

不同维生素 K₃添加水平对 1~21 日龄北京鸭生长性能、胫骨质量和血浆生化指标的影响

申仲健 郝永胜 孙培新 吴永保 张博 唐静 黄苇
张琪 侯水生 谢明*

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193)

摘要: 本试验旨在研究不同维生素 K₃添加水平对 1~21 日龄北京鸭生长性能、胫骨质量和血浆生化指标的影响。试验采用单因子完全随机试验设计,设 7 个维生素 K₃添加水平(0、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 和 8.0 mg/kg)。选择 448 只 1 日龄健康雄性北京鸭随机分为 7 个组,每组 8 个重复,每重复 8 只鸭。试验期为 21 d。结果表明:1)不同维生素 K₃添加水平对 1~21 日龄北京鸭平均日增重、平均日采食量和料重比均未产生显著影响($P>0.05$)。2)不同维生素 K₃添加水平对 21 日龄北京鸭胫骨骨密度、骨矿盐含量和骨面积均未产生显著影响($P>0.05$)。3)4.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组血浆钙含量显著高于 0、0.5、1.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组($P<0.05$)。0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组血浆磷含量显著低于 0.5、2.0、4.0、6.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组($P<0.05$)。2.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组血浆碱性磷酸酶活性显著高于 0、0.5、1.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组($P<0.05$)。4)8.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组血浆维生素 K 缺乏或拮抗剂 II 诱导蛋白(PIVKA-II)含量显著低于 0、0.5、1.0、2.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组($P<0.05$)。0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组血浆骨钙素和羧化不全骨钙素含量显著高于 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃添加水平组($P<0.05$)。综合本试验结果,饲料中添加维生素 K₃可能通过参与羧化影响凝血酶原前体蛋白 PIVKA-II、骨钙素等维生素 K 依赖蛋白的调控,进而影响机体的血凝功能和骨代谢。综合血浆磷和羧化不全骨钙素含量,1~21 日龄北京鸭饲料维生素 K₃适宜添加水平为 0.5 mg/kg。

关键词: 鸭;维生素 K;生长性能;胫骨质量;血浆生化指标

中图分类号:S834

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)03-1461-08

维生素 K 是一组具有促凝血作用的脂溶性维生素^[1-2],主要包括维生素 K₁、维生素 K₂、维生素 K₃、维生素 K₄ 等。其中,维生素 K₁ 大量存在于绿色蔬菜和植物油中,维生素 K₂ 是一类可以从肠道细菌发酵获得的活性物质^[3],而维生素 K₃ 和维生素 K₄ 是人类通过化学合成的产物。目前,畜禽饲料中的维生素 K 主要为维生素 K₃^[4]。维生素 K 主要通过参与羧化维生素 K 依赖蛋白发挥其

凝血、骨骼矿化、抑制血管钙化等生理作用^[5-10],凝血酶原前体蛋白维生素 K 缺乏或拮抗剂 II 诱导蛋白(protein induced by vitamin K absence or antagonist-II, PIVKA-II)和骨钙素分别是与凝血和骨骼矿化相关的维生素 K 依赖蛋白^[11],可作为机体维生素 K 营养状况的评价指标。小鼠通过注射维生素 K₁ 可显著降低血浆 PIVKA-II 含量^[12],肉鸡饲料中添加维生素 K₃ 可显著提高肉鸡 3 周龄

收稿日期:2020-08-17

基金项目:国家水禽产业技术体系建设专项(CARS-42-12);国家重点研发计划课题(2018YFD0501503)

作者简介:申仲健(1996—),男,山东济宁人,硕士研究生,动物营养与饲料科学专业。E-mail:zhong96jian@163.com

*通信作者:谢明,副研究员,硕士生导师,E-mail:caasxm@163.com

胫骨骨密度和显著降低血清羧化不全骨钙素含量^[13]。NRC(1994)家禽营养需要标准中推荐育雏期北京鸭维生素 K 营养需要量为 0.5 mg/kg, 但该推荐量是依据其他家禽数据确定, 缺乏肉鸭方面试验依据。目前, 维生素 K 对肉鸭生长发育影响的研究未见报道。因此, 本试验通过研究不同维生素 K₃ 添加水平对 1~21 日龄北京鸭生长性能、胫骨质量和凝血及骨代谢相关血浆生化指标的影响, 探讨反映肉鸭维生素 K 营养状况的敏感指标, 确定育雏期北京鸭维生素 K 营养需要参数, 为肉鸭饲料配制中维生素 K 的合理使用提供技术支撑和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计 及饲料

试验采用单因子完全随机试验设计, 设 7 个维生素 K₃ 添加水平 (0、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 和 8.0 mg/kg)。试验基础饲料营养水平参考我国《肉鸭饲养标准》(NY/T 2122—2012), 基础饲料组成及营养水平见表 1。通过在基础饲料中添加 7 个不同水平人工合成维生素 K₃ (0、0.98、1.96、3.92、7.84、11.76 和 15.68 mg/kg, 按照甲萘醌含量进行换算) 配制成 7 种试验饲料。维生素 K₃ 添加形式为亚硫酸氢钠甲萘醌 (甲萘醌含量为 51%), 试验饲料均制成颗粒料。选择 448 只 1 日龄健康雄性北京鸭, 随机分为 7 组, 每组 8 个重复, 每个重复 8 只鸭。各重复试验鸭初始体重基本一致。试验期为 21 d。

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
原料 Ingredients	
玉米 Corn	67.16
豆粕 Soybean	24.20
大豆分离蛋白 Soybean isolate protein	5.00
石粉 Limestone	0.90
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.25
预混料 Premix ¹⁾	1.00
食盐 NaCl	0.30
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.16
赖氨酸盐酸盐 Lys · HCl (98%)	0.03
合计 Total	100.00

续表 1

项目 Items	含量 Content
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.18
粗蛋白质 CP	19.99
钙 Ca	0.71
有效磷 AP	0.35
赖氨酸 Lys	1.10
蛋氨酸 Met	0.45
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.80
苏氨酸 Thr	0.84
色氨酸 Trp	0.25
精氨酸 Arg	1.36

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kilogram of diets: Cu 10 mg, Fe 60 mg, Zn 60 mg, Mn 80 mg, Se 0.3 mg, I 0.2 mg, 氯化胆碱 choline chloride 1 000 mg, VA 10 000 IU, VD₃ 3 000 IU, VE 20 IU, 硫胺素 thiamin 2 mg, 核黄素 riboflavin 8 mg, VB₆ 4 mg, VB₁₂ 0.02 mg, 泛酸 pantothenic acid 20 mg, 叶酸 folic acid 1 mg, 生物素 biotin 0.2 mg。

2) 营养水平均为计算值。Nutrients levels were calculated values.

1.2 饲养管理

试验鸭网上平养, 自由采食与饮水, 24 h 光照。1~21 日龄按试验饲料分组饲养, 其他按常规饲养管理进行。

1.3 样品采集和指标测定

1.3.1 生长性能

分别于 1 和 21 日龄称取各组各重复试验鸭空腹体重和剩余饲料重, 计算 1~21 日龄试验鸭平均日增重、平均日采食量和料重比。

1.3.2 血浆生化指标

使用采血针和真空采血管采集 21 日龄北京鸭血液, 从各组各重复随机挑选试验鸭 2 只, 颈静脉采血 5 mL, 置于肝素钠抗凝管中, 3 500 r/min 离心 15 min, 分离血浆, -20 °C 保存, 用于血浆生化指标的测定。其中, 血浆中钙、磷含量和碱性磷酸酶活性采用 HITACHI7080 全自动生化分析仪进行测定分析, 试剂盒购自迈克生物股份有限公司。血浆中 PIVKA-II 含量采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法测定, 采用上海酶联公司生产的试剂盒并用 BiotekEpoch 酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度, 计算血浆 PIVKA-II 含量。血浆中骨钙素和羧化不全骨钙素含量同

样采用 ELISA 法测定,在 450 nm 波长下测定吸光度,试剂盒购自北京绿源伯德生物科技有限公司。通过血浆骨钙素和羧化不全骨钙素含量计算骨钙素羧化率:

$$\text{骨钙素羧化率}(\%) = 100 \times (\text{血浆骨钙素含量} - \text{血浆羧化不全骨钙素含量}) / \text{血浆骨钙素含量}$$

1.3.3 胫骨质量

于 21 日龄,从各组各重复随机挑选试验鸭 2 只,颈静脉采血后,处死,取试验鸭左侧胫骨测定胫骨骨密度、骨矿盐含量和骨面积,采用 GE Lunar iDXA 双能 X 射线骨密度仪进行测定。

1.4 统计分析

试验数据采用 SAS 9.3 统计软件进行统计分析,采用 GLM 程序按完全随机试验设计进行单因素方差分析,采用 Duncan 氏法进行平均值之间的多重比较。试验数据采用“平均值±标准差”表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 不同维生素 K₃ 添加水平对 1~21 日龄北京鸭生长性能的影响

如表 2 所示,不同维生素 K₃ 添加水平对 1~21 日龄北京鸭平均日增重、平均日采食量和料重比均未产生显著影响($P > 0.05$)。

表 2 不同维生素 K₃ 添加水平对 1~21 日龄北京鸭生长性能的影响

Table 2 Effects of different vitamin K₃ supplemental levels on growth performance of Pekin ducks during 1 to 21 days of age

项目 Items	维生素 K ₃ 添加水平 Vitamin K ₃ supplemental levels/(mg/kg)							P 值 P-value
	0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	
平均日增重 ADG/(g/d)	54.6±1.4	53.9±1.5	53.5±1.7	53.8±2.6	53.0±2.8	53.7±1.6	54.2±2.1	0.811
平均日采食量 ADFI/(g/d)	95.3±3.0	94.1±3.4	92.9±4.1	94.4±5.6	93.8±3.5	94.7±3.3	93.3±3.5	0.904
料重比 F/G	1.75±0.02	1.75±0.04	1.74±0.05	1.76±0.03	1.77±0.03	1.76±0.05	1.72±0.03	0.232

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

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

2.2 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭胫骨质量和骨代谢相关血浆生化指标的影响

如表 3 所示,不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭胫骨骨密度、骨矿盐含量和骨面积均未产生显著影响($P > 0.05$)。

不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭血浆钙、磷含量和碱性磷酸酶活性产生显著影响($P < 0.05$)。4.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组血浆钙含量显著高于 0、0.5、1.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组($P < 0.05$)。0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组血浆磷含量显著低于 0.5、2.0、4.0、6.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组($P < 0.05$)。2.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组血浆碱性磷酸酶活性显著高于 0、0.5、1.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组($P < 0.05$)。

2.3 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭血浆维生素 K 依赖蛋白含量的影响

如表 5 所示,不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭血浆 PIVKA-II 含量产生显著影响($P < 0.05$)。8.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组血浆 PIVKA-II 含量最低,显著低于 0、0.5、1.0、2.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组($P < 0.05$)。不同维生素 K₃ 添加水平对血浆羧化不全骨钙素和骨钙素含量产生显著影响($P < 0.05$)。0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组血浆羧化不全骨钙素含量显著高于 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组($P < 0.05$),并且血浆骨钙素含量也显著高于 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组($P < 0.05$)。不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭骨钙素羧化率未产生显著影响($P > 0.05$)。

表 3 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭胫骨质量的影响Table 3 Effects of different vitamin K₃ supplemental levels on tibial bone quality of Pekin ducks at 21 days of age

项目 Items	维生素 K ₃ 添加水平 Vitamin K ₃ supplemental levels/(mg/kg)							P 值 P-value
	0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	
骨密度 Bone mineral density/(g/cm ²)	0.228±0.009	0.230±0.008	0.228±0.013	0.238±0.011	0.226±0.013	0.227±0.012	0.227±0.003	0.086
骨矿盐含量 Bone mineral content/g	1.80±0.11	1.82±0.14	1.78±0.18	1.92±0.14	1.75±0.14	1.84±0.19	1.84±0.12	0.113
骨面积 Bone area/cm ²	7.92±0.43	7.91±0.50	7.83±0.59	8.14±8.14	7.76±0.46	8.09±0.43	8.12±0.50	0.350

表 4 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭骨代谢相关血浆生化指标的影响Table 4 Effects of different vitamin K₃ supplemental levels on plasma biochemical indices related to bone metabolism of Pekin ducks at 21 days of age

项目 Items	维生素 K ₃ 添加水平 Vitamin K ₃ supplemental levels/(mg/kg)							P 值 P-value
	0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	
钙 Ca/(mmol/L)	2.12±0.16 ^b	2.11±0.19 ^b	2.11±0.21 ^b	2.14±0.19 ^{ab}	2.28±0.18 ^a	2.23±0.15 ^{ab}	2.23±0.11 ^{ab}	0.039
磷 P/(mmol/L)	2.26±0.11 ^b	2.42±0.20 ^a	2.38±0.18 ^{ab}	2.52±0.23 ^a	2.44±0.15 ^a	2.48±0.21 ^a	2.53±0.25 ^a	0.012
碱性磷酸酶 ALP/(U/L)	490±82 ^b	494±61 ^b	486±94 ^b	589±91 ^a	522±88 ^{ab}	538±90 ^{ab}	502±97 ^b	0.025

表 5 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭血浆维生素 K 依赖蛋白的影响Table 5 Effects of different vitamin K₃ supplemental levels on plasma vitamin K-dependent proteins of Pekin ducks at 21 days of age

项目 Items	维生素 K ₃ 添加水平 Vitamin K ₃ supplemental levels/(mg/kg)							P 值 P-value
	0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	
维生素 K 缺乏 或拮抗剂 II 诱导蛋白 PIVKA-II/(ng/mL)	1.30±0.12 ^a	1.15±0.14 ^a	1.29±0.37 ^a	1.24±0.20 ^a	1.11±0.29 ^{ab}	1.06±0.26 ^{ab}	0.79±0.31 ^b	0.015
骨钙素 Osteocalcin/ (ng/mL)	5.56±0.49 ^a	3.72±0.53 ^d	4.79±0.48 ^b	4.00±0.53 ^{cd}	4.84±0.43 ^b	4.34±0.30 ^c	4.95±0.48 ^b	<0.001
羧化不全骨钙素 Undercarboxylated osteocalcin/ (ng/mL)	2.78±0.22 ^a	1.80±0.31 ^d	2.18±0.18 ^{bc}	1.96±0.27 ^d	2.36±0.22 ^b	2.17±0.18 ^c	2.30±0.22 ^{bc}	<0.001
骨钙素羧化率 Osteocalcin carboxylation rate/%	49.6±6.0	50.9±10.3	54.0±5.8	50.0±10.1	51.0±5.7	50.0±5.9	53.0±7.8	0.735

3 讨论

3.1 不同维生素 K₃ 添加水平对 1~21 日龄北京鸭生长性能的影响

研究发现,饲料中添加维生素 K₃ 未显著提高猪生长育肥阶段的平均日采食量、平均日增重和料重比^[14-15],同时对 1~3 周龄肉鸡生长性能的影响也不显著^[13]。Price 等^[16]给大鼠持续服用维生素 K 拮抗剂造成大鼠维生素 K 缺乏,但未对大鼠平均日增重产生显著影响。有关维生素 K 对北京鸭生长性能影响的研究还未见报道。本试验结果显示,饲料中添加不同水平维生素 K₃ 对 1~21 日龄北京鸭的平均日采食量、平均日增重和料重比均无显著影响,这与上述研究报道基本一致。然而,维生素 K 对动物生长性能的影响与维生素 K 缺乏持续时间有关。Zhang 等^[13]研究发现,尽管维生素 K 缺乏对 1~3 周龄肉仔鸡平均日增重没有显著影响,但持续饲喂维生素 K 缺乏饲料 7 周以后可显著降低 6~7 周龄肉仔鸡平均日增重。由此可见,维生素 K 对肉鸭生长发育的影响在生长性能等宏观指标上可能体现较弱,研究应注重维生素 K 对机体生理生化机能的影响。

3.2 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭胫骨质量和骨代谢相关血浆生化指标的影响

Price 等^[16]研究发现,服用维生素 K 拮抗剂组的大鼠与对照组大鼠胫骨密度无显著差异,骨质疏松患者补充维生素 K 后骨密度并没有显著升高,但在临床上补充维生素 K 可降低患者的骨折风险^[17]。本试验结果显示,饲料中添加不同水平维生素 K₃ 对 21 日龄北京鸭的胫骨骨密度、骨矿盐含量和骨面积都没有产生显著影响,这与上述研究结果基本一致。但本试验结果表明提高饲料维生素 K₃ 添加水平可促进钙、磷吸收及代谢,表现在提高饲料维生素 K₃ 添加水平可提高血浆钙、磷含量。这与肉鸡方面的研究结果^[13]相一致。碱性磷酸酶是成骨细胞骨矿化的标志物,碱性磷酸酶活性升高间接反映成骨细胞代谢更活跃。医学临床上给骨折早期患者补充较高水平维生素 K₄ 可显著提高患者血清碱性磷酸酶活性^[18]。大鼠离体骨细胞培养试验也表明,维生素 K₂ 能够显著增强血清碱性磷酸酶活性^[19]。本试验中 2.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组血浆碱性磷酸酶活性显著

高于 0、0.5、1.0、8.0 mg/kg 维生素 K₃ 添加水平组的结果在一定程度上支持了上述研究报道。由此可见,维生素 K 可能通过参与体内钙、磷代谢调控机体骨骼发育。然而本试验尚未观察到不同维生素 K₃ 添加水平对北京鸭胫骨质量产生显著影响,这有待于进一步研究。

3.3 不同维生素 K₃ 添加水平对 21 日龄北京鸭血浆维生素 K 依赖蛋白含量的影响

凝血功能是维生素 K 的主要生理功能^[14,20-23],凝血酶原前体蛋白 PIVKA-II 是与凝血相关的维生素 K 依赖蛋白,血浆 PIVKA-II 含量也是目前最敏感的凝血指标,能够预测机体维生素 K 缺乏的亚临床状况^[24-25],当机体维生素 K 缺乏时,PIVKA-II 在肝脏中未能及时的被羧化成为凝血酶原,随后 PIVKA-II 在血液中累积,而 PIVKA-II 无法被激活成为凝血酶发挥凝血功能,血液中 PIVKA-II 含量过高反映出凝血功能出现障碍^[5,24,26]。本试验结果显示,血浆 PIVKA-II 含量随维生素 K₃ 添加水平升高而降低,且在饲料维生素 K₃ 添加水平达到 8.0 mg/kg 时最低,这间接反映出维生素 K 缺乏可影响肉鸭的凝血功能。

此外,骨钙素也是维生素 K 的依赖性蛋白^[11,27],当机体维生素 K 缺乏时,部分骨钙素无法在维生素 K 的作用下完成羧化反应,血液中羧化不全骨钙素含量会大大增加^[28],进而导致血液中骨钙素的含量也随之增加,肉鸡饲料中添加维生素 K₃ 可显著降低血清羧化不全骨钙素含量^[13]。因此,羧化不全骨钙素是维生素 K 缺乏的生物标志物,可作为评价维生素 K 营养状况的敏感指标^[27,29]。羧化后的骨钙素对羟基磷灰石晶体具有高亲和力,使其沉积到骨基质中,骨钙素羧化率和骨密度在临床上常用来作为骨质疏松的诊断标准^[29],同时血浆羧化不全骨钙素含量也被认为是评估骨折风险的敏感指标^[30]。本试验结果显示,饲料中添加维生素 K₃ 可显著降低北京鸭血浆羧化不全骨钙素含量。这间接表明维生素 K₃ 参与了骨钙素的羧化,这与本试验中高维生素 K₃ 添加水平组骨钙素羧化率升高相一致,也与饲料中添加高水平维生素 K₃ 可显著提高北京鸭血浆钙含量的结果相一致。这在一定程度上表明,维生素 K₃ 可通过提高骨钙素的羧化水平促进肉鸭对钙的吸收或动员。

目前,关于肉鸭维生素 K₃ 营养需要的研究未

见报道。尽管本试验设置了7个维生素K₃添加水平,但尚不能成功通过构建数学模型计算出北京鸭对维生素K₃的适宜需要量。参考方差分析和平均值之间多重比较,与未添加维生素K₃组相比,0.5 mg/kg 维生素K₃添加水平组血浆磷含量显著升高,而血浆羧化不全骨钙素含量显著降低。这支持NRC(1994)家禽营养需要标准中育雏期北京鸭维生素K₃的推荐量(0.5 mg/kg)。同时,维生素K₃添加水平高于0.5 mg/kg对升高血浆磷含量和降低血浆羧化不全骨钙素含量没有进一步显著改善作用。这提示在本试验条件下,以血浆磷羧化不全骨钙素含量为评价指标,1~21日龄北京鸭饲料中维生素K₃适宜添加水平为0.5 mg/kg。同时,在饲料中添加8.0 mg/kg 维生素K₃可显著降低血浆中未羧化的凝血酶原前体蛋白PIVKA-II和羧化不全骨钙素含量的试验结果也暗示着,在特定情况下为促进血液凝集功能和骨代谢相关机能,饲料中维生素K₃的添加水平可适当提高。

4 结 论

饲料中添加维生素K₃可能通过参与羧化影响凝血酶原前体蛋白PIVKA-II、骨钙素等维生素K依赖蛋白的调控,进而影响机体的血凝功能和骨代谢。综合血浆磷和羧化不全骨钙素含量,育雏期北京鸭饲料维生素K₃适宜添加水平为0.5 mg/kg。

参考文献:

- [1] ENGELKING L R. Vitamin K [M]. 3rd ed. Boston: Textbook of Veterinary Physiological Chemistry, 2015; 299-303.
- [2] SAUPE J. Vitamin K [M]//CATERINA R D E, MARTINEZ A, KOHLMIEIER M. Principles of nutrigenetics and nutrigenomics. London: Elsevier Inc., 2020; 263-270.
- [3] BEULENS J W, BOOTH S L, VAN DEN HEUVEL E G H M, et al. The role of menaquinones (vitamin K₂) in human health [J]. British Journal of Nutrition, 2013, 110(8): 1357-1368.
- [4] EFSA Panel on Additives and Products or Substances Used in Animal Feed (FEEDAP). Scientific opinion on the safety and efficacy of vitamin K₃ (menadione sodium bisulphite and menadione nicotinamide bisulphite) as a feed additive for all animal species [J]. EFSA Journal, 2014, 12(1): 3532.
- [5] BRENNER B, KUPERMAN A A, WATZKA M, et al. Vitamin K-dependent coagulation factors deficiency [J]. Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 2009, 35(4): 439-446.
- [6] RODRÍGUEZ R O, CURIEL M D. Vitamin K and bone health: a review on the effects of vitamin K deficiency and supplementation and the effect of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants on different bone parameters [J]. Journal of Osteoporosis, 2019, 2019: 2069176.
- [7] VAN BALLEGOOIJEN A J, PILZ S, TOMASCHITZ A, et al. The synergistic interplay between vitamins D and K for bone and cardiovascular health: a narrative review [J]. International Journal of Endocrinology, 2017, 2017: 7454376.
- [8] BOOTH S L. Roles for vitamin K beyond coagulation [J]. Annual Review of Nutrition, 2009, 29: 89-110.
- [9] COZZOLINO M, FUSARO M, CICERI P, et al. The role of vitamin K in vascular calcification [J]. Advances in Chronic Kidney Disease, 2019, 26(6): 437-444.
- [10] SCHURGERS L J, UITTO J, REUTELINGSPERGER C P. Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization [J]. Trends in Molecular Medicine, 2013, 19(4): 217-226.
- [11] AKBARI S, RASOULI-GHAHROUDI A A. Vitamin K and bone metabolism: a review of the latest evidence in preclinical studies [J]. BioMed Research International, 2018, 2018: 4629383.
- [12] MI Y N, PING N N, LI B, et al. Finding the optimal dose of vitamin K₁ to treat vitamin K deficiency and to avoid anaphylactoid reactions [J]. Fundamental & Clinical Pharmacology, 2017, 31(5): 495-505.
- [13] ZHANG C Y, LI D F, WANG F L, et al. Effects of dietary vitamin K levels on bone quality in broilers [J]. Archives of Animal Nutrition, 2003, 57(3): 197-206.
- [14] LOHAKARE J D, LEE S H, CHAE B J. Effect of dietary fat-soluble vitamins on growth performance and nutrient digestibility in growing pigs [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2006, 19(4): 563-567.
- [15] MARCHETTI M, TASSINARI M, MARCHETTI S. Menadione nicotinamide bisulphite as a source of vitamin K and niacin activities for the growing pig [J].

- Animal Science, 2000, 71(1): 111-117.
- [16] PRICE P A, WILLIAMSON M K. Effects of warfarin on bone. Studies on the vitamin K-dependent protein of rat bone [J]. Journal of Biological Chemistry, 1981, 256(24): 12754-12759.
- [17] MOTT A, BRADLEY T, WRIGHT K, et al. Effect of vitamin K on bone mineral density and fractures in adults; an updated systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials [J]. Osteoporosis International, 2019, 30(8): 1543-1559.
- [18] 程璐茜, 朱圣陶. 维生素 K₄、维生素 D₂ 对绝经妇女骨折早期骨代谢的影响 [J]. 中医正骨, 2006, 18(6): 4-6.
- CHENG L Q, ZHU S T. Influence of vitamins K₄ and D₂ on early bone metabolism in menopausal woman fracture: a clinical study [J]. The Journal of Traditional Chinese Orthopedics and Traumatology, 2006, 18(6): 4-6. (in Chinese)
- [19] YAMAGUCHI M, UCHIYAMA S, TSUKAMOTO Y. Stimulatory effect of menaquinone-7 on bone formation in elderly female rat femoral tissues *in vitro*: prevention of bone deterioration with aging [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2002, 10(6): 729-733.
- [20] SHEARER M J, FU X Y, BOOTH S L. Vitamin K nutrition, metabolism, and requirements: current concepts and future research [J]. Advances in Nutrition, 2012, 3(2): 182-195.
- [21] CHENG L, ZHANG W B, LIN S Q, et al. Effects of dietary vitamin K on growth performances, blood coagulation time and menaquinone-4 (MK-4) concentration in tissues of juvenile large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. Aquaculture Research, 2015, 46(5): 1269-1275.
- [22] GÓRSKA R M. Methods for assessment of vitamin K [M]//HARRINGTON D. Laboratory assessment of vitamin status. Amsterdam; Elsevier Inc., 2019: 107-147.
- [23] SANKAR M J, CHANDRASEKARAN A, KUMAR P, et al. Vitamin K prophylaxis for prevention of vitamin K deficiency bleeding: a systematic review [J]. Journal of Perinatology, 2016, 36 (Suppl. 1): S29-S35.
- [24] DITURI F, BUONOCORE G, PIETRAVALLE A, et al. PIVKA-II plasma levels as markers of subclinical vitamin K deficiency in term infants [J]. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2012, 25(9): 1660-1663.
- [25] DAHLBERG S, SCHURGERS L, SCHÖTT U, et al. Vitamin K deficiency in critical ill patients; a prospective observational study [J]. Journal of Critical Care, 2019, 49: 105-109.
- [26] 明静. 维生素 K 治疗新生儿出血症凝血指标的变化 [J]. 广西医学, 2014, 36(8): 1099-1101.
- MING J. Variation of sensitive blood coagulation indexes in infants with hemorrhagic disease of the newborn treated with vitamin K [J]. Guangxi Medical Journal, 2014, 36(8): 1099-1101. (in Chinese)
- [27] FUSARO M, PLEBANI M, TRIPEPI G, et al. Vitamin K₂ is a key regulator of clinically relevant molecular processes [M]//PATEL V B. Molecular nutrition. Amsterdam; Elsevier, 2020: 153-172.
- [28] SHEARER M J, NEWMAN P. Metabolism and cell biology of vitamin K [J]. Thrombosis and Haemostasis, 2008, 100(4): 530-547.
- [29] DE OLIVEIRA R B, STINGHEN A E M, MASSY Z A. Vitamin K role in mineral and bone disorder of chronic kidney disease [J]. Clinica Chimica Acta, 2020, 502: 66-72.
- [30] VERGNAUD P, GARNERO P, MEUNIER P J, et al. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women; the EPIDOS study [J]. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1997, 82(3): 719-724.

Effects of Different Vitamin K₃ Supplemental Levels on Growth Performance, Tibial Bone Quality and Plasma Biochemical Indices of Pekin Ducks during 1 to 21 Days of Age

SHEN Zhongjian HAO Yongsheng SUN Peixin WU Yongbao ZHANG Bo TANG Jing
HUANG Wei ZHANG Qi HOU Shuisheng XIE Ming*

(State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of
Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of different vitamin K₃ supplemental levels on growth performance, tibial bone quality and plasma biochemical indices of Pekin ducks during 1 to 21 days of age. The experiment using a one-factor completely randomize design with 7 vitamin K₃ supplemental levels (0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 mg/kg). A total of 448 one-day-old male Pekin ducks were randomly divided into 7 groups with 8 replicates per group and 8 birds per replicate. The experiment lasted for 21 days. The results showed as follows: 1) different vitamin K₃ supplemental levels had no significant effects on the average daily gain, average daily feed intake and ratio of feed to gain of Pekin ducks during 1 to 21 days of age ($P>0.05$). 2) Different vitamin K₃ supplemental levels had no significant effects on the bone mineral density, bone mineral content and bone area of tibial bone of Pekin ducks at 21 days of age ($P>0.05$). 3) The plasma calcium content of 4.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level group were significantly higher than that of 0, 0.5 and 1.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level groups ($P<0.05$). The plasma phosphorus content of 0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level group was significantly lower than that of the 0.5, 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level groups ($P<0.05$). The plasma alkaline phosphatase activity of 2.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level group was significantly higher than that of 0, 0.5, 1.0 and 8.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level groups ($P<0.05$). 4) The plasma protein induced by vitamin K absence or antagonist-Ⅱ (PIVKA-Ⅱ) content of 8.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level group was significantly lower than that of 0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level groups ($P<0.05$). The contents of osteocalcin and undercarboxylated osteocalcin in plasma of 0 mg/kg vitamin K₃ supplemental group were significantly higher than those of 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 mg/kg vitamin K₃ supplemental level groups ($P<0.05$). In conclusion, dietary vitamin K₃ might affect the regulation of vitamin K-dependent proteins such as prothrombin precursor protein PIVKA-Ⅱ and osteocalcin by participating in carboxylation to regulate the blood coagulation and bone metabolism. Considering to the contents of phosphorus and undercarboxylated osteocalcin in plasma, the dietary vitamin K₃ suitable supplemental level of Pekin ducks during 1 to 21 days of age is 0.5 mg/kg. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3):1461-1468]

Key words: ducks; vitamin K; growth performance; tibial bone quality; plasma biochemical indices