

饲料棉籽粕水平对高峰期蛋鸭产蛋性能、蛋品质、血浆生化指标、卵巢形态及棉酚残留的影响

阮 栋 林映才* 张罕星 陈 伟 王 爽

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业部动物营养与饲料(华南)重点开放实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广州 510640)

摘要: 本试验旨在研究饲料棉籽粕(CSM)水平对高峰期蛋鸭产蛋性能、蛋品质、血浆生化指标、卵巢形态及棉酚残留的影响,以探讨饲料中CSM适宜水平。试验选用19周龄龙岩山麻鸭720只,采用单因子随机分组试验设计,随机分为6组,每组4个重复,每个重复30只鸭。各组饲料CSM水平分别为0(对照)、4.5%、9.0%、13.5%、18.0%和22.5%,CSM中游离棉酚(FG)实测值为266 mg/kg,试验期3个月。结果表明:1)与对照组相比,13.5%、18.0%和22.5%组显著降低了平均蛋重($P < 0.05$),22.5%组显著降低了平均蛋重和日产蛋重并提高了料蛋比($P < 0.05$)。2)饲料CSM水平对高峰期蛋鸭产蛋率、破蛋率、畸形蛋率、蛋壳厚度、蛋壳强度、哈氏单位及蛋黄颜色无显著影响($P > 0.05$)。3)与对照组相比,9.0%、13.5%、18.0%和22.5%组显著降低了血浆还原型谷胱甘肽(GSH)含量和GSH/氧化型谷胱甘肽(GSSG)值,并提高了丙二醛(MDA)含量($P < 0.05$);各组间GSSG含量、总抗氧化能力(T-AOC)及谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)和碱性磷酸酶(ALP)活性均差异不显著($P > 0.05$)。4)9.0%、13.5%、18.0%和22.5%组可明显破坏优势卵泡的完整性,卵泡变形破裂,局部呈融溶状。5)22.5%组试验鸭直肠内容物中FG含量为4.55 mg/kg,胸肌、肝脏、肾脏及蛋黄、蛋清中并未检测出FG残留。综上所述,饲料CSM水平低于9.0%时不影响高峰期蛋鸭产蛋性能、蛋品质,组织无损伤,胸肌及蛋中无棉酚残留。

关键词: 棉籽粕;蛋鸭;产蛋性能;蛋品质;血浆生化指标;卵巢形态;棉酚

中图分类号: S816.43

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2014)02-0353-10

棉籽粕(CSM)作为棉籽榨油后的副产物,粗蛋白质含量高达40%~45%,是畜禽重要的蛋白质饲料原料,但因含有对动物有毒的棉酚,影响了其在畜禽配合饲料中的应用。棉酚是一种不溶于水而溶于有机溶剂的黄褐色聚酚色素,按存在形式可分为结合棉酚(BG)和游离棉酚(FG)。BG无毒性,在动物消化道内大部分不被吸收而排出,小部分则会在体内分解成FG。FG的毒性主要与其所含的活性醛基和活性羟基有关,不仅对心脏、

肝脏、肾脏等实质性器官及神经、血管有毒害作用,而且能与棉籽蛋白质中赖氨酸的 ϵ -氨基(ϵ -NH₂)发生美拉德反应,降低其营养价值^[1]。在当前蛋白质饲料资源紧缺的环境下,研究CSM在蛋鸭饲料中的合理应用技术对蛋鸭产业发展具有重要意义。Koyacic^[2]报道,棉酚药理剂量具有抗氧化性,而产生致毒剂量时又具有促氧化作用。Basini等^[3]研究发现,5~25 μ g/mL的棉酚能抑制母猪颗粒细胞雌二醇和孕酮分泌,抑制超氧化物歧

收稿日期: 2013-09-02

基金项目: 现代农业产业技术体系建设资金资助(CARS-43-13)

作者简介: 阮 栋(1982-),男,湖北咸宁人,助理研究员,主要从事家禽营养与饲料科学研究。E-mail: donruan@126.com

* 通讯作者: 林映才,研究员,博士生导师, E-mail: lyc0123@tom.com

化酶(SOD)活性,导致超氧负离子产生增多,刺激血管内皮生长因子生成。Gamboa等^[4-5]研究表明,棉酚在肉仔鸡血浆、肝脏、肾脏和肌肉中蓄积量随饲料中FG含量增加呈线性升高趋势;杨茹洁^[6]研究发现,在饲料中添加25%未脱毒CSM(饲料中FG含量为179 mg/kg)对28~40周龄荷兰商品蛋鸡产蛋率、平均蛋重、日产蛋重、料蛋比、平均采食量及死淘率均无显著影响。Özdoğan等^[7]在饲料中添加15%的CSM(饲料中FG含量为186 mg/kg)对1~42日龄罗氏308肉鸡血浆血红素、铁含量及红细胞压积值无显著影响。目前我国蛋鸭年存栏量已达到2亿羽,蛋鸭饲料中广泛使用CSM等非常规饲料,但用量缺乏科学依据。本试验通过研究饲料CSM水平对高峰期蛋鸭产蛋性能、血浆生化指标、蛋品质、卵巢形态及棉酚残留的影响,以确定产蛋高峰期蛋鸭饲料中适宜CSM水平,旨在为中国蛋鸭饲料中CSM的合理利用提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物与饲养管理

试验在广东省农业科学院动物科学研究所花都蛋鸭试验基地进行,采用单因子随机分组试验设计,选用19周龄福建龙岩山麻鸭母鸭720只,随机分为6个组,每组4个重复,每个重复30只鸭。试验鸭地面平养(水域面积:陆地面积为1:3),其他按常规操作规程进行。蛋鸭产蛋率达到80%以上时(试验鸭为19周龄)开始正式试验,试验期为3个月。试验期间日平均气温和湿度在18~32℃和45%~72%变化,天气状况良好。

1.2 试验饲料及设计

试验饲料采用玉米-豆粕型饲料,各组饲料CSM水平分别为0(对照)、4.5%、9.0%、13.5%、18.0%和22.5%,并保持各组试验鸭饲料营养水平一致,试验饲料组成及营养水平见表1。试验饲料的代谢能、粗蛋白质和钙的设定水平参照本课题组前期研究结果。

1.3 样品的采集与制备

试验鸭饲养3个月后,每重复选接近平均体重试验鸭2只,称活重后,每只翅静脉采血10 mL进行抗凝处理,3 000 r/min离心15 min,制备血浆,分装于Ep管中,-20℃冻存,待测血浆生化指标。采血后试验鸭颈部放血致死,用手术刀割取

左叶肝和左肾前半端,切成2~3 mm厚,放入10%甲醛溶液中浸泡固定,用于组织病理切片分析。另各取2份肝、肾及胸肌装入样品袋,于-80℃冻存,备测FG含量。在高峰期第3个月初,从每个重复栏选取5枚未破损蛋(接近平均蛋重)共计120枚,做好标记,其中3枚用于测定蛋品质指标,另2枚蛋黄、蛋清分别合并制成1个样,待测蛋黄和蛋清中FG含量。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 产蛋性能

试验期间,各组间在正常采食量前提下所有栏试验鸭的采食量每天都保持一致,定量饲喂,准确记录给料量和剩料量,统计试验期间的平均日采食量。准确记录试验鸭每天的蛋重、产蛋数量及破蛋、畸形蛋数量和重量,统计产蛋率、平均蛋重、日产蛋重、料蛋比、破蛋率、畸形蛋率。

1.4.2 蛋品质指标

蛋壳厚度用数显千分尺测定蛋钝端、中部和锐端,计算平均值;蛋壳强度、哈氏单位和蛋黄颜色采用强度仪和全自动蛋品分析仪(ORKA,北京天翔飞域仪器设备有限公司)测定,测定过程在48 h内完成。

1.4.3 血浆生化指标

试验鸭血浆中丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法;血浆还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量采用二硫代二硝基甲酸比色法;血浆总抗氧化能力(T-AOC)采用 Fe^{2+} 与菲啉类形成稳固络合物比色法;血浆碱性磷酸酶(ALP)活性采用比色法,1 000 mL血浆37℃与基质作用15 min产生1 mg酚为1个金氏单位;血浆谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活性采用赖氏法,均在紫外可见光分光光度计(北京瑞利分析仪器公司,UV-1601)上用南京建成生物工程研究所提供的相应试剂盒测定。

1.4.4 组织病理切片分析

将固定好的组织样品石蜡包埋,常规采用苏木精-伊红染色法,制作好的切片于反置显微镜下观察组织的病理变化,并记录和拍照。肝脏脂肪变性程度判定:随机选择10个低倍视野(100×),确定肝小叶内含脂滴数/总细胞数百分比。

1.4.5 FG含量测定

饲料、组织、蛋黄、蛋清中FG含量参照 Kim

等^[8]方法,采用高效液相色谱仪(Waters 2695,美国)测定。采用 Waters XBridge C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm × 5 μm),柱温 25 °C,流动相为甲醇-水,每 100 mL 溶液含 0.1 mL 磷酸,流速 0.8 mL/min, Waters 2489 紫外检测器,检测波长

为 236 nm,检测限为 1.0 mg/kg。棉酚对照品(批号 111517-200001,规格 20 mg)购自广州药品检验所。另外送 1 份组织、直肠内容物及蛋黄、蛋清至中国广州分析测试中心,采用 SN 0535—1996 所述方法检测 FG 含量。

表 1 试验饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)

%

项目 Items	饲料 CSM 水平 Dietary CSM level/%					
	0	4.5	9.0	13.5	18.0	22.5
原料 Ingredients						
玉米 Corn	56.090	57.09	58.090	59.090	60.090	61.090
小麦麸 Wheat bran	11.050	9.750	8.420	7.105	5.795	4.475
豆粕 Soybean meal	22.050	17.850	13.640	9.430	5.220	1.010
棉籽粕 Cottonseed meal		4.500	9.000	13.500	18.000	22.500
L-赖氨酸盐酸盐 L-Lys · HCl	0.055	0.085	0.115	0.145	0.175	0.205
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.165	0.165	0.170	0.170	0.170	0.170
石粉 Limestone	8.170	8.200	8.240	8.280	8.310	8.350
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.120	1.060	1.020	0.980	0.940	0.900
食盐 NaCl	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
预混料 Premix ¹⁾	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
合计 Total	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
营养水平 Nutrient levels ²⁾						
代谢能 ME/(MJ/kg)	10.46	10.46	10.46	10.46	10.46	10.46
粗蛋白质 CP	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00
钙 Ca	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60
总磷 TP	0.64	0.59	0.54	0.50	0.46	0.41
有效磷 AP	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
赖氨酸 Lys	0.85	0.85	0.86	0.86	0.87	0.87
蛋氨酸 Met	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
蛋氨酸 + 胱氨酸 Met + Cys	0.68	0.68	0.69	0.70	0.71	0.71
游离棉酚 FG/(mg/kg)	0.00	14.82	28.03	32.81	39.18	50.16

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 12 000 IU, VD₃ 1 800 IU, VE 26 mg, VK₃ 1.0 mg, VB₁ 3.0 mg, VB₂ 9.6 mg, VB₆ 6.0 mg, VB₁₂ 0.03 mg, 氯化胆碱 chloride choline 500 mg, 烟酸 nicotinic acid 25 mg, 泛酸 pantothenic acid 28.5 mg, 叶酸 folic acid 0.6 mg, 生物素 biotin 0.15 mg, Fe 50 mg, Cu 10 mg, Mn 90 mg, Zn 90 mg, I 0.5 mg, Se 0.4 mg。

²⁾ 游离棉酚为实测值,其余为计算值。FG was a measured value, while the others were calculated values.

1.5 统计分析

试验数据采用 SAS 8.1 软件进行单因子方差分析(one-way ANOVA), Duncan 氏法进行多重比较。结果以平均值表示,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭产蛋性能的影响

由表 2 可见,与对照组相比,13.5%、18.0% 和 22.5% 组显著降低了平均蛋重($P < 0.05$), 22.5% 组显著降低了平均蛋重和日产

蛋重并显著提高了料蛋比 ($P < 0.05$) ; 饲料蛋率无显著影响 ($P > 0.05$) 。
CSM 水平对高峰期蛋鸭产蛋率、破蛋率、畸形

表 2 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭产蛋性能的影响

Table 2 Effects of dietary CSM level on laying performance of laying ducks at peak production

项目 Items	饲料 CSM 水平 Dietary CSM level/%						SEM	P 值 P-value
	0	4.5	9.0	13.5	18.0	22.5		
平均日采食量 Average daily feed intake/g	160	160	160	160	160	160		
产蛋率 Laying rate/%	85.05	89.40	85.66	85.36	85.28	82.71	1.45	0.10
平均蛋重 Average egg weight/g	64.90 ^a	64.40 ^{ab}	64.71 ^a	63.26 ^{bc}	63.32 ^{bc}	62.30 ^c	0.38	<0.01
日产蛋重 Daily egg mass/(g/d)	55.23 ^{ab}	57.61 ^a	55.53 ^{ab}	54.04 ^{bc}	54.00 ^{bc}	51.52 ^c	1.03	0.01
料蛋比 Feed to egg	2.91 ^{bc}	2.79 ^c	2.90 ^{bc}	2.99 ^{ab}	2.99 ^{ab}	3.14 ^a	0.06	0.01
破蛋率 Broken egg rate/%	0.10	0.13	0.11	0.15	0.11	0.11	0.06	0.99
畸形蛋率 Abnormal egg rate/%	0.33	0.31	0.40	0.44	0.26	0.30	0.11	0.85

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) , 相同或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$) 。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$). The same as below.

2.2 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭血浆生化指标的影响

由表 3 可见,与对照组相比,9.0%、13.5%、18.0%和22.5%组显著降低了血浆 GSH 含量和

GSH/GSSG 值;9.0%、18.0%和22.5%组显著提高了血浆 MDA 含量 ($P < 0.05$) , 各组血浆 GSSG 含量、T-AOC 及 GOT、GPT 和 ALP 活性均差异不显著 ($P > 0.05$) 。

表 3 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭血浆生化指标的影响

Table 3 Effects of dietary CSM level on plasma biochemical parameters of laying ducks at peak production

项目 Items	饲料 CSM 水平 Dietary CSM level/%						SEM	P 值 P-value
	0	4.5	9.0	13.5	18.0	22.5		
还原型谷胱甘肽 GSH/(mg/L)	12.84 ^a	11.99 ^{ab}	10.57 ^{bc}	9.37 ^c	9.83 ^c	9.87 ^c	0.59	0.04
氧化型谷胱甘肽 GSSG/(μ mol/L)	71.50	74.30	96.85	91.94	88.78	93.82	6.70	0.08
还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽 GSH/GSSG	0.18 ^a	0.16 ^a	0.13 ^b	0.11 ^b	0.12 ^b	0.11 ^b	0.02	<0.01
丙二醛 MDA/(nmol/L)	8.04 ^b	7.19 ^b	11.92 ^a	9.62 ^{ab}	11.19 ^a	12.08 ^a	1.33	0.03
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL)	8.06 ^{ab}	9.50 ^a	8.02 ^{ab}	7.40 ^b	7.36 ^b	6.76 ^b	0.52	0.03
碱性磷酸酶 ALP/(U/L)	422.15	516.91	466.99	421.29	611.27	451.46	64.82	0.33
谷草转氨酶 GOT/(U/L)	0.62	0.99	1.88	1.01	1.28	1.12	0.32	0.19
谷丙转氨酶 GPT/(U/L)	1.78	0.88	1.36	0.97	1.91	1.34	0.44	0.21

2.3 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭蛋品质的影响

由表 4 可见,饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭蛋壳厚度、蛋壳强度、蛋形指数、哈氏单位、蛋黄颜色及蛋黄比均无显著影响 ($P > 0.05$) 。

2.4 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭肝脏、肾脏和卵泡形态的影响

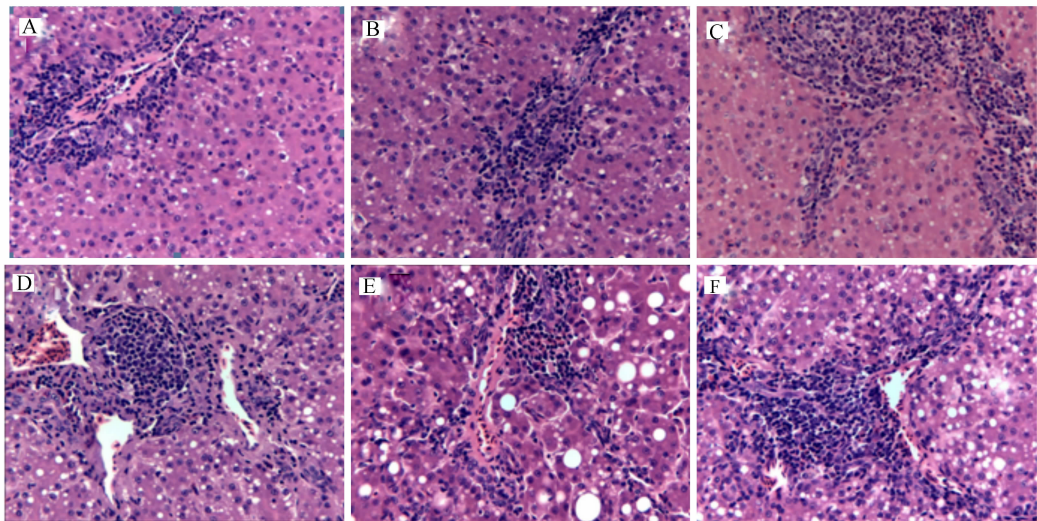
试验进行 3 个月后,屠宰试验鸭,取肝脏和肾

脏做切片分析。图 1 显示,对照组、4.5%和9.0%组肝脏组织小叶完整、肝细胞形态规则,肝脏汇管区、中央静脉周围仅可见少量肝细胞脂肪变性(1%~5%),未见坏死现象。13.5%、18.0%和22.5%组肝脏脂肪变性明显增加(10%~70%),肝窦间隙增大,汇管区出现组织纤维增生,并出现淤血,随着饲料 CSM 水平递增趋于严重。

表4 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭蛋品质的影响

Table 4 Effects of dietary CSM level on egg quality of laying ducks at peak production

项目 Items	饲料 CSM 水平 Dietary CSM level/%						SEM	P 值 P-value
	0	4.5	9.0	13.5	18.0	22.5		
蛋壳厚度 Eggshell thickness/mm	0.355	0.348	0.346	0.339	0.343	0.350	0.01	0.46
蛋壳强度 Eggshell strength/kgf	4.37	4.26	4.24	4.21	4.04	3.84	0.23	0.45
蛋形指数 Egg shape index	1.40	1.37	1.36	1.35	1.36	1.36	0.01	0.07
哈氏单位 Haugh unit	74.72	75.73	77.09	72.36	79.57	72.33	1.88	0.09
蛋黄颜色 Yolk color	6.08	6.00	6.04	6.60	6.83	6.88	0.41	0.43
蛋黄比 Yolk rate/%	30.86	31.42	30.53	31.66	30.60	31.15	0.44	0.40



A:对照组 control group;B:4.5%组 4.5% group;C:9.0%组 9.0% group;D:13.5%组 13.5% group;E:18.0%组 18.0% group;F:22.5%组 22.5% group。

图1 蛋鸭肝脏切片显微结构

Fig. 1 Microstructure of liver section of laying ducks (400 ×)

图2显示,对照组试验鸭肾脏肾小管形态规则,无明显坏死脱落现象;4.5%组局部肾小管上皮细胞空泡变性约1%~5%;9.0%组局部可见肾小管上皮细胞坏死灶,肾小管上皮细胞脱落严重,局部出现纤维组织增生;13.5%组肾小球出现萎缩,肾间质有淤血;18.0%和22.5%组肾小管细胞出现大面积坏死脱落,并形成钙化灶。

图3显示,对照组和4.5%组卵巢中优势卵泡形态规则,无明显异常病变。9.0%、13.5%、18.0%和22.5%组可明显观察到优势卵泡变形破裂、褶皱,卵泡血管壁有出血点,局部呈融溶状。

2.5 FG在蛋鸭胸肌、组织、直肠内容物及蛋中的残留

检测结果表明,在22.5%组试验鸭肝脏、肾脏、胸肌及蛋清、蛋黄中并未检测出FG残留,仅在

试验鸭直肠内容物中检测到FG含量为4.55 mg/kg。

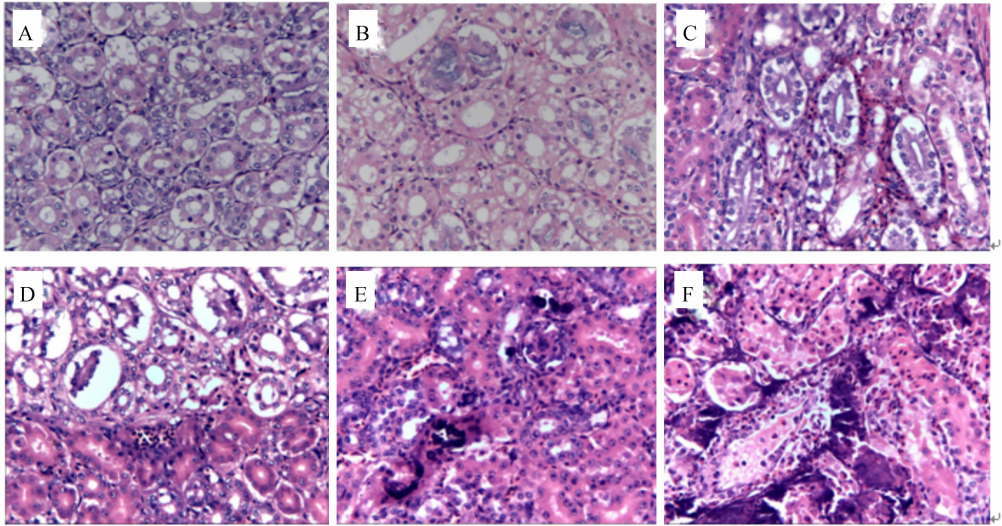
3 讨论

3.1 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭产蛋性能的影响

本试验结果表明,饲料 CSM 水平 $\geq 13.5\%$ 时可显著降低平均蛋重,达到22.5%时可显著降低平均蛋重和日产蛋重并显著提高料蛋比。李建国等^[9]选用43周龄海兰蛋鸡饲喂FG含量为0、20、70、120 mg/kg的试验饲料,结果表明,饲料FG含量对产蛋率、蛋重影响不显著;当FG含量达到120 mg/kg时,采食量较对照组显著降低。Lordelo等^[10]研究发现,饲料含200 mg/kg的右旋异构体FG可显著降低34周龄海兰蛋鸡和44周龄科比快

羽肉种鸡产蛋率,达到 400 mg/kg 时会降低采食量,而左旋异构体对试验鸡产蛋率无显著影响,仅降低快羽肉种鸡采食量。这说明高含量的 FG 会影响饲料适口性,降低产蛋率和蛋重,不同异构体

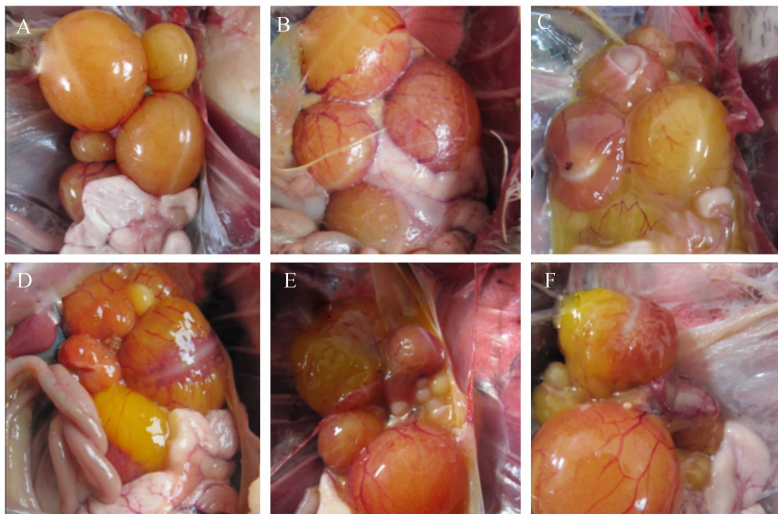
对禽产蛋性能有不同影响,且不同种属间对棉酚表现出耐受差异,相比蛋鸡,蛋鸭对棉酚的耐受性更差。



A: 对照组 control group; B: 4.5% 组 4.5% group; C: 9.0% 组 9.0% group; D: 13.5% 组 13.5% group; E: 18.0% 组 18.0% group; F: 22.5% 组 22.5% group。

图 2 蛋鸭肾脏切片显微结构

Fig. 2 Microstructure of kidney section of laying ducks (400 ×)



A: 对照组 control group; B: 4.5% 组 4.5% group; C: 9.0% 组 9.0% group; D: 13.5% 组 13.5% group; E: 18.0% 组 18.0% group; F: 22.5% 组 22.5% group。

图 3 蛋鸭卵巢形态

Fig. 3 Ovarian morphology of laying ducks

3.2 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭血浆生化指标的影响

GOT、GPT 是氨基酸降解过程中的重要转氨酶,其中 GPT 主要存在于肝细胞胞浆内,以心脏和肝脏中的活性最高,而血清中活性很低,是反映肝细胞受损程度最敏感的指标,GPT 活性增高主要由病毒性肝炎引起,而心脏功能不全或肝坏死则主要导致 GOT 活性增高^[11]。Braham 等^[12]指出,给断奶仔猪饲喂含 228 ~ 440 mg/kg 棉酚的 CSM 饲料 15 周可以引起肝脏的损伤,导致血清 GOT 活性上升,但对血清 GPT 活性无显著影响;尹逊慧^[13]试验表明,使用 15% 的 CSM(饲料 FG 含量为 73.25 mg/kg)对 1 ~ 20 日龄樱桃谷肉鸭血清 GOT、GPT 及 ALP 活性无显著影响。曾秋凤等^[14]采用棉籽饼粕等蛋白质饲料替代玉米-豆粕型基础饲料中 0、25%、50%、75% 和 100% 豆粕(100% 替代组 CSM 用量为 23.27%,饲料 FG 含量为 156 mg/kg)饲喂 14 日龄樱桃谷肉鸭至 35 日龄,结果表明,各组间血浆 GOT 和 GPT 活性无显著差异。Ali 等^[15]给小鼠每日注射 5 mg/kg 的醋酸棉酚 2 周,除显著降低小鼠体重、肝脏 GSH 含量和 DNA 酶,提高 α -葡萄糖苷酶和 RNA 酶外,对血清 GOT 和 GPT 活性无显著影响。本试验结果表明,使用 22.5% 的 CSM(饲料 FG 含量为 50.16 mg/kg)对高峰期蛋鸭血浆 GOT 和 GPT 活性无显著影响,结合肝脏切片结果,说明除高饲料 CSM 水平组蛋鸭肝脏肝细胞出现明显脂肪变性外,未对其肝功能造成明显破坏作用,这与曾秋凤等^[14]推测肉鸭对饲料棉酚的敏感性高于肉鸡,且病理表现形式或靶器官可能不一致结果相符。但关于鸭对饲料棉酚的耐受性及残留和消除规律目前并未见报道研究,且研究深度不够,仅停留在 CSM 对鸭生长性能的影响。GSH 是一种含量丰富的非蛋白巯基抗氧化物,能破坏过氧化氢、脂质过氧化物及氧自由基,保护机体免受氧化应激。MDA 是由自由基引发一种高活性的脂质过氧化物,组织内产生的自由基若不及时清除,会导致机体内 MDA 含量升高。T-AOC 是用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,它的大小可以代表和反映机体抗氧化酶系统和非酶系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态。Koyacic^[2]报道棉酚药理剂量具有抗氧化性,而产生至毒剂量时又具有促氧化作用。倪鸣等^[16]探讨

了醋酸棉酚对小鼠黄体细胞凋亡的影响,结果表明醋酸棉酚可以直接损伤小鼠黄体细胞,产生明显的细胞毒性,且这种毒性作用与棉酚剂量呈正相关;SOD 活性与孕激素含量随着棉酚剂量的增高而降低,而 MDA 含量变化趋势与此相反。赵萍^[17]报道,给雄性细毛羊饲喂含棉籽壳的饲料 8 个月能显著提高血清、肝脏中 MDA 含量,降低 GSH 含量、T-AOC 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。认为棉酚造成了雄性细毛羊血清和肝脏的氧化损伤。本试验中,饲料 CSM 水平 $\geq 9.0\%$ 时显著降低了血浆 GSH 含量和 GSH/GSSG 值,并提高了 MDA 含量,但对 T-AOC 无显著影响。这说明饲料 CSM 水平过高会对蛋鸭机体的氧化还原平衡体系有不利影响。

3.3 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭蛋品质的影响

本试验中高达 22.5% 的饲料 CSM 水平(饲料 FG 含量为 50.16 mg/kg)对高峰期蛋鸭蛋品质无显著影响。杨茹洁^[6]研究发现,当饲料中 FG 含量高于 100 mg/kg 后蛋鸡蛋黄出现绿黄,蛋白颜色浑浊,煮熟后蛋黄变硬。刘锦湖^[18]试验表明,蛋鸡饲料 FG 含量达到 55.85 mg/kg 时,鸡蛋常温保存 3 周蛋黄出现斑点微杂色,随着时间延长出现红棕色,这可能是棉酚与铁离子结合,形成螯合物导致。高布潜等^[19]研究证实,蛋鸡饲喂 CSM 引起鸡蛋变色主要是由于 CSM 和棉油中不饱和脂肪酸易被氧气氧化变为环丙烯脂肪酸所致。环丙烯脂肪酸可以使卵黄膜通透性增高,卵黄中的铁离子可以渗透到蛋清中并与蛋清中的蛋白质形成红色复合物,使蛋清变红。同时,环丙烯脂肪酸可以使蛋黄变硬,加热产生“橡皮蛋”。关于影响蛋品质的 FG 的限量,国外学者推荐蛋鸡饲料中最高允许量为 20 mg/kg。因此,添加适量的 CSM 对蛋形指数、蛋壳厚度、蛋壳强度等蛋的外在品质无显著影响,但其抗营养因子对储存期或腌制期的蛋黄、蛋清品质的影响仍需进一步深入系统研究。

3.4 饲料 CSM 水平对高峰期蛋鸭组织 FG 残留的影响

FG 对畜禽有毒害作用,吸收入血后能损害心脏、肝脏、肾脏、生殖器官等实质器官,可导致心力衰竭,引起肺水肿和全身缺氧性变化,还能增强血管壁通透性,使受害组织发生浆液性浸润和出血性炎症以及体腔积液^[20]。棉酚主要代谢场所是肝脏,主要随同粪便排出体外,其次经尿液排出。由

于排泄缓慢,因此在体内有明显的蓄积作用。Abou-Donia 等^[21]利用¹⁴C 放射追踪的方法研究了狗、鼠和猪体内棉酚排出情况,发现大部分棉酚都可以通过粪便排出体外。Gamboa 等^[4]采用不同榨油工艺的 CSM(FG 含量为 0.033% ~ 0.180%, 总棉酚含量为 0.974% ~ 1.459%),添加水平为 28%,研究棉酚在 1 ~ 21 日龄肉仔鸡组织中的沉积规律发现,棉酚异构体(左旋和右旋)在试验鸡血浆、肝脏、肾脏和肌肉中蓄积量随饲料中 FG 含量增加呈线性升高趋势。肝脏中 TG 含量为 71.4 ~ 313.6 $\mu\text{g/g DM}$,显著高于肾脏的 9.2 ~ 36.3 $\mu\text{g/g DM}$ 、血浆中的 3.0 ~ 14.6 $\mu\text{g/mL}$ 和肌肉中的 2.1 ~ 9.8 mg/kg DM 。Lordelo 等^[10,22]研究表明,3 ~ 21 日龄肉仔鸡饲料 FG 含量达到 100 mg/kg 时,试验鸡肝脏、肾脏和肌肉中 FG 含量分别为 61.9 和 2 mg/kg DM ;同时对 36 周龄海兰蛋鸡饲喂含 200、400 mg/kg FG 的饲料至第 3 周时发现其蛋黄中 FG 含量分别达到 235、386 mg/kg DM ,肝脏、肾脏和鸡肉中 FG 含量分别为 243、43 和 6 mg/kg DM 。这说明,棉酚在动物体内各组织器官中残留是不均匀的,肝脏最多,其次是蛋、肾脏和血液,肉中最低。近年来,食品安全正逐渐成为人们日益关注和重视的问题。美国食品及药品管理局规定食品中 FG 残留不超过 0.045%,前苏联国家标准为不超过 0.01%^[23],我国《国家卫生标准》(GB 2716—88)规定棉籽油 FG 含量不超过 0.02%。这些标准说明了 FG 在食品中限量缺乏一致标准,而我国除了对棉籽油 FG 含量有规定外,并没有对其他食品中 FG 含量作出规定,对于市场上畜产品中 FG 残留量并不清楚。本试验中饲料 CSM 水平达到 22.5%时(饲料 FG 含量为 50.16 mg/kg),在蛋鸭肝脏、肾脏、胸肌、蛋黄、蛋清中未检测出 FG 残留,仅在直肠内容物中检出 FG 含量为 4.55 mg/kg 。但肝脏已出现明显脂肪变性,肾脏肾小管大面积坏死脱落,并形成钙化灶。这说明 FG 摄入量在机体的耐受范围内可被机体代谢掉,但仍可对器官造成病理性损伤,并且饲料 CSM 水平达到 9.0%(饲料 FG 含量为 28.03 mg/kg)即可明显破坏优势卵泡的完整性,卵泡变形破裂,局部呈融溶状,卵泡血管壁出现出血点;而棉酚作为血管毒素,可与血红蛋白结合。龙安梅^[24]试验证实,醋酸棉酚在低剂量下能抑制猪原代培养黄体细胞的增殖和诱导其凋亡,

高剂量下除诱导细胞凋亡外,主要对细胞产生细胞毒性。Oliver 等^[25]、Xu 等^[26]试验证实,左旋棉酚可以通过线粒体依赖性细胞凋亡通路和配体-受体激活的 Caspase 依赖性细胞凋亡通路诱导细胞凋亡抑制肿瘤生长。陈文飞等^[27]研究表明,醋酸棉酚可通过降低抑癌基因甲基化诱导细胞凋亡,介导抗肿瘤作用。因此,推断棉酚在低剂量(FG 含量为 28.03 mg/kg)时可能诱导了蛋鸭卵巢黄体细胞的凋亡,故在制定蛋鸭畜产品安全限量时需充分考虑其影响。

4 结 论

在本试验条件下,综合产蛋性能、抗氧化性能、组织病理分析及棉酚残留结果,产蛋高峰期蛋鸭饲料 CSM 适宜水平需低于 9.0%。

参考文献:

- [1] 王利,汪开毓. 动物棉酚中毒的研究进展[J]. 畜禽业,2002(5):26-28.
- [2] KOYACIC P. Mechanism of drug and toxic actions of gossypol: focus on reactive oxygen species and electron transfer[J]. Current Medicinal Chemistry,2003,10(24):2711-2718.
- [3] BASINI G, BUSSOLATI S, BAIONI L, et al. Gossypol, a polyphenolic aldehyde from cotton plant, interferes with swine granulosa cell function[J]. Domestic Animal Endocrinology,2009,37(1):30-36.
- [4] GAMBOA D A, CALHOUN M C, KUHLMANN S W, et al. Tissue distribution of gossypol enantiomers in broilers fed various cottonseed meals[J]. Poultry Science,2001,80(7):920-925.
- [5] GAMBOA D A, CALHOUN M C, KUHLMANN S W, et al. Use of expander cottonseed meal in broiler diets formulated on a digestible amino acid basis[J]. Poultry Science,2001,80(6):789-794.
- [6] 杨茹洁. 可消化 AA 平衡的高棉粕饲料对蛋鸡的生产性能、健康状况及蛋品质的影响[D]. 硕士学位论文. 太谷:山西农业大学,2003.
- [7] ÖZDOĞAN M, WELLMANN K, PAKSUZ E. Effect of gossypol on blood serum parameters and small intestinal morphology of male broilers[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2012,96(1):95-101.
- [8] KIM H L, CALHOUN M C. Determination of gossypol in plasma and tissues of animals[J]. Inform,

- 1995, 6: 486.
- [9] 李建国, 王建华. 游离棉酚水平对海兰蛋鸡生产性能的影响[J]. 家畜生态学报, 2007, 28(6): 31-33.
- [10] LORDELO M M, CALHOUN M C, DALE N M, et al. Relative toxicity of gossypol enantiomers in laying and broiler breeder hens[J]. Poultry Science, 2007, 86(3): 582-590.
- [11] 周顺伍. 动物生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [12] BRAHAM J E, JARQUÍN R, ELÍAS L G, et al. Effect of calcium and gossypol on the performance of swine and on certain enzymes and other blood constituents[J]. The Journal of Nutrition, 1967, 91(1): 47-54.
- [13] 尹逊慧. 棉籽粕在樱桃谷肉鸭饲料中应用技术研究[D]. 硕士学位论文. 广州: 华南农业大学, 2009.
- [14] 曾秋凤, 柏鹏. 棉酚在肉禽体内的毒性和残留及其营养对策的研究进展[J]. 动物营养学报, 2013, 25(5): 917-922.
- [15] ALI S F, EL SEWEDY S M. Effect of gossypol on liver metabolic enzymes in male rats[J]. Toxicology Letters, 1984, 23(3): 299-306.
- [16] 倪鸣, 袁慧. 醋酸棉酚对小鼠黄体细胞凋亡的影响[C]//中国畜牧兽医学会家畜内科学分会 2009 年学术研讨会论文集. 北京: 中国畜牧兽医学会, 2009: 506-512.
- [17] 赵萍. 棉籽壳对雄性细毛羊血清、肝脏抗氧化指标的影响[J]. 草食家畜, 2011(4): 44-47.
- [18] 刘锦湖. 日粮中的游离棉酚对蛋鸡生产性能及鸡蛋储存品质的影响[D]. 硕士学位论文. 北京: 农业大学, 2006.
- [19] 高布潜, 姜洪, 尹进. 防止鸡蛋变色和失重的保藏方法——蛋鸡饲喂棉籽饼粕引起鸡蛋变色是氧气在起主导作用[J]. 中国粮油学报, 1988(2): 62-64.
- [20] 王冬梅, 郭书贤, 梁运祥. 棉子饼粕中棉酚的危害与脱毒方法研究进展[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(2): 487-493.
- [21] ABOU-DONIA M B. Physiological effects and metabolism of gossypol[J]. Residue reviews, 1976, 61: 125-160.
- [22] LORDELO M M, DAVIS A J, CALHOUN M C, et al. Relative toxicity of gossypol enantiomers in broilers[J]. Poultry Science, 2005, 84(9): 1376-1382.
- [23] 吕云峰, 王修启, 赵青余, 等. 棉酚在饲料中安全限量及畜产品中残留研究进展[J]. 中国农学通报, 2010, 26(24): 1-5.
- [24] 龙安梅. 醋酸棉酚对猪原代培养黄体细胞凋亡影响的研究[D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2006.
- [25] OLIVER C L, MIRANDA M B, SHANGARY S, et al. (-)-Gossypol acts directly on the mitochondria to overcome Bcl-2- and Bcl-XL-mediated apoptosis resistance[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2005, 4(1): 23-31.
- [26] XU L, YANG D J, WANG S M, et al. Gossypol enhances response to radiation therapy and results in tumor regression of human prostate cancer[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2005, 4(2): 197-205.
- [27] 陈文飞, 付帅, 岳万远, 等. 醋酸棉酚对人舌鳞癌 Tca8113 细胞凋亡及 DNA 甲基转移酶 1 表达的影响[J]. 肿瘤, 2013, 33(5): 404-408.

Effects of Dietary Cottonseed Meal Level on Laying Performance, Egg Quality, Plasma Biochemical Parameters, Ovarian Morphology and Gossypol Residue of Laying Ducks at Peak Production

RUAN Dong LIN Yingcai* ZHANG Hanxing CHEN Wei WANG Shuang

(State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding, Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science (South China) of Ministry of Agriculture, Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of cottonseed meal (CSM) on laying performance, egg quality, plasma biochemical parameters, ovarian morphology and gossypol residue of laying ducks at peak production, and to estimate the dietary CSM optimal level of laying ducks. A single factor design was adopted and seven hundred and twenty 19-week-old *Longyan* laying ducks were randomly divided into 6 groups with 4 replicates per group and 30 ducks per replicate. Ducks in the six groups were fed the basal diet supplemented with 0 (control), 4.5%, 9.0%, 13.5%, 18.0% and 22.5% CSM, respectively. The content of free gossypol (FG) in CSM was 266 mg/kg. This experiment lasted for 12 weeks. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the average egg weight in 13.5%, 18.0% and 22.5% groups was significantly decreased ($P < 0.05$), and the average egg weight and daily egg mass in 22.5% group were significantly decreased ($P < 0.05$), but the ratio of feed to egg in 22.5% group was significantly increased ($P < 0.05$). 2) Dietary CSM level had no significant effects on laying rate, broken egg rate, abnormal egg rate, eggshell thickness, eggshell strength, Haugh unit and yolk color ($P > 0.05$). 3) Compared with the control group, the plasma reduced glutathione (GSH) content and the GSH/oxidized glutathione (GSSG) value in 9.0%, 13.5%, 18.0% and 22.5% groups were significantly decreased ($P < 0.05$), but the plasma malondialdehyde (MDA) content was significantly increased ($P < 0.05$). There were no differences in total antioxidant capacity (T-AOC) and the activities of glutamic oxalacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and alkaline phosphatase (ALP) among all groups ($P > 0.05$). 4) The integrity of the dominant follicles was impaired, and some of them were fractured to fusion in 9.0%, 13.5%, 18.0% and 22.5% groups. 5) The content of FG in rectal contents was 5.57 mg/kg in 22.5% group, but it was undetectable in breast muscle, liver, kidney, egg yolk and egg albumen. In conclusion, there is no negative effects on laying performance, egg quality and organic damage when dietary CSM level is less than 9.0%, and there is no residues of gossypol in egg and breast muscle. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(2): 353-362]

Key words: cottonseed meal; laying ducks; laying performance; egg quality; plasma biochemical parameters; ovarian morphology; gossypol