

饲料叶酸对鹅生长性能、血清生化指标和酶活性及肝脏亚甲基四氢叶酸还原酶基因表达量的影响

孟苓凤 王宝维* 葛文华 张名爱 岳斌 王姣 王迪 陈苗璐
(青岛农业大学优质水禽研究所, 青岛 266109)

摘要: 本试验旨在通过探讨饲料叶酸水平对1~15周龄鹅生长性能、血清生化指标和酶活性及肝脏亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)基因表达量的影响,以确定在育雏期(1~4周龄)、育成期(5~15周龄)鹅饲料中叶酸的适宜添加水平。试验选用1日龄青农灰鹅360只,随机分为6个组,每组6个重复,每个重复10只鹅。试验鹅分别饲喂在基础饲料中添加0(对照组)、1、2、4、8、16 mg/kg叶酸的试验饲料。试验期15周。结果表明:1)饲料添加叶酸能显著或极显著提高1~4周龄鹅平均日增重($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),显著降低1~4周龄鹅料重比($P < 0.05$),降低死淘率。2)饲料添加叶酸能显著降低1~4周龄鹅血清葡萄糖含量($P < 0.05$),显著提高1~4周龄鹅血清甘油三酯含量($P < 0.05$)。饲料添加8 mg/kg叶酸可显著降低1~4周龄鹅血清尿素氮含量($P < 0.05$);添加16 mg/kg叶酸可显著降低5~15周龄鹅血清尿素氮含量($P < 0.05$)。饲料添加2~16 mg/kg叶酸可显著降低1~4周龄和5~15周龄鹅血清同型半胱氨酸含量($P < 0.05$)。3)饲料添加1、2 mg/kg叶酸可显著提高1~4周龄鹅血清MTHFR活性($P < 0.05$),显著降低血清二氢叶酸还原酶(DHFR)活性($P < 0.01$, $P < 0.05$),添加2 mg/kg叶酸可显著降低血清谷草转氨酶和乳酸脱氢酶活性($P < 0.05$)。饲料添加2 mg/kg叶酸可显著提高5~15周龄鹅血清MTHFR活性($P < 0.05$)。4)1~4周龄,*MTHFR*基因表达量与MTHFR活性显著正相关($P < 0.05$),与DHFR活性显著负相关($P < 0.05$);5~15周龄,*MTHFR*基因表达量与MTHFR和谷丙转氨酶活性显著负相关($P < 0.05$)。由以上结果可知:1)根据生长性能建立的回归方程得出,建议鹅饲料中育雏期叶酸添加水平为2.45 mg/kg,育成期添加水平为2.08 mg/kg;添加叶酸可降低死淘率;2)叶酸水平对鹅血清生化指标和酶活性有重要的调控作用;3)叶酸对鹅肝脏中*MTHFR*基因的表达量有直接影响,*MTHFR*基因表达量与MTHFR、DHFR和谷丙转氨酶活性密切相关。

关键词: 叶酸;鹅;生长性能;血清生化指标;酶活性;*MTHFR*基因表达量

中图分类号:S835

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2013)05-0985-11

叶酸又名维生素B₁₁,是家禽生长中必须从饲料中获取的水溶性维生素。叶酸在动物的新陈代谢中发挥着重要的生理功能,是脂肪代谢不可缺乏的辅酶,对氨基酸代谢和蛋白质、核酸的生物合成有重要影响,并能降低尿素氮(UN)含量及同型

半胱氨酸(Hcy)引发的消极作用^[1]。1998年1月1日起,美国食品与医药管理局(FDA)开始实施谷物制品中必须强化叶酸的规定。目前,世界各国对叶酸的推荐使用量大多是以满足家禽基本需要作为主要标准。NRC(1984)规定鹅饲料中叶酸的

收稿日期:2012-10-30

基金项目:国家水禽产业技术体系专项基金(CARS-43-11)

作者简介:孟苓凤(1988—),女,山东聊城人,硕士研究生,从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: lingfengmeng.2008@163.com

*通讯作者:王宝维,教授,硕士生导师,E-mail: wangbw@qau.edu.cn

添加水平最大量为 0.55 mg/kg, NRC(1994) 建议参考蛋鸡中叶酸添加水平为 0.55 mg/kg。巴斯夫(BASF) 公司提出的雏鸡叶酸需要量在 0.60 mg/kg。但这些都只是最低需要量, 以临床上不出现缺乏症为准, 实际生产中为了追求更大的动物生产成绩, 维生素的添加水平比标准要高出很多。Abas 等^[2] 研究表明, 叶酸可显著提高罗曼蛋鸡增重、产蛋量和蛋品质。El-Hussein 等^[3] 研究发现, 叶酸可显著降低谷丙转氨酶(ALT) 和谷草转氨酶(AST) 活性, 显著提高鸡的生长性能。Whitehead 等^[4] 研究表明, 肉鸡饮食中叶酸适宜添加水平为 2.5 ~ 3.0 mg/kg。杨光波等^[5] 研究表明, 仔猪饲料中叶酸适宜添加水平为 2.5 mg/kg, 叶酸不足或者过高都将影响动物的生长性能。叶酸在人类医学领域已进行了深入研究, 对生长鸡和鸭的作用研究已有报道, 但叶酸对鹅生长发育的影响尚未见报道。本试验旨在通过在鹅饲料中添加不同水平的叶酸, 以确定叶酸适宜添加水平, 为丰富我国鹅营养需要量的数据库, 科学配制鹅饲料配方及更好的指导实践提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试验设计

选用 1 日龄同批孵化、体重相近、体况健康的肝用型青灰鹅 360 只, 随机分为 6 个组, 每组 6 个重复, 每个重复 10 只鹅, 公母各占 1/2。各组分别饲喂在基础饲料中添加 0 (I 组, 对照组)、1 (II 组)、2 (III 组)、4 (IV 组)、8 (V 组) 和 16 mg/kg (VI 组) 叶酸的试验饲料。试验期 15 周。试验鹅由国家水禽产业技术体系育种基地高密银河润雁鹅业有限公司提供。试验用叶酸购自常州市新鸿医药化工技术有限公司, 其有效成分为 95%。

1.2 基础饲料

基础饲料参照 NRC(1994) 建议的鹅营养需要量和饲料成分及营养价值表设计。全期分为 1 ~ 4 周龄(育雏期) 和 5 ~ 15 周龄(育成期) 2 个饲养阶段, 基础饲料组成及营养水平见表 1。

1.3 饲养管理

试验鹅采用地面平养方式, 全期自由饮水和采食。按照常规进行免疫、消毒和饲养管理。每天记录饲料量, 观察鹅的生长状况。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

| 项目 Items | 含量 Content | |
|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| | 1 ~ 4 周龄 1 to 4 weeks of age | 5 ~ 15 周龄 5 to 15 weeks of age |
| 原料 Ingredients | | |
| 玉米 Corn | 57.09 | 62.10 |
| 豆粕 Soybean meal | 15.80 | 16.06 |
| 羊草粉 Chinese wildrye powder | | 9.60 |
| 小麦麸 Wheat bran | 11.00 | |
| 花生粕 Peanut meal | 3.00 | 2.12 |
| 棉籽粕 Cottonseed meal | 4.00 | |
| 玉米干酒糟及其可溶物 Corn DDGS | 5.00 | 6.00 |
| 玉米胚芽粕 Corn germ meal | | 0.78 |
| 磷酸氢钙 CaHPO ₄ | 1.60 | 1.13 |
| 食盐 NaCl | 0.24 | 0.34 |
| 石粉 Limestone | 1.20 | 1.00 |
| 碳酸氢钠 NaHCO ₃ | 0.10 | |
| 赖氨酸 Lys | 0.30 | 0.26 |
| 多维 Multi-vitamin ¹⁾ | 0.30 | 0.30 |
| 微量元素 Trace elements ¹⁾ | 0.20 | 0.20 |
| 蛋氨酸 Met | 0.17 | 0.11 |
| 合计 Total | 100.00 | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels ²⁾ | | |
| 粗蛋白质 CP | 18.00 | 16.00 |
| 赖氨酸 Lys | 1.00 | 0.80 |
| 蛋氨酸 + 胱氨酸 Met + Cys | 0.70 | 0.60 |
| 钙 Ca | 0.85 | 0.70 |
| 有效磷 AP | 0.42 | 0.32 |
| 代谢能 ME/(MJ/kg) | 11.30 | 11.50 |
| 食盐 NaCl | 0.30 | 0.38 |
| 蛋氨酸 Met | 0.42 | 0.35 |
| 苏氨酸 Thr | 0.64 | 0.58 |
| 粗纤维 CF | 3.46 | 5.00 |
| 叶酸 Folic acid | 0.60 | 0.55 |

¹⁾ 每千克多维和微量元素含有 One kilogram of multi-vitamin and trace elements contained the following: 1 ~ 4 周龄 1 to 4 weeks of age, VD₃ 200 IU, VA 1 500 mg, VE 12.5 mg, VK₃ 1.5 mg, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 5.0 mg, 烟酸 nicotinic acid 65 mg, 泛酸 pantothenate 15 mg, VB₆ 2 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, 胆碱 choline 1 000 mg, Fe 90 mg, Cu 6 mg, Mn 85 mg, Zn (as zinc sulfate) 85 mg, I 0.42 mg, Se 0.3 mg, Co 2.5 mg。5 ~ 15 周龄 5 to 15 weeks of age, VD₃ 200 IU, VA 1 500 mg, VE 12.5 mg, VK₃ 1.5 mg, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 5.0 mg, 烟酸 nicotinic acid 65 mg, 泛酸 pantothenate 15 mg, VB₆ 2 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, 胆碱 choline 1 000 mg, Fe 85 mg, Cu 5 mg, Mn 80 mg, Zn (as zinc sulfate) 80 mg, I 0.42 mg, Se 0.3 mg, Co 2.5 mg。

²⁾ 营养水平除叶酸含量为实测值外, 其他均为计算值。Nutrient levels were calculated values except folic acid content.

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长性能指标

于4、8、15周龄末分别以重复为单位进行空腹称重,计算1~4周龄、5~8周龄、9~15周龄的平均日增重。每周末以重复为单位,去除料槽中剩余料量,统计饲料消耗,并计算平均日采食量和料重比。每天记录各试验组死亡情况,计算死淘率。

1.4.2 血清生化指标

15周龄末称重后,每重复随机抽取2只鹅,翅静脉采血10 mL,3 000 r/min离心制得血清样品。血清葡萄糖(GLU)含量采用葡萄糖氧化酶法测定;总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)含量采用考马斯亮蓝法测定;胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)含量采用酶法测定;Hcy含量采用ELISA试剂盒检测;UN含量采用脲酶法测定。上述指标均用试剂盒测定,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.4.3 血清酶活性指标

亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)和二氢叶酸还原酶(DHFR)活性均采用酶联免疫分析(ELISA)试剂盒检测;ALT、AST和乳酸脱氢酶(LDH)活性均采用日立7600全自动生化仪检测。

1.4.4 MTHFR 基因表达量及相关性分析

饲养试验的15周龄末,从每组中分别抽取12只体重接近该组平均体重的试验鹅,放血处死后,迅速剖开腹腔,取出肝脏,用液氮速冻,并转至-80℃的冰箱内保存,用于荧光定量PCR测定MTHFR基因表达量。

1.5 数据处理与统计分析

用SPSS 17.0统计软件建立数据库并处理数据。试验结果的组间差异用one-way ANOVA过程进行单因素方差分析,采用LSD法进行多重比较,试验数据以“平均值±标准差”表示。通过回归分析对剂量-效应关系作二次曲线拟合,根据二次方程计算最适添加水平。 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别为差异显著和极显著水平。

2 结果与分析

2.1 饲料叶酸水平对鹅生长性能的影响

由表2可知,1~4周龄时,不同叶酸添加水平对鹅平均日采食量无显著影响($P > 0.05$),Ⅲ组体重和平均日增重显著高于Ⅱ组($P < 0.05$),Ⅱ、Ⅲ

组极显著高于对照组($P < 0.01$);随着叶酸添加水平的提高,料重比呈先下降后升高趋势,其中Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组料重比显著低于对照组($P < 0.05$)。Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组体重、平均日增重、平均日采食量、料重比均无显著差异($P > 0.05$),说明饲料叶酸水平超过4 mg/kg后,鹅的体重、平均日增重和料重比趋于平稳。以Ⅰ~Ⅳ组体重(Y_1)、平均日增重(Y_2)、料重比(Y_3)和平均日采食量与饲料叶酸添加水平(X)进行曲线拟合,得到如下曲线方程: $Y_1 = -38.303X^2 + 187.739X + 1447.920$ ($R^2 = 0.980, P_Q = 0.020$),由方程可知,当叶酸添加水平为2.45 mg/kg时体重最大。 $Y_2 = -1.368X^2 + 6.705X + 51.711$ ($R^2 = 0.980, P_Q = 0.020$),由方程可知,当叶酸添加水平为2.45 mg/kg时平均日增重最大。 $Y_3 = 0.080X^2 - 0.301X + 2.266$ ($R^2 = 0.946, P_Q = 0.054$),由方程可知,当叶酸添加水平为1.88 mg/kg时料重比最小。平均日采食量与叶酸添加水平间的二次曲线关系不明显($R^2 < 0.700$)。

5~8周龄时,叶酸添加水平对青农灰鹅料重比无显著影响($P > 0.05$)。Ⅱ组平均日增重显著高于Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组($P < 0.05$),极显著高于对照组($P < 0.01$);Ⅵ组平均日采食量显著高于对照组($P < 0.05$);Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组平均日增重、料重比均无显著差异($P > 0.05$),说明饲料叶酸水平超过2 mg/kg时,对鹅的体重和平均日增重无明显影响。以Ⅰ~Ⅳ组体重(Y_4)、平均日增重(Y_5)、平均日采食量和料重比与饲料叶酸添加水平(X)进行曲线拟合,得到如下曲线方程: $Y_4 = -156.148X^2 + 44.410X + 2597.478$ ($R^2 = 0.981, P_Q = 0.019$),由方程可知,当叶酸添加水平为1.76 mg/kg时体重最大。 $Y_5 = -4.511X^2 + 10.154X + 55.005$ ($R^2 = 0.916, P_Q = 0.084$),由方程可知,当叶酸添加水平为1.13 mg/kg时平均日增重最大。平均日采食量和料重比与叶酸添加水平间的二次曲线关系不明显($R^2 < 0.700$)。

9~15周龄,不同叶酸添加水平对体重、平均日增重、平均日采食量和料重比并没有显著影响($P > 0.05$)。通过二次曲线拟合,体重、平均日采食量、平均日增重及料重比与叶酸添加水平间的二次曲线关系不明显($R^2 < 0.700$)。

5~15周龄,随着叶酸添加水平的提高,各组

平均日采食量、料重比差异不显著($P > 0.05$)。Ⅲ组平均日增重显著高于对照组($P < 0.05$)；Ⅲ组体重极显著高于对照组($P < 0.01$)；Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组体重、平均日增重、平均日采食量和料重比均无显著差异($P > 0.05$)，表明饲料叶酸水平超过 4 mg/kg 时，对鹅的体重、平均日增重、平均日采食量和料重比均无显著影响。以 I ~ IV 组体重(Y_6)、平均日增重(Y_7)、平均日采食量和料重比与饲料叶酸添加水平(X)进行曲线拟合，得到如下曲线方程： $Y_6 = -103.524X^2 + 432.730X + 4875.502$ ($R^2 = 0.950, P_Q = 0.050$)，由方程可知，当叶酸添加水平为 2.09 mg/kg 时体重最大。 $Y_7 = -0.932X^2 +$

$3.871X + 48.965$ ($R^2 = 0.906, P_Q = 0.094$)，由方程可知，当叶酸添加水平为 2.08 mg/kg 时平均日增重最大。平均日采食量和料重比与叶酸添加水平间的二次曲线关系不明显($R^2 < 0.700$)。

由以上结果可得，根据生长性能分析，鹅育雏期叶酸的适宜添加水平为 2.45 mg/kg，育成期适宜添加水平为 2.08 mg/kg。

死淘率统计结果显示，对照组 1 ~ 4 周龄达到 2.50%，5 ~ 15 周龄达 6.41%，高于叶酸添加组。说明叶酸对降低死亡率有一定的作用。

表 2 饲料叶酸水平对鹅生长性能的影响

Table 2 Effects of dietary folic acid level on growth performance of geese

| 周龄 Weeks of age | 组别 Groups | 体重 Body weight/g | 平均日增重 ADG/(g/d) | 平均日采食量 ADFI/(g/d) | 料重比 F/G | 死淘率 Mortality rate/% |
|--------------------|--------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 1 ~ 4 | I | 1 442.37 ± 5.82 ^d | 51.51 ± 0.21 ^d | 116.73 ± 2.32 | 2.27 ± 0.05 ^a | 2.50 |
| | II | 1 612.15 ± 10.33 ^b | 57.58 ± 0.37 ^b | 117.73 ± 1.32 | 2.04 ± 0.03 ^b | 2.20 |
| | III | 1 659.09 ± 4.39 ^a | 59.25 ± 0.16 ^a | 117.55 ± 0.60 | 1.98 ± 0.01 ^b | 2.00 |
| | IV | 1 587.88 ± 8.68 ^c | 56.71 ± 0.31 ^c | 112.70 ± 5.37 | 1.99 ± 0.10 ^b | 2.00 |
| | V | 1 581.91 ± 4.21 ^c | 56.50 ± 0.15 ^c | 114.13 ± 1.87 | 2.02 ± 0.04 ^b | 0.00 |
| | VI | 1 582.56 ± 12.58 ^c | 56.52 ± 0.45 ^c | 114.33 ± 5.86 | 2.02 ± 0.10 ^b | 0.00 |
| 5 ~ 8 | I | 2 597.48 ± 34.71 ^c | 55.01 ± 1.46 ^c | 205.42 ± 10.44 ^b | 3.73 ± 0.01 | 2.30 |
| | II | 2 885.74 ± 12.81 ^a | 60.65 ± 0.20 ^a | 214.46 ± 5.63 ^{ab} | 3.54 ± 0.10 | 2.30 |
| | III | 2 861.71 ± 10.11 ^a | 57.28 ± 0.27 ^{bc} | 222.12 ± 8.70 ^{ab} | 3.71 ± 0.07 | 2.30 |
| | IV | 2 789.83 ± 18.01 ^b | 57.24 ± 1.22 ^{bc} | 223.47 ± 6.36 ^{ab} | 3.70 ± 0.08 | 3.10 |
| | V | 2 786.66 ± 9.88 ^b | 57.37 ± 0.67 ^b | 225.04 ± 8.95 ^{ab} | 3.69 ± 0.07 | 2.10 |
| | VI | 2 793.72 ± 11.21 ^b | 57.68 ± 1.13 ^b | 229.70 ± 0.83 ^a | 3.58 ± 0.09 | 0.00 |
| 9 ~ 15 | I | 3 321.60 ± 79.64 | 17.24 ± 1.13 | 387.53 ± 18.71 | 22.49 ± 0.42 | 4.70 |
| | II | 3 520.66 ± 62.80 | 15.12 ± 1.23 | 322.42 ± 26.34 | 21.33 ± 0.46 | 3.70 |
| | III | 3 625.04 ± 141.31 | 18.17 ± 3.13 | 380.99 ± 72.42 | 20.92 ± 0.44 | 2.50 |
| | IV | 3 583.00 ± 136.87 | 18.89 ± 3.09 | 421.39 ± 79.70 | 22.25 ± 0.59 | 2.40 |
| | V | 3 654.43 ± 119.77 | 20.66 ± 3.08 | 442.56 ± 55.74 | 21.47 ± 1.06 | 3.00 |
| | VI | 3 481.02 ± 89.10 | 16.36 ± 2.14 | 355.63 ± 44.86 | 21.74 ± 0.10 | 3.10 |
| 5 ~ 15 | I | 4 859.84 ± 60.89 ^c | 48.82 ± 0.82 ^b | 346.55 ± 14.74 | 7.10 ± 0.38 | 6.41 |
| | II | 5 272.42 ± 43.63 ^{ab} | 52.29 ± 0.51 ^{ab} | 351.11 ± 9.03 | 6.71 ± 0.13 | 4.70 |
| | III | 5 347.46 ± 12.89 ^a | 52.69 ± 1.77 ^a | 364.69 ± 10.02 | 6.92 ± 0.06 | 4.41 |
| | IV | 5 059.09 ± 32.56 ^{bc} | 49.59 ± 0.56 ^{ab} | 341.52 ± 4.78 | 6.89 ± 0.14 | 3.41 |
| | V | 5 033.77 ± 111.30 ^{bc} | 49.31 ± 1.65 ^{ab} | 341.35 ± 13.87 | 6.92 ± 0.08 | 3.41 |
| | VI | 5 064.41 ± 182.93 ^{bc} | 49.74 ± 2.40 ^{ab} | 344.77 ± 14.18 | 6.94 ± 0.26 | 3.45 |

同列数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P > 0.05$)，相邻和相隔小写字母分别表示差异显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)。表 2、表 3 和表 4 同。

In the same column, values with the same or no small letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$), while with the adjacent and alternate small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$) and extremely significant difference ($P < 0.01$), respectively. The same as Table 2, Table 3 and Table 4.

2.2 饲料叶酸水平对鹅血清生化指标的影响

由表 3 可知,1~4 周龄,Ⅲ组 TP 含量显著高于Ⅱ、Ⅳ组($P < 0.05$),极显著高于对照组($P < 0.01$);Ⅱ~Ⅵ组 GLB 含量显著高于对照组($P < 0.05$);Ⅲ组 ALB 含量极显著高于对照组($P < 0.01$);Ⅱ~Ⅵ组 GLU 和 TG 含量显著低于对照组($P < 0.05$);各组 CHO 含量差异不显著($P > 0.05$);Ⅴ、Ⅵ组 UN 含量分别极显和极显著高于对照组($P < 0.05, P < 0.01$);Ⅲ~Ⅵ组 Hcy 含量显著高于对照组($P < 0.05$)。以 I~Ⅳ组 TP 含量(Y_8)与饲料叶酸添加水平(X)进行曲线拟合,得到如下曲线方程: $Y_8 = -3.863X^2 + 18.514X +$

$36.606 (R^2 = 0.907, P_Q = 0.093)$,由方程可知,TP 含量达到最大时,饲料中叶酸添加水平为 2.40 mg/kg 。

5~15 周龄,各组 TP、GLB、ALB、TG、CHO、GLU 含量均差异不显著($P > 0.05$);Ⅵ组 UN 含量显著低于对照组($P < 0.05$);Ⅲ~Ⅵ组 Hcy 含量显著高于对照组($P < 0.05$)。以 5~15 周龄血清生化指标与饲料叶酸添加水平进行曲线拟合,二次曲线关系不明显($R^2 < 0.700$)。

以上结果表明,鹅育雏期饲料中添加叶酸可加快血液中蛋白质、酯类和血糖的代谢速度,促进生长发育,而育雏期比育成期更加明显。

表 3 饲料叶酸水平对鹅血清生化指标的影响

Table 3 Effects of dietary folic acid level on serum biochemical parameters of geese

| 周龄 Weeks of age | 组别 Groups | 总蛋白 TP/ ($\mu\text{mol/L}$) | 球蛋白 GLB/ ($\mu\text{mol/L}$) | 白蛋白 ALB/ ($\mu\text{mol/L}$) | 甘油三酯 TG/ ($\mu\text{mol/L}$) | 胆固醇 CHO/ (mmol/L) | 葡萄糖 GLU/ (mmol/L) | 同型半胱 氨酸/ Hcy($\mu\text{mol/L}$) | 尿素氮 UN/ (mg/L) |
|-----------------------|--------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|---------------------------------|
| 1~4 | I | 35.49 $\pm 2.23^a$ | 16.67 $\pm 0.49^a$ | 11.90 $\pm 0.27^c$ | 0.55 $\pm 0.04^a$ | 3.34 ± 0.20 | 3.51 $\pm 0.51^a$ | 12.05 $\pm 0.02^a$ | 0.16 $\pm 0.05^a$ |
| | II | 54.22 $\pm 2.06^{ab}$ | 17.27 $\pm 0.08^b$ | 16.24 $\pm 0.61^{ab}$ | 0.64 $\pm 0.01^b$ | 2.79 ± 0.54 | 2.96 $\pm 1.60^b$ | 11.94 $\pm 0.13^a$ | 0.15 $\pm 0.01^{ab}$ |
| | III | 55.96 $\pm 2.31^c$ | 17.40 $\pm 0.05^b$ | 17.11 $\pm 0.48^a$ | 0.64 $\pm 0.01^b$ | 2.97 ± 0.59 | 2.55 $\pm 1.38^b$ | 10.73 $\pm 1.02^b$ | 0.12 $\pm 0.01^{bc}$ |
| | IV | 49.41 $\pm 0.31^b$ | 17.42 $\pm 0.07^b$ | 15.42 $\pm 0.22^{ab}$ | 0.63 $\pm 0.01^b$ | 2.77 ± 0.82 | 2.66 $\pm 0.35^b$ | 10.05 $\pm 0.03^b$ | 0.13 $\pm 0.01^{ab}$ |
| | V | 50.67 $\pm 2.00^{bc}$ | 17.49 $\pm 0.12^b$ | 15.18 $\pm 1.63^{ab}$ | 0.62 $\pm 0.01^b$ | 2.64 ± 0.66 | 2.45 $\pm 0.56^b$ | 10.06 $\pm 0.04^b$ | 0.12 $\pm 0.02^{bc}$ |
| | VI | 51.41 $\pm 0.83^{bc}$ | 17.50 $\pm 0.05^b$ | 14.59 $\pm 1.34^{ab}$ | 0.61 $\pm 0.02^b$ | 2.41 ± 0.31 | 2.56 $\pm 0.29^b$ | 10.05 $\pm 0.02^b$ | 0.09 $\pm 0.02^c$ |
| 5~15 | I | 14.00 ± 0.49 | 13.95 ± 0.33 | 17.52 ± 0.22 | 0.64 ± 0.24 | 5.81 ± 1.29 | 4.46 ± 0.43 | 25.57 $\pm 1.02^a$ | 0.15 $\pm 0.05^a$ |
| | II | 15.22 ± 1.23 | 14.39 ± 1.30 | 17.67 ± 0.06 | 0.58 ± 0.02 | 2.88 ± 0.62 | 3.50 ± 0.15 | 22.28 $\pm 2.84^{ab}$ | 0.17 $\pm 0.02^a$ |
| | III | 15.58 ± 2.86 | 14.46 ± 1.70 | 18.23 ± 0.04 | 0.61 ± 0.01 | 3.02 ± 0.95 | 3.56 ± 0.20 | 20.92 $\pm 1.51^b$ | 0.14 $\pm 0.06^{ab}$ |
| | IV | 14.34 ± 1.59 | 14.67 ± 1.24 | 18.30 ± 0.51 | 0.57 ± 0.03 | 3.04 ± 0.71 | 3.08 ± 0.43 | 19.21 $\pm 1.65^b$ | 0.16 $\pm 0.06^{ab}$ |
| | V | 14.80 ± 1.35 | 15.30 ± 0.66 | 18.36 ± 1.41 | 0.56 ± 0.02 | 2.86 ± 1.11 | 2.98 ± 0.48 | 19.92 $\pm 1.18^b$ | 0.11 $\pm 0.02^{ab}$ |
| | VI | 14.21 ± 1.74 | 15.04 ± 1.42 | 18.36 ± 1.05 | 0.53 ± 0.01 | 3.76 ± 1.00 | 2.87 ± 0.62 | 19.11 $\pm 2.42^b$ | 0.08 $\pm 0.04^b$ |

2.3 饲料叶酸水平对鹅血清酶活性的影响

由表 4 可知,1~4 周龄,Ⅱ、Ⅲ组 MTHFR 活性显著高于对照组($P < 0.05$);Ⅱ组 DHFR 活性

极显著低于对照组($P < 0.01$);各组 ALT 活性差异不显著($P > 0.05$);Ⅲ组 AST 和 LDH 活性显著低于对照组($P < 0.05$)。

5~15 周龄, III 组 MTHFR 活性显著高于对照组 ($P < 0.05$); 各组 DHFR、ALT、AST 和 LDH 活性差异不显著 ($P > 0.05$)。

以 1~15 周龄酶活性指标与饲料叶酸添加水平进行曲线拟合, 二次曲线关系不明显 ($R^2 <$

0.700)。

以上结果表明, 饲料中添加 1 mg/kg 叶酸可提高 MTHFR 活性, 降低 DHFR 活性, 饲料中添加 2 mg/kg 叶酸可降低育雏期 AST 和 LDH 活性, 提高 MTHFR 活性。

表 4 饲料叶酸水平对鹅血清酶活性的影响

Table 4 Effects of dietary folic acid level on serum enzyme activities of geese

U/L

| 周龄 Weeks of age | 组别 Groups | 亚甲基四氢 叶酸还原酶 MTHFR | 二氢叶酸还原酶 DHFR | 谷丙转氨酶 ALT | 谷草转氨酶 AST | 乳酸脱氢酶 LDH |
|--------------------|--------------|------------------------------|----------------------------|--------------|----------------------------|------------------------------|
| 1~4 | I | 96.67 ± 3.03 ^b | 55.69 ± 9.72 ^a | 12.33 ± 5.13 | 53.00 ± 3.00 ^a | 837.00 ± 17.00 ^a |
| | II | 114.85 ± 1.52 ^a | 22.82 ± 8.01 ^c | 8.67 ± 3.22 | 51.33 ± 4.16 ^{ab} | 819.50 ± 76.01 ^a |
| | III | 119.39 ± 1.52 ^a | 33.01 ± 4.87 ^{bc} | 8.00 ± 1.00 | 37.67 ± 1.53 ^b | 590.83 ± 81.66 ^b |
| | IV | 103.23 ± 3.81 ^b | 36.25 ± 4.17 ^{ab} | 9.00 ± 0.00 | 50.67 ± 9.71 ^{ab} | 828.17 ± 59.53 ^a |
| | V | 101.72 ± 8.75 ^b | 51.53 ± 1.00 ^{ab} | 8.00 ± 0.00 | 44.00 ± 4.00 ^{ab} | 680.50 ± 24.50 ^{ab} |
| | VI | 96.78 ± 2.16 ^b | 54.31 ± 1.25 ^{ab} | 7.67 ± 0.58 | 42.67 ± 3.51 ^{ab} | 714.00 ± 89.00 ^{ab} |
| 5~15 | I | 113.84 ± 12.89 ^b | 103.84 ± 2.12 | 9.00 ± 2.65 | 74.00 ± 15.72 | 848.00 ± 28.00 |
| | II | 125.96 ± 8.86 ^{ab} | 84.86 ± 23.57 | 8.50 ± 4.50 | 64.67 ± 25.50 | 1 074.00 ± 373.50 |
| | III | 135.56 ± 8.74 ^a | 79.77 ± 7.65 | 4.67 ± 0.58 | 47.67 ± 14.50 | 848.00 ± 159.00 |
| | IV | 122.42 ± 10.60 ^{ab} | 80.12 ± 11.56 | 5.67 ± 0.58 | 40.67 ± 12.50 | 942.67 ± 26.50 |
| | V | 120.91 ± 1.51 ^{ab} | 86.99 ± 15.98 | 8.00 ± 1.00 | 50.67 ± 11.50 | 1 120.33 ± 357.50 |
| | VI | 117.88 ± 1.26 ^{ab} | 80.05 ± 13.20 | 6.00 ± 0.00 | 38.00 ± 3.00 | 1 026.00 ± 270.34 |

2.4 饲料叶酸水平对鹅肝脏中 MTHFR 基因表达量的影响

由表 5 可知, 1~4 周龄, II、III 组 MTHFR 基因表达量显著高于对照组和 IV~VI 组 ($P < 0.05$), 说明当叶酸水平超过 4 mg/kg 时并不能提高 MTHFR 基因表达量。以 I~IV 组 MTHFR 基因表达量 (Y_0) 与饲料叶酸添加水平 (X) 进行曲线拟合, 得到如下曲线方程: $Y_0 = -0.224X^2 + 1.062X + 1.003$ ($R^2 = 0.927$, $P_Q = 0.073$), 由方程可知, 叶酸添加水平为 2.37 mg/kg 时 MTHFR 基因表达量

最大。

5~15 周龄, III 组 MTHFR 基因表达量显著高于其余各组 ($P < 0.05$), 对照组和 II、IV、V、VI 组间差异不显著 ($P > 0.05$), 说明叶酸水平超过 4 mg/kg 并不能提高 MTHFR 基因表达量。以 I~IV 组 MTHFR 基因表达量 (Y_{10}) 与饲料叶酸添加水平 (X) 进行曲线拟合, 得到如下曲线方程: $Y_{10} = -0.306X^2 + 1.230X + 0.586$ ($R^2 = 0.837$, $P_Q = 0.163$), 由方程可知, 叶酸添加水平为 2.25 mg/kg 时 MTHFR 基因表达量最高。

表 5 饲料叶酸水平对鹅肝脏中 MTHFR 基因表达量的影响

Table 5 Effects of dietary folic acid level on liver MTHFR gene expression of geese

| 项目 Items | 组别 Groups | | | | | |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | I | II | III | IV | V | VI |
| 1~4 周龄 1 to 4 weeks of age | 1.00 ± 0.10 ^b | 1.71 ± 0.32 ^a | 1.95 ± 0.38 ^a | 1.12 ± 0.21 ^b | 1.08 ± 0.35 ^b | 0.83 ± 0.15 ^b |
| 5~15 周龄 5 to 15 weeks of age | 0.69 ± 0.32 ^b | 1.32 ± 0.71 ^b | 2.33 ± 0.32 ^a | 1.19 ± 0.44 ^b | 0.73 ± 0.27 ^b | 0.64 ± 0.37 ^b |

同行数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 相邻和相隔小写字母分别表示差异显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$)。

In the same row, values with the same or no small letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$), while with the adjacent and alternate small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$) and extremely significant difference ($P < 0.01$), respectively.

2.5 肝脏中 *MTHFR* 基因表达量与血清酶活性的相关性

由表 6 可知, 1~4 周龄, *MTHFR* 基因表达量与 *MTHFR* 活性显著正相关 ($P < 0.05$), 与 *DHFR* 活性显著负相关 ($P < 0.05$)。 *MTHFR* 基因表达量与 *ALT*、*LDH*、*AST* 活性负相关, 但相关性均不显著 ($P > 0.05$)。

5~15 周龄, *MTHFR* 基因表达量与 *LDH*、*AST*

活性负相关, 与 *DHFR* 活性正相关, 但相关性不显著 ($P > 0.05$)。 *MTHFR* 基因表达量与 *MTHFR* 和 *ALT* 活性显著负相关 ($P < 0.05$)。

以上结果表明, 叶酸对鹅肝脏中 *MTHFR* 基因的表达量有直接影响; 育雏期 *MTHFR* 基因表达量与 *MTHFR* 活性呈显著正相关, 与 *DHFR* 活性呈显著负相关, 与育成期 *MTHFR* 和 *ALT* 活性呈显著负相关。

表 6 鹅肝脏中 *MTHFR* 基因表达量与血清酶活性相关性

Table 6 The correlation between liver *MTHFR* gene expression and serum enzyme activity of geese

| 周龄 Weeks of age | 亚甲基四氢叶酸还原酶 <i>MTHFR</i> | 二氢叶酸还原酶 <i>DHFR</i> | 谷丙转氨酶 <i>GPT</i> | 谷草转氨酶 <i>GOT</i> | 乳酸脱氢酶 <i>LDH</i> |
|--------------------|----------------------------|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 1~4 | 0.654* | -0.595* | -0.046 | -0.013 | -0.252 |
| 5~15 | -0.534* | 0.157 | -0.493* | -0.207 | -0.067 |

* 表示显著相关 ($P < 0.05$)。

* means the significant correlation ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 饲料叶酸水平对鹅生长性能的影响

叶酸在家禽饲料中的最适添加水平, 国内外学者研究结果也不尽相同。丑武江等^[6]通过研究发现, 当叶酸水平在 1.5 mg/kg 时, 可以最大限度地提高肉仔鸡平均日增重和平均日采食量。Dora 等^[7]和 Ryu 等^[8]分别研究得出在白菜航母鸡饲料中添加 3.6 mg/kg 叶酸是最适添加水平, 当叶酸添加水平为 1.7 mg/kg 时, 雏鸡的生长速度和饲料转化率达到最大值。El-Husseiny 等^[9]通过研究得出, 叶酸添加水平为 12 mg/kg 配合维生素 C 添加时菜航蛋鸡获取最大的经济效益。说明叶酸作为快速生长的现代集约化饲养的畜禽体内合成嘌呤、嘧啶的必需物质和有效的甲基载体可促进机体的生长发育。本试验中根据生长性能分析, 育雏期叶酸添加水平为 2.45 mg/kg 时体重和平均日增重最大, 1.88 mg/kg 时料重比最小; 育成期叶酸添加水平为 2.08 mg/kg 时平均日增重最大, 这与前人研究结果基本一致。

本试验结果中, 9~15 周龄与 1~8 周龄的生长性能差异很大, 随着时间的延长, 平均日增重增加很少, 而平均日采食量显著增加, 从而使料重比增大。由此可见, 从经济效益考虑, 鹅的育肥期不宜过长。

3.2 饲料叶酸水平对鹅血清生化指标的影响

血糖即血液中的 *GLU*, 体内各组织细胞活动所需的能量大部分来自 *GLU*, 如果 *GLU* 含量降低, 说明动物饲料中能量水平不足或者机体消化不良而利用率较低。如果 *GLU* 含量升高超过正常水平将会导致高血糖和糖尿病等相关疾病, 所以血糖必须保持一定的水平才能维持体内各器官和组织的需要。江锋等^[10]研究发现, 叶酸可改善胰岛素受体, 提高其敏感性, 增加胰岛素和细胞表面受体的有效结合, 抑制肠道黏膜吸收 *GLU*, 影响肝糖代谢及糖代谢, 从而降低外周血糖。本试验中育雏期饲料中添加 2 mg/kg 叶酸后 *GLU* 含量显著降低, 而育成期 *GLU* 含量无显著差异, 可能由于在育雏期体内代谢相对活跃导致血糖代谢加快, 含量减少所致, 具体原因尚需进一步研究。

TG 和 *CHO* 含量可以反映体内脂类代谢的情况。近年来研究发现, *CHO* 和 *TG* 含量的升高与近年来老年人患有心血管病高血压及高血脂症有很大关系。这为治疗心血管疾病提供了一定的参考。Eseceli 等^[11]和 Wang 等^[12]研究表明, 叶酸可降低 *CHO* 的含量。姚英等^[13]研究表明, 添加 5 和 10 mg/kg 叶酸分别显著和极显著降低了 *TG* 含量。本试验结果表明, 育雏期和育成期 *CHO* 含量随着叶酸添加水平的增加均呈下降趋势。育雏期添加 2 mg/kg 以上叶酸就可以显著降低 *TG* 含量, 而育成期 *TG* 含量有下降趋势, 但差异不显著。

TP是由ALB和GLB组成,是机体细胞的重要组成部分,是动物组织更新和修补的主要原料。本试验得出,饲粮中叶酸添加水平为2.40 mg/kg时,育雏期TP含量最高。添加1 mg/kg以上叶酸可显著提高GLB含量,表明叶酸可加强血液中蛋白质的代谢,这与丑武江等^[14]叶酸对肉仔鸡蛋白质和生长性能影响的研究结果一致。

Hcy是一种重要的氨基酸,它含有的自由巯基可以发挥重要的生理作用。叶酸是Hcy代谢过程中的底物,叶酸水平升高促进Hcy的再甲基化过程。如果叶酸缺乏将会导致高Hcy血症,Hcy使血管内皮损伤和功能异常,刺激血管平滑肌细胞增生,破坏机体凝血和纤溶系统,使机体处于血栓前状态,而慢性的细胞内Hcy的升高可导致S-腺苷蛋氨酸与S-腺苷Hcy的比值降低,使DNA甲基转移酶受抑制,出现DNA低甲基化,可造成染色体不分离^[15],间接导致动脉硬化、冠心病等疾病。吕凤华等^[16]研究叶酸对冠心病大鼠血清Hcy和血管内皮生长因子的影响后发现,单独应用叶酸或联合维生素B₁₂都能有效地降低冠心病模型大鼠血清Hcy含量。Tactacan等^[17]、Hebert等^[18]和Ansari等^[19]研究发现,叶酸可降低血清中Hcy含量。本试验结果表明,育雏期和育成期叶酸添加水平超过2 mg/kg可显著降低血清中Hcy含量。

UN是机体氨基酸代谢的终产物,在肝脏内形成,血清中的UN主要经肾小球过滤作用从尿液中排出。在正常情况下血清UN含量比较恒定。只有当肾功能发生实质性损害时,血清UN含量才会增高,所以临床上常常以UN含量的高低作为判断肾功能受损程度的重要指标之一。钱瑛等^[20]研究发现,叶酸添加水平为12.5和25.0 mg/kg时可显著降低母猪血清UN含量。段赛星等^[21]研究表明,添加45 mg/kg的叶酸能显著降低山羊血清UN含量。本试验结果表明,育雏期叶酸添加水平为8 mg/kg时可显著降低血清UN含量。育成期叶酸添加水平为16 mg/kg时血清UN含量显著下降,以此可为治疗肾功能性障碍提供依据。

综上所述,饲粮中添加2 mg/kg叶酸可显著降低GLU、TG和Hcy含量。饲粮中叶酸添加水平为2.40 mg/kg,育雏期血清中TP含量最高。叶酸添加水平为8 mg/kg时可显著降低血清UN含量。育成期叶酸添加水平为16 mg/kg时血清UN含量

显著下降。

3.3 饲粮叶酸水平对鹅血清酶活性的影响

叶酸在维生素C和还原型辅酶II(NADPH)存在下,依靠MTHFR生成二氢叶酸再经过DHFR作用下生成四氢叶酸发挥作用。DHFR是单体酶,在NADPH的参与下形成F-DHFR-NADPH三元复合物,并将叶酸转换为体内DNA、RNA以及蛋白质生物合成所必需的原料,其对生物体的新陈代谢具有极为重要的作用。叶酸可能通过促进DNA甲基化、DNA修复以及阻止p53DNA片段断裂。黄瀚等^[22]研究发现,DHFR可能和人乳腺癌细胞耐药性有关。并且本试验中添加1、2 mg/kg叶酸显著提高了MTHFR活性,而添加1 mg/kg叶酸显著降低了DHFR活性。这为抗肿瘤药物的开发,研发DHFR抑制剂成为抗肿瘤药物的研究提供了重要方向。

ALT和AST是体内参与蛋白质代谢的重要的酶,被世界卫生组织推荐为肝功能损害最敏感的检测指标。LDH是一种糖酵解酶,广泛存在于动物组织细胞中,正常情况下血清含少量LDH。当组织细胞破坏时可将该酶释放入血,使其血清中LDH活性增高。血清LDH活性很大程度上可以反映富含LDH细胞的增殖、代谢等生物学性状。叶酸缺乏会导致骨髓中幼稚细胞DNA合成障碍、骨髓原位溶血及红细胞破坏增加。添加叶酸会使血清中LDH恢复到正常水平。刘玉兰等^[23]研究发现,叶酸及维生素B₁₂治疗A型萎缩性胃炎1 d后LDH活性即有明显下降。本试验结果表明,添加2 mg/kg叶酸AST和LDH活性显著降低,而育成期有下降趋势,但效果不明显。

3.4 饲粮叶酸水平对鹅肝脏中MTHFR基因表达量的影响

MTHFR是叶酸代谢中的关键酶之一,可将NADPH相关的5,10-亚甲基四氢叶酸还原为5-甲基四氢叶酸。5-甲基四氢叶酸作为甲基供体,在甲硫氨酸合成酶的催化下,Hcy接收甲基基团,生成蛋氨酸,并进一步复甲基化为S-腺苷甲硫氨酸,参与体内广泛的甲基化反应。这一代谢途径的正常运转在维持DNA正常甲基化和核苷酸从头合成以及DNA修复是至关重要的。本研究发现,添加不同水平叶酸能够影响肝脏中MTHFR基因mRNA的表达量,随着叶酸添加水平的上升MTHFR基因mRNA的表达量呈现先上升后下降

的趋势,当饲料中叶酸水平超过 4 mg/kg 时 *MTHFR* 基因 mRNA 的表达量反而下降,说明 *MTHFR* 基因 mRNA 的表达量并不是随着叶酸添加越多越好。

3.5 鹅肝脏中 *MTHFR* 基因表达量与血清酶活性的相关性

基因表达分析在现代众多研究领域中变得日趋重要,其研究的深入将为探索动物疾病相关基因、了解基因表达调控的复杂网络、解析生命奥秘,最终为最适添加水平的筛选提供了强有力的证据。本试验结果表明,在育雏期 *MTHFR* 基因表达量和 *MTHFR* 活性呈显著正相关,*MTHFR* 基因表达量和 *DHFR* 活性呈显著负相关。育成期 *MTHFR* 基因表达量和 *MTHFR* 活性呈显著负相关,*MTHFR* 基因表达量与 *ALT* 活性呈显著负相关。上述结果说明叶酸添加水平越高,催化作用使 *MTHFR* 活性更高,更好的转变为活化的四氢叶酸发挥作用,而 *DHFR* 催化二氢叶酸过程相对变慢,以维持机体代谢平衡,不能造成二氢叶酸在体内堆积。而在育成期可能是动物各器官组织代谢变缓,合成嘌呤嘧啶速度变缓,活性的四氢叶酸需求量减少导致 *MTHFR* 基因控制 *MTHFR* 活性呈现负相关,具体调控机理还需进一步研究。

4 结 论

① 根据生长性能建立的回归方程得出,鹅饲料中叶酸适宜添加水平育雏期为 2.45 mg/kg,育成期为 2.08 mg/kg,添加叶酸可降低死淘率。

② 饲料叶酸添加水平对鹅血清生化指标和酶活性有重要的调控作用。

③ 饲料叶酸添加水平对鹅肝脏中 *MTHFR* 基因表达量有直接影响,*MTHFR* 基因表达量与 *MTHFR*、*DHFR* 和 *GPT* 活性密切相关。

参考文献:

[1] 李红毅,白树民,朱德兵,等. 不同叶酸、维生素 B₆ 摄入水平对模拟失重大鼠 Hcy 代谢的影响[J]. 营养学报,2010,32(5):480-483.

[2] ABAS I, KAHRAMAN R, ESECELI H, et al. The effect of high levels of folic acid on performance and egg quality of laying hens fed on diets with and without ascorbic acid from 28-36 weeks of age[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances,2008,7(4):

389-395.

- [3] EL-HUSSEINY M A, ABO-EL-ELLA M O, ABD-EL-SAMEEMAGD A M, et al. Response of broilers performance to dietary betaine and folic acid at different methionine levels[J]. International Journal of Poultry Science,2010,6(7):515-523.
- [4] WHITEHEAD C C, MCCORMRCK H A, RENNIE J S, et al. Folic acid requirements of broilers[J]. Israel Journal of Veterinary Medicine,1997,52(1):12-16.
- [5] 杨光波,陈代文,余冰. 叶酸水平对断奶仔猪生长性能及血清组织中蛋白质代谢的指标影响[J]. 中国畜牧杂志,2011,47(5):24-28.
- [6] 丑武江,葛文霞,木沙江·乌不力. 烟酸和不同水平叶酸对肉仔鸡生产性能的影响[J]. 中国畜牧兽医,2009,36(6):23-26.
- [7] DORA A, ROTH-MAIER, BARBARA M. Fortification of eggs with folic acid as possible contribution to enhance the folic acid status of populations[J]. International Journal for Vitamin and Nutrition Research,2007,77(4):297-300.
- [8] RYU K S, ROBERSON K D, PESTI G M, et al. The folic acid requirements of starting broiler chicks fed diets based on practical ingredients. 2. Interrelationships with dietary methionine[J]. Poultry Science,1995,74(9):1456-1462.
- [9] EL-HUSSEINY A Z, SOLIMAN I I, OMARA H M R, et al. Evaluation of dietary methionine, folic acid and cyanocobalamin (B₁₂) and their interactions in laying hen performance[J]. International Journal of Poultry Science,2008,7(5):461-469.
- [10] 江锋,吴鸿跃. 补充叶酸对 2 型糖尿病患者的血糖控制和胰岛素抵抗的影响[J]. 中国医学创新,2012,9(13):34-37.
- [11] ESECELI H, DEGRIMENCIOGLU N, BILGIC M. The effect of inclusion of chromium yeast (Co-Factor II, Alltech Inc.) and folic acid to the rations of laying hens on performance, egg quality, egg yolk cholesterol, folic acid and chromium levels[J]. Journal of Animal and Veterinary advances,2010,9(2):384-391.
- [12] WANG S P, YIN Y L, QIAN Y, et al. Effects of folic acid on the performance of suckling piglets and sows during lactation[J]. Science of Food and Agriculture,2011,91:2371-2377.
- [13] 姚英,陈代文,刘静波,等. 叶酸对超早期断奶宫内发育迟缓仔猪肝脏结构和细胞凋亡相关基因表达

- 的影响[J]. 动物营养学报, 2012, 24(2): 271-279.
- [14] 丑武江, 郭雄全, 葛文霞. 叶酸对肉仔鸡蛋白质和生产性能影响的研究[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(5): 1140-1143.
- [15] 任明保, 柴晓芮. 叶酸代谢异常与 Down 综合征的风险因素[J]. 国外医学遗传学分册 2002, 25(6): 341-343.
- [16] 吕风华, 高建芝, 崔佳佳, 等. 叶酸对冠心病大鼠血清 Hey 和血管内皮生长因子的影响[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2011, 32(4): 449-452.
- [17] TACTACAN G B, RODRIGUEZ-LECOPTÉ J C O K, HOUSE J D. The adaptive transport of folic acid in the intestine of laying hens with increased supplementation of dietary folic acid[J]. Poultry Science, 2012, 91(1): 121-128.
- [18] HEBERT K, HOUSE J D, GUENTER W. Effect of dietary folic acid supplementation on egg folic content and the performance and folic status of two strains of laying hens [J]. Poultry Science, 2005, 84(10): 1533-1538.
- [19] ANSARI M N, NIGAM G K, BHANDARI U. Effect of folic acid on hematological changes in methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats[J]. Pharm Science, 2009, 71: 270-275.
- [20] 钱瑛, 王之盛, 孔祥峰, 等. 叶酸对哺乳仔猪生长性能及母猪血清生化指标的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20: 497-504.
- [21] 段赛星, 陈兴乾, 杨膺白, 等. 叶酸对圈养隆林黑山羊血清蛋白质的影响研究[J]. 现代农业科技, 2009, 9: 228-229.
- [22] 黄瀚, 李兵, 欧阳林旗. 叶酸受体及二氢叶酸还原酶与人乳腺癌细胞 MCF-7/ADR 多药耐药的关系[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(1): 99-103.
- [23] 刘玉兰, 肖文斌, 张国艳. A 型萎缩性胃炎血清乳酸脱氢酶及 α -羟丁酸的研究[J]. 中华消化杂志, 2002, 22(4): 220-223.

Dietary Folic Acid Level Affects Growth Performance, Serum Biochemical Parameters, Enzyme Activity and *MTHFR* Gene Expression of Geese

MENG Lingfeng WANG Baowei* GE Wenhua ZHANG Ming'ai YUE Bin
WANG Jiao WANG Di CHEN Miaolu

(*Institute of High Quality Waterfowl, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China*)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of dietary folic acid level on growth performance, serum biochemical parameters and enzyme activity and methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) gene expression of geese, and to determine the folic acid optimum supplemental level of geese aged 1 to 4 weeks (brooding period) and 5 to 15 weeks (finishing period). Three hundred and sixty 1-day-old *Qingnonghui* geese were randomly selected and divided into 6 groups with 6 replicates per group and 10 geese per replicate. Geese in the six groups were fed the basal diet supplemented with 0 (control), 1, 2, 4, 8 and 16 mg/kg folic acid, respectively. The experiment lasted for 15 weeks. The results showed as follows: 1) dietary folic acid significantly increased average daily weight gain of geese aged 1 to 4 weeks and 5 to 15 weeks ($P < 0.05$, $P < 0.01$), significantly decreased feed to gain of geese aged 1 to 4 weeks ($P < 0.05$), and reduced mortality rate. 2) Dietary folic acid significantly decreased serum glucose content of geese aged 1 to 4 weeks ($P < 0.05$), and significantly increased serum triglyceride content ($P < 0.05$), and the supplementation of 8 mg/kg folic acid significantly decreased serum urea nitrogen content ($P < 0.05$). The supplementation of 16 mg/kg folic acid significantly decreased serum urea nitrogen content of geese aged 5 to 15 weeks ($P < 0.05$). The supplementation of 2 to 16 mg/kg folic acid significantly decreased serum homocysteic acid content of geese aged 1 to 4 weeks and 5 to 15 weeks ($P < 0.05$). 3) The supplementation of 1 and 2 mg/kg folic acid significantly increased serum *MTHFR* activity of geese aged 1 to 4 weeks ($P < 0.05$), and significantly decreased serum dihydrofolate reductase (DHFR) activity ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and the supplementation of 2 mg/kg folic acid significantly decreased serum glutamic-oxaloacetic transaminase and lactate dehydrogenase activity ($P < 0.05$). The supplementation of 2 mg/kg folic acid significantly increased serum *MTHFR* activity of geese aged 5 to 15 weeks ($P < 0.05$). 4) In the brooding period, the *MTHFR* gene expression was significantly positive correlation with *MTHFR* activity ($P < 0.05$), and significantly negative correlation with DHFR activity ($P < 0.05$). In the finishing period, the *MTHFR* gene expression was significantly negative correlation with *MTHFR* and glutamic pyruvic transaminase activity ($P < 0.05$). It is conclusion that: 1) according to the regression equation between growth performance and dietary folic acid level, the suggestion of optimum dietary folic acid level is 2.45 mg/kg in brooding period, and 2.08 mg/kg in finishing period. Dietary folic acid can decrease mortality rate. 2) Dietary folic acid level has an important role in the regulation of serum biochemical parameters and enzyme activity. 3) Folic acid has a direct impact on *MTHFR* gene expression in geese liver, and *MTHFR* gene expression is closely related to the activities of *MTHFR*, DHFR and glutamic pyruvic transaminase. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(5):985-995]

Key words: folic acid; geese; growth performance; serum biochemical parameters; enzyme activity; *MTHFR* gene expression