

饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅胫骨发育、免疫器官指数及抗氧化性能的影响

徐燕红¹ 殷太岳¹ 王宝维² 王晓伟³ 李文立^{1,2*}

(1.青岛农业大学动物科技学院,青岛 266109;2.青岛农业大学优质水禽研究所,青岛 266109;

3.山东省莱阳市畜牧兽医局,莱阳 265200)

摘要: 本试验旨在研究饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅胫骨发育、免疫器官指数及抗氧化性能的影响。试验分为 2 个阶段,1~4 周龄阶段,选用 1 日龄五龙鹅 360 只,随机分为 6 个组,每组 6 个重复,每个重复 10 只鹅。I 组为对照组,饲喂基础饲料(维生素 K₃ 含量为 1.23 mg/kg),II~VI 组在基础饲料中分别添加 1、2、4、8 和 16 mg/kg 的维生素 K₃。5~16 周龄阶段,选用 28 日龄五龙鹅 288 只,随机分为 6 个组,每组 6 个重复,每个重复 8 只鹅。I 组为对照组,饲喂基础饲料(维生素 K₃ 含量为 1.18 mg/kg),II~VI 组在基础饲料中分别添加 2、4、8、16 和 32 mg/kg 的维生素 K₃。试验期 16 周。结果表明:1)与对照组相比,1~4 周龄阶段,饲料中添加 4 mg/kg 维生素 K₃ 显著提高了胫骨粗灰分含量、骨密度、骨强度和骨重($P<0.05$),极显著提高了胫骨钙、磷含量($P<0.01$);5~16 周龄阶段,饲料中添加 8 mg/kg 维生素 K₃ 极显著提高了胫骨粗灰分、钙、磷含量及骨密度、骨强度($P<0.01$),骨小梁和成骨细胞发育更好。2)饲料中添加维生素 K₃ 对胸腺指数、脾脏指数和法氏囊指数无显著影响($P>0.05$)。3)与对照组相比,1~4 周龄阶段,饲料中添加 4 mg/kg 维生素 K₃ 显著提高了血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性($P<0.05$),显著降低了血清丙二醛(MDA)含量($P<0.05$),极显著提高了血清总抗氧化能力(T-AOC)($P<0.01$);5~16 周龄阶段,饲料中添加 8 mg/kg 维生素 K₃ 显著提高了血清 T-SOD 和过氧化氢酶(CAT)活性($P<0.05$),显著降低了血清 MDA 含量($P<0.05$),极显著提高了血清 T-AOC($P<0.01$)。由此可见,1~4 周龄和 5~16 周龄五龙鹅饲料中维生素 K₃ 添加水平分别为 4 和 8 mg/kg 时,提高了胫骨粗灰分、钙、磷含量及骨密度、骨强度,改善胫骨发育状况;提高了血清 T-SOD 活性和 T-AOC,降低了血清 MDA 含量,进而提高了五龙鹅抗氧化性能。

关键词: 维生素 K₃;五龙鹅;胫骨发育;免疫器官指数;抗氧化性能

中图分类号:S835

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)06-2642-09

维生素 K₃ 是畜禽生长发育所必需的维生素之一,随着对维生素 K₃ 研究的不断深入,人们发现维生素 K₃ 不但和凝血有关,还参与骨骼代谢、缓解氧化应激和清除自由基等诸多生理过程^[1-2]。维生素 K 通过促进成骨细胞分泌的骨钙素(γ -羧基谷氨酸蛋白)酸化而与骨形成密切相关^[3]。Kim

等^[4]将维生素 K₁ 和维生素 K₂ 添加到大鼠的高脂饲料中,发现血清骨钙素含量在 12 周以后显著升高,显著降低了破骨细胞活化因子水平,使骨保护素含量升高。Bouckaert 等^[5]研究报道,维生素 K 能起到愈合兔子骨折症状、加速骨骼矿化的作用。动物机体内抗氧化过程多由抗氧化酶完成,如过

收稿日期:2018-11-21

基金项目:国家水禽技术产业体系(CARS-43-11)

作者简介:徐燕红(1994—),女,山东东营人,硕士研究生,动物营养与饲料科学专业。E-mail: 814507952@qq.com

* 通信作者:李文立,教授,硕士生导师,E-mail: wlli@qau.edu.cn

氧化氢酶 (CAT)、总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 等^[6]。Yuan 等^[7]研究表明,维生素 K 能显著提高建鲤机体内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性,提高谷胱甘肽 (GSH) 含量,增强抗氧化能力。Fu 等^[8]研究表明,饲料中添加适量维生素 K 能够显著提高鲍鱼肌肉的 SOD 活性,增强其抗氧化性能。机体抗氧化能力与动物健康程度有十分密切的关系。迄今为止,国内外有关维生素 K₃ 在大鼠、兔、水产动物等动物上的研究较多,但对鹅方面的研究较少。因此,本试验以五龙鹅为研究对象,研究饲料维生素 K₃ 添加水平对鹅胫骨发育、免疫器官指数及抗氧化性能的影响,为我国鹅的饲养标准制定

和养鹅业的健康发展提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及饲料

维生素 K₃(亚硫酸氢烟酰胺甲萘醌,有效成分含量为 99%,甲萘醌含量 ≥49.9%)购自青岛普兴饲料公司。参照 NRC (1994) 推荐的营养水平设计基础饲料。饲养周期为 1~4 周龄、5~16 周龄 2 阶段,2 阶段基础饲料组成及营养水平见表 1。测定基础饲料中维生素 K₃ 含量 1~4 周龄为 1.23 mg/kg,5~16 周龄为 1.18 mg/kg。

表 1 基础饲料组成及营养水平 (风干基础)

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

%

项目 Items	含量 Content	
	1~4 周龄 1 to 4 weeks of age	5~16 周龄 5 to 16 weeks of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	60.00	61.97
豆粕 Soybean meal	28.40	22.00
鱼粉 Fish meal	2.00	1.50
次粉 Wheat middlings	5.00	4.00
玉米秸秆 Corn stover	2.00	8.00
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.84	0.78
石粉 Limestone	0.96	0.95
食盐 NaCl	0.30	0.30
微量元素 Trace elements ¹⁾	0.20	0.20
多维 Multivitamin ¹⁾	0.30	0.30
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
代谢能 ME/(MJ/kg)	11.76	11.29
粗蛋白质 CP	18.92	16.30
粗纤维 CF	3.27	4.98
钙 Ca	0.74	0.70
有效磷 AP	0.41	0.45
赖氨酸 Lys	1.02	0.82
蛋氨酸 Met	0.31	0.26
半胱氨酸 Cys	0.31	0.27
维生素 K ₃ Vitamin K ₃ /(mg/kg)	1.23	1.18

¹⁾ 多维和微量元素为每千克饲料提供 The multivitamin and trace elements provided the following per kg of diets: 1~4 周龄 1 to 4 weeks of age, VA 1 500 IU, VD₃ 200 IU, VE 12.5 mg, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 5.0 mg, 烟酸 niacin 65 mg, 泛酸 pantothenate 15 mg, VB₆ 2 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, 叶酸 folic acid 0.5 mg, Fe 90 mg, Cu 6 mg, Mn 85 mg, Zn 85 mg, I 0.42 mg, Co 2.5 mg, Se 0.42 mg; 5~16 周龄 5 to 16 weeks of age, VA 1 500 IU, VD₃ 200 IU, VE 12.5 mg, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 5.0 mg, 烟酸 niacin 65 mg, 泛酸 pantothenate 15 mg, VB₆ 2 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, 叶酸 folic acid 0.5 mg, Fe 85 mg, Cu 5 mg, Mn 80 mg, Zn 80 mg, I 0.42 mg, Co 2.5 mg, Se 0.42 mg。

²⁾ 维生素 K₃ 为实测值,其他营养水平为计算值。Vitamin K₃ was a measured value, while the other nutrient levels were calculated values.

1.2 试验设计

试验全期分为1~4周龄和5~16周龄2个饲养阶段。1~4周龄阶段选用1日龄健康的五龙鹅360只,随机分为6组,每组6个重复,每个重复10只鹅,公母各1/2。I组为对照组,饲喂基础饲料;试验组(II、III、IV、V、VI组)在基础饲料中分别添加1、2、4、8、16 mg/kg 维生素K₃。5~16周龄阶段选用28日龄健康的五龙鹅288只,随机分为6组,每组6个重复,每个重复8只鹅。I组为对照组,饲喂基础饲料;试验组(II、III、IV、V、VI组)在基础饲料中分别添加2、4、8、16、32 mg/kg 维生素K₃。

1.3 饲养管理

试验期鹅采用地面铺垫料平养,全期自由饮水和采食。按常规方式进行管理。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 胫骨发育指标

在4和16周龄末,每重复中分别抽取1只体重接近平均体重的公鹅,颈静脉放血致死,取右侧胫骨,剥离附着组织后,采用数字闪烁式锥形扫描骨密度仪(osteocore 3)测定骨密度(bone mineral density, BMD),采用WD-1型电子万能试验机测定骨强度,测定后于烘箱内105℃烘干后称量胫骨重量,粗灰分含量的测定参照GB/T 6438—1992,钙含量的测定参照GB/T 6436—1986,磷含量的测定参照GB/T 6437—1986。

组织学观察:取16周龄末各重复对应的鹅左侧胫骨近端干骺端,用10%福尔马林固定,经梯度酒精系列脱水,常规石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色,显微镜观察骨小梁的蜂窝织状结构。

1.4.2 免疫器官指数的测定

在4和16周龄末,每重复分别抽取2只接近该组平均体重的试验鹅,屠宰后剥离胫骨,切取胸腺、脾脏、法氏囊等免疫器官,进行免疫器官指数的测定。

胸腺指数=胸腺重/活体重;

脾脏指数=脾脏重/活体重;

法氏囊指数=法氏囊重/活体重。

1.4.3 血清抗氧化指标

在4和16周龄末,每重复分别抽取2只接近该组平均体重的试验鹅,翅静脉取血。使用低温离心机3 000 r/min离心制得血清,分装于1.5 mL离心管内,-40℃保存备用。测定血清T-SOD、

CAT活性及丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC),操作方法均按照试剂盒操作流程进行。本试验所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.5 统计分析

采用SPSS 20.0软件中单因素方差分析(one-way ANOVA)方法进行数据分析,并采用LSD法进行多重比较。试验数据以“平均值±标准差”表示。 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 分别为差异显著和极显著。

2 结果

2.1 饲料维生素K₃添加水平对五龙鹅胫骨发育的影响

2.1.1 饲料维生素K₃添加水平对五龙鹅胫骨发育指标的影响

由表2可知,4周龄时,III、IV、V、VI组之间胫骨骨密度差异不显著($P>0.05$),但均显著高于I、II组($P<0.05$)。IV组胫骨骨强度显著高于I、II、III组($P<0.05$)。各试验组胫骨骨重均高于I组,IV、V组显著高于I组($P<0.05$)。各试验组之间胫骨粗灰分含量差异不显著($P>0.05$),均高于I组,IV、V组显著高于I组($P<0.05$)。各试验组胫骨钙含量均高于I组,IV、V、VI组极显著高于I组($P<0.01$),III组显著高于I组($P<0.05$)。各试验组胫骨磷含量均高于I组,IV、V、VI组均极显著高于I组($P<0.01$),显著高于II、III组($P<0.05$);III组显著高于I组($P<0.05$)。

16周龄时,各试验组胫骨骨密度均高于I组,IV组极显著高于I组($P<0.01$),显著高于II、VI组($P<0.05$);III、V组显著高于I组($P<0.05$)。各试验组胫骨骨强度均高于I组,IV组显著高于III、V、VI组($P<0.05$),极显著高于I、II组($P<0.01$);V组极显著高于I组($P<0.01$),显著高于II组($P<0.05$)。各试验组胫骨骨重均高于I组,II、III、V、VI组与I组差异不显著($P>0.05$),IV组显著高于I组($P<0.05$)。各试验组胫骨粗灰分含量均高于I组,IV组极显著高于I组($P<0.01$),III、V、VI组显著高于I组($P<0.05$)。IV、V组胫骨钙含量均极显著高于I组($P<0.01$),III、VI组显著高于I组($P<0.05$)。IV、V、VI组胫骨磷含量极显著高于I组($P<0.01$),III组显著高于I组($P<0.05$)。

表2 饲料维生素 K₃添加水平对五龙鹅胫骨发育指标的影响Table 2 Effects of dietary vitamin K₃ supplemental level on tibia development index of *Wulong* geese

项目 Items	组别 Groups	骨密度 BMD/ (g/cm ²)	骨强度 Bone strength/ (kg/mm)	骨重 Bone weight/g	粗灰分 Ash/%	钙 Ca/%	磷 P/%
4 周龄 4 weeks of age	I	0.21±0.01 ^a	9.61±0.64 ^a	4.94±0.23 ^a	30.42±1.76 ^a	29.43±0.94 ^a	17.02±0.78 ^a
	II	0.21±0.01 ^a	10.42±0.89 ^a	5.37±0.37 ^a	31.34±1.79 ^{ab}	31.20±1.07 ^{ab}	17.60±0.37 ^{ab}
	III	0.26±0.53 ^b	11.26±1.83 ^a	5.80±0.70 ^a	32.51±0.96 ^{ab}	32.54±1.54 ^{bc}	18.31±0.52 ^b
	IV	0.31±0.02 ^b	14.24±1.47 ^b	7.64±0.66 ^b	33.81±0.82 ^b	34.30±1.07 ^c	19.79±0.52 ^c
	V	0.28±0.01 ^b	13.18±0.87 ^{ab}	7.28±1.01 ^b	33.06±1.06 ^b	33.82±0.91 ^c	19.60±0.51 ^c
	VI	0.27±0.02 ^b	13.12±2.50 ^{ab}	6.60±0.80 ^{ab}	32.63±1.37 ^{ab}	33.56±0.88 ^c	19.48±0.40 ^c
P 值 P-value		0.002	0.018	0.011	0.093	0.001	<0.001
16 周龄 16 weeks of age	I	0.22±0.02 ^a	16.57±1.10 ^a	11.73±0.87 ^a	32.71±1.89 ^a	32.23±1.03 ^a	18.78±0.87 ^a
	II	0.25±0.01 ^{ab}	17.97±1.54 ^{ab}	13.27±1.16 ^a	34.44±1.96 ^{ab}	34.17±1.17 ^{ab}	19.40±0.40 ^{ab}
	III	0.29±0.07 ^{bc}	19.41±1.58 ^{bc}	14.17±1.70 ^{ab}	35.87±1.29 ^{bc}	35.64±1.69 ^{bc}	20.11±0.57 ^b
	IV	0.34±0.01 ^c	24.44±0.80 ^d	16.47±1.66 ^b	37.57±0.91 ^c	37.58±1.17 ^c	21.76±0.57 ^c
	V	0.31±0.02 ^{bc}	21.06±1.29 ^c	15.00±1.37 ^{ab}	36.73±1.18 ^{bc}	36.69±1.14 ^c	21.55±0.57 ^c
	VI	0.28±0.02 ^{ab}	18.77±1.18 ^{abc}	14.23±1.24 ^{ab}	36.25±1.52 ^{bc}	36.40±1.13 ^{bc}	21.41±0.45 ^c
P 值 P-value		0.009	<0.001	0.021	0.022	0.002	<0.001

同列数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$), 相邻小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 相间小写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)。下表同。

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

2.1.2 16 周龄五龙鹅胫骨生长板组织学观察

由图 1 可知, I 组骨小梁较为细小, 有萎缩现象, 分布较为稀疏散乱, 且骨小梁间距较大, 骨小梁面积及其比例较小, 多数骨小梁走行有中断。骨小梁生长较少, 范围较为局限, 其表面有少量成骨细胞, 成骨细胞形态模糊不清。

II 组骨小梁散乱, 骨小梁生长较少, 范围较为局限, 其表面有成骨细胞, 细胞呈不规则形, 且部分软骨细胞核固缩, 胞质呈空泡状。

III 组骨小梁明显细小、萎缩, 分布相对稀疏散乱, 成骨细胞与破骨细胞分布在骨小梁上, 骨小梁排列不规则, 可见少量新骨, 与周围界限不清, 但部分细胞形态模糊不清。

IV 组骨小梁分布较为均匀, 排列较为规则, 骨小梁间距适中, 可见成骨细胞与破骨细胞分布于骨小梁上, 骨小梁相对致密。IV 组骨小梁面积、比例都优于 I 组。

V 组软骨周边部可见薄层致密结缔组织, 部分软骨细胞核固缩, 可见成骨细胞与破骨细胞分布于骨小梁上, 骨小梁分布均匀, 排列规则, 表面光滑, 未见有骨小梁中断。皮质骨较致密, 内外表

面光滑。

VI 组软骨周边部可见薄层致密结缔组织, 可见成骨细胞与破骨细胞分布于骨小梁上, 骨小梁分布均匀, 排列较为规则, 表面光滑, 有部分骨小梁中断。

2.2 饲料维生素 K₃添加水平对五龙鹅免疫器官指数的影响

由表 3 可知, 4 周龄时, 各组五龙鹅免疫器官指数差异不显著 ($P>0.05$)。与 I 组相比, IV 组胸腺指数提高了 5.86%, 脾脏指数提高了 9.18%, 法氏囊指数提高了 10.48%。

16 周龄时, 各组五龙鹅免疫器官指数差异不显著 ($P>0.05$)。与 I 组相比, IV 组胸腺指数提高了 20.90%, 脾脏指数提高了 26.03%, 法氏囊指数提高了 18.60%。

2.3 饲料维生素 K₃添加水平对五龙鹅血清抗氧化指标的影响

由表 4 可知, 4 周龄时, 各试验组血清 T-SOD 活性均显著高于 I 组 ($P<0.05$), 其中 IV 组血清 T-SOD 活性最高。III、IV、V、VI 组之间血清 MDA 含量差异不显著 ($P>0.05$), 除 VI 组外均显著低于

I、II组($P<0.05$)。各试验组血清 T-AOC 均高于 I 组,IV组极显著高于 I 组($P<0.01$),显著高于 II、V、VI组($P<0.05$); II、III、V、VI组显著高于 I

组($P<0.05$)。各组之间血清 CAT 活性差异不显著($P>0.05$)。

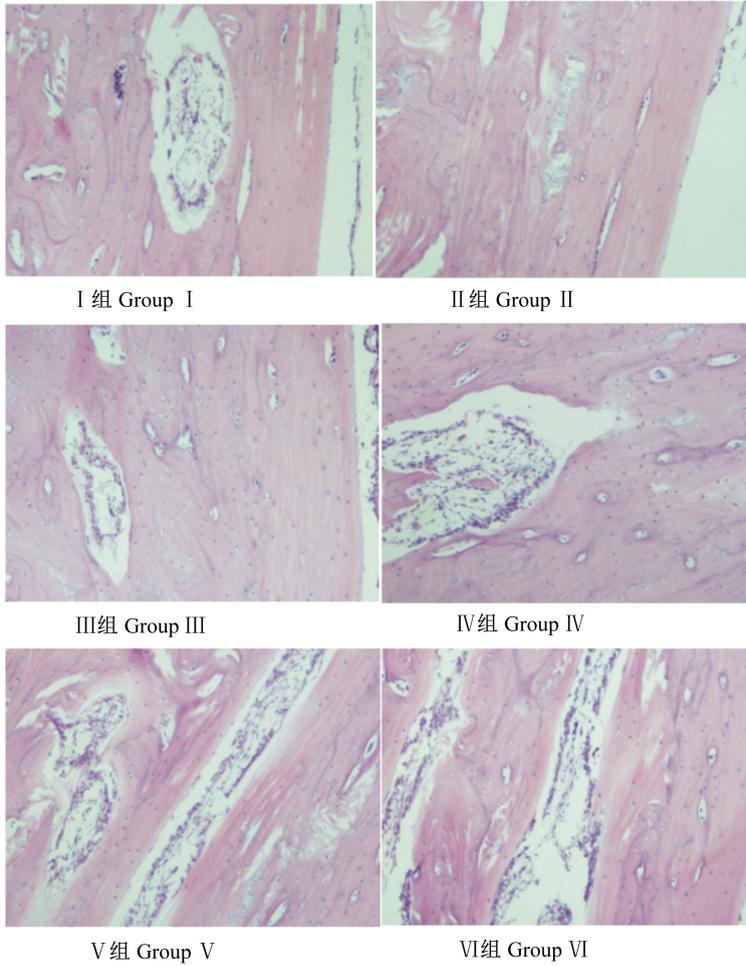


图 1 16 周龄五龙鹅胫骨生长板组织学观察

Fig.1 Histological observation of tibial growth plate of *Wulong* geese at 16 weeks of age (100×)

表 3 饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅免疫器官指数的影响

Table 3 Effects of dietary vitamin K₃ supplemental level on immune organ index of *Wulong* geese mg/g

项目 Items	组别 Groups	胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index	法氏囊指数 Brusa of Fabricius index
4 周龄 4 weeks of age	I	2.22±0.05	1.96±0.19	1.05±0.14
	II	2.28±0.11	2.16±0.15	1.11±0.20
	III	2.32±0.05	2.09±0.25	1.13±0.12
	IV	2.35±0.01	2.14±0.25	1.16±0.07
	V	2.33±0.08	2.13±0.08	1.17±0.10
	VI	2.30±0.06	2.06±0.51	1.07±0.07
P 值 P-value		0.347	0.790	0.816

续表 3

项目 Items	组别 Groups	胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index	法氏囊指数 Brusa of Fabricius index
16 周龄 16 weeks of age	I	1.77±0.41	0.73±0.24	0.43±0.16
	II	1.81±0.46	0.90±0.13	0.44±0.96
	III	1.93±0.77	0.91±0.28	0.46±0.16
	IV	2.14±0.98	0.92±0.32	0.51±0.26
	V	2.18±0.36	0.93±0.19	0.49±0.25
	VI	1.99±0.32	0.91±0.31	0.48±0.10
P 值 P-value		0.797	0.765	0.973

16 周龄时, III、IV、V、VI 组之间血清 T-SOD 活性差异不显著 ($P>0.05$), 均显著高于 I、II 组 ($P<0.05$), 其中 IV 组最高。随着维生素 K₃ 添加水平的增加, 各组血清 MDA 含量不断下降, V、VI 组极显著低于 I 组 ($P<0.01$), III、IV 组显著低于 I 组

($P<0.05$)。IV、V、VI 组血清 T-AOC 极显著高于 I 组 ($P<0.01$), III 组显著高于 I 组 ($P<0.05$)。IV、VI 组血清 CAT 活性显著高于 I 组 ($P<0.05$), II、III、V 组与 I 组差异不显著 ($P>0.05$)。

表 4 饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅血清抗氧化指标的影响Table 4 Effects of dietary vitamin K₃ supplemental level on serum antioxidant index of Wulong geese

项目 Items	组别 Groups	总超氧化物歧化酶 T-SOD/(U/mL)	丙二醛 MDA/(nmol/mL)	总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL)	过氧化氢酶 CAT/(U/mL)
4 周龄 4 weeks of age	I	216.66±14.57 ^a	0.072±0.007 ^a	10.76±0.33 ^a	13.89±0.34
	II	242.03±10.03 ^b	0.069±0.006 ^a	11.87±0.43 ^b	14.08±0.56
	III	256.55±8.79 ^b	0.055±0.004 ^b	12.81±0.63 ^{bc}	14.61±0.56
	IV	258.45±4.18 ^b	0.050±0.010 ^b	13.23±0.82 ^c	14.79±0.44
	V	247.83±9.50 ^b	0.054±0.008 ^b	12.09±0.28 ^b	14.74±0.32
	VI	250.94±8.07 ^b	0.060±0.008 ^{ab}	12.10±0.52 ^b	14.13±0.27
P 值 P-value		0.002	0.020	0.002	0.097
16 周龄 16 weeks of age	I	146.83±3.23 ^a	0.075±0.007 ^a	14.62±0.68 ^a	14.01±0.25 ^a
	II	149.56±3.06 ^a	0.069±0.003 ^{ab}	15.68±0.99 ^{ab}	14.06±0.43 ^a
	III	154.46±1.93 ^b	0.063±0.006 ^{bc}	17.45±1.41 ^{bc}	14.64±0.61 ^{ab}
	IV	156.16±2.15 ^b	0.058±0.008 ^{bc}	18.85±1.43 ^c	15.11±0.25 ^b
	V	155.38±2.32 ^b	0.053±0.008 ^c	18.41±1.21 ^c	14.83±0.60 ^{ab}
	VI	156.08±1.38 ^b	0.052±0.004 ^c	18.73±1.61 ^c	15.08±0.21 ^b
P 值 P-value		0.002	0.004	0.005	0.024

3 讨论

3.1 饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅胫骨发育的影响

骨钙素、基质 γ 羧基谷氨酸蛋白和骨膜蛋白是骨组织中的维生素 K 依赖性蛋白^[9]。骨钙素的主要功能是维持骨骼正常矿化速率, 抑制软骨矿化。活化后的骨钙素能与钙离子 (Ca^{2+}) 结合, 促进骨组织矿化。谢煜等^[10]研究表明, 维生素 K 能

够显著提高大鼠股骨的骨密度, 提高血清骨钙素含量, 增强大鼠骨骼发育。Yamauchi 等^[11]试验证明, 维生素 K 有提高骨密度和骨强度、防止骨质疏松等作用。罗林枝等^[12]研究表明, 维生素 K 能够增加骨密度, 促进骨健康。赵新华等^[13]研究表明, 一定范围内随着摄入维生素 K 添加水平的增加, 幼龄大鼠股骨结构力学性能不断提高, 骨密度及骨重显著提高。本试验结果表明, 饲料中添加适量维生素 K₃ 能显著提高五龙鹅胫骨骨密度和骨

强度,并且随着周龄的增加,骨密度和骨强度均明显提高,与上述试验结果一致。维生素 K 能提高机体骨钙素含量,进而促进骨骼钙盐沉积,加速骨质矿化过程。高志^[14]研究表明,对去卵巢大鼠补充维生素 K 可全面提高大鼠骨密度,加速钙盐沉积和骨质矿化过程,促进骨骼成熟; Cockayne 等^[15]和 Shiraki 等^[16]研究报道均表明,机体摄入维生素 K 能够提高血清骨钙素含量,减少骨量丢失,提高骨组织钙、磷含量,促进骨健康。本试验结果表明,饲料中添加维生素 K₃ 能显著提高五龙鹅胫骨中钙和磷含量,提高胫骨骨重和粗灰分含量,与上述研究结果一致。

骨小梁是组成骨松质的成分,骨小梁组成立体的网状结构。高志^[14]在大鼠试验中发现,试验组骨小梁分布均匀,排列规则,表面光滑,未见有骨小梁中断。本试验结果发现,5~16 周龄五龙鹅饲料中添加 8 mg/kg 维生素 K₃ 时骨小梁分布均匀,排列规则,骨小梁间距适中,可见成骨细胞与破骨细胞分布于骨小梁上,骨小梁相对致密,当饲料中维生素 K₃ 添加水平过高时,其促进鹅胫骨发育效果呈下降趋势。

3.2 饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅免疫器官指数的影响

胸腺、法氏囊及脾脏的重量可用于评价雏禽的免疫状态,其绝对重量和相对重量越大,说明机体的细胞免疫和体液免疫机能越强。迄今为止,国内外关于维生素 K 影响家禽免疫性能的报道较少,主要集中在水产方面研究较多。元江^[17]研究表明,在幼建鲤饲料中添加维生素 K₃ 并使用磺胺脒抑制肠道微生物产生维生素 K,试验组免疫性能显著加强。有报道指出,维生素 K₃ 有联合免疫球蛋白治疗哮喘、抑制结石等生物功能^[18-19]。吴亚锋^[20]试验结果表明,饲料中添加酵母多糖、壳聚糖和维生素 K 对异育银鲫非特异性免疫功能具有一定的促进作用。本试验结果表明,饲料中添加维生素 K₃ 对 4 和 16 周龄五龙鹅免疫器官指数均没有显著影响,与上述在鱼类方面的研究结果不一致,这可能与动物种类和饲料组成有关。本试验结果显示,饲料维生素 K₃ 添加水平不影响鹅免疫器官的发育。

3.3 饲料维生素 K₃ 添加水平对五龙鹅血清抗氧化指标的影响

维生素 K₃ 具有抗氧化性,但不同添加水平对

抗氧化性能有不同影响,添加水平不足或过多会抑制体内抗氧化反应^[21]。潘春芳等^[22]以去卵巢大鼠为模型比较补充和不补充维生素 K 对机体抗氧化性能的影响,结果发现,补充维生素 K 能提高大鼠机体 SOD 和 CAT 活性,降低 MDA 含量,缓解氧化应激状态。维生素 K 在小肠被吸收后经淋巴系统进入血液,参与非酶系统机体自由基代谢。T-AOC 高低能反映机体抗氧化酶系统和非酶抗氧化系统在面对外来刺激时的应对能力^[23]。王连生等^[24]研究表明,在西伯利亚鲟饲料中添加 26.24 mg/kg 维生素 K 能显著提高肝胰脏 T-AOC,但添加水平达到 990.00 mg/kg 时,T-AOC 显著低于添加水平为 16.24 mg/kg 时。本试验结果表明,饲料中添加适宜水平维生素 K₃ 能提高五龙鹅血清 T-SOD 活性和 T-AOC,降低血清 MDA 含量,当添加水平不足或过量时,抗氧化性能会有所下降。主要是维生素 K₃ 进入鹅体内首先参与非酶抗氧化系统,转移电子清除自由基,从而提高鹅抗氧化性能;但维生素 K₃ 添加水平过量时,能够被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸醌氧化还原酶还原成多氧自由基,而增加机体抗氧化负担。

4 结 论

1~4 周龄和 5~16 周龄五龙鹅饲料中维生素 K₃ 添加水平分别为 4 和 8 mg/kg 时,提高了胫骨粗灰分、钙、磷含量及骨密度、骨强度,改善鹅胫骨发育状况;提高了血清 T-SOD 活性和 T-AOC,降低了血清 MDA 含量,进而提高了五龙鹅抗氧化性能。

参考文献:

- [1] 党晓鹏. 畜禽维生素 K 的非凝血功能[J]. 江西饲料, 2015, 6(3): 6-8.
- [2] YANG T T C, KOO M W L. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation[J]. *Atherosclerosis*, 2000, 148(1): 67-73.
- [3] 陶天遵, 杨小清, 陶树清, 等. 维生素 K 与骨代谢[J]. 国外医学(内分泌学分册), 2005, 25(5): 298-301.
- [4] KIM M, NA W, SOHN C. Vitamin K₁ (phylloquinone) and K₂ (menaquinone-4) supplementation improves bone formation in a high-fat diet-induced obese mice[J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2013, 53(2): 108-113.

- [5] BOUCKAERT J H, SAID A H. Fracture healing by vitamin K [J]. Nature, 1960, 18 (5) : 849-850.
- [6] FANG YZ, YANG S, WU G Y. Freeradicals, antioxidants, and nutrition [J]. Nutrition, 2002, 18 (10) : 872-879.
- [7] YUAN J, FENG L, JIANG W D, et al. Effects of dietary vitamin K levels on growth performance, enzyme activities and antioxidant status in the hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22 (2) : 352-366.
- [8] FU J H, XU W, MAI K S, et al. Effects of dietary menadione on the activity of antioxidant enzymes in abalone, *Haliotis discus hannani* [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2012, 30 (1) : 118-123.
- [9] SOPER R J, OGUZ C, EMERY R, et al. Vitamin K catabolite inhibition of ovariectomy-induced bone loss: structure-activity relationship considerations [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2014, 58 (8) : 1658-1666.
- [10] 谢煜, 姚珍薇, 杨帆. 雌激素和维生素 K 抗去势成年雌性大鼠骨质疏松的实验研究 [J]. 中华妇幼临床医学杂志 (电子版), 2009, 5 (3) : 226-231.
- [11] YAMAUCHI M, YAMAGUCHI T, NAWATA K, et al. Relationships between undercarboxylated osteocalcin and vitamin K intakes, bone turnover, and bone mineral density in healthy women [J]. Clinical Nutrition, 2010, 29 (6) : 761-765.
- [12] 罗林枝, 徐苓. 维生素 K 与骨质疏松 [J]. 中国医学科学院学报, 2003, 25 (3) : 346-349.
- [13] 赵新华, 赵熙和, 崔伟, 等. 维生素 K 对幼鼠骨量及骨强度影响的实验研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 1999, 5 (1) : 22-27.
- [14] 高志. 维生素 K₂ 对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响 [D]. 硕士学位论文. 成都: 四川大学, 2007.
- [15] COCKAYNE S, ADAMSON J, LANHAM-NEWS, et al. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Archives of Internal Medicine, 2006, 166 (12) : 1256-1261.
- [16] SHIRAKI M, SHIRAKI Y, AOKI C, et al. Vitamin K₂ (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis [J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2000, 15 (3) : 515-521.
- [17] 元江. 维生素 K 对幼建鲤消化吸收功能、免疫功能和抗氧化状态的影响 [D]. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [18] 郭丹苗. 人血免疫球蛋白联合维生素 K₃ 治疗难治性哮喘的临床疗效研究 [J]. 中外医学研究, 2013, 11 (22) : 33-34.
- [19] 常连胜, 冯陶, 李菊香, 等. 维生素 D₃ 和维生素 K₃ 对实验性肾结石的影响 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2001, 22 (1) : 20-22.
- [20] 吴亚锋, 陈静, 倪金娣, 等. 3 种免疫增强剂对异育银鲫非特异性免疫功能的影响 [J]. 水产养殖, 2018, 39 (10) : 23-27.
- [21] CANFIELD L M, DAVY L A, THOMAS G L. Antioxidant/pro-oxidant reactions of vitamin K [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1985, 128 (1) : 211-219.
- [22] 潘春芳, 徐三荣. 维生素 K 对去卵巢大鼠肝氧化应激及炎症因子的影响 [J]. 江苏大学学报 (医学版), 2014, 24 (1) : 31-35.
- [23] 李国富, 何一凡, 吴清坛, 等. 血清 SOD、GSH-Px、T-AOC 及 MDA 的测定对肺炎诊断的临床意义 [J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2003, 9 (3) : 196-197, 200.
- [24] 王连生, 许红, 王洋, 等. 维生素 K₃ 对西伯利亚鲟生长和抗氧化功能的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30 (6) : 641-646.

Effects of Dietary Vitamin K₃ Supplemental Level on Tibia Development, Immune Organ Index and Antioxidant Capacity of *Wulong* Geese

XU Yanhong¹ YIN Taiyue¹ WANG Baowei² WANG Xiaowei³ LI Wenli^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Institute of High Quality Waterfowl, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 3. Laiyang Bureau of Animal Husbandry in Shandong Province, Laiyang 265200, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of dietary vitamin K₃ supplemental level on tibia development, immune organ index and antioxidant capacity of *Wulong* geese. This experiment was divided into two stages, in 1 to 4 weeks of age stage, a total of 360 one-day-old *Wulong* geese were selected and randomly divided into 6 groups with 6 replicates in each group and 10 geese in each replicate. Geese in group I (control group) were fed a basal diet (vitamin K₃ content was 1.23 mg/kg); and the others in groups II to VI were fed the basal diets supplemented with 1, 2, 4, 8 and 16 mg/kg vitamin K₃, respectively. In 5 to 16 weeks of age stage, a total of 288 twenty-eight-day-old *Wulong* geese were selected and randomly divided into 6 groups with 6 replicates in each group and 8 geese in each replicate. Geese in group I (control group) were fed a basal diet (vitamin K₃ content was 1.18 mg/kg); and the others in groups II to VI were fed the basal diets supplemented with 2, 4, 8, 16 and 32 mg/kg vitamin K₃, respectively. The experiment lasted for 16 weeks. The results showed as follows: 1) compared with the control group, in 1 to 4 weeks of age stage, dietary supplemented with 4 mg/kg vitamin K₃ significantly increased the crude ash content, bone mineral density, bone strength and bone weight in tibia ($P < 0.05$), and significantly increased the contents of calcium and phosphorus in tibia ($P < 0.01$); in 5 to 16 weeks of age stage, dietary supplemented with 8 mg/kg vitamin K₃ significantly increased the crude ash, calcium and phosphorus contents and bone mineral density, bone strength in tibia ($P < 0.01$), and the bone trabecula and osteoblast developed better. 2) Dietary supplemented with vitamin K₃ had no significant effects on the thymus index, spleen index and bursa of Fabricius index ($P > 0.05$). 3) Compared with the control group, in 1 to 4 weeks of age stage, dietary supplemented with 4 mg/kg vitamin K₃ significantly increased the serum total superoxide dismutase (T-SOD) activity, significantly decreased the serum malondialdehyde (MDA) content ($P < 0.05$), and significantly increased the serum total antioxidant capacity (T-AOC) ($P < 0.01$); in 5 to 16 weeks of age stage, dietary supplemented with 8 mg/kg vitamin K₃ significantly increased the serum T-SOD and catalase (CAT) activities, significantly decreased the serum MDA content ($P < 0.05$), and significantly increased the serum T-AOC ($P < 0.01$). In conclusion, the supplementation of 4 and 8 mg/kg vitamin K₃ in the diet of *Wulong* geese during 1 to 4 weeks of age and 5 to 16 weeks of age can increase the crude ash, calcium and phosphorus contents and bone mineral density, bone strength of tibia, and improve the development of tibia. It also can increase the T-SOD activity and T-AOC in serum, reduce the serum MDA content, and improve the antioxidant capacity of *Wulong* geese. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(6):2642-2650]

Key words: vitamin K₃; *Wulong* geese; tibia development; immune organ index; antioxidant capacity

* Corresponding author, professor, E-mail: wlli@qau.edu.cn