

肉鸭骨骼发育及质量的营养调控研究进展

曾秋凤 张怀勇 丁雪梅 白世平 王建萍 张克英*

(四川农业大学动物营养研究所,动物抗病营养教育部、农业部、四川省重点实验室,成都 611130)

摘要: 骨骼发育及质量不但涉及到肉鸭的健康与福利,而且与鸭肉品质存在一定的相关性,是一个重要的经济性状。四川农业大学家禽营养团队在剖析肉鸭胫骨和胸骨发育及钙化规律的基础上,从骨骼生长发育、骨钙化、骨重建以及肠骨轴层面开展了肉鸭骨骼健康的钙、磷、维生素、25-羟基维生素 D₃(25-OH-D₃)和抗性淀粉的调控及其调控机制的研究。本文拟就本团队近年来的研究工作及相关类似研究从肉鸭骨骼生长发育及钙化规律、骨骼发育及钙化的营养调控及肠骨轴的营养调控 3 个方面来进行综述,以为肉鸭的健康高效养殖提供理论依据。

关键词: 肉鸭;骨代谢;肠骨轴;钙;磷;维生素;25-OH-D₃;抗性淀粉

中图分类号: S852.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2020)10-4624-13

我国是肉鸭养殖第一大国,2019 年全国出栏商品肉鸭约 44.3 亿只,鸭肉约 580 万 t,年生产总值接近 1 400 亿元,肉鸭养殖逐渐成为了我国畜牧业的重要支柱产业,对我国农民增收、脱贫发挥着不可替代的作用^[1]。同时,近年来,肉鸭产业正在转型升级,从过去的水面养殖、半开放式地面平养逐渐转型升级为全封闭式网上养殖和立体多层笼养,标志着我国肉鸭现代化规模化养殖已逐步形成。据中国饲料工业协会统计,2019 年我国肉禽饲料产量为 8 464.8 万 t,同比增长 21.0%,其中肉鸭饲料增长 25.2%,肉鸭饲料产量接近 3 500 万 t,由此可见,我国肉鸭健康养殖及肉鸭饲料产业发展空间巨大。现代育种工作关注于肉鸭的体增重和饲料转化率,对肉鸭的骨骼健康关注较少,这种不均衡的选择导致肉鸭体重增加和骨骼生长钙化失衡^[2],使集约化养殖条件下的肉鸭易发生如腹水、呼吸系统疾病、胫骨软骨发育不良(TD)等。据估计,快大型商品肉鸭 1~21 日龄和 22~42 日龄腿病的发生率分别约为 14%和 21%^[3],造成了极大的经济损失,严重制约了肉鸭的健康高效养殖。

我国鸭肉产品的消费具有明显的地域特色,如北方地区以消费“烤鸭”和“烧鸭”为主,需要肉鸭沉积较多的体脂肪,而西南地区鸭肉产品的消费以“卤鸭”和“老鸭汤”为主,需要肉鸭饲养时间长、体重适中、体脂沉积低等。因此,西南地区肉鸭养殖形成了一种新的模式,即大型肉鸭优质化生产模式,俗称“吊白鸭”模式,其特点是以快大型肉鸭品种为主,饲养时间延长至 49~53 日龄出栏,同时出栏体重控制在 2.5 kg 左右,用手触摸胸骨钙化程度高,料重比在 2.6~3.0,其肉品质更适合卤制加工。因此,近年来,四川农业大学家禽营养团队围绕肉鸭胫骨和胸骨发育与钙化规律及其营养调控开展了大量研究工作,现将本团队的研究工作及他人相关类似研究结果综述如下。

1 肉鸭骨骼生长发育及钙化规律

1.1 骨骼的生长发育、钙化与重建

1.1.1 骨骼的生长发育

从宏观的角度来看,骨骼的生长发育是指骨形态和维度的变化,即长度和宽度的增加。骨骼绝对重量和相对于体重的百分比均是衡量骨骼生

收稿日期:2020-08-17

基金项目:国家水禽产业技术体系(CARS-42-10);“十三五”国家重点研发计划(2017YFD0502004)

作者简介:曾秋凤(1974—),女,湖南衡阳人,教授,博士,主要从事家禽营养与饲料科学研究。E-mail: zqf@sicau.edu.cn

*通信作者:张克英,教授,博士生导师,E-mail: zkeying@sicau.edu.cn

长发育及质量的重要指标^[4]。从微观的角度来看,长骨末端的纵向生长遵循软骨成骨的模式,即软骨细胞成熟,然后骨化从软骨中心(骨干)开始,向两端(骨骺)扩展;在这个过程中,软骨细胞表型从表达 II 型胶原蛋白(Coll-II)和 IX 型胶原蛋白(Coll-IX)的圆形未成熟增殖细胞转变为平行排列的扁平化细胞,最终转变为表达 X 型胶原蛋白(Coll-X)的肥大细胞;当肥大细胞被骨细胞替代时,钙化骨主要表达 I 型胶原蛋白(Coll-I)^[5]。因此,胶原蛋白类型也是评估骨骼生长发育的关键指标。因生长板(growth plate)是骨骼生长的关键来源,其宽度和厚度的变化受生化信号通路的控制,其中甲状旁腺激素相关蛋白(parathyroid hormone-related protein, PTHrP)和 Indian hedgehog (IHH)系统是最为人们所熟悉;IHH 是由增生前期的软骨细胞产生,它可以刺激未成熟软骨细胞向扁平的软骨细胞转化,然后再向肥大的软骨细胞转化,从而有利于软骨在骨干中被骨替代;同时,IHH 还可刺激关节周围软骨细胞产生 PTHrP,而 PTHrP 又可抑制 IHH 的产生,延缓骨骺中未成熟软骨细胞的分化,提示 IHH-PTHrP 形成负反馈环,维持生长板中未成熟软骨细胞的协调分化^[6]。由此可见,生长板的发育及形态也是衡量骨骼生长发育的重要指标。

1.1.1.2 骨骼的钙化

骨的钙化过程也是骨的矿化过程。骨矿化是指矿物质(主要是羟基磷灰石形状的钙和磷)在成骨细胞内外沉积的过程。矿化是骨骼达到硬度和刚度的必要步骤,通过促进骨灰分、强度和密度的增加,使骨骼抵抗重力和机械负荷;松质骨也相应地增加骨体积与组织体积的比值(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb. Th)和骨小梁数目(Tb. N),减小骨小梁间距即骨小梁分离度(Tb. Sp)^[7]。

骨矿化一般可分为 2 个阶段:1)成骨细胞或软骨细胞分泌多种基质蛋白,释放基质小泡(MVs)形成类骨,MVs 中首先形成羟基磷灰石晶体;2)羟基磷灰石晶体从囊泡中生长出来形成钙化结节,通过聚集羟基磷灰石晶体而变得更大,之后矿化沿着 Coll-I 进行^[8]。MVs 含有一些与钙、磷转运密切相关的蛋白,如膜联蛋白、钙结合蛋白、钠依赖性磷转运蛋白,它们促进 MVs 吸收钙和磷;此外,MVs 中的一些酶被认为与 MVs 及其周围的矿化作用密切相关,包括核苷焦磷酸酯酶

(nucleoside pyrophosphate phosphoesterase, NPP)、磷酸化乙醇/磷酸胆碱磷酸酶(phosphorylated ethanol/phosphocholine phosphatase, PHOSPHO1)、组织非特异性碱性磷酸酶(tissue non-specific alkaline phosphatase, TNAP)等;PHOSPHO1 在 MVs 内将磷氨基乙醇和磷酸胆碱转化为有机磷;NPP 也被 MVs 膜固定,并催化胞外核苷三磷酸(如 ATP)水解以释放焦磷酸盐(PPi)——一种众所周知的羟基磷灰石晶体生长抑制剂;而 TNAP 是软骨细胞肥大的标志物和软骨钙化的指示物,可水解 PPi 并提供无机磷酸盐(Pi)促进矿化^[9]。

在骨矿化过程中,由于细胞外焦磷酸盐阻碍了羟基磷灰石的形成,抑制了硬组织的矿化,因此 Pi 和 PPi 的比值(Pi/PPi)在骨矿化中起着极其重要的作用^[10]。低 Pi/PPi 导致矿化抑制,而高 Pi/PPi 促进矿化。此外,成骨细胞分泌的各种基质蛋白也在这一过程中发挥重要作用,包括骨结合蛋白、骨钙素、骨唾液蛋白、骨桥蛋白和蛋白多糖等。骨结合蛋白作为成骨细胞分化成熟的标志蛋白,与钙有很强的亲和力,可能与钙在骨和肾小管中的转运、沉积和排泄有关^[11];骨钙素是由成骨细胞合成和分泌的,可以作为连接羟基磷灰石和 Coll-I 的桥梁,从而调节羟基磷灰石的生长^[12];骨唾液蛋白是一种矿化组织特异性蛋白,在成熟成骨细胞中表达,是成骨细胞分化的晚期标志物,能促进钙在 MVs 中的沉积,与 Pi 结合形成羟基磷灰石,并通过促进钙的沉积进而与 Pi 结合来启动矿化过程^[13]。

1.1.1.3 骨骼的重建

骨重建在骨组织中不断发生,以协调生长和适应整个生命周期中的机械负荷,该过程涉及到骨形成和骨吸收的动态调控;骨重建的不平衡促使骨代谢偏向骨形成时,骨异常增加,如骨硬化症;若不平衡导致骨吸收增加,导致骨丢失,如骨质疏松症^[14]。成骨细胞是与骨形成相关的原代细胞,在用最终矿化的新类骨完全替代移除的骨中发挥着关键作用;在这种情况下,成骨细胞被羟基磷灰石包围,并达到其分化终点,转变为骨细胞表型,该过程受磷酸盐调节内肽酶同系物 x-连接(endopeptidase homolog x-linked, Phex)、牙本质基质蛋白 1(dentin matrix protein 1, Dmp1)和硬化蛋白(sclerostin, Sost)基因的调控^[15]。而破骨细胞通过分泌蛋白酶和氢离子来负责骨吸收,该过程受

液泡 H^+ -ATP 酶 (V-ATP 酶) 和组织蛋白酶 K (cathepsin K) 的调节^[16]。虽然骨重建受多种内源性和外源性因素的调控,但主要是通过核因子- κ B 受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK)/RANK 配体 (RANK ligand, RANKL)/骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 途径来调节,其中 RANKL 与 RANK 结合以诱导破骨细胞前体细胞的分化和融合,随后促进骨吸收,而 OPG 通过阻断 RANKL 和 RANK 的相互作用充当诱饵受体^[17]。已知影响 RANK/RANKL/OPG 途径的各种局部和全身因素,包括转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、骨形态发生蛋白 (bone morphogenic proteins, BMP)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等细胞因子,以及甲状旁腺激素 (PTH)、维生素 D 和雌激素等激素^[18];此外,还涉及外源因素,特别是机械负荷和营养因素。骨细胞通过诱导骨合成代谢信号 (包括一氧化氮和前列腺素) 来感知和响应机械刺激;在营养素中,钙和维生素 D 都是维持骨重建平衡的主要营养素^[19-20]。

1.2 肉鸭骨骼生长发育及钙化规律

四川农业大学家禽营养团队 Zhang 等^[21-22] 研究探讨了肉鸭 1~56 日龄胫骨和 35~63 日龄胸骨的生长发育及钙化规律,结果表明,肉鸭胫骨和胸骨生长发育存在不同步性,且胫骨的生长钙化早于胸骨。

1.2.1 肉鸭胫骨生长发育及钙化规律

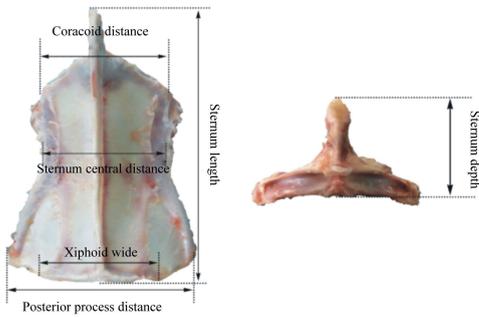
Zhang 等^[21]对肉鸭胫骨发育规律进行了深入地剖析,发现肉鸭体重和胫骨长度、宽度、灰分含量、密度和强度呈显著的正相关;通过非线性回归模型分析发现胫骨特性参数的拐点日龄均早于体重的拐点日龄;对体重和胫骨长度、宽度、脱脂重和强度数据进行 log 转换后进行线性拟合发现,胫骨长度、宽度、强度和脱脂重与体重的斜率分别为 0.28、0.39、0.70 和 0.96。Allen 等^[23]研究发现,若胫骨特征参数与体重呈异速生长时,胫骨长度、宽度、强度和脱脂重与体重的期望斜率分别为 0.33、0.33、0.67 和 1.00,而实际斜率分别为 0.28、0.39、0.70 和 0.96。由此可见,肉鸭胫骨长度与体重呈负向的异速生长,而胫骨宽度与体重呈正向的异速生长;胫骨脱脂重和强度与体重

呈等量的异速生长^[24],胫骨形态结构的变化可能是为了提高胫骨负重能力和适应肉鸭体重变化的结果。

胫骨在形态上除在横向和纵向增加外,为适应体重的增加和外界负荷的变化,胫骨也不断的进行骨的钙化和重建,其主要是无机矿物质在骨细胞周围的沉积,宏观上表现为骨量和灰分含量的增加,即胫骨的钙化过程^[25]。作为骨矿物质含量的重要指标,灰分主要由钙和磷构成。Zhang 等^[21]进一步对肉鸭不同日龄胫骨脱脂重以及灰分、钙和磷含量进行检测发现,胫骨的脱脂重以及灰分、钙和磷含量在 1~42 日龄快速的增加,42 日龄后逐渐进入到各自的平台期;采用 Logistic 和 von Bertalanffy 非线性回归模型分别对胫骨脱脂重和灰分含量进行的日龄函数拟合分析显示,肉鸭胫骨脱脂重和灰分含量的快速增长期均为 1~42 日龄,42 日龄后接近其相应的渐近值。随着矿物质在骨组织中的不断沉积,矿物质在骨中的比重也逐渐增加,因而使骨的密度和强度增加^[26]。同样,肉鸭胫骨密度和强度在 1~42 日龄随日龄的增加而增加,42 日龄后趋于稳定;采用 von Bertalanffy 非线性模型对胫骨密度和强度进行拟合发现,肉鸭 42 日龄后胫骨密度和强度接近其极限值,分别为 0.67 g/cm³ 和 34.3 kg^[21]。

1.2.2 肉鸭胸骨生长发育及钙化规律

胸骨由胸骨体、胸骨喙、胸骨隆凸组成,它是一个扁平的骨头,垂直延伸到前胸廓中部的中间,为翼骨和龙骨状结构的连接提供锚。对于肉鸭而言,胸骨作为其呼吸系统,可影响气囊的体积和促进肺中空气单向流动,因此胸骨的发育和矿化可能对肉鸭呼吸系统的健康有重要影响。Zhang 等^[22]对肉鸭胸骨的形态 (图 1) 进行测定后发现,肉鸭胸骨宽度 (即鸟喙骨间距、胸骨中部宽、剑突宽和后侧突间距) 在 35~42 日龄快速增加,42 日龄后增加速度逐渐下降,然而,胸骨的长度和深度快速增加至 49 日龄,提示肉鸭胸骨的宽度进入发育平台期早于胸骨的长度和深度;而胸骨的脱脂重和密度均随日龄呈“S”型曲线生长,分别于 49 和 56 日龄趋于稳定,胸骨的脱脂重与密度转折点的不同可能源于胸骨组织中有有机物和无机矿物基质比例的改变。



Coracoid distance: 胸骨乌喙骨突间距; Sternum central distance: 胸骨中部间距; Posterior process distance: 后侧突间距; Xiphoid wide: 剑突宽; Sternum depth: 胸骨深; Sternum length: 胸骨长。

图 1 胸骨形态学测定示意图

Fig.1 Schematic diagram of measurement of sternum morphometry^[22]

此外,除了脱脂重和密度外,骨的灰分含量也是评价骨骼质量的另一个重要指标。灰分含量的增加主要是通过矿物质在骨组织中的积累增加骨组织的硬度,用于承受体重和机械负重,该过程受动物日龄和性别的影响^[27]。肉鸭胸骨也不例外,其钙化过程也受日龄的影响,胸骨灰分、钙和磷含量在 42~49 日龄迅速的增加,49 日龄后进入平台期;但是,性别及性别与日龄的交互作用对胸骨灰分、钙和磷含量无显著影响^[22]。上述结果提示,无论是公鸭还是母鸭,42~49 日龄均可能为胸骨的快速钙化时期。

同时,Zhang 等^[22]研究还发现,血清中的碱性磷酸酶(ALP)活性随肉鸭日龄的增加以及胸骨和胫骨钙化进程逐渐降低,说明高活性的 ALP 是启动肉鸭胸骨和胫骨钙化所必需的。ALP 和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)作为骨重建过程中重要的磷酸酶,分别负责骨的形成和吸收^[28-29]。ALP 是成骨细胞分泌的非胶原蛋白,可分解 PPi 为 Pi,减少 PPi 对骨骼钙化的抑制作用,从而促进骨骼的钙化;ALP 活性的降低也间接地说明大量的成骨细胞向骨细胞分化,从而促进骨骼的成熟^[30]。而 TRAP 是破骨细胞在骨吸收过程中分解骨基质所必需的磷酸酶,血清中 TRAP 的活性被作为表征骨吸收的良好标志物;临床数据显示 TRAP 活性与骨密度呈负相关,并且骨质疏松症患者血清中 TRAP 活性显著高于健康人群^[31]。

2 肉鸭骨骼发育及钙化的营养调控

2.1 矿物元素钙对大型肉鸭优质化生产条件下骨骼发育及钙化的调控

因西南地区大型肉鸭优质化生产需要控制体重在 2.5 kg 左右,饲喂低营养浓度饲料(low-nutrient density diet, LND)是控制肉鸭体重增加的常用营养策略。因此,在 LND 条件开展肉鸭胸骨发育及钙化的营养调控具有重要的生产意义。

钙作为重要的矿物质营养素,在家禽骨骼发育和钙化过程中起着重要的生物学作用。饲料钙水平不足可显著降低肉鸡胫骨的灰分含量,充足的饲料钙可促进肉鸡胫骨矿物质的沉积^[32]。Zhang 等^[33-34]研究发现,饲喂含 0.5% 钙的 LND (15~35 日龄,饲料代谢能水平为 11.01 MJ/kg,粗蛋白质含量为 15.8%;36~56 日龄,饲料代谢能水平为 10.26 MJ/kg,粗蛋白质含量为 13.4%)显著降低了肉鸭胫骨灰分和钙、磷含量,增加了肉鸭胫骨 TD 的发生率;相对于 0.5% 的钙,0.7%~1.1% 的钙可显著增加肉鸭胸骨的钙化比,并增加胸骨的矿物质沉积和密度,表明饲料钙水平除了影响胫骨发育及质量外,还可影响胸骨的钙化;进一步对骨微观计量学进行分析发现,相对于含 0.5% 钙的 LND 组,含 0.7%、0.9% 和 1.1% 钙的 LND 组肉鸭胫骨和胸骨骨髓腔内有大量整齐和结构完整的骨小梁填充;饲喂含 0.5% 钙的 LND 显著降低了肉鸭胫骨和胸骨 BV/TV 和 Tb.N,并显著增加了骨 Tb.Sp;胸骨骨量的降低可能与含 0.5% 钙的 LND 导致钙摄入不足有关;血清生化结果显示,相比于含 0.5% 钙的 LND,含 0.7%~1.1% 钙的 LND 可显著提高肉鸭血清中钙浓度,并且含 0.5% 钙的 LND 显著提高了血清中 PTH 和维生素 D₃ 的浓度,表明含 0.5% 钙的 LND 导致肉鸭发生了低血钙症,反馈性增加 PTH 和维生素 D₃ 的浓度来刺激肠道或者肾脏对钙进行吸收。

Zhang 等^[34]进一步研究发现,0.7%~1.1% 钙的 LND 组肉鸭胸骨和胫骨中 *Dmp1* 和 *Sost* 表达水平较高暗示大量的成骨细胞演变为骨细胞,即饲喂含 0.7%~1.1% 钙的 LND 可促进肉鸭胸骨和胫骨的钙化,增加骨量。骨量的增加可能源于钙对骨形成过程的促进或者对骨吸收过程的抑制^[35]。BMP-2 和 runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 也是调控成骨细胞增殖

的重要因子,与成骨细胞的增殖密切相关。研究显示,钙能够上调卵巢切除大鼠胫骨或者骨髓间充质干细胞(BM-MSC) *BMP-2* 和 *Runx2* 的表达,从而诱导成骨细胞相关特异性基因的转录,包括骨保护素(OC)^[36]。然而,Zhang等^[33]研究发现,含0.7%~1.1%钙的LND降低肉鸭血清中 *BMP-2* 的浓度及胫骨组织 *Runx2*、*ALP* 和 *OC* mRNA的表达,表明含0.7%~1.1%钙的LND通过抑制 *BMP-2/Runx2*途径降低成骨细胞的增殖分化。An等^[37]研究也发现1.8~16.2 mmol/L钙可显著抑制人牙髓细胞 *Runx2* 和 *ALP* mRNA的表达。以上结果提示,含0.7%~1.1%钙的LND增加肉鸭胫骨和胸骨的骨量可能不是通过增加骨形成来实现的。

前文提到,破骨细胞是哺乳动物骨组织中负责骨吸收的唯一细胞,它通过分泌蛋白酶和 H^+ 去溶解骨基质中的有机物和羟基磷灰石,高活性的V-ATP酶和组织蛋白酶K可作为衡量骨吸收增强的重要指标^[16]。Zhang等^[33-34]研究发现,相对于含0.5%钙的LND组,含0.7%~1.1%钙的LND降低了肉鸭胫骨组织V-ATP酶和组织蛋白酶K mRNA的表达水平,显著降低胫骨和胸骨骨小梁周围的破骨细胞数量,还显著降低了肉鸭血清中TRAP的活性和骨组织中 *RANK* mRNA的表达水平,并显著上调了骨组织中 *OPG* mRNA的表达水平。研究显示,高浓度的钙可显著降低小鼠骨髓细胞组织蛋白酶K的表达水平和切除卵巢鼠胫骨 *RANK* 的表达水平,显著上调切除卵巢鼠胫骨 *OPG* 的表达水平^[38]。以上结果提示,含0.7%~1.1%钙的LND可通过抑制 *RANKL/RANK/OPG*途径抑制破骨细胞的增殖分化,从而降低肉鸭胫骨和胸骨的骨吸收过程,提高胫骨和胸骨的质量。

2.2 矿物元素钙对短喙侏儒综合征肉鸭骨骼发育及质量的调控

近年来,肉鸭因感染新型鹅细小病毒(NGPV)导致短喙侏儒综合征发生率较高,表现为急性传染,发病率和死亡率都非常高,被感染后存活下来的肉鸭表现出短喙与侏儒的症状,造成了重大的经济损失。田江波^[39]利用NGPV建立樱桃谷肉鸭短喙侏儒综合征模型,研究钙的营养调控作用,研究发现,NGPV感染显著降低肉鸭胫骨鲜重、胫骨长、胫骨直径、胫骨强度、胫骨脱脂重、胫骨灰分、喙鲜重及喙脱脂重,显著增加肉鸭胫骨破骨细

胞数量及胫骨生长板组织蛋白酶K基因的表达水平,并有降低鸭胫骨 *ALP* 和 *Runx2* 表达水平的趋势,表明NGPV通过增加破骨细胞数量及活性增加骨吸收来抑制骨骼生长;此时,增加饲料钙水平可提高感染NGPV肉鸭胫骨长及灰分含量以及喙脱脂重,其主要与钙降低了胫骨破骨细胞数量和活性(如血清TRAP浓度下降),增加了肠道钙、磷主动吸收[如肠道钙结合蛋白-D28K (calcium binding protein calbindin D-28K, *CaBP-28K*)、钠-磷共转运蛋白II b (type II b sodium-coupled phosphate, *NaPi-II b*)表达增加]有关,且感染NGPV肉鸭饲料适宜钙水平为:1~14日龄,1.15%;15~35日龄,1.10%。

2.3 维生素对肉鸭骨骼发育及钙化的调控

2.3.1 复合维生素水平对肉鸭骨骼发育及钙化的调控

维生素作为重要的营养素,对骨骼健康有显著影响,如维生素K^[40]和维生素E^[41]可下调 *RANKL* 的表达,降低炎症因子水平,抑制破骨细胞的增殖分化;维生素D^[42]可增加肠道和肾脏对钙和磷的吸收,促进骨的形成和钙化等。对肉鸭而言,目前所使用的维生素水平常常参照NRC(1994)推荐水平(低)、中国《肉鸭饲养标准》(NY/T 2122—2012)推荐水平(中)、英国樱桃谷农场推荐水平(CVF,2001)(中)以及DSM公司推荐水平(DSM,2016)(高)。Zhang等^[43]研究了饲料高、中、低复合维生素水平对肉鸭胸骨钙化的影响,结果发现,相对于低维生素水平,高维生素水平可增加胸骨的脱脂重、密度、灰分、钙和磷水平,表明饲喂高维生素水平饲料可促进肉鸭胸骨钙化。对饲料中维生素水平的分析发现,相对于低维生素水平饲料,中、高维生素水平饲料中维生素D₃、维生素K和维生素E水平增加幅度最大,在中、高维生素水平饲料中增加倍数分别为9.43和17.86倍(维生素D₃)、7.64和14.29倍(维生素E)、6.21和11.43倍(维生素K);B族维生素中的维生素B₁、维生素B₁₂、叶酸和生物素在低维生素水平饲料中无添加,在中、高维生素水平饲料中分别添加1.5和3.0 mg/kg维生素B₁、0.02和0.04 mg/kg维生素B₁₂、1和2 mg/kg叶酸、0.125和0.250 mg/kg叶酸。研究证实,B族维生素也是一种很有潜力的抗骨质疏松预防剂,如维生素B₁₂和叶酸,它们能改善骨骼的微观结构,降低骨骼的

脆性^[44]。因此,针对肉鸭骨骼发育及钙化而言,其复合维生素的合理配伍值得进一步关注。

2.3.2 不同维生素组合对大型肉鸭优质化生产条件下骨骼发育及钙化的调控

Zhang 等^[45]为探讨营养限饲条件下不同维生素组合的效果,采用 2×4+1 试验设计进一步比较了低营养水平饲料分别按照 NRC(1994)、中国《肉鸭饲养标准》(NY/T 2122—2012)、英国樱桃谷农场(CVF,2001)和 DSM 公司(DSM,2016)推荐的维生素水平添加 4 种不同复合维生素以及是否添加 25-OH-D₃ 对肉鸭骨骼发育及钙化的影响,结果发现,在 LND 条件下,相比于 NRC(1994),NY/T 2122—2012 推荐的维生素水平可显著提高肉鸭胫骨和胸骨矿物质沉积;同时,NY/T 2122—2012 推荐的维生素水平降低了血清中骨形成标志物[ALP 和 I 型胶原氨基末端肽(aminoterminal propeptide of type I collagen,P1NP)]和骨吸收标志物[TRAP 和 I 型胶原 C 端肽(C-terminal telopeptide of type I collagen,CTX)]的浓度。上述结果表明,NY/T 2122—2012 推荐的维生素水平降低了肉鸭胸骨的骨转换率,从而增加了胫骨和胸骨的骨量^[46];同时也表明,在 LND 条件下因采食量增加导致维生素摄入量增加,NY/T 2122—2012 推荐的维生素水平已可满足肉鸭骨骼发育及钙化的需要,即大型肉鸭优质化生产条件下,利用营养水平限饲时,维生素水平可采用 NY/T 2122—2012 推荐的维生素需要量。

2.3.3 25-OH-D₃ 对肉鸭骨骼发育及钙化的调控

25-OH-D₃ 是维生素 D 在机体内的主要活性和储存形式^[47]。Bar 等^[48]指出 25-OH-D₃ 和维生素 D₃ 均能被禽类肠道所吸收;雏鸡对 25-OH-D₃ 的吸收率(74.9%)高于维生素 D₃(66.5%),且在肉鸡生长过程中,25-OH-D₃ 在提高骨灰分含量上的效果优于维生素 D₃^[49]。Zhang 等^[50]研究发现,饲料添加 0.069 mg/kg 25-OH-D₃ 可显著增加肉鸭胫骨脱脂重、矿物质沉积和密度以及 BV/TV 和 Tb.N,并显著降低 Tb.Sp;类似的,25-OH-D₃ 也可显著促进肉鸭胸骨矿物质沉积和密度,显著增加胸骨 BV/TV 和 Tb.N,并显著降低 Tb.Sp。骨密度和骨小梁的微结构与骨骼的强度密切相关^[51],表明饲料 25-OH-D₃ 在改善肉鸭骨小梁结构和增加骨密度的同时增加了肉鸭骨骼的强度。

此外,田江波^[39]研究发现,饲料添加

0.069 mg/kg 25-OH-D₃ 显著增加了感染 NGPV 肉鸭胫骨长和胫骨磷含量,改善了胫骨质量,其作用机制与 25-OH-D₃ 促进了肾脏瞬时受体电位阳离子通道亚家族 V 成员 6(transient receptor potential cation channel subfamily V member 6,TRPV6)、CaBP-28K 和 NaPi-II a 基因的表达有关,即与 25-OH-D₃ 可调控肾脏对钙、磷的重吸收有关。

维生素 D 对骨骼的作用主要是通过:1)调控钙和磷的吸收^[52];2)直接作用于骨骼细胞,调控骨的稳态^[53];3)调控机体内分泌系统^[54]、免疫系统、氧化应激和肠道微生物等影响骨代谢^[55]。维生素 D₃ 作为调控血清钙和磷稳态的重要因子,其主要作用是调控肠道或者肾脏对钙和磷的吸收;在发生低血钙症状时,维生素 D₃ 与其受体结合刺激肠道或者肾脏对钙的吸收,同时也同 PTH 产生协调作用,动用骨骼中的钙来维持血清钙的稳态^[56]。研究发现,饲料添加 25-OH-D₃ 可增加肉鸭血清中总维生素 D₃ 和钙的浓度,血清钙浓度增加提示 25-OH-D₃ 可增加肠道或者肾脏对钙的吸收,从而促进肉鸭骨骼的发育及钙化^[45]。

Richy 等^[57]认为,维生素 D₃ 可抑制骨的吸收,增加骨密度,可作为骨质疏松症治疗剂;但也有体内和体外的研究结果显示维生素 D₃ 可促进骨的吸收,降低骨量^[58]。Zhang 等^[50]进一步研究发现,正常营养水平饲料添加 25-OH-D₃ 可显著降低肉鸭血清中骨吸收标志物 TRAP 的活性和 CTx 的浓度,表明肉鸭饲料中添加 25-OH-D₃ 提高胫骨和胸骨的骨量可能是通过抑制骨的吸收实现的;通过分析骨代谢相关基因表达发现,25-OH-D₃ 可显著上调肉鸭胫骨 OPG mRNA 的表达水平,降低 RANKL/OPG 的比值,从而降低破骨细胞的数量;同时,25-OH-D₃ 可下调肉鸭胫骨中 H⁺-ATP 酶和组织蛋白酶 K mRNA 的表达水平,表明 25-OH-D₃ 可有效抑制破骨细胞的活性。以上研究结果提示,25-OH-D₃ 可通过抑制骨的吸收来提高肉鸭胫骨和胸骨的骨量。

3 肉鸭肠骨轴的营养调控

3.1 肠骨轴的概念及研究进展

肠道微生物区系是动物体内稳态的重要调节因子,包括肠内和肠外效应。有学者提出了肠骨轴的概念,并将其定义为肠道微生物或它们产生合成的分子对骨骼健康的影响^[59]。研究表明,肠

道菌群与机体能量代谢、免疫系统发育以及骨重建等生理过程密切相关,肠道菌群通过调节破骨细胞和成骨细胞,影响机体的骨代谢平衡^[60]。McCabe等^[61]对14周龄的C57Bl/6J雄性小鼠进行了为期4周罗伊乳杆菌处理,发现小鼠股骨骨小梁的骨体积分数增加,骨矿物质含量、骨密度以及骨小梁数量、厚度、面积增加,并且腰椎骨小梁也有类似的变化。Abdelqader等^[62]在蛋鸡饲料中添加枯草芽孢杆菌,饲喂6周后发现蛋鸡的产蛋性能和蛋壳硬度提高,且胫骨骨密度和灰分含量显著提高。Mutuş等^[63]研究报道,在肉鸡饲料中添加地衣芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌可有效提高肉鸡的胫骨厚度。

较早是在无菌小鼠的研究中发现,肠道菌群因增加骨吸收而不利于骨骼生长发育^[64],但是近年来的研究表明,肠道菌群可刺激骨形成。Schwarzer等^[65]对8周龄无菌BALB/c雄性小鼠进行的研究发现,无菌小鼠股骨长度较短、骨皮质较薄、骨密度较低、小梁体积较小,且雄性BALB/c小鼠对骨合成代谢因子胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)的敏感性较高。Yan等^[66]也发现正常肠道菌群定植提高了无菌小鼠的骨形成率和股骨长度,并增加了IGF-1和骨形成血清标志物P1NP的浓度,因此,推测肠道菌群可能通过IGF-1来刺激骨形成;同时,该研究还发现,肠道菌群代谢产物短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)可以促进骨形成。由于SCFAs受体在不同骨细胞类型上的表达尚未见报道,肠道菌群是否通过SCFAs受体来刺激骨重构尚不清楚,但用高效液相色谱法测定骨髓和血清中SCFAs的浓度时发现浓度低于检测值;由于血清和骨髓中SCFAs浓度极低,说明SCFAs可能主要通过间接机制来调控骨代谢^[67]。

3.2 磷对肉鸭肠道微生物和骨骼发育的调控

Shapiro等^[68]研究指出,磷对于骨骼的发育较钙更为重要,磷对骨骼灰分重量的影响是钙的6倍。代述均^[69]研究发现,饲料非植酸磷(non-phytate phosphorus, NPP)水平显著影响肉鸭胫骨强度、脱脂重、长度、直径、密度以及胫骨中钙的含量;低磷饲料(0.22% NPP)显著增加血液中ALP的活性,血液中的ALP主要是由骨骼和肝脏分泌,机体磷缺乏时ALP活性显著增加,表明机体骨代谢发生障碍与病变;胫骨组织苏木精-伊红

(hematoxylin-eosin staining, HE)染色结果显示,低磷饲料(0.22% NPP)组胫骨骨髓中细胞成分严重减少,骨小梁小部分钙化;胫骨TRAP与Masson染色结果发现,胫骨组织中破骨细胞数量随饲料NPP水平降低而升高,说明低磷饲料(0.22% NPP)使破骨细胞的数量及活性增加,导致胫骨的骨吸收大于骨形成,从而使胫骨的发育与质量下降。刘海霞等^[70]在体外培养番鸭破骨细胞的试验中发现,相比对照组,磷的增加会抑制破骨细胞的生成与骨吸收的活性,但是随着磷浓度的增大,破骨细胞的数量会随之降低。代述均^[69]进一步分析骨代谢相关基因表达发现,饲料NPP水平对肉鸭胫骨中Runx2与骨钙蛋白(bone-carboxyglutamate protein, BGP)基因的相对表达量无显著影响,但胫骨中成纤维生长因子受体1(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)的表达量随着饲料NPP水平的升高呈线性降低。有研究指出,FGFR1主要是抑制成熟成骨细胞矿化作用^[71],表明低磷组成骨细胞矿化作用受到抑制,破骨细胞活性大于成骨细胞,导致低磷组肉鸭胫骨发育不良。

因肠道负责钙、磷及微量元素等营养素的吸收,低磷饲料导致肉鸭胫骨发育不良及质量下降的一个可能原因是低磷饲料导致了肠道消化吸收功能下降。代述均^[69]研究发现,饲料0.46% NPP组肉鸭十二指肠肠道微绒毛轮廓清晰分明、结构完整,肠道整体的物理性结构较0.22% NPP组完整,结果提示,低磷饲料导致肉鸭肠道物理形态学结构受到一定程度的损伤,与代谢试验结果一致,即饲料NPP水平低于0.34%显著降低了肉鸭对饲料中干物质、蛋白质、能量以及钙、磷的利用率。Rhoads等^[72]研究指出,Na⁺-K⁺-ATP酶的活性可间接反映肠道黏膜的吸收功能,磷主动吸收需要ATP提供能量。Xu等^[73]研究发现,增加饲料NPP水平线性降低了肉鸭空肠Na⁺-K⁺-ATP酶的活性,表明低磷组由于磷的摄入不足,肠道消化吸收功能下降,机体为了自身需求主动提高Na⁺-K⁺-ATP酶的活性,以提高营养物质消化吸收效率来弥补机体关键营养素的缺乏。同时,磷以磷酸氢根(HPO₄²⁻)和磷酸二氢根(H₂PO₄⁻)等离子的形式在消化道中经主动吸收或自由扩散被肉鸭所利用,主动吸收不仅需要ATP供能,而且还需要NaPi-II b参与。有研究指出,磷吸收的分子机制与NaPi-II b基因表达有着密切的关系^[74]。Xu等^[73]

研究发现,肉鸭十二指肠和空肠中 *NaPi-II b* 基因的相对表达水平随饲料 NPP 水平的增加呈线性降低。以上研究结果表明,低磷饲料导致肉鸭肠道钙、磷吸收和利用率下降,进而损伤胫骨发育及质量。

更为重要的是,Dai 等^[75]研究发现,低磷饲料导致了肉鸭盲肠微生物菌群多样性及结构发生改变,微生物代谢产物 SCFAs 合成量下降。Heyer 等^[76]研究指出,磷对于机体后肠维持生态区系的稳定、防御病原体入侵和改善机体免疫功能非常重要。磷缺乏可抑制猪体内纤维发酵,导致 SCFAs 合成量减少,这表明细菌降解纤维素酶的活性受周围介质中有效磷浓度的调控。Dai 等^[75]进一步分析发现,饲料 NPP 水平影响了肉鸭盲肠微生物操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs) 数目与物种的丰富程度,且 α -多样性指数均随饲料 NPP 水平的增加呈线性降低;同时,分析发现,饲料 NPP 水平显著影响了盲肠变形菌门 (Proteobacteria)、产粪甾醇真杆菌 (*Eubacterium coprostanoligenes*)、瘤胃球菌科 UCG-014 (*Ruminococcaceae* UCG-014)、罕见小球菌属 (*Subdoligranulum*) 和毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 的相对丰度。磷对细菌增殖、菌群结构和代谢过程非常重要,Durand 等^[77]研究指出,矿物质中钙、磷对于大鼠、反刍动物微生物的发酵有很好的调节能力。Ptak 等^[78]研究发现,低钙、磷水平饲料 (1~14 日龄:0.71% 钙、0.269% NPP; 15~42 日龄:0.56% 钙、0.189% NPP) 降低了肉鸡回肠的总菌、产气荚膜梭菌、肠杆菌科和拟球梭菌的数量。Borda-Molina 等^[79]研究发现,在肉鸡饲料添加磷可通过调控盲肠微生物来提高生长性能。Bovee-Oudenhoven 等^[80]在大鼠上研究发现,饲料中的钙、磷能够通过改变回肠胆汁酸的组成保护肠道微生物区系,以抵抗沙门氏菌感染,缓解细胞的毒性。从以上研究结果可以看出,低磷饲料导致的肉鸭胫骨发育不良和胫骨质量下降与肉鸭肠道消化吸收功能及盲肠微生物菌群之间存在密切相关,从宏观上证实了肠骨轴的存在。

3.3 抗性淀粉 (resistant starch, RS) 对肉鸭肠道微生物和骨骼发育的调控

RS 是指饲料原料中在体外 2 h 内不会被酶水解,在机体内不被小肠胰淀粉酶消化,进入后肠可被肠道微生物发酵的一种淀粉。RS 根据其来

源和酶解抗性可以分成 4 种类型:RS1 型、RS2 型、RS3 型和 RS4 型^[81]。RS 属于植物性多糖,从功能上也被视作是一种膳食纤维。RS 具有多种生理功能,可以降低血清中的胆固醇含量、调节肠道菌群、增加肠道 SCFAs 含量、降低肠道内的 pH 等,还可以有效预防 II 型糖尿病、肥胖并发症、心血管疾病和结肠直肠癌等疾病的发生^[82]。研究发现,饲料中添加 12% 生马铃薯抗性淀粉 (potato resistant starch, RPS) 显著增加了肉鸭盲肠中乙酸、丙酸和丁酸的含量,并提高了肉鸭盲肠内厚壁菌门以及粪杆菌属、罕见小球菌属和 *Erysipelatoclostridium* 等产丁酸菌的相对丰度,从而改善了肉鸭的生产性能,降低了肉鸭体内的炎症反应^[83-84]。

正如前面所言,肠道菌群与机体能量代谢、免疫系统发育以及骨重建等生理过程密切相关,肠道菌群通过调节破骨细胞和成骨细胞影响机体的骨代谢平衡^[60]。Tousen 等^[85-87]以去卵巢 (OVX) 小鼠为模型研究了大豆苷元 (daidzein, DZ) 和 RS 联合使用,大豆异黄酮 (isoflavone, ISO) 和 RS 联合使用以及 20% 加酸水解的高支链玉米 RS 单独使用对骨质量的影响,结果发现,DZ 或 ISO 和 RS 联合使用或单独使用 RS 均能增加 OVX 小鼠胫骨近端和胫骨中端的骨密度及股骨远端骨强度。徐慧敏^[88]研究发现,饲料添加 12% RPS 显著降低了采食低磷饲料肉鸭血清钙、磷含量,显著提高了肉鸭胫骨直径、脱脂重、密度和灰分含量,表明 RPS 可促进骨发育,提升骨质量;该作者进一步分析盲肠微生物菌群结构发现,RPS 显著提高了采食低磷饲料肉鸭盲肠中拟杆菌门 (Bacteroidetes)、迷踪菌门 (Elusimicrobia)、罕见小球菌属和甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*) 的相对丰度,显著降低了肉鸭盲肠中螺杆菌属 (*Helicobacter*)、理研菌科 RC9 肠道群 (Rikenellaceae RC9 gut group)、理研菌属 (*Rikenella*) 和 *Barnesiella* 的相对丰度。

为进一步证实肠道微生物及其代谢产物对肉鸭胫骨发育及质量的调控作用,徐慧敏^[88]利用抗生素 (氨苄青霉素、新霉素、庆大霉素、甲硝唑和万古霉素) 建立肉鸭肠道菌群紊乱模型,通过菌群移植研究发现,移植采食 RPS 肉鸭盲肠食糜可显著提高肉鸭盲肠丁酸含量以及回肠丙酸、丁酸含量,并显著提高肉鸭盲肠微生物中的放线菌门 (Actinobacteria)、脱铁杆菌门 (Deferribacteres)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、YRC22 以及产 SCFAs 菌双歧杆

菌属 (*Bifidobacterium*)、优杆菌属 (*Eubacterium*) 和琥珀酸弧菌属 (*Succinivibrio*) 的相对丰度, 显著降低了 *Proteobacteria* 和脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*) 的相对丰度; 同时, 显著降低了肉鸭血清 ALP 和 CTx 活性、胫骨近端组织骨小梁 Tb.Sp 和胫骨骨髓 *TNF- α* 和 *RANK* mRNA 表达水平, 显著提高了肉鸭胫骨强度和灰分含量、胫骨近端软骨面积及骨小梁骨表面积 (bone surface, BS)、骨表面积与骨体积比值 (BS/BV)、Tb.Th 和骨密度, 有增加 *OPG* mRNA 表达水平的趋势; 结果表明, 肠道菌群及其代谢产物通过重塑肠道菌群稳态来降低采食低磷饲料肉鸭胫骨破骨细胞的数量, 抑制胫骨 *TNF- α* 和 *RANK* 基因的表达, 上调 *OPG* 基因的表达来抑制胫骨内骨吸收作用, 最终促进肉鸭胫骨发育, 改善胫骨宏观或微观质量, *TNF- α* 可能是肠骨轴潜在的信号分子。最近有研究表明, 肠道微生物通过调整宿主免疫状态来调控骨骼的健康, 其中炎症因子和骨髓 T 细胞是重要的肠骨轴信号分子^[89]。但是, 肠骨轴关键 cross-talk 信号分子及信号途径需要大量的研究去挖掘和证实。

4 小 结

综上所述, 营养素、营养水平、营养来源等均可以通过影响骨骼的生长发育、钙化、周转代谢以及肠骨轴等来调控肉鸭骨骼健康。但因在家禽实际生产过程中, 与骨健康相关的问题逐渐增多, 也日益复杂, 有很多问题还有待深入研究, 营养调控理论和技术非常欠缺。继续系统深入开展家禽骨骼发育及质量的营养理论和技术的研究对于提高家禽福利及健康养殖, 确保家禽产品品质具有重要的理论和实践价值。

参考文献:

- [1] 侯水生, 刘灵芝. 2019 年水禽产业现状、未来发展趋势与建议 [J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(3): 130-135.
- [2] IYER P K R, RAO P P. Suspected pulmonary nocardiosis in a duck [J]. Sabouraudia, 1971, 9(2): 79-80.
- [3] JONES T A, DAWKINS M S. Environment and management factors affecting Pekin duck production and welfare on commercial farms in the UK [J]. British Poultry Science, 2010, 51(1): 12-21.
- [4] LIU M F, HE P, AHERNE F X, et al. Postnatal limb bone growth in relation to live weight in pigs from birth to 84 days of age [J]. Journal of Animal Science, 1999, 77(7): 1693-1701.
- [5] VAN DER EERDEN B C J, KARPERIEN M, WIT J M. Systemic and local regulation of the growth plate [J]. Endocrine Reviews, 2003, 24(6): 782-801.
- [6] VORTKAMP A, LEE K, LANSKE B, et al. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein [J]. Science, 1996, 273(5275): 613-622.
- [7] VAN DE LEST C H A, VAANDRAGER A B. Mechanism of cell-mediated mineralization [J]. Current Opinion in Orthopaedics, 2007, 18(5): 434-443.
- [8] MIYAMOTO Y, KAMIJO R. Overview: molecular regulation of mineralization and its failure: from disclosure of mechanisms to clinical implications [J]. Journal of Oral Biosciences, 2010, 52: 1-5.
- [9] CHEN-AN P, ANDREASSEN K V, HENRIKSEN K, et al. Investigation of chondrocyte hypertrophy and cartilage calcification in a full-depth articular cartilage explants model [J]. Rheumatology International, 2013, 33(2): 401-411.
- [10] ZHOU X Y, CUI Y Z, ZHOU X Y, et al. Phosphate/pyrophosphate and MV-related proteins in mineralisation: discoveries from mouse models [J]. International Journal of Biological Sciences, 2012, 8(6): 778-790.
- [11] TERMINE J D, KLEINMAN H K, WHITSON S W, et al. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen [J]. Cell, 1981, 26(1): 99-105.
- [12] MCKEE M D, PEDRAZA C E, KAARTINEN M T. Osteopontin and wound healing in bone [J]. Cells Tissues Organs, 2011, 194(2/3/4): 313-319.
- [13] HOLM E, AUBIN J E, HUNTER G K, et al. Loss of bone sialoprotein leads to impaired endochondral bone development and mineralization [J]. Bone, 2015, 71: 145-154.
- [14] SEEMAN E. Bone modeling and remodeling [J]. Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression, 2009, 19(3): 219-233.
- [15] BONEWALD L F. Osteocytes as dynamic multifunctional cells [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2007, 1116(1): 281-290.
- [16] FUJISAKI K, TANABE N, SUZUKI N, et al. Receptor activator of NF- κ B ligand induces the expression of carbonic anhydrase II, cathepsin K, and matrix metalloproteinase-9 in osteoclast precursor RAW264.7 cells [J]. Life Sciences, 2007, 80(14): 1311-1318.
- [17] YAMAMOTO Y, UDAGAWA N, MATSUURA S, et

- al.Osteoblasts provide a suitable microenvironment for the action of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand[J].*Endocrinology*,2006,147(7):3366-3374.
- [18] CROCKETT J C, ROGERS M J, COXON F P, et al. Bone remodelling at a glance[J].*Journal of Cell Science*,2011,124(7):991-998.
- [19] ROBLING A G, CASTILLO A B, TURNER C H. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling[J].*Annual Review of Biomedical Engineering*,2006,8:455-498.
- [20] GENNARI C. Calcium and vitamin D nutrition and bone disease of the elderly[J].*Public Health Nutrition*,2001,4(2B):547-559.
- [21] ZHANG H Y, ZENG Q F, BAI S P, et al. Study on the morphology and mineralization of the tibia in meat ducks from 1 to 56 d[J].*Poultry Science*,2019,98(9):3355-3364.
- [22] ZHANG H Y, LIAO H, ZENG Q F, et al. A study on the sternum growth and mineralization kinetic of meat duck from 35 to 63 days of age[J].*Poultry Science*,2017,96(11):4103-4115.
- [23] ALLEN V, ELSEY R M, JONES N, et al. Functional specialization and ontogenetic scaling of limb anatomy in *Alligator mississippiensis* [J].*Journal of Anatomy*,2010,216(4):423-445.
- [24] DUGGAN B M, HOCKING P M, SCHWARZ T, et al. Differences in hindlimb morphology of ducks and chickens: effects of domestication and selection[J].*Genetics Selection Evolution*,2015,47:88.
- [25] CHARUTA A, COOPER R G. Computed tomographic and densitometric analysis of tibiotarsal bone mineral density and content in postnatal Peking ducks (*Anas platyrhynchos* var. domestica) as influenced by age and sex[J].*Polish Journal of Veterinary Sciences*,2012,15(3):537-545.
- [26] SHIM M Y, KARNUAH A B, MITCHELL A D, et al. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers[J].*Poultry Science*,2012,91(8):1790-1795.
- [27] BERGOT C, WU Y, JOLIVET E, et al. The degree and distribution of cortical bone mineralization in the human femoral shaft change with age and sex in a microradiographic study[J].*Bone*,2009,45(3):435-442.
- [28] SUGAWARA Y, SUZUKI K, KOSHIKAWA M, et al. Necessity of enzymatic activity of alkaline phosphatase for mineralization of osteoblastic cells[J].*The Japanese Journal of Pharmacology*,2002,88(3):262-269.
- [29] HALLEEN J M, ALATALO S L, SUOMINEN H, et al. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption[J].*Journal of Bone and Mineral Research*,2000,15(7):1337-1345.
- [30] ORIMO H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease[J].*Journal of Nippon Medical School*,2010,77(1):4-12.
- [31] SHIDARA K, INABA M, OKUNO S, et al. Serum levels of TRAP5b, a new bone resorption marker unaffected by renal dysfunction, as a useful marker of cortical bone loss in hemodialysis patients[J].*Calcified Tissue International*,2008,82(4):278-287.
- [32] COTO C, YAN F, CERRATE S, et al. Effects of dietary levels of calcium and nonphytate phosphorus in broiler starter diets on live performance, bone development and growth plate conditions in male chicks fed a wheat based diet[J].*International Journal of Poultry Science*,2008,7(2):101-109.
- [33] ZHANG H Y, ZENG Q F, BAI S P, et al. Calcium affects sternal mass by effects on osteoclast differentiation and function in meat ducks fed low nutrient density diets[J].*Poultry Science*,2019,98:4313-4326.
- [34] ZHANG H Y, ZENG Q F, BAI S P, et al. Effect of graded calcium supplementation in low-nutrient density feed on tibia composition and bone turnover in meat ducks[J].*British Journal of Nutrition*,2018,120(11):1217-1229.
- [35] TETI A. Bone development: overview of bone cells and signaling[J].*Current Osteoporosis Reports*,2011,9(4):264-273.
- [36] YOO H S, KIM G J, SONG D H, et al. Calcium supplement derived from *Gallus gallus domesticus* promotes *BMP-2/RUNX2/SMAD5* and suppresses *TRAP/RANK* expression through MAPK signaling activation[J].*Nutrients*,2017,9(5):504.
- [37] AN S F, GAO Y, LING J Q, et al. Calcium ions promote osteogenic differentiation and mineralization of human dental pulp cells: implications for pulp capping materials[J].*Journal of Materials Science: Materials in Medicine*,2012,23(3):789-795.
- [38] ZHANG Y, DONG X L, LEUNG P C, et al. Differential mRNA expression profiles in proximal tibia of aged rats in response to ovariectomy and low-Ca diet

- [J]. Bone, 2009, 44(1): 46-52.
- [39] 田江波. 饲料 25-OH-D₃ 及钙水平对感染新型鹅细小病毒肉鸭生产性能和骨骼质量的影响[D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2020.
- [40] WEBER P. Vitamin K and bone health[J]. Nutrition, 2001, 17(10): 880-887.
- [41] SOETA S, HIGUCHI M, YOSHIMURA I, et al. Effects of vitamin E on the osteoblast differentiation[J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2010, 72(7): 951-957.
- [42] CARMELIET G, DERMAUW V, BOUILLON R. Vitamin D signaling in calcium and bone homeostasis: a delicate balance[J]. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 2015, 29(4): 621-631.
- [43] ZHANG H Y, LIAO H, ZENG Q F, et al. Effects of commercial premix vitamin level on sternum growth, calcification and carcass traits in meat duck[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2019, 103(1): 53-63.
- [44] FRATONI V, BRANDI M L. B vitamins, homocysteine and bone health[J]. Nutrients, 2015, 7(4): 2176-2192.
- [45] ZHANG H Y, ZENG Q F, BAI S P, et al. Effect of dietary 25-hydroxycholecalciferol on the sternal mass of meat ducks under different vitamin regimens[J]. Poultry Science, 2020, 99: 1241-1253.
- [46] KOLP E, WILKENS M R, PENDL W, et al. Vitamin D metabolism in growing pigs: influence of UVB irradiation and dietary vitamin D supply on calcium homeostasis, its regulation and bone metabolism[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2017, 101(Suppl. 1): 79-94.
- [47] 韩进诚, 洪尧彰, 曹博宏, 等. 维生素 D 代谢物调节钙代谢的机理及其应用[J]. 动物营养学报, 2012, 24(3): 411-415.
- [48] BAR A, SHARVIT M, NOFF D, et al. Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in birds[J]. The Journal of Nutrition, 1980, 110(10): 1930-1934.
- [49] MCNUTT K W, HAUSSLER M R. Nutritional effectiveness of 1, 25-dihydroxycholecalciferol in preventing rickets in chicks[J]. The Journal of Nutrition, 1973, 103(5): 681-689.
- [50] ZHANG H Y, ZENG Q F, BAI S P, et al. Dietary administration of 25-hydroxycholecalciferol, a vitamin D₃ metabolite, increases the tibia mass by suppression bone resorption in meat ducks[J]. Animal Nutrition, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.05.006>.
- [51] ITO M, NISHIDA A, KOGA A, et al. Contribution of trabecular and cortical components to the mechanical properties of bone and their regulating parameters[J]. Bone, 2002, 31(3): 351-358.
- [52] KO S, CHOI K, OH G T, et al. Effect of dietary calcium and 1, 25-(OH)₂D₃ on the expression of calcium transport genes in calbindin-D_{9k} and -D_{28k} double knockout mice[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 379(2): 227-232.
- [53] TURNER A G, HANRATH M A, MORRIS H A, et al. The local production of 1, 25(OH)₂D₃ promotes osteoblast and osteocyte maturation[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 144: 114-118.
- [54] BLAU J E, COLLINS M T. The PTH-vitamin D-FGF23 axis[J]. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders, 2015, 16(2): 165-174.
- [55] D'AMELIO P, SASSI F. Gut microbiota, immune system, and bone[J]. Calcified Tissue International, 2018, 102(4): 415-425.
- [56] LIPS P, VAN SCHOOR N M. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis[J]. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 2011, 25(4): 585-591.
- [57] RICHY F, SCHACHT E, BRUYERE O, et al. Vitamin D analogs versus native vitamin D in preventing bone loss and osteoporosis-related fractures: a comparative meta-analysis[J]. Calcified Tissue International, 2005, 76(3): 176-186.
- [58] SATO M, NAKAMICHI Y, NAKAMURA M, et al. New 19-nor-(20S)-1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ analogs strongly stimulate osteoclast formation both *in vivo* and *in vitro*[J]. Bone, 2007, 40(2): 293-304.
- [59] VILLA C R, WARD W E, COMELLI E M. Gut microbiota-bone axis[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2015, 57(8): 1664-1672.
- [60] OHLSSON C, SJÖGREN K. Effects of the gut microbiota on bone mass[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2015, 26(2): 69-74.
- [61] MCCABE L R, IRWIN R, SCHAEFER L, et al. Probiotic use decreases intestinal inflammation and increases bone density in healthy male but not female mice[J]. Journal of Cellular Physiology, 2013, 228(8): 1793-1798.
- [62] ABDELQADER A, IRSHAID R, AL-FATAFTAH A R. Effects of dietary probiotic inclusion on perform-

- ance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2013, 45(4):1017-1024.
- [63] MUTUŞ R, KOCABAĞLI N, ALP M, et al. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers[J]. *Poultry Science*, 2006, 85(9):1621-1265.
- [64] SJÖGREN K, ENGDAHL C, HENNING P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2012, 27(6):1357-1367.
- [65] SCHWARZER M, MAKKI K, STORELLI G, et al. *Lactobacillus plantarum* strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition[J]. *Science*, 2016, 351(6275):854-857.
- [66] YAN J, HERZOG J W, TSANG K, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(47):E7554-E7563.
- [67] YAN J, TAKAKURA A, ZANDI-NEJAD K, et al. Mechanisms of gut microbiota-mediated bone remodeling[J]. *Gut Microbes*, 2018, 9(1):84-92.
- [68] SHAPIRO R, HEANEY R P. Co-dependence of calcium and phosphorus for growth and bone development under conditions of varying deficiency [J]. *Bone*, 2003, 32(5):532-540.
- [69] 代述均. 饲料非植酸磷水平对肉鸭生产性能、盲肠微生物及胫骨质量的影响[D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2017.
- [70] 刘海霞, 王子轼, 顾建红, 等. 磷对体外培养番鸭破骨细胞生成及骨吸收功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2008, 20(1):102-107.
- [71] 李福兵. FGFR1 信号通路在小鼠骨骼发育和重建中的作用[D]. 博士学位论文. 重庆: 第三军医大学, 2008.
- [72] RHOADS J M, CHEN W, CHU P, et al. *L*-glutamine and *L*-asparagine stimulate $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange in porcine jejunal enterocytes[J]. *American Journal of Physiology*, 1994, 266(5):G828-G838.
- [73] XU H M, DAI S J, ZHANG K Y, et al. Dietary phosphorus deficiency impaired growth, intestinal digestion and absorption function of meat ducks[J]. *Asian-Australas Journal of Animal Science*, 2019, 32(12):1897-1906.
- [74] WERNER A, KINNE R K H. Evolution of the Na-Pi cotransport systems[J]. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative & Comparative Physiology*, 2001, 280(2):R301-R312.
- [75] DAI S J, ZHANG K Y, DING X M, et al. Effect of dietary non-phytate phosphorus levels on the diversity and structure of cecal microbiota in meat duck from 1 to 21 d of age [J]. *Poultry Science*, 2018, 97(7):2441-2450.
- [76] HEYER C M E, WEISS E, SCHMUCKER S, et al. The impact of phosphorus on the immune system and the intestinal microbiota with special focus on the pig [J]. *Nutrition Research Review*, 2015, 28(1):67-82.
- [77] DURAND M, KOMISARCZUK S. Influence of major minerals on rumen microbiota[J]. *The Journal of Nutrition*, 1988, 118(2):249-260.
- [78] PTAK A, BEDFORD M R, ŚWIATKIEWICZ S, et al. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0119770.
- [79] BORDA-MOLINA D, VITAL M, SOMMERFELD V, et al. Insights into broilers' gut microbiota fed with phosphorus, calcium, and phytase supplemented diets [J]. *Frontier Microbiology*, 2016, 7:2033.
- [80] BOVEE-OUDEHNOVEN I M, WISSINK M L, WOUTERS J T, et al. Dietary calcium phosphate stimulates intestinal lactobacilli and decreases the severity of a salmonella infection in rats [J]. *The Journal of Nutrition*, 1999, 129(3):607-612.
- [81] YAO N, PAEZ A V, WHITE P J. Structure and function of starch and resistant starch from corn with different doses of mutant amylose-extender and floury-1 alleles[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(5):2040-2048.
- [82] REGASSA A, NYACHOTI C M. Application of resistant starch in swine and poultry diets with particular reference to gut health and function [J]. *Animal Nutrition*, 2018, 4(3):305-310.
- [83] QIN S M, ZHANG K Y, APPLGATE T J, et al. Dietary administration of resistant starch improved caecal barrier function by enhancing intestinal morphology and modulating microbiota composition in meat duck [J]. *British Journal of Nutrition*, 2020, 123(2):172-181.
- [84] QIN S M, ZHANG K Y, DING X M, et al. Effect of dietary graded resistant potato starch levels on growth performance, plasma cytokines concentration, and intestinal health in meat ducks [J]. *Poultry Science*,

- 2019, 98(9):3523–3532.
- [85] TOUSEN Y, ABE F, ISHIDA T, et al. Resistant starch promotes equol production and inhibits tibial bone loss in ovariectomized mice treated with daidzein [J]. *Metabolism*, 2011, 60(10):1425–1432.
- [86] TOUSEN Y, MATUMOTO Y, MATSUMOTO C, et al. The combined effects of soya isoflavones and resistant starch on equol production and trabecular bone loss in ovariectomised mice [J]. *British Journal of Nutrition*, 2016, 116(2):247–257.
- [87] TOUSEN Y, MATSUMOTO Y, NAGAHATA Y, et al. Resistant starch attenuates bone loss in ovariectomised mice by regulating the intestinal microbiota and bone-marrow inflammation [J]. *Nutrients*, 2019, 11(2):297.
- [88] 徐慧敏. 抗性淀粉对采食低磷饲料肉鸭生产性能及肠骨轴的影响 [D]. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2020.
- [89] SCHEPPER J D, COLLINS F L, RIOS-ARCE N D, et al. Probiotic *Lactobacillus reuteri* prevents postantibiotic bone loss by reducing intestinal dysbiosis and preventing barrier disruption [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2019, 34(4):681–698.

Research Progress of Nutritional Regulation on Bone Development and Quality in Meat Ducks

ZENG Qiufeng ZHANG Huaiyong DING Xuemei BAI Shiping WANG Jianping ZHANG Keying*

(Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of Ministry of Education, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Sichuan Province, Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Bone development and quality are highly related to the health, welfare, and meat quality in meat ducks, which is an important economic trait. Therefore, the poultry nutrition team of *Sichuan Agricultural University* has studied the regulation of calcium, non-phytate phosphorus, vitamin, 25-hydroxyl vitamin D₃ (25-OH-D₃) and resistant starch on bone growth, calcification, remodeling, and gut-bone axis based on the development and calcification of tibia and sternum in meat ducks. This review summarizes our researches and related similar researches in recent years according to bone growth and calcification rule, nutritional regulation of bone development and calcification, and nutritional regulation of gut-bone axis in meat ducks. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(10):4624-4636]

Key words: meat ducks; bone metabolism; gut-bone axis; calcium; phosphorus; vitamin; 25-OH-D₃; resistant starch