

饲料蛋氨酸对鹅再生羽绒品质、血清指标及基因 mRNA 表达量的影响

王惠影^{1,2}, 郭保地¹, 何大乾², 龚绍明², 刘毅², 李光全², 徐琪¹, 陈国宏^{1*}

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009; 2. 上海市农业科学院畜牧兽医研究所, 上海 201106)

摘要: 旨在探讨饲料蛋氨酸对鹅羽绒再生性能、血清指标及半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路相关基因表达量的影响。本试验以 128 只健康霍尔多巴吉鹅为研究对象, 于 150 日龄采绒后随机分成 4 组, 每组 4 个重复, 每个重复 8 只鹅。各组试验鹅分别饲喂基础饲料中蛋氨酸添加量为 0、0.28%、0.56% 和 0.84% 的饲料, 正试期 42 d。测定比较试验鹅的羽绒千朵绒重、羽枝长度以及血清生化、抗氧化和促生长因子等指标, 并通过 RT-qPCR 检测半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路相关基因 mRNA 的相对表达量。结果发现: 1) 随着饲料中蛋氨酸添加比例增加, 鹅血清中总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)含量等均未发生显著变化($P>0.05$); 血清中促生长因子(IGF-1)、催乳素(PRL)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)浓度随之显著升高($P<0.05$), 但添加量达到 0.84% 时反而又降低。2) 饲料中添加蛋氨酸可显著提高羽绒的千朵绒重和背部羽枝长度($P<0.05$), 促进羽绒再生, 但不同蛋氨酸添加浓度对羽绒产量影响的差异不显著($P>0.05$)。3) RT-qPCR 检测结果显示, 饲料中添加蛋氨酸, 半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中 MAT1A mRNA 相对表达量显著下调($P<0.05$), 基因 AHCY 在蛋氨酸添加比例为 0.28% 时 mRNA 相对表达量极显著下调($P<0.01$)。结果表明, 饲料中添加适当浓度的蛋氨酸, 可促进鹅体内 IGF-1 和 PRL 等促生长因子和抗氧化因子分泌, 还可显著提高千朵绒重、背部羽枝长度, 降低半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中 MAT1A 和 AHCY 基因 mRNA 的相对表达量, 促进羽绒再生, 其适宜的总添加量为 0.55%~0.83%。

关键词: 蛋氨酸; 霍尔多巴吉鹅; 鹅绒; 血清指标; 基因表达

中图分类号: S835.5

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2019)02-0323-09

Effect of Dietary Methionine on Down Quality of Regeneration, Serum Indexes and Gene Expressions in Goose

WANG Huiying^{1,2}, GUO Baodi¹, HE Daqian², GONG Shaoming²,
LIU Yi², LI Guangquan², XU Qi¹, CHEN Guohong^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of dietary methionine on the regeneration performance of goose down, serum indexes and the expression of genes related to cysteine and methionine metabolic pathways in Hortobagy goose (Goosebag goose). One hundred and twenty eight 150-day-old healthy Hortobagy geese were selected and randomly divided into 4 groups after epilation. Four replicates for each group, and 8 geese for each replicate. Geese in the 4 groups were fed diets with additional methionine levels of 0, 0.28%, 0.56% and 0.84%, re-

收稿日期: 2018-07-16

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-42-3; CARS-42-35)

作者简介: 王惠影(1978-), 女, 江苏丰县人, 副研究员, 博士, 主要从事水禽遗传育种与健康养殖技术研究, Tel: 021-62207574, E-mail: yjshy-wang@sina.com

* 通信作者: 陈国宏, 主要从事动物遗传资源评价与利用研究, E-mail: ghchen@yzu.edu.cn

spectively. The formal experimental period was 42 days. The data of goose down such as the thousand plush weight, velvet length, serum biochemical indicators, growth factors and antioxidant factors levels were measured, and the expression levels of genes related to cysteine and methionine metabolism pathways were determined by RT-qPCR. The results showed as the following: 1) There was no significant difference in the TP, ALB, BUN, TG, HDL and LDL levels in serum among different groups ($P > 0.05$). At the same time, with the increase of dietary methionine concentration, the growth factor (IGF-1), prolactin (PRL) and the glutathione (GSH-Px) levels in serum were also significantly increased ($P < 0.05$), but when the methionine level added to 0.84%, the concentration of the above factors reduced. 2) Supplementation of methionine in diet could significantly increase the thousand down weight and velvet length of back ($P < 0.05$), and promote the regeneration of down, but there was no significant difference in the yield of down among the different methionine supplementation groups ($P > 0.05$). 3) The results of RT-qPCR showed that, with the methionine addition, the mRNA expression of *MAT1A* gene in cysteine and methionine metabolism pathway decreased significantly ($P < 0.05$), and the expression of *ACHY* mRNA extremely significantly decreased in the 0.28% methionine supplementation group ($P < 0.01$). The results indicate that suitable concentration of methionine in diet can promote the secretion of IGF-1 and PRL growth factors and antioxidant factors in goose. It can also significantly increase the thousand plush weight and velvet length of back, reduce the mRNA expression of the *MAT1A* and *ACHY* genes in cysteine and methionine metabolism pathways and promote the regeneration of the down feather, and the suitable total addition level is 0.55%-0.83%.

Key words: methionine; Hortobagy goose; goose down; serum index; gene expression

蛋氨酸是必需氨基酸中唯一的含硫氨基酸, 不仅为肌酸、磷脂酰胆碱和多胺合成等转甲基化反应及 DNA、RNA 和组蛋白的甲基化提供甲基^[1-2], 还可以提高生物合成角蛋白的强度, 加速毛的生长, 提高净毛率, 改善毛的品质^[3-4]。Nazem 等^[5]研究表明, 向受精的鸡蛋胚蛋中注 50 mg 蛋氨酸, 可以增加鸡胚出生后毛囊的密度和直径。Zhang 等^[6]发现, 在水貂的低蛋白质饲料中添加蛋氨酸有促进毛囊进入生物周期下一阶段的趋势。南韦肖等^[7]发现, 在培养基中添加适宜浓度的蛋氨酸可以促进水貂乳头细胞的增殖, 提高细胞的增殖活力。上述研究表明, 给养蛋氨酸, 可以增加相关基因的表达, 促进毛囊的发育。毛囊是鹅羽毛生长发育的基石, 能够周期性的调控羽毛生长发育, 影响羽毛羽绒的产量与质量。目前已发现多个与毛囊发育有关的信号通路, 例如 Wnt 信号通路、FGF 信号通路、Notch 信号通路等。除此之外, 白海臣^[8]发现, 半胱氨酸和蛋氨酸合成的代谢通路为换羽后启动的主要信号传导途径之一。

除此之外, 蛋氨酸在家禽机体抗氧化功能中起着重要作用。相关研究显示, 蛋氨酸主要从氧化还原循环和转化生成谷胱甘肽两条途径起抗氧化保护作用^[9-10]。杜希海^[11]研究发现, 蛋氨酸对 49 日龄鹅

血清 GSH-Px、SOD 活力、MDA、GSH 含量有显著性影响 ($P < 0.05$)。叶慧等^[12]发现, 添加蛋氨酸能增强狮头鹅机体的抗氧化能力 (当蛋氨酸水平为 0.78% 时效果最佳)。

鹅羽绒作为十分重要的纺织原料, 具有柔软、蓬松、轻便、富有弹性、保暖耐磨等特点, 受到广大人们的欢迎^[13]。羽绒作为生物合成角蛋白的另一种表现形式, 其生长发育是否也受饲料蛋氨酸浓度影响调控, 目前缺乏相关资料报道。因此, 本研究以霍尔多巴吉鹅为研究对象, 探讨不同蛋氨酸水平对绒再生性能、部分血液指标及半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中相关基因表达量的影响, 旨在揭示蛋氨酸对鹅羽绒再生发育的作用, 同时也为确定鹅羽绒再生期适宜的饲料蛋氨酸添加水平提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物及分组 试验选用同一条件养殖的 150 日龄健康霍尔多巴吉鹅 128 只, 采绒后随机分成 4 组, 每组 4 个重复, 每个重复 8 只, 公母各半。

各组试验鹅分别饲喂基础饲料中蛋氨酸添加量依次为 0、0.28%、0.56% 和 0.84% 的饲料, 并分别

设定为 M1、M2、M3 和 M4 组。基础饲料配方(表 1)参照 NCR 标准(1994)^[14] 建议的营养需要量,并根据我国当前养鹅生产实际设计。

表 1 基础饲料组成及主要营养水平

Table 1 Basic diet compositions and main nutrient levels

项目 Item	含量 Content	%
原料 Ingredient		
玉米 Corn	64.98	
膨化豆粕 Puffed soybean meal	15.42	
苜蓿草粉 Alfalfa meal	5.00	
小麦麸 Wheat bran	10.00	
大豆油 Soybean oil	1.94	
赖氨酸 Lysine	0.09	
苏氨酸 Threonine	0.01	
石粉 Limestone	0.68	
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.98	
食盐 NaCl	0.30	
预混料 Premix ¹⁾	0.60	
合计 Total	100.00	
营养水平 Nutrient level ²⁾		
粗蛋白质 Crude protein	14.00	
代谢能 ME	11.77	
钙 Calcium	0.60	
有效磷 Available phosphorus	0.30	
锌 Zinc	31.68	
蛋氨酸 Methionine	0.27	
赖氨酸 Lysine	0.74	
半胱氨酸 Cysteine	0.54	
苏氨酸 Threonine	0.55	
色氨酸 Tryptophan	0.18	
粗纤维 Crude fiber	3.88	

¹⁾ 每千克预混料含:维生素 A 200 000 IU;维生素 D₃ 45 000 IU;维生素 E 400 IU;维生素 B₁ 25 mg;维生素 B₂ 120 mg;维生素 B₆ 50 mg;维生素 B₁₂ 0.25 mg;叶酸 15.0 mg;生物素 2.0 mg;氯化胆碱 8.0 mg;铁 2.0 g;铜 0.30 g;锰 2.3 g;硒 3.3 mg;钙 10%;磷 3.3%;盐 16%。²⁾ ME 为计算值,其它均为实测值

¹⁾ Per kilogram of premix containing: Vitamin A 200 000 IU; Vitamin D₃ 45 000 IU; Vitamin E 400 IU; Vitamin B₁ 25 mg; Vitamin B₂ 120 mg; Vitamin B₆ 50 mg; Vitamin B₁₂ 0.25 mg; folic acid 15.0 mg; biotin 2.0 mg; choline chloride 8.0 mg; iron 2.0 g; copper 0.30 g; manganese 2.3 g; selenium 3.3 mg; calcium 10%; phosphorus 3.3%; salt 16%. ²⁾ ME is the calculated value, the others are the measured values

1.1.2 试验动物饲养 试验鹅全程网上平养,自由采食饲料,自由饮水。预试期 7 d,正式试验期 42 d。

1.2 试验方法

1.2.1 样品采集及指标测定 试验 28 天时每个重复分别取接近平均体重的公母鹅各 1 只,采背部毛囊组织样,直接保存于 Trizol 中,置于 -80 °C 冰箱内保存备用。

试验 42 天时每个重复分别取接近平均体重的公母鹅各 2 只,分别在翅静脉处采集全血约 4 mL;将采集的血液样本静置于恒温箱中 30 min 后,于室温下凝固。将凝固后的血液样本在离心机内 4 500 r · min⁻¹ 离心 10 min,分装上清液,于 -20 °C 保存备用。

试验 42 天时每个重复分别取接近平均体重的公母鹅各 2 只,分别在背、腹、胸部采集羽绒样品,装入采样袋,测定试验鹅的千朵绒重,背、腹、胸部羽枝长度等。

1.2.2 羽绒品质测定 委托绍兴中纺联检验技术服务有限公司进行羽绒品质相关指标检测。

千朵绒重:随机数取 1 000 个完整朵绒,用 0.000 1 g 感量电子天平称其重量。

羽枝长度:随机选取 50 个完整绒朵,稍作整理(绒核在下,使其保持自然形态,类似发散的树冠),置于载玻片上,上覆盖玻片,用游标卡尺测定绒朵根部到绒朵中部羽丝尖端的长度。

1.2.3 血清指标测定 用日立 7180 全自动血液生化分析仪,参照南京建成生物工程研究所和上海博谷生物科技有限公司的试剂盒使用说明测定 TP、ALB、BUN、TG、HDL 和 LDL 等 6 项血液生化指标。根据试剂盒说明书,使用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定血清中 GH、IGF-1、PRL、SOD 和 GSH-Px 浓度。

1.2.4 荧光定量 PCR 引物设计与合成 引物采用 Roche LCPDS 2 软件设计,由上海生工生物技术有限公司合成。

1.2.5 荧光定量 PCR 使用 QuantiFast[®] SYBR[®] Green PCR Kit 试剂盒(Qiagen, Germany)在 LightCycler[®] 480 II 型荧光定量 PCR 仪(Roche, Swiss)上进行反应。荧光定量 PCR 采用 SYBR 染色,选 ACTB(β actin)为内参,每个实时定量 PCR 分析设 3 个技术重复。

PCR 反应程序:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性

表 2 实时定量 PCR 引物

Table 2 Primers for quantitative real-time PCR

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence	片段大小/bp Product length	T _m /°C
MAT1A-F	GGATCGTGTAATTCAAGCTGT	102	60
MAT1A-R	CCCTGAGGTCCTCCAATAAC		
AHCY-F	CAGATTGAGCTGTGGACGA	121	60
AHCY-R	ACTTTGTCAGCTTCACGCA		
内参 ACTB-F	CCATTGGCAATGAGAGTTTC	79	60
内参 ACTB-R	TGGATACCGCAGGACTCCATA		

10 s, 60 °C 退火及延伸 30 s, 共 40 个循环。

1.2.6 数据统计分析 试验所得数据用 EXCEL 2010 软件录入和整理, 用 SPSS 20.0 中的 One ANOVA 模块进行方差分析, SSR 法进行多重比较, 数据用“平均数±标准差”表示。

qRT-PCR 试验结果分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。其中, $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}$; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{试验组样品}} - \Delta Ct_{\text{对照组样品}}$; 相对表达量为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

表 3 饲料蛋氨酸对再生 42 天鹅羽绒品质的影响

Table 3 Effects of methionine in diet on the goose down quality of 42-day regeneration

组别 Group	千朵绒重/g Thousand plush weight	腹部羽枝长度/mm Velvet length of abdomen	胸部羽枝长度/mm Velvet length of chest	背部羽枝长度/mm Velvet length of back	平均羽枝长度/mm Average velvet length
M1	1.77±0.21 ^b	24.85±1.58	28.91±2.38	24.49±1.97 ^b	25.70±1.05 ^b
M2	2.18±0.34 ^a	26.12±2.36	31.93±1.74	27.18±0.93 ^a	28.41±0.39 ^a
M3	2.26±0.19 ^a	26.34±1.87	30.59±3.04	26.77±1.76 ^a	28.35±0.99 ^a
M4	2.22±0.57 ^a	24.13±4.10	30.70±2.26	26.33±2.63 ^a	27.25±1.90 ^a

肩标小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$); 肩标字母相同或无标记表示差异不显著 ($P > 0.05$)。下表同

In the same column, the data with different lowercase letter superscripts show significant difference ($P < 0.05$); the data with the same letter or no letter superscript show no significant difference ($P > 0.05$). The same as the following tables

2.2 饲料蛋氨酸对鹅血清生化指标的影响

由表 4 可以看出, 饲料中添加不同比例的蛋氨酸, 对鹅血清中 TP、ALB、BUN、TG、HDL 和 LDL 含量无显著影响 ($P > 0.05$)。

2.3 饲料蛋氨酸对鹅激素水平和抗氧化能力的影响

表 5 结果表明, 随着基础饲料中蛋氨酸添加量

2 结果

2.1 饲料蛋氨酸对鹅再生羽绒品质的影响

表 3 显示, 基础饲料中随着蛋氨酸添加量的增加, 试验鹅的千朵绒重、背部羽枝长度和平均羽枝长度等指标显著增加 ($P < 0.05$), 但不同添加量间差异不显著 ($P > 0.05$)。试验鹅的胸部羽枝长度依次高于背部和腹部羽枝长度。综合各个指标可以看出, 基础日粮中蛋氨酸添加量为 0.28% 和 0.56% 时, 再生羽绒的品质最好。

增加, 血清中 IGF-1、PRL 和 GSH-Px 浓度呈现显著性先升高后降低趋势 ($P < 0.05$), SOD 和 GH 则呈现非显著性先升高后降低趋势 ($P > 0.05$)。其中, IGF-1 和 PRL 水平均在蛋氨酸添加量为 0.56% 时显著高于其它组, GSH-Px 在蛋氨酸添加量为 0.28% 和 0.56% 时显著高于其它组。

表 4 饲料蛋氨酸对鹅血清生化指标的影响

Table 4 Effects of methionine in diet on serum biochemical indexes in geese

组别 Group	总蛋白/ (g · L ⁻¹) TP	白蛋白/ (g · L ⁻¹) ALB	尿素氮/ (mmol · L ⁻¹) BUN	三酰甘油/ (mmol · L ⁻¹) TG	高密度脂蛋白/ (mmol · L ⁻¹) HDL	低密度脂蛋白/ (mmol · L ⁻¹) LDL
M1	37.53±3.53	11.15±1.99	0.35±0.13	0.69±0.09	2.13±0.66	1.36±0.27
M2	36.12±2.16	10.44±1.05	0.38±0.03	0.60±0.12	2.11±0.38	1.29±0.20
M3	35.31±4.87	10.03±1.64	0.35±0.10	0.56±0.11	1.95±0.40	1.24±0.19
M4	31.91±3.04	10.26±1.66	0.33±0.11	0.57±0.10	1.90±0.40	1.18±0.14

表 5 饲料蛋氨酸对鹅血清激素水平和抗氧化指标的影响

Table 5 Effects of methionine in diet on serum hormone levels and antioxidant parameters in geese

组别 Group	生长激素/ (ng · mL ⁻¹) GH	促生长因子/ (ng · mL ⁻¹) IGF-1	催乳素/ (ng · mL ⁻¹) PRL	超氧化物歧化酶/ (U · mL ⁻¹) SOD	谷胱甘肽过氧化物酶/ (U · mL ⁻¹) GSH-Px
M1	67.28±7.50	20.03±2.30 ^b	113.11±12.71 ^b	21.52±2.90	68.00±7.46 ^b
M2	67.60±7.11	20.80±2.56 ^b	112.64±13.91 ^b	22.90±2.64	318.27±26.08 ^a
M3	89.31±5.72	29.66±2.79 ^a	172.86±7.42 ^a	29.60±2.45	251.31±27.39 ^a
M4	80.55±7.01	23.78±2.27 ^b	97.50±9.50 ^b	25.19±2.65	95.08±9.04 ^b

2.4 饲料蛋氨酸对鹅半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中相关基因 mRNA 相对表达量的影响

2.4.1 RNA 抽提质检结果 经测定,各样品抽提所得 RNA 的 OD_{260 nm}/OD_{280 nm} 值为 1.9~2.1。琼脂糖凝胶电泳检测发现, RNA 降解率低,条带清晰(图 1),可以满足后续试验要求。

2.4.2 饲料蛋氨酸对半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中相关基因 mRNA 相对表达量的影响 由图 2 可以看出,饲料中添加不同比例的蛋氨酸,半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中的 *MAT1A* 基因 mRNA 相对表达量显著下调($P<0.05$),基因 *AHCY* 在蛋氨酸

添加比例为 0.28% 时 mRNA 相对表达量极显著下调($P<0.01$)。

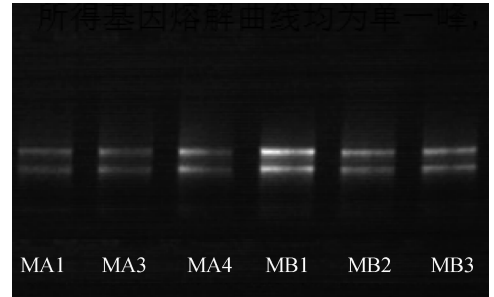
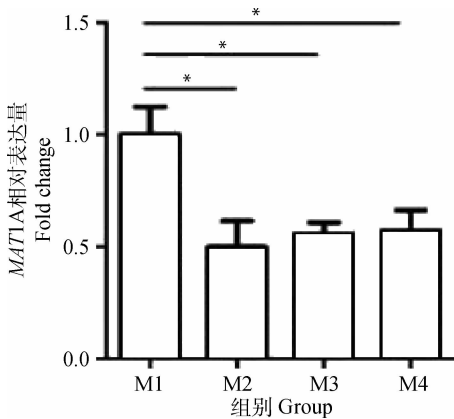
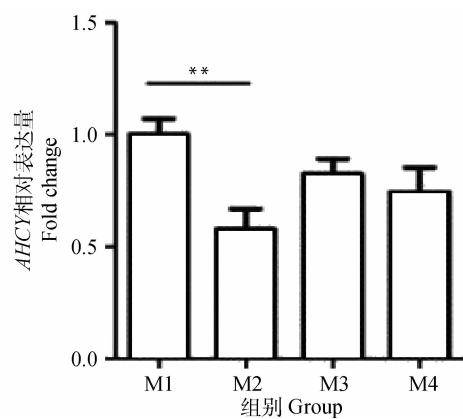


图 1 样品总 RNA 电泳图

Fig. 1 Electrophoretogram of RNA samples

图 2 日粮蛋氨酸水平对鹅半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中 *MAT1A* 和 *AHCY* mRNA 的相对表达量的影响Fig. 2 The effects of methionine in diet on the expression of *MAT1A* and *AHCY* mRNA in cysteine and methionine metabolism pathways of geese

3 讨论

3.1 饲粮蛋氨酸对鹅再生羽绒品质的影响

蛋氨酸直接或间接参与机体甲基化过程、体蛋白等生物活性物质的合成,是动物生长、繁殖和产毛所必需的第一限制性氨基酸,也是唯一含硫醚结构的氨基酸^[15]。羽毛作为动物蛋白质的一种表达形式,其生长发育也需要大量的含硫氨基酸^[16]。袁绍有和左瑞华^[17]研究表明,皖西白鹅采绒后在精料中添加适量的蛋氨酸有利于鹅新生羽毛和羽绒的生长。Mata 等^[18]研究表明,随着饲粮中蛋氨酸含量增加,羊的活体重量、羊毛产量及羊毛纤维直径都显著增加。本研究结果显示,饲粮中添加一定量的蛋氨酸,试验鹅的千朵绒重与羽枝长度均有明显改善。这可能是由于蛋氨酸在代谢过程中可以形成聚胺,饲粮中添加蛋氨酸促进了细胞的分裂和蛋白质合成,提高了细胞的增殖率。也可能是由于蛋氨酸作为营养物质底物,参与了合成蛋白质,即动物绒毛的形成。多项研究也表明^[19-20],蛋氨酸可以改善毛皮品质,但不同着生部位之间也存在差异。水禽胸部的产绒性能高于腹部和背部,本研究也得出相似的结果,试验鹅胸部羽枝长度依次大于背部和腹部羽枝长度,这也给实际生产中羽绒质量的评价提供了参考资料。

适量添加蛋氨酸对毛囊的生长有促进作用,但过量添加则会影响氨基酸代谢中某些酶活性^[21],抑制毛囊发育,影响绒毛品质。南韦肖^[22]发现,随着蛋氨酸浓度升高,各组毛囊的长度呈现了先升高后降低的趋势。刘道等^[23]研究发现,当饲粮蛋氨酸水平为 0.73% 时,70 日龄吉林白鹅的产绒性能最佳。本研究结果与前人的研究基本一致。

3.2 饲粮蛋氨酸对鹅血清生化指标的影响

血液生化指标可以反映家禽的健康与体内营养状况,饲粮中三酰甘油、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白为脂肪代谢的中间产物,氨基酸供应不足或过量均可能造成其利用率下降,多余氨基酸则会转化生成体内脂肪^[24]。周晓容等^[25]综合大量文献后指出,仔鹅的蛋氨酸需要量为 0.33%~0.75%。当体内氨基酸水平比较适宜时,血清总蛋白浓度处于较高水平,家禽生产性能也呈正比例增加。本研究中,当饲粮蛋氨酸含量逐渐提高到 0.84% 时,血清中总蛋白、有关脂类代谢的指标、BUN 无明显改变,说明蛋氨酸含量变化没有影响到体内脂肪沉积、氮的代

谢,体内代谢处于平衡状态。

3.3 饲粮蛋氨酸对鹅激素水平和抗氧化能力的影响

张永翠和李福昌^[26]研究表明,在饲粮蛋白水平一致的情况下,提高蛋氨酸水平对肉兔血清 GH 水平无显著影响,血清中 IGF-1 的浓度呈现先增加后降低的趋势($P < 0.01$)。史旭升等^[27]试验结果显示,提高蛋氨酸水平可以使鹅血清中 IGF-1 水平提高,对血清 GH 水平无显著影响,并发现血清 IGF-1 含量与日增重的相关性较高。本研究结果表明,提高饲粮蛋氨酸水平,显著提高了试验鹅血清中 IGF-1 浓度,使 GH 浓度升高,两者均呈现先增加后降低趋势($P < 0.05$)。这些研究均表明,蛋氨酸的采食量影响动物体内生长因子的浓度,继而影响动物的生理、生长或生产。

多年来,科研人员一直研究催乳素(PRL)对绒毛纤维生长的调控作用,结果表明,PRL 是调控绒山羊绒毛生长的最重要的激素之一,外源 PRL 对绵羊胎儿的次级毛囊发育有促进作用,血浆中催乳素浓度升高或降低是启动和终止绒毛生长的重要因素^[28]。也有研究表明,褪黑激素(MT)能够刺激羊绒纤维生长,可能是由于其降低了血浆 PRL 浓度来完成刺激生绒的过程^[29]。本研究结果显示,随着饲粮蛋氨酸水平提高,试验鹅血清中 PRL 浓度先升高后降低,趋势与 GH、IGF-1 一致($P < 0.05$)。以上研究显示,饲粮中添加适量蛋氨酸,可以显著提高血清 PRL 浓度,从而促进畜禽绒毛生长。

蛋氨酸在动物体内代谢产生甲基和半胱氨酸,半胱氨酸与谷氨酸和甘氨酸合成 GSH。GSH-Px 是一种含硒的酶,可以分解过氧化氢和过氧化物,清除细胞内脂质和有机过氧化反应的产物,达到保护细胞膜机构和功能完整的作用。SOD 活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力,当机体受到不利因素刺激时,SOD 活性受到抑制,自由基的清除能力降低,体内自由基蓄积。史旭升等^[27]研究表明,适量的蛋氨酸可以提高蛋鸡血清的 SOD 活性。杜希海等^[30]的研究结果表明,饲粮蛋氨酸含量为 0.83% 时,28~70 日龄吉林白鹅抗氧化能力最强。叶慧等^[12]研究表明,饲粮中添加蛋氨酸可促进狮头鹅体内 GSH 的合成及提高 GSH-Px 和 SOD 的活性。这些研究均表明,适量的蛋氨酸可以增强机体清除氧自由基的能力。本研究结果也显示,饲粮中添加一定水平的蛋氨酸,可以提高鹅血清 GSH 和 SOD 活性。但高度或长期的免疫激活却会改变畜

禽行为、代谢和神经内分泌,最终抑制生长^[31],因此蛋氨酸添加量必须保持在一定的合适范围。

3.4 饲料蛋氨酸对半胱氨酸和蛋氨酸合成通路中相关基因 mRNA 表达量的影响

蛋氨酸代谢的中间产物 SAM 在 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶催化下形成脱羧的 S-腺苷蛋氨酸,参与多胺的形成^[32]。研究证实,多胺通过调控细胞蛋白质的翻译起始和翻译延长影响细胞的分化,同时,其体内水平还影响着细胞的分化速度^[33],而 MAT1A 酶则维持调节体内多胺处于正常水平。AHCY 是一个可以将 S-腺苷高半胱氨酸(S-adenosylhomocysteine)转变为高半胱氨酸(homocysteine)与腺苷(adenosine)的酶。它们均在蛋氨酸的代谢途径中行使重要功能。白海臣^[8]探讨了皖西白鹅胚胎期毛囊的生长发育规律,并运用基因表达谱芯片方法分析了换羽期羽绒再生重要调控基因的表达变化,发现羽绒再生过程中涉及到半胱氨酸和蛋氨酸合成的代谢通路为换羽后启动的主要信号传导途径之一,而其代谢通路中的差异表达基因 MAT1A 和 AHCY 则可能为参与羽绒再生过程的关键基因。本研究中,半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路上的 MAT1A 和 AHCY 基因随着饲料蛋氨酸水平的提升而显著下调,也表明这些基因可能参与鹅绒毛再生的调节,与鹅绒毛的再生相关,可作为毛囊发育调节的重点基因继续研究。

4 结 论

4.1 霍尔多巴吉鹅饲料中蛋氨酸总添加水平在 0.55%~0.83% 时,鹅体内血清生化指标、激素水平及抗氧化能力等达到最佳状态,鹅再生羽绒品质最好。

4.2 饲料蛋氨酸对半胱氨酸和蛋氨酸合成通路中 MAT1A、AHCY 基因的表达有显著影响,饲料中添加蛋氨酸, MAT1A 和 AHCY 基因 mRNA 表达量显著下调。

参考文献(References):

- [1] KAKHKI R A M, GOLIAN A, ZARGHI H. Effect of digestible methionine + cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens[J]. *Br Poult Sci*, 2016, 57(3): 403-414.
- [2] BERTOLO R F, MCBREAIRTY L E. The nutritional burden of methylation reactions[J]. *Curr Opin Clin*

Nutr Metab Care, 2013, 16(1): 102-108.

- [3] 易先国,何书海,梁存军,等. 蛋氨酸对皖系长毛兔毛囊发育的影响[J]. 中国兽医杂志, 2012, 48(3): 39-41.
- YI X G, HE S H, LIANG C J, et al. Effect of methionine on hair follicle development of long haired rabbit in Anhui Province[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2012, 48(3): 39-41. (in Chinese)
- [4] 周玉香,张培松,张艳梅,等. 过瘤胃蛋氨酸对滩羊羔羊生产性能及羊毛品质的影响[J]. 家畜生态学报, 2018, 39(4): 75-78.
- ZHOU Y X, ZHANG P S, ZHANG Y M, et al. Effect of rumen protected methionine on production performance and wool quality of Tan lamb[J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2018, 39(4): 75-78. (in Chinese)
- [5] NAZEM M N, AMANOLLAHI R, TAVAKKOLI H, et al. Effect of in ovo injected methionine on feather follicle formation and its growth in the chicken embryo[J]. *Anat Sci*, 2015, 12(2): 83-88.
- [6] ZHANG H H, JIANG Q K, SUN W L, et al. Effects of different dietary protein levels and DL-methionine supplementation on hair growth and pelt quality in mink (Neovision vision)[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2013, 97(6): 1036-1042.
- [7] 南韦肖,张海华,司华哲,等. 蛋氨酸对水貂毛乳头细胞生长的影响[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(2): 23-25, 28.
- NAN W X, ZHANG H H, SI H Z, et al. Effects of methionine on the developmental of mink dermal papilla cells *in vitro*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2017, 53(2): 23-25, 28. (in Chinese)
- [8] 白海臣. 皖西白鹅毛囊发育规律及羽绒再生调节关键基因分析[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
- BAI H C. Follicle developmental patterns and candidate genes expression for feather regeneration in Wanxi-white goose [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [9] HUO X, WANG A L, YANG J M. Antioxidant activity of sulfur-containing amino acids [J]. *Bull Biol*, 2006(4): 7-8.
- [10] 唐漾波, 欧阳佩珍. 过量蛋氨酸对大鼠肝、脑组织脂质过氧化作用的研究[J]. 营养学报, 1994, 16(4): 362-366.
- TANG Y B, OUYANG P Z. A study of excess methionine on lipid peroxidation of liver and brain tissues in rats[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 1994, 16(4): 362-

366. (in Chinese)
- [11] 杜希海. 蛋氨酸对 28~70 日龄吉林白鹅生产性能及抗氧化能力的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
DU X H. Effects of methionine on production performance and antioxidant ability of Jilin White geese aged 28 to 70 days[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [12] 叶 慧, 冯凯玲, 邓远帆, 等. 不同饲粮蛋氨酸水平对 21 日龄狮头鹅血清生化指标及抗氧化功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2013, 49(13): 43-46.
YE H, FENG K L, DENG Y F, et al. Effects of different dietary methionine levels on serum biochemical indices and antioxidant function in 21-day Shitou geese [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2013, 49 (13): 43-46. (in Chinese)
- [13] 何大乾. 高效科学养鹅关键技术有问必答[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
HE D Q. Key technologies for high efficient scientific goose feeding[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2017. (in Chinese)
- [14] National Research Council. Nutrient requirement of poultry[M]. 9th ed. Washington DC: National Academy Press, 1994.
- [15] 樊燕燕, 张海华, 孙伟丽, 等. 毛皮动物蛋氨酸营养的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(17): 76-79.
FAN Y Y, ZHANG H H, SUN W L, et al. Research progress of methionine nutrition for fur animals[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2016(17): 76-79. (in Chinese)
- [16] GOODBAND B, TOKACH M, DRITZ S, et al. Practical starter pig amino acid requirements in relation to immunity, gut health and growth performance[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2014, 5(1): 12.
- [17] 袁绍有, 左瑞华. 日粮蛋氨酸水平对皖西白鹅拔毛后产毛性能的影响[J]. 中国草食动物, 2007(4): 36-37.
YUAN S Y, ZUO R H. Effect of dietary methionine level on wool production of Wanxi White Goose after plucking[J]. *China Herbivores*, 2007(4): 36-37. (in Chinese)
- [18] MATA G, MASTERS D G, BUSCALL D, et al. Responses in wool growth, liveweight, glutathione and amino acids, in Merino wethers fed increasing amounts of methionine protected from degradation in the rumen[J]. *Aust J Agric Res*, 1995, 46(6): 1189-1204.
- [19] 牟玉婷, 吴 伟, 孙永峰, 等. BMP2 基因在鹅胸、腹、背部皮肤中的定位定量表达研究[J]. 吉林农业大学学报, 2013, 35(2): 241-244, 249.
MU Y T, WU W, SUN Y F, et al. Research on the positioning and quantitative expression of BMP2 gene in chest, abdomen and back skin of goose[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2013, 35(2): 241-244, 249. (in Chinese)
- [20] 赵 洋, 王志跃, 杨海明, 等. 喷淋对仔鹅产绒性能和绒羽理化性质的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(5): 781-788.
ZHAO Y, WANG Z Y, YANG H M, et al. Effects of spraying on cashmere performance and down physicochemical properties in goslings[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2014, 45(5): 781-788. (in Chinese)
- [21] 谢 明. 北京鸭蛋氨酸需要量、生物学效价及毒性的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
XIE M. Requirement, bioefficacy, and toxicity of methionine in Pecking ducks[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007. (in Chinese)
- [22] 南韦肖. 蛋氨酸对体外培养的水貂毛囊及毛乳头细胞发育规律的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
NAN W X. Effects of methionine on the developmental mechanism of mink hair follicle and dermal papilla cells *in vitro* [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [23] 刘 道, 滕战伟, 娄玉杰. 蛋氨酸对 70 日龄吉林白鹅产绒性能及 IGF- I 基因 mRNA 相对表达量的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(1): 75-78.
LIU X, TENG Z W, LOU Y J. Effect of methionine on cashmere performance and relative expression of IGF- I mRNA in 70 day old Jilin white goose[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(1): 75-78. (in Chinese)
- [24] LIEN T F, JAN D F. The effect on the lipid metabolism of Tsaiya ducks when high levels of choline or methionine are added to the duck's diet[J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 1999, 12(7): 1090-1095.
- [25] 周晓容, 杨飞云, 汪 超, 等. 鹅氨基酸营养需要的研究进展[J]. 四川畜牧兽医, 2013, 40(1): 32-34.
ZHOU X R, YANG Y F, WANG C, et al. Research progress of amino acid nutrition in goose[J]. *Sichuan Animal & Veterinary Sciences*, 2013, 40(1): 32-34. (in Chinese)
- [26] 张永翠, 李福昌. 蛋氨酸对肉兔氮代谢、血清激素及肝脏胰岛素样生长因子-I mRNA 基因表达的影响[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2009, 40(1): 65-69.
ZHANG Y C, LI F C. Effect of dietary methionine supplement levels on insulin, growth hormone, insu-

- lin-like growth factor-I (IGF-I) concentration in serum and IGF-I mRNA expression of 2-3 month-old rabbits [J]. *Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science*, 2009, 40(1): 65-69. (in Chinese)
- [27] 史旭升, 高安崇, 薛冲, 等. 0~4 周龄农安籽鹅日粮氨基酸模型的研究[J]. *中国兽医学报*, 2012, 32(5): 775-778.
- SHI X S, GAO A C, XUE C, et al. Studies on amino acid pattern of 0-4 week Nongan geese [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2012, 32(5): 775-778. (in Chinese)
- [28] MCCLOGHRY C E, HOLLIS D E, FOLDES A, et al. The effects of exogenous melatonin and Prolactin on wool follicle development in ovine foetal skin grafts [J]. *Austr J Agric Res*, 1993, 44(5): 993-1002.
- [29] EMESIH G C, NEWTON G R, TEH T H, et al. Effects of photoperiod and continuous administration of melatonin on plasma concentrations of prolactin in cashmere goats [J]. *Small Ruminant Res*, 1993, 11(3): 247-256.
- [30] 杜希海, 娄玉杰, 刘道, 等. 日粮蛋氨酸对 28~70 日龄吉林白鹅生长性能、血清生化指标及抗氧化能力的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2017, 53(3): 84-87.
- DU X H, LOU Y J, LIU X, et al. Effects of dietary methionine on growth performance, serum biochemical indices and antioxidant capacity of 28-70 day old Jilin White Geese [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(3): 84-87. (in Chinese)
- [31] 赵天, 王国军, 彭孝坤, 等. 氨气和硫化氢应激对肉羊免疫及抗氧化功能的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(10): 2191-2204.
- ZHAO T, WANG G J, PENG X K, et al. Effects of ammonia and hydrogen sulfide stress on immunity and antioxidant function of goats [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2018, 49(10): 2191-2204. (in Chinese)
- [32] 徐巧云, 胡良宇, 王梦芝. 蛋氨酸在动物体内代谢途径与周转机制 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29(11): 3877-3884.
- XU Q Y, HU L Y, WANG M Z. Metabolic pathway and turnover mechanism of methionine in animals [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(11): 3877-3884. (in Chinese)
- [33] MANDAL S, MANDAL A, JOHANSSON H E, et al. Depletion of cellular polyamines, spermidine and spermine, causes a total arrest in translation and growth in mammalian cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(6): 2169-2174.

(编辑 郭云雁)