

甜菜碱对脂多糖刺激仔鹅生长性能、器官指数、血清生化指标及脾脏炎性因子表达的影响

阳金金¹ 杨 芷² 杨 雨¹ 梁静茹¹ 肖 霞¹ 杨海明^{1*} 王志跃^{1,2}

(1.扬州大学动物科学与技术学院,扬州 225009;2.扬州大学农业科技发展研究院,扬州 225009)

摘要: 本试验旨在研究饲料中添加甜菜碱(Bet)对脂多糖(LPS)刺激仔鹅生长性能、器官指数、血清生化指标及脾脏炎性因子表达的影响。试验采用2×2双因子随机设计,主因子分别为LPS(腹腔注射LPS或生理盐水)和甜菜碱(饲料中不添加或添加0.06%甜菜碱)。试验选取15日龄体重相近且健康的江南白鹅公鹅168只,随机分为4个组:Ctrl组(对照组,不添加甜菜碱+腹腔注射1.5 mg/kg BW生理盐水)、Bet组(添加0.06%甜菜碱+腹腔注射1.5 mg/kg BW生理盐水)、LPS组(饲料中不添加甜菜碱+腹腔注射1.5 mg/kg BW LPS)、Bet+LPS组(饲料中添加0.06%甜菜碱+腹腔注射1.5 mg/kg BW LPS),每组6个重复,每个重复7只鹅。分别于16、18、20日龄早晨进行注射,21和28日龄称重、屠宰采样。试验分为应激期(16~21日龄)和恢复期(22~28日龄)。结果表明:1)在应激期,LPS刺激显著降低仔鹅21日龄体重、平均日采食量(ADFI)和平均日增重(ADG)($P \leq 0.05$),显著提高料重比(F/G)($P \leq 0.05$);添加甜菜碱具有提高仔鹅ADFI($P = 0.080$)和21日龄体重($P = 0.090$)的趋势;LPS刺激和添加甜菜碱对仔鹅ADFI有显著互作效应($P \leq 0.05$),对21日龄体重有互作效应趋势($P = 0.075$)。在恢复期,LPS刺激显著降低仔鹅28日龄体重、ADFI和F/G($P \leq 0.05$),对ADG无显著影响($P > 0.05$);添加甜菜碱对仔鹅生长性能无显著影响($P > 0.05$)。2)21日龄时,LPS刺激显著降低仔鹅胸腺指数($P \leq 0.05$),而添加甜菜碱显著提高了仔鹅胸腺指数($P \leq 0.05$)。3)21日龄时,LPS刺激显著降低仔鹅血清白蛋白含量和白蛋白/球蛋白($P \leq 0.05$),显著提高血清球蛋白含量($P \leq 0.05$);LPS刺激和添加甜菜碱对仔鹅血清白蛋白含量有显著互作效应($P \leq 0.05$)。4)21日龄时,LPS刺激显著提高仔鹅脾脏白细胞介素-1 β (IL-1 β)mRNA相对表达量($P \leq 0.05$),而添加甜菜碱显著降低脾脏IL-1 β mRNA相对表达量($P \leq 0.05$)。28日龄时,LPS刺激和添加甜菜碱对仔鹅脾脏炎症因子mRNA相对表达量均无显著影响($P > 0.05$)。综上所述,LPS刺激降低仔鹅生长性能和免疫性能;而饲料中添加0.06%甜菜碱可以改善仔鹅生长性能,提高胸腺指数,降低脾脏促炎因子IL-1 β mRNA相对表达量,从而在一定程度上缓解LPS刺激对仔鹅的负面影响。甜菜碱对LPS刺激应激期的缓解作用比恢复期更为明显。

关键词: 甜菜碱;仔鹅;脂多糖;生长性能;炎性因子

中图分类号:S835

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)04-2044-11

现代肉鹅高度集约化生产模式下,产量快速增长的同时也伴随着免疫应激的增多,如病原微

收稿日期:2020-08-31

基金项目:国家现代农业产业技术体系(CARS-42-II);江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20190897);扬州市自然科学基金青年基金项目(YZ2019080)

作者简介:阳金金(1994—),女,安徽安庆人,硕士研究生,从事家禽生产研究。E-mail: 1509041578@qq.com

*通信作者:杨海明,教授,硕士生导师,E-mail: yhmdlp@qq.com

生物、疫苗接种、运输及环境污染等诸多因素都会引起免疫应激^[1]。免疫应激严重影响肉鹅生长性能并导致炎症反应的发生^[2]。因此,采取一定措施缓解免疫应激,对提高生产效益和保障肉鹅健康具有重要意义。目前,通过营养调控来缓解免疫应激已成为动物营养学的重要研究方向^[3]。

甜菜碱(betaine, Bet)又称为三甲基甘氨酸,最早从甜菜副产物中提取而来,广泛分布于动物、植物和微生物中,具有甲基供体和渗透调节功能^[4]。Wang 等^[5]研究显示,饲料中添加 0.05% 甜菜碱提高了肉鸭前期生长性能。Chen 等^[6]研究表明,饲料中添加 0.05% 和 0.10% 甜菜碱有利于改善肉鸡生长性能。杨雨等^[7]研究同样表明,饲料中添加 0.06%~0.18% 甜菜碱有利于提高仔鹅前期生长性能。甜菜碱在酒精性或非酒精性脂肪肝、癌症、糖尿病等疾病中发挥抗炎作用^[8-11],主要与甜菜碱能抑制核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和核苷酸结合寡聚化结构域样受体家族热蛋白结构域 3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体活性、调节能量代谢以及减轻细胞凋亡有关^[12]。结合甜菜碱的特性与生产中的研究,人们发现饲料中添加甜菜碱

有利于畜禽缓解多种应激^[13-14]。因此,本试验通过研究饲料中添加甜菜碱对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激仔鹅生长性能、器官指数、血清生化指标及脾脏炎性因子表达的影响,以阐明甜菜碱对仔鹅免疫应激反应和生长性能的调节作用。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

甜菜碱为昕洋碱 750,有效成分含量为 75%,购自北京某科技发展有限公司。LPS 来源于大肠杆菌(*Escherichia coli*) O55:B5,有效成分含量为 97%,购自美国 Sigma-Aldrich 公司。试验动物为 168 只 15 日龄体重相近且健康的江南白鹅公鹅,其试验前的饲养管理一致。

1.2 试验设计与饲养管理

试验采用 2×2 双因子随机设计,主因子分别为 LPS(腹腔注射 LPS 或生理盐水)和甜菜碱(饲料中不添加或添加 0.06% 甜菜碱,添加量参照杨雨等^[7])。试验选取 168 只 15 日龄的江南白鹅公鹅,随机分为 4 组,每组 6 个重复,每个重复 7 只鹅。试验设计见表 1。

表 1 试验设计

Table 1 Experiment design

项目 Items	试验因子 Experimental factors	
	甜菜碱 Bet	脂多糖 LPS
对照组 Ctrl group	饲料中不添加	腹腔注射 1.5 mg/kg BW 生理盐水
甜菜碱组 Bet group	饲料中添加 0.06% 甜菜碱	腹腔注射 1.5 mg/kg BW 生理盐水
脂多糖组 LPS group	饲料中不添加	腹腔注射 1.5 mg/kg BW LPS
甜菜碱+脂多糖组 Bet+LPS group	饲料中添加 0.06% 甜菜碱	腹腔注射 1.5 mg/kg BW LPS

分别于 16、18、20 日龄早晨对试验鹅进行 LPS 刺激,注射剂量与时间参照 Yang 等^[15],21、28 日龄称重、屠宰采样。试验分为应激期(16~21 日龄)和恢复期(22~28 日龄),试验期 13 d。试验鹅网上平养,饲喂干粉料,自由采食、饮水,自然光照。其他饲养管理按常规进行。

饲料配方主要参考扬州大学家禽生产与营养实验室历年的研究成果^[16-17],以玉米、豆粕为基础原料配制基础饲料,基础饲料组成及营养水平见表 2。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生长性能

分别于 21 和 28 日龄,按重复对试验鹅进行称重(空腹 6 h)并记录,统计各组试验鹅的采食量和增重情况,并计算应激期和恢复期的平均日采食量(ADFI)、平均日增重(ADG)和料重比(F/G)。

1.3.2 免疫器官指数

分别于 21 和 28 日龄,从各重复选取接近平均体重的试验鹅 1 只,屠宰后迅速完整剥离并摘取胸腺、脾脏和法氏囊,剔除脂肪和其他黏附组织,称重并计算免疫器官指数。

免疫器官指数(g/kg) = 免疫器官
重(g)/活体重(kg)。

表2 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 2 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Contents
原料 Ingredients	
玉米 Corn	63.1
豆粕 Soybean meal	27.8
小麦麸 Wheat bran	5.6
石粉 Limestone	1.0
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.1
DL-蛋氨酸 DL-methionine	0.1
食盐 NaCl	0.3
预混料 Premix ¹⁾	1.0
合计 Total	100.0
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
代谢能 ME/(MJ/kg)	11.60
粗蛋白质 CP	18.01
粗纤维 CF	3.03
钙 Ca	0.79
总磷 TP	0.65
蛋氨酸 Met	0.36
赖氨酸 Lys	1.03

1) 每千克预混料含 One kilogram of premix contained the following: VA 900 000 IU, VD 300 000 IU, VE 1 800 IU, VK 150 mg, VB₁ 90 mg, VB₂ 800 mg, VB₆ 320 mg, VB₁₂ 1.2 mg, 烟酸 nicotinic acid 4.5 g, 泛酸 pantothenic acid 1 100 mg, 叶酸 folic acid 65 mg, 生物素 biotin 5 mg, Fe 6 g, Cu 1 g, Mn 9.5 g, Zn 9 g, I 50 mg, Se 30 mg。

2) 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.3.3 血液指标

分别于21和28日龄,翅静脉采血并分离血清,用UniCel DXC 800 Synchron全自动生化分析仪检测血清中总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)含量,并计算白蛋白/球蛋白(白球比, A/G)。

1.3.4 脾脏炎症因子 mRNA 相对表达量

分别于21和28日龄,从各重复选取接近平均体重的试验鹅1只,屠宰后迅速无菌采集脾脏组织,液氮速冻后立即置于-70℃冰箱,用于测定脾

脏炎症因子 mRNA 相对表达量。用总 RNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取脾脏中总 RNA,用 Nanodrop 2000 超微量分光光度计检测 RNA 浓度和纯度,用反转录试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]进行反转录,得到的 cDNA 稀释后通过 CFX Connect™ 实时荧光定量 PCR 仪对脾脏炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及转化生长因子- β (TGF- β) mRNA 相对表达量进行相对定量分析,以 β -肌动蛋白(β -actin)作为内参基因,基因引物信息见表3。反应体系为20 μ L: SYBR Green PCR Master Mix (2 \times) 10 μ L,上、下游引物各 1.4 μ L, cDNA 模板 1 μ L、无酶水 6.2 μ L。反应条件:95℃预变性 2 min, 95℃变性 5 s、60℃退火 10 s,共 39 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算 mRNA 相对表达量。

1.4 数据统计分析

试验数据采用 Excel 2017 进行初步整理,利用 SPSS 20.0 统计软件的一般线性模型(GLM)程序进行双因素方差分析,模型主效应包括 LPS、甜菜碱及两者的互作效应。当有互作效应时,采用 Duncan 氏法进行多重比较。结果用平均值和均值标准误(SEM)表示。 $P \leq 0.05$ 表示差异显著, $0.05 < P < 0.10$ 表示差异有显著趋势。采用 Graph-Pad Prism 7.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅生长性能的影响

如表4所示,在应激期,LPS 刺激显著降低仔鹅 21 日龄体重、ADFI 和 ADG($P \leq 0.05$),显著提高 F/G($P \leq 0.05$),而添加甜菜碱具有提高仔鹅 21 日龄体重($P = 0.090$)和 ADFI($P = 0.080$)的趋势,LPS 刺激和添加甜菜碱对仔鹅 21 日龄体重有互作效应趋势($P = 0.075$),LPS 刺激和添加甜菜碱对仔鹅 ADFI 有显著互作效应($P \leq 0.05$)。这表明饲料中添加甜菜碱可以缓解由 LPS 刺激引起 ADFI 的降低。

在恢复期,LPS 刺激显著降低仔鹅 28 日龄体重、ADFI 和 F/G($P \leq 0.05$),对 ADG 无显著影响($P > 0.05$);添加甜菜碱对仔鹅恢复期生长性能无显著影响($P > 0.05$)。

表 3 基因引物信息

Table 3 Primer sequences of genes

基因 Genes	引物 Primer sequences (5'—3')	产物长度 Product size/bp	登录号 Accession number
白细胞介素-1 β <i>IL-1β</i>	F: CGCTCCCGTTACGCTTATTT R: AGGTGTGACAAAAAGTGTCGT	127	XM_013202125.1
白细胞介素-6 <i>IL-6</i>	F: ACGATAAGGCAGATGGTGAT R: TCCAGGTCTTATCCGACTTC	100	XM_013171777.1
肿瘤坏死因子- α <i>TNF-α</i>	F: CAGATGGGAAGGGAATGAAC R: TTACAGGAAGGGCAACACAT	145	XM_013189516.1
转化生长因子- β <i>TGF-β</i>	F: CATCACAGAGACAGGAACCTT R: CTTTCACATCACCCTGGAA	160	XM_013174005.1
β -肌动蛋白 <i>β-actin</i>	F: GCACCCAGCACGATGAAAAT R: GACAATGGAGGGTCCGGATT	150	XM_013174886.1

表 4 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅生长性能的影响

Table 4 Effects of Bet on growth performance of geese challenged by LPS

项目 Items	初重 IBW/g	21 日龄	16~21 日龄			28 日龄	22~28 日龄			
		体重 BW at 21 days of age/g	16 to 21 days of age		料重比	体重 BW at 28 days of age/g	22 to 28 days of age		料重比	
			平均日 采食量 ADFI/g	平均 日增重 ADG/g	F/G		平均日 采食量 ADFI/g	平均 日增重 ADG	F/G	
组别 Groups	Ctrl	804.05	1 180.48	141.50 ^a	62.74	2.26	1 684.03	361.34	71.94	5.04
	Bet	800.60	1 179.40	140.67 ^a	63.14	2.24	1 692.64	358.75	73.32	4.91
	LPS	802.40	955.19	87.51 ^c	25.46	3.53	1 426.23	294.68	67.29	4.40
	Bet+LPS	806.90	995.12	101.05 ^b	31.37	3.22	1 497.56	314.23	71.78	4.38
SEM	3.39	10.90	3.19	1.93	0.11	23.97	7.79	2.41	0.13	
主效应 Main effects										
脂多糖	-	802.32	1 179.94 ^a	141.09 ^a	62.94 ^a	2.25 ^b	1 688.33 ^a	360.05 ^a	72.63	4.98 ^a
LPS	+	804.86	976.97 ^b	94.90 ^b	28.69 ^b	3.36 ^a	1 465.14 ^b	305.24 ^b	69.74	4.39 ^b
甜菜碱	-	803.30	1 078.07	116.96	45.80	2.84	1 566.85	331.04	69.83	4.75
Bet	+	803.75	1 187.26	120.86	47.25	2.73	1 595.10	336.49	72.55	4.65
	脂多糖 LPS	0.497	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.215	<0.001
P 值 P-value	甜菜碱 Bet	0.878	0.090	0.080	0.119	0.223	0.111	0.298	0.239	0.593
	交互效应 Interaction	0.252	0.075	0.050	0.170	0.292	0.205	0.179	0.528	0.685

+表示添加或注射,-表示未添加或未注射。同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P \leq 0.05$),相同或无字母表示差异不显著($P > 0.05$)。下表同。

+ mean addition or injection, - mean no addition or no injection. In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P \leq 0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$). The same as below.

2.2 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅器官指数的影响

如表 5 所示,21 日龄时,LPS 刺激显著降低仔鹅胸腺指数($P \leq 0.05$),而添加甜菜碱显著提高了

仔鹅胸腺指数($P \leq 0.05$)。LPS 刺激和添加甜菜碱对各器官指数均无显著交互效应($P > 0.05$)。

表 5 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅器官指数的影响

Table 5 Effects of Bet on organ indices of geese challenged by LPS

g/kg

项目 Items		21 日龄 21 days of age			28 日龄 28 days of age		
		胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index	法氏囊指数 Bursa of Fabricius index	胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index	法氏囊指数 Bursa of Fabricius index
组别 Groups	Ctrl	2.25	1.52	0.90	2.23	1.15	0.75
	Bet	2.62	1.56	0.87	2.38	1.35	0.73
	LPS	1.28	1.86	0.71	1.90	1.52	0.70
	Bet+LPS	1.93	1.70	0.86	2.05	1.41	0.78
SEM		0.19	0.16	0.21	0.16	0.12	0.09
主效应 Main effects							
脂多糖	-	2.44 ^a	1.54	0.89	2.30	1.25	0.74
LPS	+	1.61 ^b	1.78	0.78	2.00	1.45	0.74
甜菜碱	-	1.76 ^b	1.69	0.80	2.12	1.30	0.72
Bet	+	2.28 ^a	1.63	0.87	2.22	1.38	0.75
P 值 P-value	脂多糖 LPS	<0.001	0.167	0.410	0.060	0.115	0.970
	甜菜碱 Bet	0.016	0.711	0.609	0.317	0.764	0.753
	交互效应 Interaction	0.484	0.573	0.470	0.996	0.245	0.597

2.3 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅血清生化指标的影响

如表 6 所示,21 日龄时,LPS 刺激显著降低仔鹅血清白蛋白含量和白球比 ($P \leq 0.05$),显著提高血清球蛋白含量 ($P \leq 0.05$);LPS 刺激和添加甜菜

碱对仔鹅血清白蛋白含量有显著交互效应 ($P \leq 0.05$)。这表明饲料中添加甜菜碱能够在一定程度上阻止 LPS 刺激对仔鹅血清中白蛋白含量的降低作用。

表 6 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅血清生化指标的影响

Table 6 Effects of Bet on serum biochemical parameters of geese challenged by LPS

项目 Items		21 日龄 21 days of age				28 日龄 28 days of age			
		总蛋白 TP/ (g/L)	白蛋白 ALB/ (g/L)	球蛋白 GLO/ (g/L)	白球比 A/G	总蛋白 TP/ (g/L)	白蛋白 ALB/ (g/L)	球蛋白 GLO/ (g/L)	白球比 A/G
组别 Groups	Ctrl	37.78	14.73 ^b	23.03	0.64	34.32	13.18	21.13	0.63
	Bet	35.18	13.15 ^a	22.03	0.60	35.85	13.47	22.38	0.61
	LPS	37.41	12.72 ^a	24.70	0.52	39.04	13.36	25.68	0.54
	Bet+LPS	37.76	13.08 ^a	24.68	0.53	36.48	13.50	22.98	0.59
SEM		1.32	0.37	1.01	0.01	1.29	0.55	1.15	0.03
主效应 Main effects									
脂多糖	-	36.48	13.94 ^a	22.53 ^b	0.62 ^a	35.08	13.33	21.76	0.62
LPS	+	37.57	12.88 ^b	24.69 ^a	0.52 ^b	37.65	13.44	24.21	0.57
甜菜碱	-	37.59	13.72	23.87	0.58	36.46	13.26	23.20	0.59
Bet	+	36.35	13.12	23.24	0.57	36.17	13.48	22.68	0.60

续表 6

项目 Items		21 日龄 21 days of age				28 日龄 28 days of age			
		总蛋白	白蛋白	球蛋白	白球比	总蛋白	白蛋白	球蛋白	白球比
		TP/ (g/L)	ALB/ (g/L)	GLO/ (g/L)	A/G	TP/ (g/L)	ALB/ (g/L)	GLO/ (g/L)	A/G
<i>P</i> 值	脂多糖 LPS	0.411	0.012	0.045	<0.001	0.066	0.853	0.055	0.105
<i>P</i> -value	甜菜碱 Bet	0.408	0.123	0.618	0.398	0.714	0.709	0.572	0.637
	交互效应 Interaction	0.283	0.019	0.632	0.062	0.153	0.899	0.133	0.301

2.4 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅脾脏炎性因子 mRNA 相对表达量的影响

如图 1 所示,21 日龄时,LPS 刺激显著提高仔鹅脾脏 *IL-1 β* mRNA 相对表达量 ($P \leq 0.05$),而添

加甜菜碱显著降低脾脏 *IL-1 β* mRNA 相对表达量 ($P \leq 0.05$)。28 日龄时,LPS 刺激和添加甜菜碱对仔鹅脾脏炎症因子 mRNA 相对表达量均无显著影响 ($P > 0.05$)。

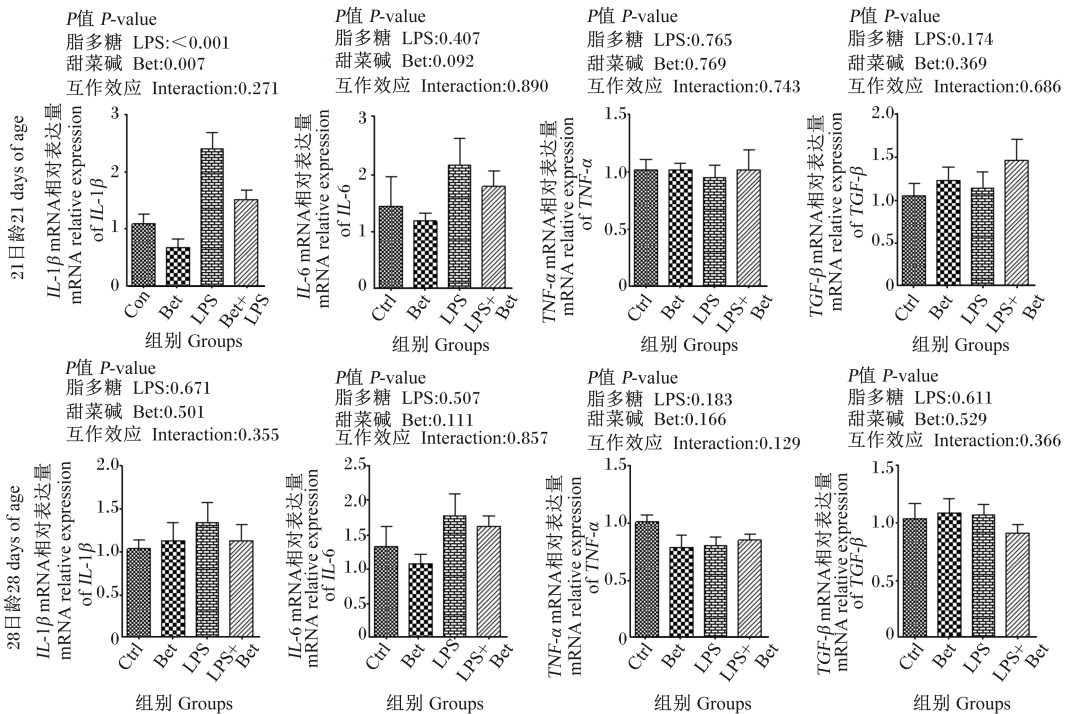


图 1 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅脾脏炎性因子 mRNA 相对表达量的影响

Fig.1 Effects of Bet on mRNA relative expression of inflammatory factors in spleen of geese challenged by LPS

3 讨论

3.1 甜菜碱对 LPS 刺激仔鹅生长性能的影响

LPS 是革兰氏阴性细菌的主要致病性因子,由脂质 A、核心多糖及 O 抗原 3 部分组成^[18]。腹腔或肌肉注射 LPS 是目前构建动物免疫应激模型最常用的方式。免疫应激使机体产生全身炎症反应,引发食欲减退、采食量下降、嗜睡等生理和行

为的变化^[19],进而导致生长性能下降。Liu 等^[20]在肉仔鸡 12、14、33 和 35 日龄分别腹腔注射 0.5 mg/kg BW 的 LPS,发现 LPS 刺激对肉仔鸡 1~21 日龄、22~42 日龄及 1~42 日龄 ADG 和 ADFI 均有不良影响。本试验中,LPS 刺激显著降低了仔鹅 21 日龄体重和 16~21 日龄 ADFI、ADG,提高了 16~21 日龄 F/G,这与前人在肉鸡方面的研究结果^[21-22]类似,同时提示本次免疫应激模型构建

成功。甜菜碱作为有效饲料添加剂,具有促生长、改善胴体组成及提高肉品质的作用^[23]。Liu等^[24]试验表明,饲料中添加0.05%、0.10%、0.20%甜菜碱可以减轻热应激对黄羽肉鸡采食量和体重的不利影响,且存在剂量效应。Hamidi等^[25]报道,饲料中添加0.12%甜菜碱能显著提高混合球虫感染肉鸡的ADG,可能与甜菜碱对肠道上皮细胞和肠道黏膜的保护作用有关。Wang等^[26]研究表明,饲料中添加甜菜碱通过增强肠组织功能、降低腹泻率、促进营养物质消化来改善断奶仔猪的生长性能。本试验研究发现,在应激期,饲料中添加甜菜碱具有提高21日龄体重和ADFI的趋势,LPS刺激和添加甜菜碱对仔鹅21日龄体重有互作效应趋势,对ADFI有显著互作效应,表明甜菜碱能缓解LPS刺激对仔鹅生长性能的影响,其原因可能与甜菜碱具有诱食性进而提高了采食量有关。

3.2 甜菜碱对LPS刺激仔鹅器官指数的影响

胸腺、脾脏和法氏囊是家禽的主要免疫器官,这3个器官的指数是评价家禽免疫状况的重要指标^[27]。胸腺是细胞免疫的重要器官,脾脏是产生抗体、补体等免疫物质的最大免疫器官,法氏囊是家禽特有的体液免疫器官。本试验中,LPS刺激导致21日龄仔鹅胸腺指数显著下降,这与孙骁等^[28]报道仔猪LPS刺激的结果一致。研究表明,胸腺萎缩与胸腺细胞凋亡有关,胸腺组织和胸腺组织中的淋巴细胞同时随着年龄增长而减少^[29]。而饲料中添加甜菜碱缓解了LPS刺激对仔鹅胸腺的不利影响,表明甜菜碱可以增强仔鹅的免疫功能,可能与甜菜碱提供甲基、促进蛋白质合成,进而促进细胞生长有关^[30]。安立龙等^[31]报道,饲料中添加0.1%甜菜碱可以减弱热应激对肉鸡胸腺、脾脏组织的损伤作用,保护组织结构的完整性。酒精性肝损伤模型试验中,甜菜碱主要通过降低炎症因子表达、减少脂质过氧化及预防细胞凋亡来发挥护肝功能^[32-33]。

3.3 甜菜碱对LPS刺激仔鹅血清生化指标的影响

血清中某些成分变化在一定程度上可以反映动物机体的生理状态。血清总蛋白来自肝脏合成和肠道吸收,主要包括白蛋白和球蛋白。白蛋白是血清总蛋白的主要蛋白质成分,可维持血浆胶体渗透压,在体内代谢物质的运输、营养和组织修

复等方面都起着重要的作用^[34],球蛋白由机体免疫器官产生,反映机体免疫力,当机体受到病原体攻击时,免疫系统就会增加球蛋白的产生。本试验中,LPS刺激导致21日龄仔鹅血清白蛋白含量显著降低,球蛋白含量显著升高,白球比显著降低,表明机体受到应激,产生炎症反应。而LPS刺激与添加甜菜碱对血清白蛋白含量存在显著互作效应,说明饲料中添加甜菜碱能够一定程度上阻止LPS刺激对血清白蛋白含量的降低作用,添加甜菜碱有利于白蛋白合成,提高对组织损伤的修复作用。Remus等^[35]提出饲料中添加甜菜碱对血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量具有改善作用,主要与甜菜碱能提供甲基、促进蛋白质合成有关。Yang^[36]等研究同样表明,饲料中添加0.06%甜菜碱可以提高仔鹅血清总蛋白含量。然而Ghasemi等^[37]研究发现,饲料中添加1%甜菜碱对饲喂不同蛋白质水平的热应激肉鸡血清总蛋白含量没有显著影响,但可以提高抗新城疫和传染性支气管炎病毒的抗体滴度。

3.4 甜菜碱对LPS刺激仔鹅炎性细胞因子表达的影响

天然免疫是机体抵抗病原微生物侵袭的第1道防线,研究表明,LPS是活化机体免疫系统中巨噬细胞(先天免疫细胞)的有效诱导物,促使炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等的合成与分泌,引发炎症反应^[38]。Li等^[39]通过体外试验证明,LPS攻毒小鼠巨噬细胞后炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)和趋化因子等mRNA相对表达量显著上升。本试验中,LPS刺激显著提高21日龄仔鹅脾脏IL-1 β mRNA相对表达量,对IL-6 mRNA相对表达量有增加趋势。Li等^[40]和Shen等^[41]在LPS刺激肉鸡试验中也观察到类似结果。本研究发现,饲料中添加甜菜碱显著降低21日龄仔鹅脾脏IL-1 β mRNA相对表达量。IL-1 β 在机体应对感染和炎症损伤中具有重要作用,IL-1 β 是NF- κ B下游基因之一。Xia等^[42]指出,甜菜碱可抑制NF- κ B的活化从而降低IL-1 β 的表达。Zhang等^[43]研究发现,甜菜碱降低炎症因子IL-6 mRNA相对表达量与抑制其启动子区域的甲基化有关。TGF- β 是重要的抗炎因子,具有促进细胞生长、分化和免疫调节作用,LPS刺激和添加甜菜碱对TGF- β mRNA相对表达量都没有显著影响。

4 结 论

LPS 刺激降低仔鹅生长性能和免疫性能,而饲料中添加 0.06% 甜菜碱可以改善仔鹅生长性能,提高胸腺指数,降低脾脏促炎因子 *IL-1 β* mRNA 相对表达量,从而在一定程度上缓解 LPS 刺激对仔鹅的负面影响。甜菜碱对 LPS 刺激应激期的缓解作用比恢复期更为明显。

参考文献:

- [1] LI R, SONG Z H, ZHAO J F, et al. Dietary *L*-theanine alleviated lipopolysaccharide-induced immunological stress in yellow-feathered broilers [J]. *Animal Nutrition*, 2018, 4(3) : 265–272.
- [2] 郑灶波. 不同环境应激对肉鹅免疫力、肠道微生物及生长性能的影响 [D]. 硕士学位论文. 广州: 仲恺农业工程学院, 2017.
ZHENG Z B. The effects of environmental stress on immunity, intestinal microbes and growth performance in goose [D]. Master's Thesis. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2017. (in Chinese)
- [3] 刘玉兰. 仔猪免疫应激及其营养调控研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(10) : 1–3, 11.
LIU Y L. Research progress on piglet immune stress and nutritional regulation [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(10) : 1–3, 11. (in Chinese)
- [4] EKLUND M, BAUER E, WAMATU J, et al. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock [J]. *Nutrition Research Reviews*, 2005, 18(1) : 31–48.
- [5] WANG Y Z, XU Z R, FENG J. The effect of betaine and *DL*-methionine on growth performance and carcass characteristics in meat ducks [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2004, 116(1/2) : 151–159.
- [6] CHEN R, ZHUANG S, CHEN Y P, et al. Betaine improves the growth performance and muscle growth of partridge shank broiler chickens via altering myogenic gene expression and insulin-like growth factor-1 signaling pathway [J]. *Poultry Science*, 2018, 97(12) : 4297–4305.
- [7] 杨雨, 阳金金, 万雨, 等. 饲料中添加甜菜碱对仔鹅生长性能及其调控因子的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(9) : 4140–4147.
YANG Y, YANG J J, WANG Y, et al. Effects of dietary betaine on growth performance, serum contents of growth hormone and insulin-like growth factor-1, slaughter performance and viscera indices of geese [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(9) : 4140–4147. (in Chinese)
- [8] JI C, SHINOHARA M, VANCE D, et al. Effect of transgenic extrahepatic expression of betaine-homocysteine methyltransferase on alcohol or homocysteine-induced fatty liver [J]. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*, 2008, 32(6) : 1049–1058.
- [9] KATHIRVEL E, MORGAN K, NANDGIRI G, et al. Betaine improves nonalcoholic fatty liver and associated hepatic insulin resistance: a potential mechanism for hepatoprotection by betaine [J]. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 299(5) : G1068–G1077.
- [10] KAR F, HACIOGLU C, KACAR S, et al. Betaine suppresses cell proliferation by increasing oxidative stress-mediated apoptosis and inflammation in DU-145 human prostate cancer cell line [J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2019, 24(5) : 871–881.
- [11] HUANG B Q, HU X L, HU J, et al. Betaine alleviates cognitive deficits in diabetic rats via PI3K/Akt signaling pathway regulation [J]. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 2020, doi:10.1159/000508624.
- [12] ZHAO G F, HE F, WU C L, et al. Betaine in inflammation: mechanistic aspects and applications [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1070.
- [13] RATRIYANTO A, MOSENTHIN R. Osmoregulatory function of betaine in alleviating heat stress in poultry [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(6) : 1634–1650.
- [14] SHEDID S M, ABDEL-MAGIED N, SAADA H N. Role of betaine in liver injury induced by the exposure to ionizing radiation [J]. *Environmental Toxicology*, 2019, 34(2) : 123–130.
- [15] YANG L, LIU G, ZHU X Q, et al. The anti-inflammatory and antioxidant effects of leonurine hydrochloride after lipopolysaccharide challenge in broiler chicks [J]. *Poultry Science*, 2019, 98(4) : 1648–1657.
- [16] CHEN Y J, YANG H M, WAN X L, et al. The effect of different dietary levels of sodium and chloride on performance and blood parameters in goslings (1 to 28 days of age) [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2020, 104(2) : 507–516.
- [17] 张得才. 蚕沙的营养价值评定及其在仔鹅饲料中的应用研究 [D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2015.
ZHANG D C. Study on nutrition value and application

- in diets of silkworm excrement for geese [D]. Master's Thesis. Yangzhou: Yangzhou University, 2015. (in Chinese)
- [18] WANG X F, LI Y L, SHEN J, et al. Effect of *Astragalus polysaccharide* and its sulfated derivative on growth performance and immune condition of lipopolysaccharide-treated broilers [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 76: 188–194.
- [19] KIM K, EHRLICH A, PERNG V, et al. Algae-derived β -glucan enhanced gut health and immune responses of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *E. coli* [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 248: 114–125.
- [20] LIU L, SHEN J, ZHAO C, et al. Dietary *Astragalus* polysaccharide alleviated immunological stress in broilers exposed to lipopolysaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 624–632.
- [21] WANG W W, LI Z, HAN Q Q, et al. Dietary live yeast and mannan-oligosaccharide supplementation attenuate intestinal inflammation and barrier dysfunction induced by *Escherichia coli* in broilers [J]. *British Journal of Nutrition*, 2016, 116(11): 1878–1888.
- [22] CHEN Y P, ZHANG H, CHENG Y F, et al. Dietary *L*-threonine supplementation attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and intestinal barrier damage of broiler chickens at an early age [J]. *British Journal of Nutrition*, 2018, 119(11): 1254–1262.
- [23] 武志敏. 甜菜碱和苜蓿皂甙对断奶仔猪生长性能及免疫功能的影响 [D]. 硕士学位论文. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2010.
- WU Z M. Effect of betaine alfalfa saponin on growth performance and immune function of weaned piglets [D]. Master's Thesis. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2010.
- [24] LIU W C, YUAN Y L, SUN C Y, et al. Effects of dietary betaine on growth performance, digestive function, carcass traits, and meat quality in indigenous yellow-feathered broilers under long-term heat stress [J]. *Animals*, 2019, 9(8): 506.
- [25] HAMIDI H, JAHANIAN R, POURREZA J. Effect of dietary betaine on performance, immunocompetence and gut contents osmolarity of broilers challenged with a mixed coccidial infection [J]. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2010, 5(3): 193–201.
- [26] WANG H C, LI S S, XU S Y, et al. Betaine improves growth performance by increasing digestive enzymes activities, and enhancing intestinal structure of weaned piglets [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2020, 267: 114545.
- [27] ZHENG X C, WU Q J, SONG Z H, et al. Effects of oridonin on growth performance and oxidative stress in broilers challenged with lipopolysaccharide [J]. *Poultry Science*, 2016, 95(10): 2281–2289.
- [28] 孙晓, 李梓丹, 刘华, 等. 饲料纤维对脂多糖刺激仔猪生长性能、器官相对重量及炎性细胞因子 mRNA 表达量的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31(11): 5018–5028.
- SUN X, LI Z D, LIU H, et al. Effects of dietary on growth performance, relative weight of organs and mRNA expression of inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-challenged piglets [J]. *Chinese Journal of Animal*, 2019, 31(11): 5018–5028. (in Chinese)
- [29] MARUŠIĆ M, TURKALJ-KLJAJIĆ M, PETROVEČKI M, et al. Indirect demonstration of the lifetime function of human thymus [J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 1998, 111(2): 450–456.
- [30] 效梅, 安立龙, 冯业, 等. 中药-甜菜碱复方对高温环境中三黄鸡组织器官生长发育的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2008, 29(6): 56–62.
- XIAO M, AN L L, FENG Y, et al. Effects of Chinese medicine and betaine compound prescription on growth and development in three yellow broilers under high temperature [J]. *Acta Ecologicae Abimalis Domastici*. 2008, 29(6): 56–62. (in Chinese)
- [31] 安立龙, 效梅, 黄志毅, 等. 不同剂量甜菜碱对热应激肉鸡组织器官发育的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2005, 26(3): 40–46.
- AN L L, XIAO M, HUANG Z Y, et al. The influence of betaine on growth of tissue and organ for broiler under heat stress. [J]. *Acta Ecologicae Abimalis Domastici*, 2005, 26(3): 40–46. (in Chinese)
- [32] SHI Q Z, WANG L W, ZHANG W, et al. Betaine inhibits Toll-like receptor 4 expression in rats with ethanol-induced liver injury [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2010, 16(7): 897–903.
- [33] JI C, KAPLOWITZ N. Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice [J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(5): 1488–1499.
- [34] ATTIA Y A, HASSAN R A, QOTA E M A. Recovery from adverse effects of heat stress on slow-growing

- chicks in the tropics 1; effect of ascorbic acid and different levels of betaine [J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2009, 41 (5) : 807–818.
- [35] REMUS J, VIRTANEN E, ROSI L, et al. Effect of betaine on nutrient utilization of 21-day-old broilers during coccidiosis [C] // Proceedings of the 10th European symposium on poultry nutrition. Turkish Branch: World's Poultry Science Association, 1995: 371–372.
- [36] YANG Z, WANG Z Y, YANG H M, et al. Effects of dietary methionine and betaine on slaughter performance, biochemical and enzymatic parameters in goose liver and hepatic composition [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017, 228: 48–58.
- [37] GHASEMI H A, NARI N. Effect of supplementary betaine on growth performance, blood biochemical profile, and immune response in heat-stressed broilers fed different dietary protein levels [J]. *Journal of Applied Poultry Research*, 2020, 29 (2) : 301–313.
- [38] MCNELIS J C, OLEFSKY J M. Macrophages, immunity, and metabolic disease [J]. *Immunity*, 2014, 41 (1) : 36–48.
- [39] LI H, YOON J H, WON H J, et al. Isotrifoliol inhibits pro-inflammatory mediators by suppression of TLR/NF- κ B and TLR/MAPK signaling in LPS-induced RAW264.7 cells [J]. *International Immunopharmacology*, 2017, 45: 110–119.
- [40] LI K, ZHANG P F, SHI B L, et al. Dietary *Artemisia ordosica* extract alleviating immune stress in broilers exposed to lipopolysaccharide [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2017, 16 (2) : 301–307.
- [41] SHEN J, WU S R, GUO W, et al. Epigenetic regulation of pro-inflammatory cytokine genes in lipopolysaccharide-stimulated peripheral blood mononuclear cells from broilers [J]. *Immunobiology*, 2017, 222 (2) : 308–315.
- [42] XIA Y Y, CHEN S, ZHU G Q, et al. Betaine inhibits interleukin-1 β production and release: potential mechanisms [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 2670.
- [43] ZHANG Y H, YU Y, OU C B, et al. Alleviation of infectious-bursal-disease-virus-induced bursal injury by betaine is associated with DNA methylation in *IL-6* and interferon regulatory factor 7 promoter [J]. *Poultry Science*, 2019, 98 (10) : 4457–4464.

Effects of Betaine on Growth Performance, Organ Indices, Serum Biochemical Parameters and Spleen Inflammatory Factor mRNA Expression of Geese Challenged by Lipopolysaccharide

YANG Jinjin¹ YANG Zhi² YANG Yu¹ LING Jingru¹ XIAO Xia¹
YANG Haiming^{1*} WANG Zhiyue^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. Institutes of Agricultural Science and Technology Development, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The present study aimed to investigate the effects of dietary betaine (Bet) on growth performance, organ indices, serum biochemical parameters and spleen inflammatory factor expression of geese challenged by lipopolysaccharide (LPS). The experiment was designed as a 2×2 double-factor trial design and the principal factors were LPS (intraperitoneal injection of LPS or physiological saline) and Bet (dietary no added or added 0.06% Bet). A total of 168 healthy fifteen-day-old *Jiangnan* white male geese with similar body weight were selected and randomly divided into 4 groups: Ctrl group (control group, no added Bet+intraperitoneal injection 1.5 mg/kg BW physiological saline), Bet group (added 0.06% Bet+intraperitoneal injection 1.5 mg/kg BW physiological saline), LPS group (no added Bet+intraperitoneal injection 1.5 mg/kg BW LPS) and Bet+LPS group (added 0.06% Bet+intraperitoneal injection 1.5 mg/kg BW LPS), with 6 replicates per group and 7 geese per replicate. Geese were injected in the morning at 16, 18 and 20 days of age, respectively. At 21 and

* Corresponding author, professor, E-mail: yhmdl@qq.com

28 days of age, geese weighed and slaughtered. The experiment were divided into stress period (16 to 21 days of age) and recovery period (22 to 28 days of age). The results showed as follows: 1) during the stress period, LPS challenge significantly decreased the body weigh at 21 days of age, average daily feed intake (ADFI) and average daily gain (ADG) of geese ($P \leq 0.05$), and significantly increased the ratio of feed to gain (F/G) ($P \leq 0.05$); adding betaine had a tendency to increase the ADFI ($P = 0.080$) and body weigh at 21 days of age of geese ($P = 0.090$); LPS challenge and adding betaine had significant interaction on ADFI of geese ($P \leq 0.05$), and had a tendency of significant interaction on the body weigh at 21 days of age ($P = 0.075$). During the recovery period, LPS challenge significantly decreased the body weigh at 28 days of age, ADFI and F/G of geese ($P \leq 0.05$), and had no significant effect on ADG ($P > 0.05$); adding betaine had no significant effect on the growth performance of geese ($P > 0.05$). 2) At 21 days of age, LPS challenge significantly decrease the thymus index of geese ($P \leq 0.05$), while adding betaine significantly increased the thymus index of geese ($P \leq 0.05$). 3) At 21 days of age, LPS challenge significantly decrease the serum albumin content and albumin/globulin ($P \leq 0.05$), and significantly increased the serum globulin content of geese ($P \leq 0.05$); LPS challenge and adding betaine had significant interaction on serum albumin content of geese ($P \leq 0.05$). 4) At 21 days of age, LPS challenge significantly increased the mRNA relative expression of interleukin-1 β (*IL-1 β*) in spleen of geese ($P \leq 0.05$), and adding betaine significantly decrease the mRNA relative expression of *IL-1 β* in spleen of geese ($P \leq 0.05$). At 28 days of age, LPS challenge and adding betaine had no significant effects on mRNA relative expression of inflammatory factors in spleen of geese ($P > 0.05$). In conclusion, LPS challenge reduce the growth performance and immune performance of geese; and dietary added 0.06% betaine can improve the growth performance of geese, increase the thymus index and reduce the mRNA relative expression of inflammatory factor *IL-1 β* in spleen, and partly effectively alleviate negative impact of geese challenged by LPS. Betaine can alleviate LPS stress during the stress period more obviously than recovery period. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(4):2044-2054]

Key words: betaine; geese; lipopolysaccharide; growth performance; inflammatory factors