

飼糧中添加靈芝對荷蘭種仔公牛生長性能 與免疫反應之影響⁽¹⁾

李國華⁽²⁾⁽⁴⁾ 林文宏⁽³⁾ 陳志毅⁽²⁾ 陳怡璇⁽²⁾ 陳一明⁽²⁾

收件日期：109 年 1 月 8 日；接受日期：109 年 7 月 17 日

摘 要

為研發具提升仔牛免疫力之飼糧添加物，本試驗在探討飼糧中添加靈芝 (*Ganoderma lucidum*) 對荷蘭種仔公牛之生長性能與免疫反應的影響。將約 8 週齡已斷乳之 24 頭荷蘭種仔公牛隨機分成兩組，分別於飼糧中添加 0 (對照組，平均體重 75.1 kg) 或每天每頭添加 10 g 靈芝 (試驗組，平均體重 74.8 kg)，試驗為期 8 週，每頭牛採個別飼養，精料、百慕達乾草及乾淨飲水皆任食。在試驗前及試驗後進行仔公牛體重、體高、體長、胸圍、精料採食量、乾草採食量、血清生化值、淋巴細胞增生能力指數及牛流行熱抗體力價之量測。試驗結果顯示，飼糧中添加靈芝 8 週有提升仔公牛增重之趨勢 ($P = 0.09$)，在日增重方面，試驗組為 0.81 ± 0.10 kg/head；對照組則為 0.74 ± 0.09 kg/head。另在仔公牛體高、體長及胸圍方面，兩組間無差異。試驗組之隻日精料採食量及乾草採食量分別為 3.65 ± 0.24 、 0.78 ± 0.17 kg；對照組則為 3.45 ± 0.25 、 0.71 ± 0.16 kg。其餵飼 8 週後之血清生化檢測值未受到試驗處理影響，天門冬胺酸轉胺酶與血中尿素氮之平均值，對照組與試驗組皆在正常值範圍內，而試驗組比對照組有高的淋巴細胞增殖能力指數 (4.25 ± 0.63 vs. 2.23 ± 0.32 , $P < 0.01$)。在牛流行熱抗體力價方面，試驗組也比對照組有較高的抗體力價 (1.55 ± 0.22 vs. 1.13 ± 0.29 , $P < 0.01$)。綜上，飼糧添加靈芝可提升仔公牛之免疫細胞活力，未來靈芝有潛力做為良好的仔牛免疫調節飼糧添加物。

關鍵詞：仔公牛、生長性能、免疫反應、靈芝。

緒 言

仔牛的育成率攸關乳牛場繁殖的命脈，仔牛的飼養期約為 6 個月，包括哺乳期與生長期，新生仔牛經過約 2 個月之哺乳期後會進行斷乳，再進入另一仔牛生長期直至 6 月齡左右，此飼養過程，仔牛因為受到環境的適應性、斷乳、飼糧轉換及社會位序的改變等因子的影響，造成仔牛極大的緊迫，在此緊迫壓力下就容易發生仔牛消化系統與呼吸系統的疾病 (例如下痢與肺炎)，嚴重時甚至引發死亡 (吳，2002)，造成酪農嚴重的經濟損失。當仔牛下痢或肺炎時可以使用抗生素針劑來控制細菌感染及治療疾病。然而，近年來因應人類食物鏈而生的食安意識備受全球重視與關注，特別是抗生素使用不當所衍生之藥物殘留與抗藥性病原菌產生等公衛議題 (Van Boeckel *et al.*, 2015; Martin *et al.*, 2015)，因此如何減少抗生素使用量儼然成為全球畜產發展之重要趨勢 (Mathew *et al.*, 2007)。植物性飼料添加物或簡稱植生素，包括植物粉末、萃取物及植化物，可作為保健用飼料添加物。近年來，以中藥草為來源的植生素作為保健飼料添加物的研究更是發展蓬勃。

回顧我國傳統的中藥草應用於人類和動物的疾病治療，已超過二千年的歷史 (Sun *et al.*, 2013)，近來年有許多研究報告指出中藥草對動物健康深具功效潛能，例如：Abdallah *et al.* (2019) 研究指出，傳統中藥草副產物含有大量的生物活性化合物，可作為飼料添加物並提升動物健康。另應用中藥草於羔羊與豬隻之生長性能的研究，結果顯示中藥草可提升羔羊與豬隻之飼糧消化率和生長效益 (Du *et al.*, 2018)。李等 (2007) 之研究報告指出複方中藥草—蒲公英散 (含蒲公英 (*Taraxacum mongolicum*)、紫花地丁 (*Viola patrinu*)、金銀花 (*Lonicera japonica* Thunb.)、青皮 (*Citri reticulatae viride pericarpium*) 及甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) 添加於飼糧供高體細胞數牛隻採食，可降低牛乳

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2644 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(3) 中華大學財務管理學系兼任助理教授。

(4) 通訊作者，E-mail: khlee@mail.tlri.gov.tw。

體細胞數進而提升生乳品質與乳房健康。靈芝為我國傳統醫藥史上記載最久的藥用真菌之一，且靈芝的品種甚多，其中最著名也最被廣泛研究的品種是 *Ganoderma lucidum*。靈芝具有多種功效，最常被提及的是提升免疫能力與抗癌的功能，其中多醣體 (polysaccharides) 成分具有潛在的抗腫瘤活性 (Gao *et al.*, 2005; Kladar *et al.*, 2016; Carrieri *et al.*, 2017)。研究報告亦指出，靈芝具有增強免疫能力的作用，能誘導本體產生抗體及增強自然殺手細胞之活性或吞噬細胞激素如腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等，對外來癌細胞能加以抑制，對正常細胞則具有保護作用，亦可以直接誘導人類乳腺癌 MCF-7 細胞之凋亡 (Gao *et al.*, 2005)。靈芝的化學成分多達一百五十多種，概括分為多醣 (polysaccharide) 類、核苷 (nucleoside) 類、呋喃 (furan) 類、甾醇 (sterols) 類、生物鹼 (alkaloid) 類、三萜 (triterpene) 類與多胺基酸 (amino acid) 類 (包含蛋白質、酵素) 等七大類，另外還有一些微量的元素，如鋅、錳、鎢等，尤其是鎢元素更常被提到它的藥效。最重要的藥理活性成分靈芝多醣體和三萜類化合物 (triterpenoids)，三萜類化合物已被報告具有保肝、抗高血壓和降低膽固醇等作用。靈芝多醣體，尤其是 β -D- 葡聚糖 (beta-D-glucan) 具有抗腫瘤及抗血管增生之免疫調節作用 (Gao *et al.*, 2005)。此外，世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 建議全世界的會員國，主動地提升自己本國傳統的自然醫學的研究 (Kamboj, 2003)。粘等 (2011) 添加 0.2% 靈芝於飼糧中餵飼哺乳期仔豬，雖不影響其育成率及生長性能外，但可提升仔豬細胞性免疫能力 (包括淋巴細胞增殖能力及豬瘟中和抗體力價)。此外，研究報告指出靈芝水萃物作為乳牛飼料添加物時，可以增強乳牛免疫力和抗氧化能力 (Liu *et al.*, 2015)。Li *et al.* (2015) 指出於豬隻飼糧中添加靈芝，雖無提升育肥豬的生長性能，但可促進豬隻健康與提高豬肉品質。Lee *et al.* (2018) 添加靈芝於飼糧中餵飼保育期仔豬，結果顯示可提升豬隻之免疫力與育成率。此外，Liu *et al.* (2016) 研究報告指出，飼料中添加破壁靈芝孢子粉 200 mg/kg 給新生肉雞 (broiler) 吃 44 天後，結果顯示有提升生長性能及免疫調節能力。另國內仍面臨牛流行熱疫病之威脅，根據家畜衛生試驗所資料顯示造成牛流行熱疫病發生的主因為牛隻免疫接種率低、抗體力價 (小於 32 倍) 不足防禦野外病毒感染及環境緊迫因素讓牛隻無法有良好免疫力。根據李等 (2008) 牛流行熱市售疫苗免疫反應之研究報告指出，除不同疫苗廠牌與生產批次外，仔牛移行抗體的高低亦會影響疫苗注射後之抗體力價，當移行抗體高於 10 倍 ($1.00 \log_{10}$) 以上時，接受疫苗注射 4 週後未能有良好免疫反應，當移行抗體低於 7.3 倍 ($0.86 \log_{10}$) 以下時，接受疫苗注射 3 週後可激發免疫反應。由於靈芝功效性廣，除可提供人類健康管理之選擇與應用外，值得進一步研究應用於畜禽產業做為提升免疫力之飼糧添加物。因此，本試驗探討於飼糧中添加靈芝對荷蘭種仔公牛生長性能與免疫反應之影響。

材料與方法

本試驗所使用之動物均通過行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所實驗動物照護與使用小組 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 之審核。

I. 試驗動物及飼養管理

使用荷蘭種乳公牛，飼養在行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所傳統牛舍，選擇 8 週齡左右且體重相近 (約 70 kg) 之荷蘭種乳公牛 24 頭，逢機均分為兩組，每天每頭添加 0 g (對照組, $n = 12$) 或 10 g 靈芝 (子實體階段) (試驗組, $n = 12$)，試驗組之靈芝於每天早上提供精料時混合其中後餵飼。試驗設計採完全逢機試驗為期 8 週，每頭試驗牛飼養於同一棟牛舍之個別牛欄 (長 160 cm、寬 140 cm 及高 120 cm)，依飼養管理標準作業流程照顧，提供以磨碎玉米為主之精料 (表 1) 任食，並由獸醫師檢視仔牛每天採食精料的情形及健康狀況，固定於每天早上 8 時及下午 2 時各給予 2 – 3 kg 精料，會在給予後觀察牛隻有無突然短時間內大量採食精料，以避免牛隻過量採食引發鼓脹現象，並且在下次給予精料前秤重所剩之精料以紀錄牛隻的採食量。另百慕達乾草與乾淨飲水亦任食。乳公牛於 8 週齡時施打第 1 劑牛流行熱疫苗 (新北市，行政院農業委員會家畜衛生試驗所)，12 週齡時施打第 2 劑，以補強牛隻之免疫反應。挑選靈芝 (苗栗縣，和生技有限公司) 作為試驗材料，靈芝產自南投縣，以太空包人工培養 3 個月之菌體走絲期，菌體靈芝再經 1.5 個月之成長後即予採收，將整株靈芝 (子實體及梗) 經烘乾、研磨、過細目篩及收集研末。靈芝粉末分析其所含之總醣量 (粗多醣體) 為 88.12 ± 0.27 mg/g，其營養成分：每 100 g 含蛋白質 5.6 g、脂肪 0.6 g、碳水化合物 70.8 g、灰分 22.0 g、鈉 < 5 mg、熱量 311.0 大卡。

II. 測定項目

- 生長性能分析：於試驗前一天與試驗結束後一天量測所有牛隻之體重、體高 (wither height)、體長 (body length) 及胸圍 (heart girth)。記錄每頭牛每天之精料與乾草採食量。
- 血球性狀及血清生化值分析測定：於試驗採樣期間，從牛隻的頸靜脈處經 75% 酒精棉擦拭消毒後，以 18 號

針頭及無菌之兩種真空採血管 (一管含有 EDTA 抗凝血劑, 另一管則不含任何抗凝血劑) 進行採血, 分別各採約 9 mL 血液於採血管內, 將含 EDTA 抗凝血劑之採血管輕微與血液搖勻後置入冷藏箱待進行全血之檢驗。以自動血液檢測儀 (MEK-6400, NIHON KOHDEN Inc., Japan) 分析白血球數、紅血球數與血小板數, 以評估靈芝對乳牛血球組成的影響。另一不含任何抗凝血劑之採血管則靜置 10 分鐘後, 離心 $2,000 \times g$ 、15 分鐘, 分離血清於血清瓶中, 並保存至 -20°C 的冰箱, 直到要進行血清生化值與牛流行熱中和抗體力價分析時才解凍使用。以血清生化儀 (VITROS Chemistry System DT60 and DTSC, Johnson & Johnson Inc., USA) 分析天門冬胺酸轉胺酶 (aspartate aminotransferase, AST) 與血中尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 的濃度, 以評估靈芝對牛隻之肝與腎功能參考指數的影響。牛流行熱血清中和抗體力價分析: 於 8 週齡及 16 週齡採所有牛隻樣品送行政院農業委員會家畜衛生試驗所檢測牛流行熱抗體力價。

表 1. 生長期荷蘭仔公牛飼糧添加靈芝試驗之精料組成與營養成分

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the concentrate for 8-wk-old Holstein bull calves used in *Ganoderma lucidum* (GL) supplementation experiment

Ingredients	%, as feed basis
Corn, ground	60.0
Soybean meal	31.3
Molasses	5.0
Dicalcium phosphate	0.8
Sodium bicarbonate	0.4
Vitamin premix ¹	0.3
Mineral premix ²	0.2
Total	100.0
Analyzed value (%, as feed basis)	
Analyzed crude protein, %	17.0
Estimated NEg ³ , Mcal/kg	1.7

¹ Each kilogram of vitamin premix contains: Vitamin A, 10,000,000 IU; Vitamin D₃, 1,600,000 IU; and Vitamin E, 70,000 IU.

² Each kilogram of mineral premix contains: Fe, 50 g; Zn, 40 g; I, 0.5 g; Se, 0.1 g; Cu, 10 g; and Co, 0.1 g.

³ NEg value is calculated according to NRC (2001).

(iii) 淋巴細胞增殖反應分析 (peripheral lymphocyte proliferation assay): 從牛隻的頸靜脈處經 75% 酒精棉擦拭消毒後, 以 18 號針頭及無菌之採血管 (內含 EDTA 抗凝血劑) 進行採血, 採 9 mL 血液後輕微混合, 離心 $1,000 \times g$ 、15 分鐘, 使用無菌長針抽取白血球層之白血球於含培養液 RPMI 1640 (Cat.# 11875, Gibco) 之無菌離心管中, 再置於 96 微量培養盤中, 將白血球數調整為 10^5 個 / 孔, 加入 $10 \mu\text{g/mL}$ 伴刀豆球蛋白 (concanavalin A, ConA, Sigma) 刺激, 於 37°C 、5% CO_2 環境下培養 24 小時後, 每孔加入 $20 \mu\text{L}$ MTT 試劑 (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma), 繼續培養 4 小時, 加入 $200 \mu\text{L}$ dimethyl sulfoxide (DMSO, Wako), 室溫下靜置 30 分鐘後, 以波長 570 nm 測定其吸光值。

III. 統計分析

依試驗所得之數據, 以單因子變方分析, 並使用一般線性模式程序 (general linear model procedure, GLM), 進行變方分析, 當 $P < 0.05$ 表差異顯著, $P < 0.01$ 表差異極顯著 (SAS, 2002)。

結果與討論

飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛生長性能之影響如表 2。試驗結果顯示, 飼糧中添加靈芝 8 週有提升乳公牛增重之趨勢 ($P = 0.09$), 在隻日增重方面, 試驗組為 $0.81 \pm 0.10 \text{ kg}$; 對照組則為 $0.74 \pm 0.09 \text{ kg}$ 。飼糧添加靈芝對荷蘭乳公牛體型之影響如表 3, 在試驗前後每頭牛隻平均增加體高、體長及胸圍方面, 對照組依序為 7.2 ± 3.0 、 11.2 ± 2.9 及 $13.4 \pm 3.7 \text{ cm}$, 試驗組為 8.0 ± 1.7 、 11.7 ± 2.6 及 $13.8 \pm 5.1 \text{ cm}$, 兩組無顯著差異存在。試驗組之隻日精料採食量

及乾草採食量分別為 3.65 ± 0.24 及 0.78 ± 0.12 kg；對照組則為 3.45 ± 0.25 及 0.71 ± 0.12 kg，兩組無顯著差異存在。依據作者於 2014 年執行「應用中草藥提升荷蘭乳公牛生長性能之評估」計畫之試驗結果顯示，每頭飼糧添加中藥草複方 A (10 g，包括靈芝、白朮及炙甘草等) 之試驗組有提升年輕荷蘭種公牛總增重 (45.4 ± 5.0 vs. 38.1 ± 11.8 kg) 表現之趨勢。故本試驗在飼糧添加靈芝的劑量設計為每日每頭 10 g，從試驗結果顯示未有顯著提升牛隻增重的表現。

表 2. 飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛增重與採食量之影響

Table 2. Effects of *Ganoderma lucidum* (GL) supplementation on body weight change and diet intake of the Holstein bull calves

Items	Control	GL supplementation	P value
No.	12	12	-
Initial body weight, kg/head	76.8 ± 3.3	76.5 ± 2.6	0.79
Final body weight, kg/head	118.3 ± 8.1	122.0 ± 7.7	0.27
Body weight gain, kg/head	41.6 ± 5.1	45.5 ± 5.6	0.09
Daily gain, kg/head	0.74 ± 0.09	0.81 ± 0.10	0.09
Daily concentrate intake, kg/head	3.45 ± 0.25	3.65 ± 0.24	0.05
Daily hay intake, kg/head	0.71 ± 0.12	0.78 ± 0.15	0.27

The data were given as mean \pm SD.

All performance traits were not affected by GL supplementation ($P > 0.05$).

飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛血液生化檢測值之影響如表 4。結果顯示，在血清生化指數之肝與腎 (AST 及 BUN) 功能參考指數方面，對照組試驗前 AST 及 BUN 平均值依序為 41.8 ± 12.5 U/L 及 6.3 ± 1.5 mg/dL，試驗後則依序為 42.4 ± 13.1 U/L 及 5.7 ± 1.0 mg/dL；試驗組試驗前 AST 及 BUN 平均值依序為 42.3 ± 10.0 U/L 及 5.7 ± 1.6 mg/dL，試驗後則依序為 40.2 ± 10.5 U/L 及 5.2 ± 1.1 mg/dL。雖然試驗組 AST 降幅為 2.1 U/L，而對照組之升幅為 0.6 U/L，但兩組間無統計上之差異，在試驗前與後兩組平均 AST 及 BUN 值皆在正常值範圍內 (AST: 21-100 U/L, BUN: 2.9-8.9 mg/dL) (沈，1987)，顯示餵食靈芝的試驗組牛隻在肝腎功能參考指數上沒有立即的影響。本試驗結果與 Lee *et al.* (2018) 之研究結果相類似，試驗期間使用靈芝後的離乳豬其平均 AST 及 BUN 值皆在正常值範圍內。肝臟扮演體內有毒化合物的代謝和解毒作用的角色，當肝臟受傷發炎時，血清中之 AST 和丙胺酸胺基轉移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 濃度上升 (Hsu *et al.*, 2008)。Kim *et al.* (1999) 之研究報告顯示靈芝萃取物具護肝之功能，Zhang *et al.* (2002) 之研究結果指出靈芝多醣體具護肝之作用，可顯著減輕小鼠之肝臟腫脹，降低血清中 ALT 和一氧化氮 (NO) 的產生。但本試驗未能顯現有護肝之效果，可能是試驗牛隻所處之環境及飼養因子較單純良好，因此對其肝功能參考指數之影響未能顯現。

表 3. 飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛體型之影響

Table 3. Effects of *Ganoderma lucidum* (GL) supplementation on body types of the Holstein bull calves

Item	Control (n = 12)			GL supplementation (n = 12)			
	Before	After	Difference	Before	After	Difference	P value
Wither height (cm)	85.0 ± 1.7	92.2 ± 4.0	7.2 ± 3.0	85.2 ± 2.3	92.7 ± 4.1	7.5 ± 2.6	0.78
Body length (cm)	84.1 ± 2.5	95.3 ± 3.2	11.2 ± 2.9	84.3 ± 2.1	95.8 ± 4.3	11.7 ± 2.6	0.66
Heart girth (cm)	98.6 ± 1.2	112.0 ± 3.6	13.4 ± 3.7	98.0 ± 1.9	111.8 ± 5.7	13.8 ± 5.1	0.82

The data were given as mean \pm SD.

All performance traits were not affected by GL supplementation ($P > 0.05$).

¹ Difference = After trial – Before trial.

多醣體是由 10 多個單糖體鍵結而成為一種天然的巨分子聚合物，具有廣泛的生物活性 (Chen and Huang, 2018)。食用蘑菇多醣體是多醣體家族的成員之一，由於食用蘑菇多醣體屬天然之化合物且具有各種生物活性和低毒性的特性，所以非常適合被開發為功能性食品和營養保健品 (Giavasis, 2014)。一些食用蘑菇多醣體 (包含靈芝)

的作用機制被認為是透過多元管道與標的物來調節身體的免疫功能，包括參與細胞的活性調節、細胞表面特異性受體的結合、激活各種細胞信號轉導途徑及刺激細胞因子或抗體分泌 (Jiang *et al.*, 2010)。靈芝使用在治療疾病與調節身體平衡 (Li and Xu, 2011; Zhao, 2013; Ahmad, 2018) 已超過 2,000 年的歷史，中國古代醫學學者認為靈芝具有「扶正固本」的活性，這表示靈芝可以增強身體抵抗力，鞏固患者的體質 (Lin and Zhang, 2004)。目前的研究已經發現靈芝多醣體主要表現在免疫細胞之調節功能，包括 T 細胞、B 細胞、巨噬細胞、樹突細胞和自然殺手細胞 (Xu *et al.*, 2011; Batra *et al.*, 2013; Zhao, 2013)。Huang *et al.* (2019) 研究報告指出靈芝多醣體和豬苓 (*Polyporus umbellatus*) 多醣體的組合物增強了小鼠腹腔巨噬細胞的吞噬功能及自然殺手細胞的活性。

飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛血液細胞增殖能力之影響如表 4。在體外試驗，細胞增殖能力檢測結果，顯示 8 週齡時 (試驗前)，對照組得到的細胞增殖能力指數為 2.12 ± 0.38 ，試驗組則為 2.08 ± 0.45 ，二組間無差異存在；當試驗進行到 16 週齡時 (試驗後)，對照組得到的細胞增殖能力指數為 2.23 ± 0.32 ，試驗組則為 4.25 ± 0.63 ，試驗組與對照組之間有極顯著差異存在 ($P < 0.01$)，顯示試驗組有較佳之淋巴細胞增殖能力。本試驗結果與 Lee *et al.* (2018) 之結果相類似，使用靈芝添加於離乳豬飼糧中能促進淋巴細胞之增殖，添加靈芝的試驗組比無添加靈芝的對照組可提升淋巴細胞增殖能力指數達 3.5。Van der Hem *et al.* (1995) 發現一種從靈芝萃取純化而來的蛋白質 LZ-8，LZ-8 對小鼠脾臟細胞及人類單核細胞具備有絲分裂之免疫刺激功能。從靈芝的子實體中發現了另一種多醣體 (PS-G)，能夠激活巨噬細胞及活化 T 細胞的增殖 (Wang *et al.*, 1997)。巨噬細胞具吞噬作用是身體防禦異物入侵的主要機制之一 (Hirayama *et al.*, 2017)，被激活的巨噬細胞會參與炎症反應 (Li *et al.*, 2019)，增強吞噬作用、釋放 TNF- α 等細胞激素 (Sun *et al.*, 2017) 及協助病原體的清除 (Chanmee *et al.*, 2014)。此外，Zhang *et al.* (2002) 之研究顯示，靈芝內含之 GLIS (proteoglycan，一種具生物活性的多醣) 成分會刺激小鼠脾臟淋巴細胞之活化、增殖與分化。以上數據與本試驗的結果相似，顯示靈芝促進了血液中淋巴細胞增殖的潛力，推測可能與靈芝內含之 LZ-8、PS-G 及 GLIS 相關。

表 4. 飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛血清生化值、淋巴細胞增殖指數及牛流行熱抗體力價之影響

Table 4. Effects of *Ganoderma lucidum* (GL) supplementation on clinical blood biochemical values, peripheral lymphocyte proliferation index and bovine ephemeral fever (BEF) antibody titer of Holstein bull calves

Item	Control (n = 12)		GL supplementation (n = 12)		Normal range ¹
	Before	After	Before	After	
AST (U/L)	40.2 ± 10.5	42.4 ± 13.1	42.3 ± 10.0	40.2 ± 10.5	21 – 94
BUN (mg/dL)	6.3 ± 1.5	5.7 ± 1.0	5.7 ± 1.6	5.2 ± 1.1	2.9 – 8.9
Peripheral lymphocyte proliferation index	2.12 ± 0.38	2.23 ± 0.32^a	2.08 ± 0.45	4.25 ± 0.63^b	—
BEF antibody titer (\log_{10})	0.58 ± 0.15	1.13 ± 0.29^a	0.58 ± 0.20	1.55 ± 0.22^b	—

The data were given as mean \pm SD.

AST: aspartate aminotransferase; BUN: blood urea nitrogen.

¹ 沈永紹。1987。獸醫實驗診斷學提要。

^{a, b} Means in the same raw with different superscripts differ ($P < 0.05$).

結果顯示，靈芝有較佳之牛流行熱抗體力價表現，試驗組平均牛流行熱抗體力價由 0.58 ± 0.20 上升至 1.55 ± 0.22 ；對照組則由 0.58 ± 0.15 升至 1.13 ± 0.29 (表 4)。本試驗仔牛在 8 週齡之牛流行熱 (移行) 抗體力價為 0.58，與李等 (2008) 所指出當移行抗體低於 0.86 以下時接受疫苗注射 3 週後可激發免疫反應之結果相似，兩組牛隻再次接受疫苗補強後抗體力價皆有上升。國外研究報告指出靈芝多醣體，具許多調節免疫系統之功能，例如：抗原呈現細胞、T 細胞與 B 細胞、自然殺手細胞及嗜中性顆粒球 (Wang *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2002)。根據 Zhang *et al.* (2002) 之研究報告指出，靈芝 GLIS 成分特別會對 B 細胞產生刺激而被活化，不僅促使 B 細胞的形態變大，還能刺激 B 細胞之表面抗原分化簇 (cluster of differentiation, CD) 71 和 CD25 醣蛋白分子的表現，並提升了高免疫球蛋白 (抗體) 合成的數量。本試驗組牛隻有較佳之抗體力價，推測可能與靈芝內含之 GLIS 成分相關。臺灣酪農業過去曾爆發過 6 次牛流行熱大流行，造成相當大的經濟損失，近年來由於牛流行熱在臺灣呈現週期性發生，儼然已成為常在性疾病，以往好發於夏到秋季，但是受極端氣候的影響現在臺灣全年均有可能發生牛流行熱。根據 Liao *et al.* (1998) 及丁等 (2002) 之研究發現牛流行熱疫情爆發的時刻，正好是牛隻血清中和抗體力價最沒有保護力的時間點，其中又以 6 到 24 個月齡的牛隻最易受到感染而發病，所以防治牛流行熱除加強防治病媒蚊外，更需藉助疫苗免疫牛隻以產生高抗體保護力方能有效對抗病毒的感染。本試驗顯示，飼糧添加靈芝的試驗組仔公牛有較佳的牛流行熱抗體力價表現，未來可評估將靈芝添加物應用於 6 到 24 個月齡牛隻，配合牛流行熱疫苗施打計畫，期能產生高抗體保護力。

價達有效防治牛流行熱之目的。

靈芝多用於人類的身體保健，因其價格不菲且鮮少應用於家畜等經濟動物。本試驗考量產業應用的可行性，採用價格較便宜之靈芝下腳品（經烘乾研磨成粉狀 760 元/kg）做為試驗材料，以及應用於體重較輕的生長期仔公牛，除相對每日餵食靈芝的劑量（10 g）相對較少外，也考量此生長期的仔牛因為受到飼養環境的適應性、斷乳、飼糧轉換及社會位序的改變等因子的影響，易發生緊迫、免疫力下降、抵抗力差及生病等（例如下痢及肺炎），當染病嚴重時會引發死亡（吳，2000），估算成本每頭牛每天花費 7.6 元，試驗為期 56 天計花費 425.6 元。由本試驗結果顯示，飼糧添加靈芝對荷蘭種仔公牛可促進淋巴細胞增殖及活化免疫抗體產生之效果，藉以提升體內細胞性防禦，發揮細胞毒殺作用來清除外源性病原，達保護動物健康之目的，未來如應用於提升乳牛場仔牛健康及育成率，對經濟效益的表現有其潛能。

結 論

研發無抗生素之畜禽飼養模式已成為一種趨勢，中藥草多元應用於畜牧產業，可創造產品之差異性，將可成為消費者的另一選項，靈芝富含多醣體具多種免疫調節之功能，本試驗結果顯示，使用靈芝添加於荷蘭種仔公牛飼糧中，能促進體內淋巴細胞增殖與牛流行熱中和抗體產生，確有提升免疫力之效果，建議靈芝可做為飼糧添加物添加於生長期仔牛飼糧中，以提升仔牛之免疫力。

誌 謝

本試驗承蒙行政院農業委員會之科技計畫經費之支持、行政院農業委員會家畜衛生試驗所之牛流行熱抗體檢測、本分所獸醫團隊及全體員工之支持與協助，讓試驗能如期完成，特此致謝。

參考文獻

- 丁履紉、李敏旭、郭舒亭、鄭明珠、蕭終融。2002。牛流行熱疫情監控及免疫適期之探討。行政院農業委員會家畜衛生試驗所，新北市，第 1-8 頁。
- 吳永惠。2002。牛病學。藝軒圖書出版社，臺北市，第 154-159 頁。
- 沈永紹。1987。獸醫實驗診斷學提要。華香園出版社，臺北市，第 310-311 頁。
- 李國華、葉家舟、陳志毅、郭桑硯、李素珍、張菊犁、季昭華。2007。應用抗炎複方蒲公英散降低牛乳體細胞數。畜產研究 40：279-287。
- 李明昌、陳世平、丁履紉、鄭益謙。2008。牛流行熱市售疫苗免疫反應之研究。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局，臺北市，第 1-11 頁。
- 粘碧珠、李國華、葉家舟、林文宏、胡見龍、陳志毅、賈玉祥、張菊犁、林祥生、季昭華。2011。飼糧中添加靈芝對哺乳仔豬免疫力之探討。臺灣獸醫誌 37：104-110。
- Ahmad, M. F. 2018. *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. Biomed. Pharmacother. 107: 507-519.
- Abdallah, A., P. Zhang, Q. Zhong and Z. Sun. 2019. Application of traditional Chinese herbal medicine by-products as dietary feed supplements and antibiotic replacements in animal production. Curr. Drug Metab. 20: 54-64.
- Batra, P., A. K. Sharma and R. Khajuria. 2013. Probing Lingzhi or Reishi medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes): A bitter mushroom with amazing health benefits. Int. J. Med. Mushrooms 15: 127-143.
- Carrieri, R., R. Manco, D. Sapio, M. Iannaccone, A. Fulgione, M. Papaiani, B. de Falco, L. Grauso, P. Tarantino, F. Ianniello, V. Lanzotti, E. Lahoz and R. Capparelli. 2017. Structural data and immunomodulatory properties of a water-soluble heteroglycan extracted from the mycelium of an Italian isolate of *Ganoderma lucidum*. Nat. Prod. Res. 31: 2119-2125.
- Chanmee, T., P. Ontong, K. Konno and N. Itano. 2014. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. Cancer 6: 1670-1690.

- Chen, F. and G. Huang. 2018. Preparation and immunological activity of polysaccharides and their derivatives. *Int. J. Biol. Macromol.* 112: 211-216.
- Du, Z., N. Risu, G. Gentu, Y. Jia and Y. Cai. 2018. Growth performance, apparent digestibility, and N balance in Mongolian lambs and hogs fed diets supplemented with a Chinese traditional herbal medicine complex. *Anim. Sci. J.* 89: 1451-1458.
- Gao, Y., H. Gao, E. Chan, W. Tang, A. Xu, H. Yang, M. Huang, J. Lan, X. Li, W. Duan, C. Xu and S. Zhou. 2005. Antitumor activity and underlying mechanisms of Ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*, in mice. *Immunol. Invest.* 34: 171-198.
- Giavasis, I. 2014. Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. *Curr. Opin. Biotechnol.* 26: 162-173.
- Hirayama, D., T. Iida and H. Nakase. 2017. The phagocytic function of macrophage-enforcing innate immunity and tissue homeostasis. *Int. J. Mol. Sci.* 19: 92-98.
- Hsu, C. H., K. C. Hwang, Y. H. Chiang and P. Chou. 2008. The mushroom *Agaricus blazei* Murill extract normalizes liver function in patients with chronic hepatitis B. *J. Altern. Complement Med.* 14: 29930-29936.
- Huang, Q., L. Li, H. Chen, Q. Liu and Z. Wang. 2019. GPP (composition of *Ganoderma lucidum* poly-saccharides and *Polyporus umbellatus* poly-saccharides) enhances innate immune function in mice. *Nutrients* 11: 1480-1489.
- Jiang, M. H., L. Zhu and J. G. Jiang. 2010. Immunoregulatory actions of polysaccharides from Chinese herbal medicine. *Expert Opin. Ther. Targets.* 14: 1367-1402.
- Kamboj, V. P. 2003. Herbal medicine. *Current Sci.* 78: 35-39.
- Kim, D. H., S. B. Shim, N. J. Kim and I. S. Jang. 1999. Beta-glucuronidase-inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum*. *Biol. Pharm. Bull.* 22: 162-164.
- Kladar, N. V., N. S. Gavarić and B. N. Božin. 2016. Ganoderma: insights into anticancer effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 25: 462-471.
- Lee, K. H., P. C. Nien, T. C. Chen, C. C. Yeh, J. Y. Chen, W. H. Lin, T. T. Lee, Y. S. Jea and C. H. Chi. 2018. Dietary supplementation of *Ganoderma lucidum* powder enhances survival and immunocompetence of weaning pigs. *Taiwan Vet. J.* 44: 1-8.
- Li, X. and W. Xu. 2011. TLR4-mediated activation of macrophages by the polysaccharide fraction from *Polyporus umbellatus* (Pers.) fries. *J. Ethnopharmacol.* 135: 1-6.
- Li, X. L., L. P. He, Y. Yang, F. J. Liu, Y. Cao and J. J. Zuo. 2015. Effects of extracellular polysaccharides of *Ganoderma lucidum* supplementation on the growth performance, blood profile, and meat quality in finisher pigs. *Livestock Sci.* 178: 187-194.
- Li, Q. Z., Y. Z. Chang, Z. M. He, L. Chen and X. W. Zhou. 2019. Immunomodulatory activity of *Ganoderma lucidum* immunomodulatory protein via PI3K/Akt and MAPK signaling pathways in RAW264.7 cells. *J. Cell Physiol.* 234: 23337-23348.
- Lin, Z. B. and H. N. Zhang. 2004. Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms. *Acta. Pharmacol. Sin.* 25: 1387-1395.
- Liao, Y. K., Y. Inaba, N. I. Li, C. Y. Chain, S. L. Lee and P. P. Liou. 1998. Epidemiology of bovine ephemeral fever virus infection in Taiwan. *Microbiol. Res.* 153: 289-295.
- Liu, T., Q. Ma, L. Zhao, R. Jia, J. Zhang, C. Ji and X. Wang. 2016. Protective effects of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* on growth performance, antioxidant capacity and immune function of broiler chickens exposed to low level of aflatoxin B1. *Toxins* 8: 278-290.
- Liu, Y., C. Zhao, D. Lin, H. Lan and Z. Lin. 2015. Effects of *Ganoderma lucidum* spent mushroom substrate extract on milk and serum immunoglobulin levels and serum antioxidant capacity of dairy cows. *Trop. J. Pharm. Res.* 14: 1049-1055.
- Martin, M. J., E. T. Sapna and B. N. Thomas. 2015. Antibiotics overuse in animal agriculture: a call to action for health care providers. *Am. J. Public Health* 105: 2409-2410.
- Mathew A. G., R. Cissell and S. Liamthong. 2007. Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production. *Foodborne Pathog. Dis.* 4: 115-133.
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th ed. National Academy Press. Washington, D. C. USA.

- SAS. 2002. SAS version 9.00. Statistical Analysis Institute. Inc., Cary, N. C. USA.
- Sun, L. X., Z. B. Lin, J. Lu, W. D. Li, Y. D. Niu, Y. Sun, C. Y. Hu, G. Q. Zhang and X. S. Duan. 2017. The improvement of M1 polarization in macrophages by glycopeptide derived from *Ganoderma lucidum*. Immunol. Res. 65: 658-665.
- Sun, Z. K., H. Q. Yang and S. Di. 2013. Traditional Chinese medicine: a promising candidate for the treatment of Alzheimer's disease. Transl. Neurodegener. 2: 6-12.
- Van, Boeckel T. P., C. Brower, M. Gilbert, B. T. Grenfell, S. A. Levin, T. P. Robinson, A. Teillant and R. Laxminarayan. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112: 5649-5654.
- Van der Hem, L. G., J. A. van der Vliet, C. F. Bocken, K. Kino, A. J. Hoitsma and W. J. Tax. 1995. Ling Zhi-8: studies of a new immunomodulating agent. Transplantation 60: 438-443.
- Wang, S. Y., M. L. Hsu, H. C. Hsu, C. H. Tzeng, S. S. Lee, M. S. Shiao and C. K. Ho. 1997. The anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. Int. J. Cancer 70: 699-705.
- Xu, Z., X. Chen, Z. Zhong, L. Chen and Y. Wang. 2011. *Ganoderma lucidum* polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities. Am. J. Chin. Med. 39: 15-27.
- Zhang, J., Q. Tang, M. Zimmerman-Kordmann, W. Reutter and H. Fan. 2002. Activation of B lymphocytes by GLIS, a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum*. Life Sci. 71: 623-638.
- Zhao, Y.Y. 2013. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and quality control of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries: A review. J. Ethnopharmacol. 149: 35-48.

Effect of *Ganoderma lucidum* supplementation on growth performance and immune response in Holstein bull calves ⁽¹⁾

Kuo-Hua Lee ^{(2) (4)} Wen-Hung Lin ⁽³⁾ Jih-Yi Chen ⁽²⁾ Yi-Hsuan Chen ⁽²⁾ and Yi-Ming Chen ⁽²⁾

Received: Jan. 8, 2020; Accepted: Jul. 17, 2020

Abstract

This study analyzes the effects of *Ganoderma lucidum* (GL) supplementation on the growth performance and immune response in Holstein bull calf. A total of 24 Holstein bull calves weaned at 8 weeks old were randomly divided into two groups. Calves received diets adding 0 (control group) or 10 g GL powder (treatment group) daily for 8 weeks. The calves were fed individually with all fine feed, Bermuda hay and clean water. At the start and end of the experiment diet intake, body weight, wither height, body length, heart girth, peripheral lymphocyte proliferation index, the blood biochemical parameters and bovine ephemeral fever (BEF) antibody titer were analyzed. The results showed that calves fed GL powder had the significantly ($P < 0.01$) increased peripheral lymphocyte proliferation index (4.25 ± 0.63 vs. 2.23 ± 0.32) and BEF antibody titer (1.55 ± 0.22 vs. 1.13 ± 0.29), compared to the control group. However, the diet intake, body weight, wither height, body length, heart girth, aspartate aminotransferase (AST) and blood urea nitrogen (BUN) were not significantly different between control group and treatment group. In conclusion, the addition of *Ganoderma lucidum* in the diet could enhance the activity of the immune cells of Holstein bull calves. In the future, *Ganoderma lucidum* may be used as an immunity enhancing supplement for calves.

Key words: Bull calf, Growth performance, Immune response, *Ganoderma lucidum*.

(1) Contribution No. 2644 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Hsinchu Branch, COA-LRI, Miaoli 36841, Taiwan, R. O. C.

(3) Adjunct Assistant Professor, Department of Finance, Chung Hua University.

(4) Corresponding author, E-mail: khlee@mail.tlri.gov.tw.