对照 Control	77.18±1.91a	100.52±3.01a	52.15±0.58a	2.50±0.05a
	复方1 Compound 1	79.17±2.47a	101.88±2.21a	51.90±0.35a	2.48±0.95a
	复方2 Compound 2	83.55±0.98a	100.65±2.33a	52.87±0.33a	2.30±0.44a
1~120	对照 Control	81.62±0.89b	104.58±1.61a	51.32±0.81a	2.50±0.01a
	复方1 Compound 1	85.95±1.14a	108.71±0.91a	52.19±0.51a	2.43±0.04a
	复方2 Compound 2	85.88±1.00a	108.12±1.68a	52.69±0.58a	2.41±0.04a

1) 相同时期同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$, Duncan's法)
1) Different lowercase letters in the same column of the same period indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's method)

2.2 复方中药超微粉对蛋鸡蛋品质的影响

由表 4 可知, 与对照组相比, 试验第 30 天, 各复方组蛋品质指标均无显著变化 ($P>0.05$); 试验第 60 天, 各复方组鸡蛋的哈氏单位呈增加趋势 ($P=0.056$), 复方 2 组鸡蛋的蛋形指数呈增加趋势 ($P=0.069$), 复方 1 组鸡蛋的蛋壳相对质量增加 5.16% ($P<0.05$); 试验第 90 天, 复方 1 组鸡蛋的蛋

壳相对质量增加 4.05% ($P<0.05$), 复方 2 组蛋黄颜色加深 5.42% ($P<0.05$), 复方 1 组和 2 组鸡蛋的蛋壳厚度分别增加 12.12% 和 9.09%, 蛋形指数分别降低 2.99% 和 2.24%, 蛋壳强度分别增加 25.99% 和 18.38% ($P<0.05$); 试验第 120 天, 复方 1 组鸡蛋的蛋形指数降低 2.24%、蛋黄颜色加深 2.62%、蛋壳厚度降低 13.16% ($P<0.05$)。

表 4 复方中药超微粉对蛋鸡蛋品质的影响¹⁾
Table 4 Effect of compound Chinese medicine ultrafine powders on egg quality of laying hen

t/d	组别 Group	蛋形指数 Shape index	蛋壳厚度/mm Eggshell thickness	蛋壳强度/(kg·cm ⁻²) Eggshell strength	蛋白高度/mm Albumen height	哈氏单位 Haugh unit
30	对照组 Control	1.32±0.01a	0.37±0.01a	39.43±1.96a	3.79±0.30a	58.25±3.52a
	复方1 Compound 1	1.31±0.01a	0.38±0.01a	44.49±1.71a	4.17±0.31a	65.78±2.82a
	复方2 Compound 2	1.31±0.01a	0.38±0.01a	42.81±1.64a	4.27±0.29a	67.23±2.40a
60	对照组 Control	1.31±0.01a	0.37±0.01a	37.68±1.48a	3.80±0.33a	59.02±3.78a
	复方1 Compound 1	1.31±0.01a	0.38±0.01a	40.12±1.95a	4.30±0.32a	63.43±3.55a
	复方2 Compound 2	1.32±0.01a	0.36±0.01a	42.05±1.82a	3.97±0.26a	60.25±3.25a
90	对照组 Control	1.34±0.01a	0.33±0.01b	30.90±2.15b	3.86±0.25a	60.17±3.16a
	复方1 Compound 1	1.30±0.01b	0.37±0.01a	38.93±1.52a	4.41±0.26a	67.84±2.20a
	复方2 Compound 2	1.31±0.01b	0.36±0.01a	36.58±1.43a	4.19±0.30a	62.95±2.78a
120	对照组 Control	1.34±0.01a	0.38±0.01a	32.76±1.83a	3.91±0.22a	64.16±2.12a
	复方1 Compound 1	1.31±0.01b	0.33±0.01b	35.17±1.84a	4.31±0.20a	65.17±2.13a
	复方2 Compound 2	1.32±0.01ab	0.38±0.01a	35.20±1.45a	4.09±0.28a	64.69±2.41a

t/d	组别 Group	蛋黄颜色指数 Yolk color index	蛋白相对质量/% Albumen ratio	蛋黄相对质量/% Yolk ratio	蛋壳相对质量/% Eggshell ratio
30	对照组 Control	11.83±0.13a	57.60±0.56a	31.94±0.55a	10.72±0.16a
	复方1 Compound 1	11.50±0.12a	56.23±0.33a	32.45±0.39a	10.93±0.13a
	复方2 Compound 2	11.71±0.11a	56.59±0.29a	32.37±0.35a	10.94±0.11a
60	对照组 Control	12.27±0.10ab	56.14±0.47a	33.19±0.41a	10.65±0.12b
	复方1 Compound 1	12.63±0.16a	55.90±0.33a	32.71±0.33a	11.20±0.13a
	复方2 Compound 2	12.08±0.15b	56.65±0.47a	32.34±0.44a	10.91±0.15ab
90	对照组 Control	12.17±0.16b	56.14±0.32a	33.19±0.31a	10.61±0.09b
	复方1 Compound 1	12.61±0.16ab	55.70±0.34a	33.04±0.40a	11.04±0.15a
	复方2 Compound 2	12.83±0.15a	56.74±0.43a	32.14±0.33a	10.68±0.15ab
120	对照组 Control	12.22±0.09b	56.24±0.50a	33.31±0.42a	10.48±0.11a
	复方1 Compound 1	12.54±0.16a	56.05±0.33a	33.39±0.32a	10.49±0.12a
	复方2 Compound 2	11.95±0.05b	56.64±0.66a	32.76±0.64a	10.64±0.17a

1) 相同时期同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$, Duncan's法)
1) Different lowercase letters in the same column of the same time indicate significant differences($P<0.05$, Duncan's method)

2.3 复方中药超微粉对蛋鸡生殖激素水平的影响

由表 5 可知, 与对照组相比, 试验第 60 天, 复方 1 组血浆 E2 水平增加 21.45% ($P<0.05$); 试验第

120 天, 复方 2 组血浆 LH 水平呈升高趋势 ($P=0.06$), 各复方组血浆 FSH 和 E2 水平均无显著变化 ($P>0.05$)。

表 5 复方中药超微粉对蛋鸡血浆生殖激素水平的影响¹⁾

Table 5 Effect of compound Chinese medicine ultrafine powders on plasma reproductive hormone level of laying hen				
<i>t</i> /d	组别 Group	促卵泡激素/(IU·L ⁻¹)	促黄体生成素/(IU·L ⁻¹)	雌二醇/(ng/L ⁻¹)
		Follicle-stimulating hormone (FSH)	Luteinizing hormone (LH)	Estradiol (E2)
60	对照 Control	18.34±0.35a	17.04±0.29a	401.40±10.37b
	复方1 Compound 1	18.07±0.46a	15.78±0.55a	487.05±8.90a
	复方2 Compound 2	17.51±0.34a	15.45±0.32a	438.91±18.81b
120	对照 Control	16.79±0.65a	16.75±0.50a	405.59±10.84a
	复方1 Compound 1	18.06±0.29a	17.15±0.37a	386.44±10.75a
	复方2 Compound 2	17.57±0.20a	17.91±0.36a	417.67±6.78a

1) 相同时期同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$, Duncan's法)
1) Different lowercase letters in the same column of the same time indicate significant differences($P<0.05$, Duncan's method)

2.4 复方中药超微粉对蛋鸡输卵管子宫部相关基因 mRNA 表达的影响

由表 6 可知, 试验第 60 天, 与对照组相比, 复方 1 组 *CA2*、*SLC26A9*、*PMCA1* 以及复方 2 组 *KCNA1* 的 mRNA 相对表达量分别增加 64.00%、58.00%、77.00% 和 70.00% ($P<0.05$); 试验第 120 天, 与对照组相比, 复方 1 组和 2 组 *CA2* 的

mRNA 相对表达量分别增加 86.00% 和 66.00% ($P<0.05$), 复方 2 组 *CDH6*、*KCNA1* 和 *SLC26A9* 的 mRNA 相对表达量分别增加 99.00%、86.00% 和 99.00% ($P<0.05$); 与复方 1 组相比, 复方 2 组 *KCNA1* 和 *SLC26A9* 的 mRNA 相对表达量分别增加 121.00% 和 197.00%、*CA2* 的 mRNA 相对表达量降低 10.75% ($P<0.05$)。

表 6 复方中药超微粉对蛋鸡输卵管子宫部相关基因 mRNA 表达量的影响¹⁾

Table 6 Effect of compound Chinese medicine ultrafine powders on related gene expression in the uterus of hen oviduct							
<i>t</i> /d	组别 Group	血小板反应蛋白2	钙黏蛋白6	钾离子通道1	碳酸酐酶2	钙离子转运酶1	溶质转运蛋白
		<i>THBS2</i>	<i>CDH6</i>	<i>KCNA1</i>	<i>CA2</i>	<i>PMCA1</i>	<i>SLC26A9</i>
60	对照 Control	1.00±0.18a	1.00±0.35a	1.00±0.18b	1.00±0.12b	1.00±0.12b	1.00±0.14b
	复方1 Compound 1	0.90±0.09a	1.30±0.33a	1.23±0.22ab	1.64±0.12a	1.77±0.07a	1.58±0.12a
	复方2 Compound 2	0.80±0.10a	0.87±0.20a	1.70±0.18a	1.13±0.13ab	1.40±0.38ab	1.16±0.14ab
120	对照 Control	1.00±0.20a	1.00±0.22b	1.00±0.11b	1.00±0.15c	1.00±0.11a	1.00±0.05b
	复方1 Compound 1	2.17±0.25a	1.66±0.46ab	0.84±0.09b	1.86±0.17a	0.76±0.15a	0.67±0.32b
	复方2 Compound 2	2.30±0.25a	1.99±0.21a	1.86±0.12a	1.66±0.14b	0.70±0.09a	1.99±0.32a

1) 相同时期同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$, Duncan's法)
1) Different lowercase letters in the same column of the same time indicate significant differences($P<0.05$, Duncan's method)

3 讨论与结论

饲料添加复方中药可促进动物生长发育, 增加其生产性能^[8]。本试验中, 饲料添加复方 1 和复方 2 超微粉可显著增加蛋鸡的产蛋率和平均日采食量, 可能是因为生殖激素水平增加, 促进了卵泡发育与排卵, 从而增加蛋鸡产蛋率^[9-10], 有研究表明, 饲料添加益母草和女贞子超微粉可显著增加产蛋后期蛋鸡的产蛋率^[7, 11], 这与本试验研究结果一致。

蛋黄颜色是衡量鸡蛋品质的重要指标之一, 叶黄素是影响鸡蛋蛋黄颜色的主要因素之一。哈氏单位是评价鸡蛋蛋白质量和新鲜度的指标, 数值越大表示鸡蛋品质越好^[7]。蛋壳厚度和蛋壳强度是评价

蛋壳质量的指标, 蛋壳质量优劣对鸡蛋的储存、运输和孵化均十分重要^[12]。本试验中, 试验第 60 天复方 1 组和试验第 90 天复方 2 组的鸡蛋蛋黄颜色显著加深, 可能是因为蒲公英^[13]、女贞子^[14]等中药具有良好的抗氧化特性, 可清除机体内的多种自由基, 防止鸡蛋中胡萝卜素和叶黄素被氧化, 从而增加了蛋黄色泽。试验第 90 天 2 个中药复方超微粉组鸡蛋的蛋壳厚度均显著增加, 可能是因为复方中药超微粉有利于改善肠道环境和功能, 促进了肠道钙离子的吸收, 从而改善了蛋壳质量^[15]。有研究表明, 中药饲料添加剂可改变蛋黄色泽和蛋壳质量^[16], 饲料添加蒲公英粉可增加蛋鸡产蛋率, 改善

蛋品质^[17], 饲料添加女贞子粉可改善蛋黄颜色^[18], 益母草、女贞子超微粉可显著改善鸡蛋的哈夫单位和蛋黄颜色^[3], 蒲公英等中药与酵母硒锗复合制剂可显著增加鸡蛋的蛋壳厚度^[19], 这与本试验研究结果一致。

FSH、LH 和 E2 等生殖激素是调控家禽卵泡发育和排卵过程的主要激素^[20]。E2 作为禽类主要的雌激素, 可促进肠道对营养物质的吸收, 使血液中钙、磷和蛋白质水平增加, 同时刺激输卵管的生长^[21]。本研究显示, 试验第 60 天, 复方 1 组蛋鸡血浆 E2 水平显著增加; 试验第 120 天, 复方 2 组蛋鸡血浆 LH 水平呈升高趋势, 这与本研究中产蛋率升高的结果一致。血浆中生殖激素的变化可能是由于复方中药超微粉激活了下丘脑-垂体-性腺轴, 促进了生殖激素的分泌^[22]。

蛋鸡的蛋壳在输卵管子宫部形成, 钙对蛋鸡的蛋壳形成非常重要^[23]; CABP-28K 在输卵管子宫部表达, 并在蛋壳形成过程中负责运输钙离子^[24], 钙泵内的质膜钙转运酶 PMCA1 和 PMCA2 负责细胞内钙离子释放到子宫腔。碳酸酐酶 2(Carbonic anhydrase, CA2) 将 H_2CO_3 脱水成 HCO_3^- , HCO_3^- 转运蛋白 SLC26A9 将 HCO_3^- 释放到子宫腔, HCO_3^- 被 CA2 进一步脱水为 CO_3^{2-} 。Ca²⁺ 和 CO_3^{2-} 从黏膜组织中释放出来, 形成碳酸钙沉淀在蛋壳膜表面^[25]。目前关于中药添加剂影响家禽蛋壳形成相关基因表达的报道并不多见。本试验对蛋鸡输卵管子宫部相关基因表达分析发现, 试验第 60 天, 复方 1 组 CA2、SLC26A9、PMCA1 以及复方 2 组 KCNA1 的 mRNA 相对表达量显著增加; 试验第 120 天, 复方 2 组 CDH6、KCNA1 和 SLC26A9 以及复方 1 组和 2 组 CA2 的 mRNA 相对表达量均显著增加。这说明饲料添加由益母草、丹参、女贞子和蒲公英组成的复方中药超微粉可上调与蛋壳形成相关基因 mRNA 的表达量, 对蛋品质的改善有一定促进作用。

综上所述, 在本试验条件下, 饲料添加由益母草、丹参、女贞子和蒲公英组成的复方中药超微粉可增加蛋鸡的产蛋率和生殖激素水平, 上调与蛋壳形成相关基因的表达, 进而改善蛋品质, 且复方 1 的效果更佳。

参考文献:

[1] 何俊金, 王建萍, 丁雪梅, 等. 饲料中添加高剂量茶多酚对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质和脂质代谢的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(11): 4601-4610.

[2] OLSON E G, MICCICHE A C, ROTHROCK M J, et al. Application of bacteriophages to limit *Campylobacter* in

poultry production[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 458721.

[3] 陈杨超, 张国祖, 吕明其, 等. 6 味中药超微粉对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质和生殖激素水平影响的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(8): 163-165.

[4] LI X L, HE W L, YANG M L, et al. Effect of dietary supplementation of *Ligustrum lucidum* on performance, egg quality and blood biochemical parameters of Hy-Line Brown hens during the late laying period[J]. *Animal*, 2017, 11(11): 1899-1904.

[5] OGNIK K, CHOLEWINSKA E, SEMBRATOWICZ I, et al. The potential of using plant antioxidants to stimulate antioxidant mechanisms in poultry[J]. *World's Poultry Science Journal*, 2016, 72(2): 291-298.

[6] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业行业标准: 鸡饲养标准: NY/T33—2004[S]. 北京: 中国农业出版社, 2005.

[7] 令狐克川, 王超, 张瑞强, 等. 饲料添加天然维生素 E 对蛋鸡产蛋后期生产性能、维生素 E 沉积、抗氧化功能和鸡蛋品质的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(12): 6771-6781.

[8] ZHANG L, ZHONG G, GU W, et al. Dietary supplementation with daidzein and Chinese herbs, independently and combined, improves laying performance, egg quality and plasma hormone levels of post-peak laying hens[J]. *Poultry Science*, 2021, 100(6): 101115.

[9] SALEH A A, AHMED E A M, EBEID T A. The impact of phytoestrogen source supplementation on reproductive performance, plasma profile, yolk fatty acids and antioxidative status in aged laying hens[J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2019, 54(6): 846-854.

[10] LONG L, WU S G, YUAN F, et al. Effects of dietary octacosanol supplementation on laying performance, egg quality, serum hormone levels, and expression of genes related to the reproductive axis in laying hens[J]. *Poultry Science*, 2017, 96(4): 894-903.

[11] FU Y, WANG J, ZHANG H J, et al. The partial replacement of sodium chloride with sodium bicarbonate or sodium sulfate in laying hen diets improved laying performance, and eggshell quality and ultrastructure[J]. *Poultry Science*, 2021, 100(7): 101102.

[12] ZHU Y P, TAO Z Y, CHEN X C, et al. Effects of broussonetia papyrifera-fermented feed on production performance, egg quality, and caecal microbiota of laying hens during the late laying period[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2022, 21(1): 659-672.

[13] 姚东云. 蒲公英粗提物对蛋鸡生产性能及生化指标的影响[J]. 饲料研究, 2020, 43(3): 38-40.

[14] 吕春炎. 黄芪、女贞子与益生素合用对肉鸡部分免疫指标及生产性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(10): 149-151.

[15] YANG H, TAN S, CHEN S, et al. Effects of fermented Yupingfeng on intramuscular fatty acids and ruminal microbiota in Qingyuan black goats[J]. *Animal Science*

Journal, 2021, 92(1): e13554.

[16] 张霞, 徐志强, 黄英, 等. 复合中草药饲料添加剂对白血病阳性武定种蛋鸡的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2020, 35(6): 1004-1009.

[17] 白建, 梁琛. 海藻粉和蒲公英粉协同提高蛋鸡生产性能、免疫功能和蛋品质的研究[J]. 中国兽医杂志, 2021, 57(5): 101-105.

[18] 张瑞霜, 单安山, 徐良梅, 等. 日粮中添加女贞子粉对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响[J]. 中国饲料, 2010(7): 12-14.

[19] 赵楚琦, 张善媚, 张敏. 生物硒锗培养物对蛋鸡生产性能及蛋品质的影响[J]. 延边大学农学学报, 2019, 41(1): 62-66.

[20] MIAO L P, LI L L, ZHU M K, et al. Excess dietary fluoride affects laying performance, egg quality, tissue retention, serum biochemical indices, and reproductive hormones of laying hens[J]. Poultry Science, 2019, 98(12): 6873-6879.

[21] 官丽辉, 马旭平, 刘海斌, 等. 大豆异黄酮对坝上长尾鸡卵巢功能、生殖激素和肌肉品质的影响[J]. 中国兽医学报, 2021, 41(2): 338-344.

[22] WANG C Q, MA W. Hypothalamic and pituitary transcriptome profiling using RNA-sequencing in high-yielding and low-yielding laying hens[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 10285.

[23] LÜ Z P, YAN S J, LI G, et al. Genistein improves the reproductive performance and bone status of breeder hens during the late egg-laying period[J]. Poultry Science, 2019, 98(12): 7022-7029.

[24] EBEID T A, SUZUKI T, SUGIYAMA T. High ambient temperature influences eggshell quality and calbindin-D28k localization of eggshell gland and all intestinal segments of laying hens[J]. Poultry Science, 2012, 91(9): 2282-2287.

[25] NII T, ISOBE N, YOSHIMURA Y. Effects of interleukin-1 beta and -6 on the expression of ion transporters involved in eggshell mineralization in cultured hen uterine mucosal tissue[J]. Journal of Poultry Science, 2018, 55(2): 142-149.

【责任编辑 庄 延】