

# 饲养密度和硫辛酸对肉鸡血清指标、行为及骨骼发育的影响

李文嘉 徐彬\* 马慧慧 魏凤仙 王琳焱 付趁 王改利 孙全友 李绍钰\*\*

(河南省农业科学院畜牧兽医研究所,郑州 450002)

**摘要:** 本试验旨在研究高饲养密度条件下饲料中添加硫辛酸(LA)对肉鸡血清指标、行为及骨骼发育的影响。试验选取健康状况良好、体重相近的1530只21日龄爱拔益加(AA)肉鸡,随机分成3组,即常规饲养密度组(ND组,15只/m<sup>2</sup>,饲喂基础饲料)、高饲养密度组(HD组,18只/m<sup>2</sup>,饲喂基础饲料)和高饲养密度+LA组(HD+LA组,18只/m<sup>2</sup>,在基础饲料中添加300 mg/kg LA),每组6个重复。试验期为3周。结果表明:1)与ND组相比,HD组肉鸡血清钙含量和碱性磷酸酶(ALP)活性显著下降( $P<0.05$ ),血清皮质酮(CORT)含量以及还原型辅酶Ⅱ氧化酶(NOX)和髓过氧化物酶(MPO)活性显著上升( $P<0.05$ )。2)与ND组相比,HD组肉鸡行走、梳翅、采食频次与时间占比显著降低( $P<0.05$ ),而饮水频次以及饮水和趴卧时间占比显著升高( $P<0.05$ )。3)与ND组相比,高饲养密度显著降低肉鸡胫骨与股骨直径、重量、密度、强度以及钙、磷、灰分和矿物盐含量( $P<0.05$ )。4)与HD组相比,HD+LA组肉鸡血清钙含量和ALP活性显著升高( $P<0.05$ ),血清CORT含量以及NOX和MPO活性显著下降( $P<0.05$ );采食频次和时间占比显著增加( $P<0.05$ ),饮水频次和趴卧时间占比显著降低( $P<0.05$ );胫骨质量以及钙、磷含量与股骨密度、强度和钙含量显著上升( $P<0.05$ )。综上所述,高饲养密度致使肉鸡发生氧化应激,改变了肉鸡行为,并使肉鸡骨骼质量下降,而饲料中添加LA能在一定程度上缓解高饲养密度对肉鸡造成的损伤。

**关键词:** 饲养密度;硫辛酸;肉鸡;骨骼发育;行为

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)01-0236-12

近年来,为了追求高生产效率,节约成本,满足市场不同需求,肉鸡生产逐渐呈现出集约化、快速化、高饲养密度的特点。在集约化、规模化养殖模式下,家禽的生存环境恶劣,使其长期处于应激状态,严重破坏了家禽的健康。然而,当今社会,食品安全和肉品质日益受到重视,养殖动物所处的生产过程也受到密切关注。因此,肉鸡养殖业中饲养密度过高给肉鸡健康生产造成的负面影响

亦越来越突显。研究表明,当饲养密度超过30 kg/m<sup>2</sup>时,肉鸡采食减少,同时脚垫损伤和皮肤擦伤的发生率增加<sup>[1]</sup>。当饲养密度超过35 kg/m<sup>2</sup>(0.052 m<sup>2</sup>/只)时,肉鸡体重显著下降<sup>[2]</sup>,Ericsson等<sup>[3]</sup>认为其原因是密度过大影响肉鸡采食,导致营养素摄入不足所致。在前期研究中我们也发现,当饲养密度达到0.056 m<sup>2</sup>/只(18只/m<sup>2</sup>)时,肉鸡生长、饲料效率以及免疫性能均显著低于常

收稿日期:2020-06-18

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0500509);河南省农业科学院优秀青年科技基金项目(2020YQ27);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-41);河南省农业科学院自主创新项目(2020ZC39)

作者简介:李文嘉(1987—),男,湖北襄阳人,助理研究员,博士,从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: liwenjia\_2008@163.com

\* 同等贡献作者

\*\* 通信作者:李绍钰,研究员,硕士生导师,E-mail: lisy9617@aliyun.com

规饲养密度组(15只/m<sup>2</sup>)<sup>[4]</sup>。田允波<sup>[5]</sup>研究发现,饲养密度过大不利于肉鸡体热的散发,且高饲养密度条件下,鸡群在夏季和秋季猝死率显著升高<sup>[6]</sup>。与此同时,饲养密度可直接影响鸡只的活动空间,而肉鸡的行为与其活动空间大小密切相关。

Van Reenen 等<sup>[7]</sup>研究指出动物行为可反映出其生存环境的舒适程度。当动物机体处于舒适的环境中,会表现出正常的生理行为,当所处环境福利变差,动物则会出现异常行为。因此,肉鸡的行为是评价肉鸡健康和福利状态的可靠指标。在企业生产过程中,往往采用高密度、集约化的生产方式,通过把养殖动物限制起来,长时间进行采食行为,导致生存环境恶劣,正常遗传行为得不到满足,生理应激压力随之而生,就会表现出行为异常。随着饲养密度的增加,肉鸡的运动越来越少,很少进行抓、刨和走动、打闹等活动。因此,我们推测,高饲养密度会影响肉鸡的正常行为,从而引发其腿部疾病,甚至会导致骨骼发育畸形。

$\alpha$ -硫辛酸(alpha-lipoic acid, LA)是一种良好的抗氧化剂,其主要功能是作为线粒体中氧化磷酸化过程中多酶复合物的辅因子,在机体线粒体能量代谢中起着重要作用<sup>[8]</sup>。同时,LA可以与活性氧结合达到淬灭自由基的效果,也可以与金属离子进行螯合,阻止体内自由基的形成<sup>[9]</sup>,还可以使得一些内源性抗氧化剂(维生素C、维生素E、谷胱甘肽等)再生<sup>[10]</sup>。但是,有关LA对于肉鸡饲养密度和骨骼发育方面作用的研究较少。因此,本试验拟设定不同的饲养密度,并在高饲养密度条件下补饲LA,通过对肉鸡生理应激、行为学和骨骼发育等指标进行分析,探讨饲养密度和LA对肉鸡生理应激、行为和骨骼发育的影响,为确定集约化肉鸡饲养密度提供理论依据,为肉鸡实现健康养殖的可持续发展提供保障。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

试验选取1日龄爱拔益加(AA)肉仔鸡3000只,由开封禾丰牧业有限公司提供,按养殖流程正常投喂饲养。并于21日龄时从中挑取健康状况良好、体重相近的肉仔鸡1530只,随机分成3个组,对照组为常规饲养密度组(ND组,15只/m<sup>2</sup>,饲喂基础饲料),试验组为高饲养密度

组(HD组,18只/m<sup>2</sup>,饲喂基础饲料)和高饲养密度+LA组(HD+LA组,18只/m<sup>2</sup>,在基础饲料中添加300 mg/kg LA),每组6个重复,ND、HD和HD+LA组每个重复肉仔鸡数目分别为75、90和90只,试验期为3周。采用网上平养方式,以重复为单位养殖在长2.46 m、宽2.02 m、高0.60 m的养殖笼内,各重复之间用塑料网隔开。

基础饲料采用玉米-豆粕型饲料,参照我国《鸡饲养标准》(NY/T 33—2004)肉仔鸡营养需求配制,其组成及营养水平见表1。饲养试验在河南农科院尉氏养殖基地进行。

### 1.2 饲养管理

养殖试验采用网上平养,舍饲颗粒料的方式进行。试验期间肉仔鸡自由采食、饮水,采用23 h人工光照、1 h黑暗处理。按照正常商业饲养管理方式进行常规免疫,保持鸡舍良好通风,试验过程中每天观察试验鸡只状况,记录鸡群生长和死亡情况,一旦发现有死亡鸡只,及时处理并补充体重相近的肉鸡。

表1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

项目 Items	日龄 Days of age	
	1~21	22~42
原料 Ingredients		
玉米 Corn	57.30	61.60
豆粕 Soybean meal	37.80	33.50
豆油 Soybean oil	1.90	2.50
食盐 NaCl	0.30	0.30
石粉 Limestone	1.65	1.29
氯化胆碱 Choline chloride	0.10	0.10
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.44	0.35
维生素预混料 Vitamin premix <sup>1)</sup>	0.02	0.02
微量元素预混料 Trace-mineral premix <sup>2)</sup>	0.20	0.20
L-赖氨酸 L-Lys	0.08	0.02
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.19	0.10
植酸酶 Phytase	0.02	0.02
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>3)</sup>		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.57	12.99
粗蛋白质 CP	21.50	20.05
钙 Ca	1.02	0.91
总磷 TP	0.65	0.56

续表 1

项目 Items	日龄 Days of age	
	1~21	22~42
有效磷 AP	0.46	0.41
赖氨酸 Lys	1.15	1.00
蛋氨酸 Met	0.52	0.42
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.85	0.77
苏氨酸 Thr	0.88	0.81
色氨酸 Try	0.29	0.27

1) 维生素预混料为每千克饲料提供 Vitamin premix provided the following per kilogram of diets: VA 12 000 IU, VD<sub>3</sub> 2 000 IU, VE 20.75 mg, VK<sub>3</sub> 2.65 mg, VB<sub>1</sub> 2 mg, VB<sub>2</sub> 5 mg, VB<sub>6</sub> 2 mg, VB<sub>12</sub> 0.025 mg, 生物素 biotin 0.032 5 mg, 叶酸 folic acid 1.25 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 12 mg, 烟酸 niacin 50 mg。

2) 微量元素预混料为每千克饲料提供 Trace-mineral premix provided the following per kilogram of diets: Mn 100 mg, I 0.35 mg, Se 0.15 mg, Zn 75 mg, Cu 8 mg, Fe 80 mg, Co 0.2 mg。

3) 代谢能为计算值,其余为实测值。ME was a calculated value, while the others were measured values.

### 1.3 测定指标与方法

#### 1.3.1 血清钙、磷含量及应激指标测定

于 42 日龄禁食 12 h 后,每各重复随机取 2 只鸡,采用翅静脉采血,3 000 r/min 离心 15 min,制

备血清,分装后于 -80 °C 中保存。测定血清中钙、磷、甲状旁腺素 (parathyroid hormone, PTH) 和皮质酮 (corticosterone, CORT) 含量以及碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、还原型辅酶 II 氧化酶 (NADPH-oxidase, NOX)、黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO)、单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 活性。上述指标均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定,测定步骤严格按照说明书进行。

#### 1.3.2 行为学指标测定

采用目标取样法<sup>[11]</sup>,每个重复随机用生物染料标记 4 只目标鸡,于试验最后 3 d 使用摄像机对目标鸡只连续拍摄 4 h。将储存视频用行为观察分析系统 (Observer XT, Noldus, 荷兰) 对目标鸡的活动行为 (采食、饮水、站立、走动等) 和休息行为 (休息、趴卧、伸展等) 主要行为进行分析,统计每只目标鸡各行为发生的频次和比例。数据记录整个过程中仅 1 人观察,每次观察各组中的 1 个重复,统计完后再进行下一个重复。行为频次定义为单位时间内所发生该行为的次数。行为时间占比定义为该行为发生时间占总行为发生时间的百分比。参照厉秀梅等<sup>[12]</sup>和朱晓彤等<sup>[13]</sup>的报道将肉鸡行为类别进行分类和定义,具体见表 2。

表 2 肉鸡行为类别及其定义

Table 2 Behavior of categories and their definition of broilers

行为分类 Behavior of categories	行为定义 Behavior of definition
采食 Feeding	位于喂料器旁边,从饲槽上采食饲料
饮水 Drinking	用喙啄饮水嘴
站立 Standing	双腿站立,并保持直立状态,没有表现出定义中的其他行为
梳翅 Combing	将喙放在羽翅上梳理羽毛的动作,且没有表现出定义中的其他行为
伸展 Stretching	身体同一面的 1 只翅膀伸展 (半展) 和 1 条腿伸出不动
走动 Walking	非斗争性的以正常的运步姿势行走或奔跑,且没有表现出定义中的其他行为
趴卧 Lying	胸部着地,且颈部伏在网底不动或头斜向伸长且嘴半开,没有表现出定义中的其他行为

#### 1.3.3 骨骼发育指标测定

将 42 日龄采集静脉血后的鸡只屠宰,取左侧胫骨、股骨,测定质量、长度、直径、密度、强度以及矿物盐、钙、磷、灰分含量,并计算骨体比 (bone weight rate, BWR)。小心剔除骨上的软骨、脂肪、肌肉组织等附着物,测定胫骨鲜重,计算骨体比。用游标卡尺测量长度和直径。采用灰化法 (GB/T 6438—2007) 测定骨灰分含量,乙二胺四乙酸二钠络合滴定法 (GB/T 6436—2002) 测定骨钙含量,

分光光度法 (GB/T 6437—2002) 测定骨磷含量。采用三点弯曲试验 (TMS-Pro, Food Texture Analyzer, FTC, 美国) 检测骨强度。骨密度和矿物盐含量采用定量计算机断层扫描仪 (Model 922010, Norland Medical Systems Inc., 美国) 测定。

### 1.4 数据统计与分析

试验数据采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 组间存在显著差异时,再进行 Duncan 氏法进行多重比较,以  $P < 0.05$

作为检验各项数据显著性的标准。数据以“平均值±标准误”的形式表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 饲养密度和 LA 对肉鸡血清钙、磷含量和应激指标的影响

由表 3 可知,各组间血清磷、PTH 含量以及 XO 和 MAO 活性差异不显著( $P>0.05$ )。HD 组血

清钙含量和 ALP 活性与 ND 组相比显著下降( $P<0.05$ ),而 HD+LA 组血清钙含量和 ALP 活性与 HD 组相比显著上升( $P<0.05$ )。HD 组血清 CORT 含量以及 NOX 和 MPO 活性显著高于 ND 组( $P<0.05$ )。与 HD 组相比,HD+LA 组血清 CORT 含量以及 NOX 和 MPO 活性显著降低( $P<0.05$ ),血清 XO 和 MAO 活性虽有下降的趋势,但差异不显著( $P>0.05$ )。

表 3 饲养密度和 LA 对肉鸡血清钙、磷含量及应激指标的影响

Table 3 Effects of stocking density and LA on serum Ca and P contents and stress indexes of broilers

项目 Items	组别 Groups		
	ND	HD	HD+LA
钙 Ca/(mmol/L)	3.31±0.21 <sup>b</sup>	2.97±0.14 <sup>a</sup>	3.40±0.19 <sup>b</sup>
磷 P/(mmol/L)	2.40±0.08	2.29±0.11	2.33±0.06
碱性磷酸酶 ALP/(U/L)	201.03±6.12 <sup>b</sup>	173.10±4.64 <sup>a</sup>	192.81±3.14 <sup>b</sup>
甲状旁腺激素 PTH/(ng/mL)	81.51±3.06	78.44±3.47	79.88±2.52
皮质酮 CORT/(ng/mL)	2.46±0.13 <sup>a</sup>	3.39±0.19 <sup>b</sup>	2.79±0.08 <sup>a</sup>
还原型辅酶 II 氧化酶 NOX/[U/(min·mL)]	0.55±0.02 <sup>a</sup>	0.84±0.04 <sup>b</sup>	0.64±0.01 <sup>a</sup>
髓过氧化物酶 MPO/(U/mL)	0.33±0.02 <sup>a</sup>	0.45±0.04 <sup>b</sup>	0.38±0.02 <sup>a</sup>
黄嘌呤氧化酶 XO/(U/mL)	14.15±0.82	14.89±0.86	14.43±0.21
单胺氧化酶 MAO/(U/mL)	2.31±0.11	2.40±0.31	2.38±0.17

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

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

### 2.2 饲养密度和 LA 对肉鸡行为的影响

由表 4 可知,各组间站立和伸展频次差异不显著( $P>0.05$ )。相较于 ND 组,HD 组的行走、梳翅、采食频次显著降低( $P<0.05$ ),而饮水频次显著

升高( $P<0.05$ )。与 HD 组相比,HD+LA 组采食频次显著升高( $P<0.05$ ),饮水频次显著降低( $P<0.05$ ),梳翅频次有所上升,但差异不显著( $P>0.05$ )。

表 4 饲养密度和 LA 对肉鸡行为频次的影响

Table 4 Effects of stocking density and LA on behavior frequency of broilers

项目 Items	组别 Groups		
	ND	HD	HD+LA
站立 Standing	4.79±0.38	5.06±0.21	4.87±0.46
伸展 Stretching	1.97±0.09	1.88±0.19	1.92±0.27
行走 Walking	7.17±0.96 <sup>b</sup>	6.15±0.31 <sup>a</sup>	6.31±0.57 <sup>a</sup>
梳翅 Combing	4.55±0.22 <sup>b</sup>	3.31±0.78 <sup>a</sup>	3.98±0.45 <sup>ab</sup>
采食 Feeding	7.26±0.58 <sup>b</sup>	5.67±0.84 <sup>a</sup>	6.99±0.59 <sup>b</sup>
饮水 Drinking	5.42±0.41 <sup>a</sup>	7.74±0.50 <sup>b</sup>	5.91±0.63 <sup>a</sup>

由表 5 可知,各组间站立和伸展时间占比差异不显著( $P>0.05$ )。相较于 ND 组,HD 组行走、梳翅、采食时间占比显著降低( $P<0.05$ ),而饮水和趴卧时间占比显著升高( $P<0.05$ )。与 HD 组相

比,HD+LA 组采食时间占比显著升高( $P<0.05$ ),趴卧时间占比显著下降( $P<0.05$ ),行走、梳翅和饮水时间占比也有所改变,但差异不显著( $P>0.05$ )。

表 5 饲养密度和 LA 对肉鸡行为时间占比的影响

Table 5 Effects of stocking density and LA on behavior time proportion of broilers

项目 Items	组别 Groups		
	ND	HD	HD+LA
站立 Standing	25.69±1.02	24.89±1.23	25.07±1.62
伸展 Stretching	0.45±0.04	0.39±0.03	0.41±0.01
行走 Walking	5.97±0.74 <sup>b</sup>	4.11±0.62 <sup>a</sup>	5.25±0.44 <sup>ab</sup>
梳翅 Combing	0.83±0.07 <sup>b</sup>	0.61±0.02 <sup>a</sup>	0.70±0.04 <sup>a</sup>
采食 Feeding	23.49±1.22 <sup>b</sup>	20.52±0.69 <sup>a</sup>	22.55±0.88 <sup>b</sup>
饮水 Drinking	5.17±0.33 <sup>a</sup>	6.82±0.25 <sup>b</sup>	6.31±0.48 <sup>b</sup>
趴卧 Resting	40.58±1.09 <sup>a</sup>	43.66±0.78 <sup>b</sup>	41.41±1.01 <sup>a</sup>

### 2.3 饲养密度和 LA 对肉鸡骨骼发育的影响

由表 6 可知,与 ND 组相比,HD 组胫骨直径、质量、骨体比、密度、强度以及钙、磷、灰分和矿物质含量均显著降低( $P<0.05$ ),仅胫骨长度无显著

变化( $P>0.05$ )。与 HD 组相比,HD+LA 组胫骨质量以及钙、磷含量显著升高( $P<0.05$ ),胫骨密度、骨体比以及矿物质和灰分含量有上升趋势,但差异不显著( $P>0.05$ )。

表 6 饲养密度和 LA 对肉鸡胫骨发育指标的影响

Table 6 Effects of stocking density and LA on tibia development indexes of broilers

项目 Items	组别 Groups		
	ND	HD	HD+LA
钙含量 Ca content/%	17.58±0.61 <sup>b</sup>	16.03±0.41 <sup>a</sup>	17.37±0.60 <sup>b</sup>
磷含量 P content/%	7.42±0.14 <sup>b</sup>	6.73±0.09 <sup>a</sup>	7.19±0.13 <sup>b</sup>
灰分 Ash content/%	47.56±1.45 <sup>b</sup>	45.71±0.82 <sup>a</sup>	47.19±1.29 <sup>ab</sup>
长度 Length/mm	97.24±2.11	96.55±1.47	96.29±2.08
直径 Diameter/mm	9.17±0.21 <sup>b</sup>	8.46±0.12 <sup>a</sup>	8.37±0.09 <sup>a</sup>
质量 Weight/g	12.88±1.23 <sup>b</sup>	11.39±1.57 <sup>a</sup>	12.64±1.02 <sup>b</sup>
骨体比 BWR/(g/kg)	4.99±0.11 <sup>b</sup>	4.75±0.22 <sup>a</sup>	4.89±0.13 <sup>ab</sup>
密度 Density/(g/cm <sup>2</sup> )	0.21±0.01 <sup>b</sup>	0.15±0.00 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>
矿物质含量 Mineral content/(g/cm)	1.89±0.17 <sup>b</sup>	1.51±0.10 <sup>a</sup>	1.74±0.09 <sup>ab</sup>
强度 Strength/N	434.36±13.89 <sup>b</sup>	388.75±9.77 <sup>a</sup>	401.13±7.34 <sup>a</sup>

由表 7 可知,与 ND 组相比,HD 组股骨直径、质量、密度、强度以及钙、灰分和矿物质含量显著降低( $P<0.05$ ),股骨磷含量、长度和骨体比无显著变化( $P>0.05$ )。与 HD 组相比,HD+LA 组股骨密度、强度和钙含量显著升高( $P<0.05$ ),股骨直径、质量以及灰分和矿物质含量有上升趋势,但差异不显著( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 饲养密度和 LA 对肉鸡血清指标的影响

饲养密度一直是畜牧业关注的焦点。企业为了追求高生产效率和经济效益,迫使肉鸡饲养密

度越来越高。纵然高密度饲养提高了肉鸡的产量,但对鸡肉品质、疾病发生率等方面造成了许多负面效应,影响了鸡群健康,导致经济效益下降。在本实验室前期研究中显示,高饲养密度会导致肉鸡生长性能下降,这可能是由于室内养殖环境易受集约化养殖程度的影响,高密度饲养会限制空气流通,增加空气中氨的浓度,降低肉鸡体热的正常散失<sup>[4]</sup>。此外,研究还发现高饲养密度组肉鸡平均日摄食率也显著下降<sup>[4]</sup>,并推测相较于低饲养密度,在高饲养密度下生长的肉鸡更容易出现相互推搡和腿疾,导致肉鸡移动困难,摄食率降低<sup>[14]</sup>。

表 7 饲养密度和 LA 对肉鸡股骨发育指标的影响

Table 7 Effects of stocking density and LA on thighbone development indexes of broilers

项目 Items	组别 Groups		
	ND	HD	HD+LA
钙含量 Ca content/%	15.68±0.32 <sup>b</sup>	14.84±0.14 <sup>a</sup>	15.45±0.22 <sup>b</sup>
磷含量 P content/%	7.07±0.14	7.12±0.09	7.11±0.13
灰分 Ash content/%	46.87±0.78 <sup>b</sup>	44.49±0.63 <sup>a</sup>	45.92±0.35 <sup>ab</sup>
长度 Length/mm	72.66±1.02	72.58±2.17	71.67±1.34
直径 Diameter/mm	10.72±0.16 <sup>b</sup>	9.75±0.27 <sup>a</sup>	10.06±0.26 <sup>a</sup>
质量 Weight/g	10.37±0.87 <sup>b</sup>	9.31±0.55 <sup>a</sup>	9.71±0.29 <sup>ab</sup>
骨体比 BWR/(g/kg)	3.99±0.10	3.89±0.14	3.85±0.07
密度 Density/(g/cm <sup>2</sup> )	0.15±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.14±0.02 <sup>b</sup>
矿物盐含量 Mineral content/(g/cm)	1.20±0.08 <sup>b</sup>	0.81±0.10 <sup>a</sup>	0.93±0.04 <sup>a</sup>
强度 Strength/N	343.44±20.05 <sup>b</sup>	307.28±18.81 <sup>a</sup>	338.19±25.49 <sup>b</sup>

本研究中,与常规饲养密度相比,高饲养密度显著降低了血清钙含量。在孙庆雨等<sup>[15]</sup>对鹌鹑的研究中也得出相似的结果,即高饲养密度会使血清钙含量显著下降,并指出其原因可能是高饲养密度组鹌鹑采食量显著下降,导致其钙摄入量减少所致,这与本实验室前期研究结果<sup>[4]</sup>相一致。此外,Özbeý等<sup>[16]</sup>对欧洲石鸡(*Alectoris graeca*)的研究中也发现饲养密度对血清钙含量有显著影响。这可能是由于在高饲养密度条件下,肉鸡相互挤压,个体所占空间相对缩小,不利于散热,导致肉鸡呼吸频率增加,排出较多的二氧化碳(CO<sub>2</sub>),使血液中碳酸氢根离子(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)浓度下降,血液pH升高,以致其血清钙含量下降。姜金庆等<sup>[17]</sup>和Van Goor等<sup>[18]</sup>研究指出,肉鸡急性热应激条件下,血液HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度显著降低。李香<sup>[19]</sup>研究发现,在热应激时,肉鸡易发生热喘息,肺通气和CO<sub>2</sub>排出量增多,血液中HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度显著降低,血液pH升高,严重时出现呼吸性碱中毒。在本试验还发现各组血清磷含量无显著差异,这可能是由于血液中钙和磷的存在形式不一样,血液中的钙主要以蛋白结合钙、复合钙和离子钙3种形式存在,而血液中的磷大部分以无机盐的形式存在,因此受血液pH变化的影响不大。

众所周知,ALP是成骨细胞成熟的标志酶,是骨形成过程中必要的催化剂,在骨骼钙化和形成过程中起关键作用<sup>[20]</sup>。本试验发现,与常规饲养密度相比,高饲养密度显著降低了血清ALP活性,推测肉鸡在高饲养密度条件下,相对活动空间狭小、活动受限等因素促使肉鸡发生应激,这可能导

致其成骨细胞的活性比例下降,进而影响了骨骼的钙磷代谢及发育<sup>[21]</sup>。这与表3中血清钙含量以及表8中股骨矿物盐、钙、磷、灰分含量在HD组显著下降相吻合。然而,目前有关饲养密度对家禽血清ALP活性影响的研究较少,确切的影响及其机制有待于进一步研究。

在本实验室前期的研究中,我们发现高饲养密度对肉鸡血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性以及丙二醛(MDA)含量有显著影响<sup>[4]</sup>。在本试验中,随着饲养密度的增加,血清CORT含量呈现升高趋势,这可能是由于高饲养密度会加剧热应激(尤其在夏季)的影响,抑制肉鸡蒸发散热,应激强度增强,从而导致血清中CORT含量升高,这与本实验室之前的研究结论相符合。袁建敏<sup>[22]</sup>指出,CORT是应激敏感指标,提高饲养密度容易引起肉鸡发生应激,引起CORT等血液指标的改变。然而,秦鑫等<sup>[23]</sup>研究指出,饲养密度对肉鸡血清CORT含量没有显著影响。造成这种差异的原因可能是由于秦鑫等<sup>[23]</sup>研究中所设定的饲养密度(10、14只/m<sup>2</sup>)较低所致。由本试验数据可知,HD+LA组血清CORT含量相较于HD组显著降低,这说明在肉鸡饲料中添加LA可以在一定程度上缓解由于饲养密度过高引发的应激反应。

MPO在动物体内可利用过氧化氢和氯离子,产生次氯酸<sup>[24]</sup>,在细胞内炎症反应和氧化应激中起到决定性作用<sup>[25]</sup>。本试验结果发现,HD组血清MPO活性显著高于ND组和HD+LA组,这说明高饲养密度会使肉鸡发生氧化应激,进而使血

清 MPO 活性升高。同时,有研究指出,当 MPO 与未激活的 MPO 集合到甘露糖受体上,使受体与配体之间相互作用,启动呼吸爆发,可加快氧气消耗速度,同时激活膜结合的 NOX<sup>[26]</sup>。这也与本试验中血清 NOX 活性在 HD 组较高的结果相一致。因此,推测 LA 可通过提高抗氧化性能和抑制氧化性能维持氧化还原状态的稳定,减轻由高饲养密度所造成的氧化应激,进而抑制体内 MPO 活性的升高。

### 3.2 饲养密度和 LA 对肉鸡行为的影响

动物的行为是由先天遗传和后天环境影响复合所形成的,是动物个体与其所处的有机或无机环境维持动态平衡所必需的手段<sup>[27]</sup>。集约化高密度生产过程中把动物限制在一个较小的活动范围内,生存环境比较恶劣,正常行为得不到满足,这种限制动物表达自身天性自由的外界环境刺激会导致其表现出异常行为,影响畜禽体质健康。许多研究指出,行为学是判断畜禽疾病发生与否的可靠标准<sup>[6,28-29]</sup>。因此,肉鸡行为的变化是评价肉鸡健康和福利状态的有效指标<sup>[30]</sup>。本试验研究结果显示,相较于常规饲养密度,高饲养密度条件下肉鸡的行走、梳翅、采食频次和时间占比显著降低。这可能是由于肉鸡在高饲养密度条件下活动空间受限,福利水平降低,其行走和梳翅行为受到明显的空间限制所致。张增玉等<sup>[31]</sup>在对不同饲养密度条件下肉鸡行为的研究中发现,随着饲养密度的增加,肉鸡的运动越来越少,很少进行抓、走动、打扮等活动。Buijs 等<sup>[32]</sup>研究指出,增加饲养密度会提高鸡群的恐惧性,导致其活动频率和频次降低。也有研究发现,增加饲养密度会影响肉鸡羽毛梳理,造成羽毛评分变差<sup>[33]</sup>。此外,Ventura 等<sup>[34]</sup>和 Simitzis 等<sup>[35]</sup>研究发现,饲养密度的增加会导致鸡群采食行为下降,降低栖息性,提高蹲卧活动,这与本试验中高饲养密度使得肉鸡采食频次显著下降以及趴卧时间占比显著上升的结果相一致。

许多研究指出,高饲养密度不利于肉鸡体热的散发,且饲养密度为 18 只/m<sup>2</sup> 时,鸡群在夏秋季猝死率显著升高<sup>[5-6]</sup>。这可能是由于高饲养密度环境下诱发肉鸡偏热应激,肉鸡可能采取减少采食和活动来降低自身代谢,并通过增加饮水来缓解高饲养密度带来的应激,这与本试验中高饲养密度环境下肉鸡饮水频次和时间占比显著升高的

结果相吻合。Mack 等<sup>[36]</sup>和胡春红等<sup>[37]</sup>分别对蛋鸡和肉鸡进行研究发现,偏热环境导致蛋鸡、肉鸡俯卧休息时间显著增多。

本试验结果显示,高饲养密度条件下,饲料中添加 LA 对肉鸡行走、采食、饮水、梳翅和趴卧等行为有不同程度的改善。然而,就目前研究现状来看,有关 LA 对肉鸡行为福利方面影响的研究比较罕见。在本实验室前期的研究中发现高饲养密度会增加肉鸡的热应激,造成其生长、免疫及抗氧化性能下降<sup>[4]</sup>,而 LA 的添加可以提高肉鸡机体的抗氧化机能,降低体内自由基对细胞膜的损伤,维持细胞膜功能,进而缓解高温造成的应激<sup>[38]</sup>。因此,在饲料中添加 LA 可有效降低高饲养密度介导的热应激,对肉鸡的行为福利也有一定程度的改善作用。

### 3.3 饲养密度和 LA 对肉鸡骨骼发育的影响

骨的密度、质量、强度以及灰分和钙、磷含量等是评价肉鸡骨骼发育及其强度变化的重要指标<sup>[21]</sup>。倪可德<sup>[39]</sup>指出,骨重占体重的相对比例(骨体比)是反映幼禽钙、磷需要的敏感指标,是反映骨骼发育状况的指标之一,其比例高,说明钙、磷的需求满足程度高,骨骼的发育较好。本试验结果显示,高饲养密度对肉鸡骨骼(胫骨和股骨)质量、密度、骨体比、以及钙、磷、灰分、矿物质含量等指标均有不同程度的负面影响。有文献指出,在高饲养密度条件下,家禽腿部健康易受影响<sup>[40]</sup>,胫骨软骨发育不良情况发生率随饲养密度的增加而增大<sup>[41]</sup>。Sun 等<sup>[42]</sup>和张璐爽等<sup>[43]</sup>分别对肉鸡和北京鸭进行了研究,结果显示,高饲养密度会导致胫骨灰分、钙、磷含量降低;厉秀梅等<sup>[12]</sup>对肉鸡的研究发现,高饲养密度组(18.75 只/m<sup>2</sup>)的胫骨长度和质量显著低于中、常规饲养密度组。本试验结果与以上研究结果相符合。

Hall<sup>[44]</sup>研究指出,饲养密度的增加会对肉鸡骨骼生长产生不利影响,使其活动减少,从而导致腿疾。腿部异常也会反过来影响鸡的运动能力,有腿病的鸡将会花费更多的时间爬卧和睡觉<sup>[45]</sup>,这也与本试验在肉鸡行为学上的研究结果相一致。造成以上现象的原因可能是,家禽在较高的饲养密度条件下缺乏适当的活动量<sup>[46]</sup>,跑动、抓刨和伸、梳翅等行为减少,而家禽活动量被认定是引起腿病的因素之一<sup>[47]</sup>。Škrbić 等<sup>[48]</sup>发现,增加家禽的地面活动空间会影响其身体活动,对骨,特别

是对腿骨的发育和硬度都有提高,并认为家禽的活动影响了骨皮质层的横截面,提高了骨的机械特性,使得长骨骨骺端血液供应更加充足,矿化更加完全。以上研究结论表明,饲养密度与肉鸡骨骼发育和腿病之间存在着密切联系。

由前文可知,随着饲养密度的增加,肉鸡体内氧化应激越发明显。有文献指出,应激过程中产生的自由基会刺激破骨细胞的分化作用,并诱导破骨细胞再次分泌自由基参与骨的再吸收过程,加剧骨基质的降解<sup>[49-50]</sup>;并且,氧化应激还会抑制成骨细胞的分化和增殖,影响骨基质的形成<sup>[51]</sup>,这与本试验中高饲养密度下肉鸡骨骼发育异常的结果相一致。白水莉<sup>[52]</sup>通过试验得出,高饲养密度和环境应激对肉鸡骨骼发育的影响很大,特别是在商业集约化养殖生产中。在本研究中,在高饲养密度肉鸡饲料中添加 LA 有效改善了肉鸡骨骼发育的状况。这可能是由于 LA 是一种抗氧化剂,对肉鸡机体抗应激,特别是自由基的清除起到重要作用,同 LA 在三羧酸循环和三大营养物质代谢中也发挥重要作用,它能够提高骨骼肌细胞对葡萄糖的摄入能力,增强机体细胞内线粒体的生物学功能。有文献指出,LA 能有效改善由氧化应激导致的骨组织内核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 配体受体致活剂 (RANKL) 的激活、护骨素 (OPG) 的抑制以及 NF- $\kappa$ B 和白细胞介素-6 (IL-6) 表达的增高,显著缓解了骨质疏松的程度<sup>[53]</sup>。朱琳玲<sup>[54]</sup>研究发现,LA 的添加可显著恢复由高脂饲料引起的小鼠应激所导致的股骨长度、直径和羟脯氨酸含量异常现象。由此说明,高饲养密度环境应激下肉鸡骨代谢发生紊乱,影响胫骨和股骨的发育,饲料中添加 LA 后能有效改善饲养密度应激对肉鸡造成的损伤。

#### 4 结 论

① 高饲养密度 (18 只/ $m^2$ ) 会促使肉鸡发生慢性应激,导致血清钙、磷含量降低,行为福利以及骨骼质量下降。

② 饲料中添加 LA 可以在一定程度上缓解由于饲养密度过高引发的应激反应,并能有效改善饲养密度应激对肉鸡造成的损伤。

#### 参考文献:

[ 1 ] DOZIER III W A, THAXTON J P, BRANTON S L,

et al. Stocking density effects on growth performance and processing yields of heavy broilers [ J ]. Poultry Science, 2005, 84 ( 8 ) : 1332-1338.

[ 2 ] DOZIER III W A, THAXTON J P, PURSWELL J L, et al. Stocking density effects on male broilers grown to 1.8 kilograms of body weight [ J ]. Poultry Science, 2006, 85 ( 2 ) : 344-351.

[ 3 ] ERICSSON M, FALLAHSHAROUDI A, BERGQUIST J, et al. Domestication effects on behavioural and hormonal responses to acute stress in chickens [ J ]. Physiology & Behavior, 2014, 133: 161-169.

[ 4 ] LI W J, WEI F X, XU B, et al. Effect of stocking density and alpha-lipoic acid on the growth performance, physiological and oxidative stress and immune response of broilers [ J ]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2019, 32 ( 12 ) : 1914-1922.

[ 5 ] 田允波. 减缓肉鸡热应激的措施 [ J ]. 中国家禽, 2000, 22 ( 6 ) : 33-34.

TIAN Y B. Measures to reduce the heat stress of broilers [ J ]. China Poultry, 2000, 22 ( 6 ) : 33-34. ( in Chinese )

[ 6 ] 刘文波. 饲养密度和季节对肉仔鸡猝死综合症发生的影响 [ J ]. 中国家禽, 2002, 24 ( 5 ) : 17.

LIU W B. Effects of feeding density and season on sudden death syndrome in broilers [ J ]. China Poultry, 2002, 24 ( 5 ) : 17. ( in Chinese )

[ 7 ] VAN REENEN C G, O'CONNELL N E, VAN DER WERF J T N, et al. Responses of calves to acute stress: individual consistency and relations between behavioural and physiological measures [ J ]. Physiology & Behavior, 2005, 85 ( 5 ) : 557-570.

[ 8 ] PACKER L, WITT E H, TRITSCHLER H J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant [ J ]. Free Radical Biology and Medicine, 1995, 19 ( 2 ) : 227-250.

[ 9 ] BIEWENGA G P, HAENEN G R M M, BAST A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid [ J ]. General Pharmacology: The Vascular System, 1997, 29 ( 3 ) : 315-331.

[ 10 ] BILSKA A, WŁODEK L. Lipoic acid—the drug of the future [ J ]. Pharmacological Reports, 2005, 57 ( 5 ) : 570-577.

[ 11 ] EKLUND B, JENSEN P. Domestication effects on behavioural synchronization and individual distances in chickens ( *Gallus gallus* ) [ J ]. Behavioural Processes, 2010, 86 ( 2 ) : 250-256.

[ 12 ] 厉秀梅, 高杰, 冯京海, 等. 相对湿度对间歇性偏热环境下肉鸡生长性能、行为及空肠形态结构的影响



- [J]. 动物营养学报, 2017, 29(10): 3506-3513.
- LI X M, GAO J, FENG J H, et al. Effects of relative humidity at intermittent moderate temperature on growth performance, behavior and jejunum morphological structure of broilers[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2017, 29(10): 3506-3513. (in Chinese)
- [13] 朱晓彤, 刘连燕, 王丽娜, 等. 不同降温措施和不同日龄放养模式对黄羽肉鸡行为的影响[J]. 家畜生态学报, 2014, 35(6): 31-37.
- ZHU X D, LIU L Y, WANG L N, et al. Effects of different cooling methods and outdoor stocking age on the behaviors of yellow feather broilers[J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2014, 35(6): 31-37. (in Chinese)
- [14] DAWKINS M S, DONNELLY C A, JONES T A. Chicken welfare is influenced more by housing conditions than by stocking density[J]. Nature, 2004, 427(6972): 342-344.
- [15] 孙庆雨, 杨海明, 肖宇航, 等. 不同饲养密度对鹌鹑生产性能、羽毛评分及血清免疫和生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(5): 2192-2197.
- SUN Q Y, YANG H M, XIAO Y H, et al. Effects of different stocking densities on performance, feather score and serum immune and biochemical indicators of quail[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(5): 2192-2197. (in Chinese)
- [16] ÖZBEY O, ESEN F. The effects of breeding systems and stocking density on some blood parameters of rock partridges (*Alectoris graeca*) [J]. Poultry Science, 2007, 86(2): 420-422.
- [17] 姜金庆, 郭泽坤, 杨雪峰, 等. 电解质平衡值对热应激时肉鸡生产性能和血液生化指标的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(10): 2144-2146.
- JIANG J Q, GUO Z K, YANG X F, et al. Effect of dietary electrolyte balance on growth performance and biochemical indexes of broilers in heat stress[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2006, 34(10): 2144-2146. (in Chinese)
- [18] VAN GOOR A, ASHWELL C M, PERSIA M E, et al. Quantitative trait loci identified for blood chemistry components of an advanced intercross line of chickens under heat stress[J]. BMC Genomics, 2016, 17: 287.
- [19] 李香. 急性偏热环境对肉鸡行为、生理生化指标及 *avUCP* mRNA 表达影响[D]. 硕士学位论文. 邯郸: 河北工程大学, 2017.
- LI X. Effect of acute moderate temperatures on behavior, physiology and biochemical, *avUCP* mRNA expression of broilers[D]. Master's Thesis. Handan: Hebei University of Engineering, 2017. (in Chinese)
- [20] HOWLETT C R, CAVÉ J, WILLIAMSON M, et al. Mineralization in *in vitro* cultures of rabbit marrow stromal cell[J]. Clinical Orthopaedics and Related Research, 1986(213): 251-263.
- [21] 冯永森. 过量维生素 A 对肉仔鸡骨骼钙磷代谢影响及机理的研究[D]. 博士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2007.
- FENG Y M. Effects of excessive vitamin a on calcium and phosphorous metabolism in broilers and underlying mechanisms[D]. Ph.D. Thesis. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- [22] 袁建敏. 肉禽饲养密度应激及营养调控研究进展[J]. 中国家禽, 2017, 39(17): 1-5.
- YUAN J M. Research progress on density stress and nutrition regulation of meat poultry[J]. China Poultry, 2017, 39(17): 1-5. (in Chinese)
- [23] 秦鑫, 卢营杰, 苗志强, 等. 饲养方式和密度对爱拔益加肉鸡生产性能、肉品质及应激的影响[J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(12): 66-74.
- QING X, LU Y J, MIAO Z Q, et al. Effects of rearing system and stocking density on the growth performance, meat quality and stress response of Arbor Acres broilers[J]. Journal of China Agricultural University, 2018, 23(12): 66-74. (in Chinese)
- [24] KOTHARI N, KESHARI R S, BOGRA J, et al. Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis[J]. Journal of Critical Care, 2011, 26(4): 431. e1-435. e7.
- [25] SU H S, NAHRENDORF M, PANIZZI P, et al. Vasculitis: molecular imaging by targeting the inflammatory enzyme myeloperoxidase[J]. Radiology, 2012, 262(1): 181-190.
- [26] 郭志有.  $\alpha$ -硫辛酸对肉鸡抗氧化的影响及其作用机制研究[D]. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2014.
- GUO Z Y. Study on the anti-oxidant capacity of alpha-lipoic acid and the antioxidant mechanism in broilers[D]. Ph.D. Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [27] NEWBERR R C. Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments[J]. Applied Animal Behaviour Science, 1995, 44(2/3/4): 229-243.

- [28] 范石军,韩友文,李德发,等.热应激对产蛋鸡自身及其后代机体组织的过氧化损伤以及抗氧化微营养素的调控效应[J].中国兽医学报,2001,21(2):195-199.  
FAN S J, HAN Y W, LI D F, et al. Regulative effect of adding anti-oxidative micro-nutrients to diets on the peroxidative damages of layers and their offsprings under acute ambient temperature[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2001, 21(2):195-199. (in Chinese)
- [29] IMAEDA N. Influence of the stocking density and rearing season on incidence of sudden death syndrome in broiler chickens [J]. Poultry Science, 2000, 79(2):201-204.
- [30] SHEPHERDSON D J. Tracing the path of environmental enrichment in zoos [M]//SHEPHERDSON D J, MELLEN J D, HUTCHINS M. Environmental enrichment for captive animals. London, UK: Smithsonian Institution Press, 1998:1-12.
- [31] 张增玉,顾宪红,赵恒寿,等.现代肉鸡生产中的福利问题[J].家畜生态学报,2006,27(2):5-12.  
ZHANG Z Y, GU X H, ZHAO H S, et al. Welfare of broiler chicken in modern poultry industry[J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2006, 27(2):5-12. (in Chinese)
- [32] BUIJS S, VAN POUCKE E, VAN DONGEN S, et al. The influence of stocking density on broiler chicken bone quality and fluctuating asymmetry [J]. Poultry Science, 2012, 91(8):1759-1767.
- [33] 饶盛达.不同维生素组合和饲养密度对肉鸡生产性能、健康和肉品质的影响研究[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2015.  
RAO S D. Effects of different vitamin premixes and stocking density on performance, health, and meat quality of broilers [D]. Master's Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [34] VENTURA B A, SIEWERDT F, ESTEVEZ I. Access to barrier perches improves behavior repertoire in broilers[J]. PLoS One, 2012, 7(1):e29826, doi:10.1371/journal.pone.0029826.
- [35] SIMITZIS P E, KALOGERAKI E, GOLIOMYTIS M, et al. Impact of stocking density on broiler growth performance, meat characteristics, behavioural components and indicators of physiological and oxidative stress[J]. British Poultry Science, 2012, 53(6):721-730.
- [36] MACK L A, FELVER-GANT J N, DENNIS R L, et al. Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens[J]. Poultry Science, 2013, 92(2):285-294.
- [37] 胡春红.环境温度对肉鸡生理和行为调节的影响[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2015.  
HU C H. The influence of environment temperature on physiological and behavioral regulation in broilers[J]. Master's Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015. (in Chinese)
- [38] 白兆鹏.硫辛酸对热应激下产蛋鸡生产性能及抗氧化能力的研究[D].硕士学位论文.哈尔滨:东北农业大学,2004.  
BAI Z P. Study of lipoic acid on layers performance and antioxidant function under heat-stress [D]. Master's Thesis. Harbin: Northeast Agricultural University, 2004. (in Chinese)
- [39] 倪可德.动物微量元素营养(一)[J].粮食与饲料工业,1996(2):28-32.  
NI K D. Animal micronutrient nutrition (1)[J]. Cereal and Feed Industry, 1996(2):28-32. (in Chinese)
- [40] KESTIN S C, KNOWLES T G, TINCH A E, et al. Prevalence of leg weakness in broiler chickens and its relationship with genotype [J]. Veterinary Record, 1992, 131(9):190-194.
- [41] SANOTRA G S, LAWSON L G, VESTERGAARD K S, et al. Influence of stocking density on tonic immobility, lameness, and tibial dyschondroplasia in broilers [J]. Journal of Applied Animal Welfare Science, 2001, 4(1):71-87.
- [42] SUN Z W, YAN L, G Y Y, et al. Increasing dietary vitamin D<sub>3</sub> improves the walking ability and welfare status of broiler chickens reared at high stocking densities [J]. Poultry Science, 2013, 92(12):3071-3079.
- [43] 张璐爽,张亚茹,刘洋,等.网上饲养密度对北京鸭免疫功能和氧化应激水平的影响[J].中国家禽,2015,37(12):31-34.  
ZHANG L S, ZHANG Y G, LIU Y, et al. Effects of stocking density on immune function and oxidative stress level of pekin ducks reared on plastic wire-floor [J]. China Poultry, 2015, 37(12):31-34. (in Chinese)
- [44] HALL A L. The effect of stocking density on the welfare and behaviour of broiler chickens reared commercially[J]. Animal Welfare, 2001, 10(1):23-40.
- [45] VESTERGAARD S, SANOTRA G S. Relationships between leg disorders and changes in the behaviour of broiler chickens [J]. Veterinary Record, 1999, 144(8):205-209.

- [46] ESTEVEZ I, NEWBERRY R C, DE RAYNA L A. Broiler chickens: a tolerant social system? [J]. *Etología*, 1997, 5(2): 19-29.
- [47] NEWBERRY R C, HUNT J R, GARDINER E E. Influence of light intensity on behavior and performance of broiler chickens [J]. *Poultry Science*, 1988, 67(7): 1020-1025.
- [48] ŠKRBIĆ Z, PAVLOVSKI Z, LUKIĆ M. Stocking density: factor of production performance, quality and broiler welfare [J]. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2009, 25(5/6): 359-372.
- [49] MODY N, PARHAMI F, SARAFIAN T A, et al. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, 31(4): 509-519.
- [50] BLAIR H C, SCHLESINGER P H, ROSS F P, et al. Recent advances toward understanding osteoclast physiology [J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1993(294): 7-22.
- [51] LEAN J M, JAGGER C J, KIRSTEIN B, et al. Hydrogen peroxide is essential for estrogen-deficiency bone loss and osteoclast formation [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(2): 728-735.
- [52] 白水莉. 饲养密度和环境富集材料对肉鸡福利状况、生产性能和肉品质的影响 [D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2009.
- BAI S L. Effect of Stocking density and environmental enrichment materials on the welfare level, production performance and meat quality in broiler [D]. Master's Thesis. Yangzhou: Yangzhou University, 2009. (in Chinese)
- [53] 蔡吓明. 氧化应激在糖尿病鼠高血糖所致骨质疏松发病中的作用 [D]. 硕士学位论文. 福州: 福建医科大学, 2010.
- CAI X M. The effect of oxidative stress in causing the osteoporosis of the mouses with diabetes [D]. Master's Thesis. Fuzhou: Fujian Medical University, 2010. (in Chinese)
- [54] 朱琳玲. 骨胶原肽对高脂膳食小鼠抗氧化能力及皮肤和骨骼胶原代谢的影响 [D]. 硕士学位论文. 无锡: 江南大学, 2012.
- ZHU L L. The effects of ossein peptide on antioxidant capacity and collagen metabolism of skin and bone in high-fat diet km mice [D]. Master's Thesis. Wuxi: Jiangnan University, 2012. (in Chinese)

## Effects of Stocking Density and Alpha-Lipoic Acid on Serum Indexes, Behavior and Bone Development of Broilers

LI Wenjia XU Bin\* MA Huihui WEI Fengxian WANG Linyi FU Chen  
WANG Gaili SUN Quanyou LI Shaoyu\*\*

(Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of dietary supplemented with alpha-lipoic acid (LA) on the serum indexes, behavior and bone development of broilers under high stocking density condition. In the experiment, a total of 1 530 Arbor Acres AA ( ) broilers at the age of 21 days with good health and similar body weight were selected and randomly divided into three groups, they were normal stocking density group (ND group, 15 birds/m<sup>2</sup>, basal diet), high stocking density group (18 bird/m<sup>2</sup>, basal diet) and high stocking density+LA group (HD+LA group, 18 birds/m<sup>2</sup>, basal diet+300 mg/kg LA), and each group had 6 replicates. The experimental period was 3 weeks. The results showed as follows: 1) the serum calcium content and alkaline phosphatase (ALP) activity of broilers were significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the corticosterone (CORT) content, NADPH-oxidase (NOX) and myeloperoxidase (MPO) activities were significantly increased ( $P<0.05$ ) in HD group compared with the ND group. 2) Compared with the ND group, the walking, combing and feeding frequencies and time proportions of broiler's walking, feeding and combing were significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the frequency and time proportion of drinking were significantly increased in HD group ( $P<0.05$ ). 3) High stocking density significantly lowered the diameter, weight, density, strength and the contents of calcium, phosphorus, ash and mineral of tibia and thighbone compared with the ND group ( $P<0.05$ ). 4) Compared with the HD group, the serum calcium content and ALP activity of broilers were significantly increased ( $P<0.05$ ), and the content of CORT and the activities of NOX and MPO were significantly decreased in the HD+LA group ( $P<0.05$ ); the feeding frequency and time proportion of broilers were significantly increased ( $P<0.05$ ), and the drinking frequency and lying time proportion were significantly decreased in the HD+LA group ( $P<0.05$ ); the tibia weight and Ca and P content and the thighbone density, strength and calcium content of broilers were significantly increased in the HD+LA group ( $P<0.05$ ). In conclusion, high stocking density leads to oxidative stress, modifies the behavior and lowers the bone quality of broilers. Dietary addition of alpha-lipoic acid can alleviate the damage to broilers caused by high stocking density to a certain extent. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(1):236-247]

**Key words:** stocking density; alpha-lipoic acid; broilers; bone development; behavior

\* Contributed equally

\*\* Corresponding author, professor, E-mail: lsy9617@aliyun.com