

丁酸梭菌对肉鸡屠宰性能、肌肉品质和抗氧化功能的影响

黄翠翠 周若钰 沈媛媛 张瑞强 杨彩梅*

(浙江农林大学动物科技学院·动物医学院,浙江省畜禽绿色生态健康养殖应用技术研究重点实验室,动物健康互联网检测技术浙江省工程实验室,临安 311300)

摘要: 本试验旨在研究丁酸梭菌对肉鸡屠宰性能、肌肉品质和抗氧化功能的影响。选取 360 只健康的 1 日龄爱拔益加雄性肉仔鸡,随机分为 3 组,分别为对照组、抗生素组和丁酸梭菌组,每组 8 个重复,每个重复 15 只鸡。对照组饲喂无抗生素基础饲料,抗生素组饲喂基础饲料+75 mg/kg 金霉素,丁酸梭菌组饲喂基础饲料+500 mg/kg 丁酸梭菌(活菌数 1×10^9 CFU/g)。试验期为 42 d。结果表明:1) 与对照组相比,丁酸梭菌组肉鸡末重、屠宰率和全净膛率显著提高 ($P < 0.05$),胸肌 24 h 的红度值和 pH 显著提高 ($P < 0.05$),胸肌粗蛋白质和粗脂肪含量显著提高 ($P < 0.05$),胸肌 24 h 的亮度值和蒸煮损失显著降低 ($P < 0.05$),胸肌总抗氧化能力以及总超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性显著提高 ($P < 0.05$),胸肌丙二醛含量显著降低 ($P < 0.05$),胸肌核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)、谷胱甘肽过氧化物酶 1、超氧化物歧化酶 1 和血红素氧合酶 1 的 mRNA 相对表达量显著提高 ($P < 0.05$)。2) 与抗生素组相比,丁酸梭菌组肉鸡胸肌肉蒸煮损失显著降低 ($P < 0.05$)。综上所述,饲料添加丁酸梭菌可提高肉鸡末重,改善屠宰性能和胸肌肉品质,激活 Nrf2 信号通路相关基因的表达,增强肌肉抗氧化功能,表明丁酸梭菌可作为抗生素替代物应用于肉鸡饲料。

关键词: 肉鸡;丁酸梭菌;屠宰性能;肉品质;抗氧化功能;核因子 E2 相关因子 2

中图分类号:S816.7

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)06-3250-09

随着经济社会的快速发展和人民生活水平的日益提高,畜产品的安全与品质受到关注^[1]。畜牧业中抗生素的滥用,使得抗生素的弊端日益突出,如产生耐药性、造成环境污染、引起畜产品抗生素残留等^[2]。我国自 2020 年 7 月 1 日起,饲料中禁止添加除中草药以外的促生长类药物饲料添加剂^[3],因此,绿色、安全的抗生素替代物成为研究的重点。

肌肉的氧化应激状态是影响肌肉品质的重要因素。研究表明,当活性氧(ROS)自由基和活性氮(RNS)自由基的水平高于机体自身可分解水平

时,机体氧化还原状态失衡,机体处于氧化应激状态,其产生的自由基会对蛋白质、脂质和 DNA 构成损伤,导致肌肉品质降低^[4]。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 是细胞氧化应激反应中的关键转录因子,可通过调节抗氧化蛋白的表达,发挥抗氧化损伤作用,从而改善畜产品品质^[5]。研究发现,丁酸梭菌可以改善动物的生长性能、饲料利用率和抗氧化功能^[6]。关于丁酸梭菌对肉鸡生长和免疫功能的影响已有一些报道,但其对胸肌肉品质及抗氧化信号通路相关基因的调控作用研究较少。因此,本试验旨

收稿日期:2020-12-05

基金项目:浙江省重点研发项目(2019C02051);国家重点研发计划政府间国际创新合作项目(2018YFE0112700)

作者简介:黄翠翠(1998—),女,广西崇左人,本科生,从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 528050885@qq.com

* 通信作者:杨彩梅,教授,硕士生导师,E-mail: yangcaimei2012@163.com

在研究丁酸梭菌对肉鸡屠宰性能、肌肉品质、抗氧化功能和 Nrf2 通路相关基因表达的影响,为肉鸡肌肉品质的改善和丁酸梭菌在饲料中的应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料和试验设计

选取 360 只健康、体重均匀的 1 日龄爱拔益加 (AA) 雄性肉仔鸡,随机分为 3 组,分别为对照组、抗生素组和丁酸梭菌组,每组 8 个重复,每个重复 15 只鸡。对照组饲喂无抗生素基础饲料,抗生素组饲喂在无抗生素基础饲料中添加 75 mg/kg 金霉素(市购)的饲料,丁酸梭菌组饲喂在无抗生素基础饲料中添加 500 mg/kg 丁酸梭菌(由浙江某生物科技股份有限公司提供,活菌数为 1×10^9 CFU/g)的饲料。基础饲料参照 NRC(1994) 营养需要配制,其组成及营养水平见表 1,饲料形式为粉状。试验期 42 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	1~21 日龄	22~42 日龄
	1 to 21 days of age	22 to 42 days of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	52.50	54.00
豆粕 Soybean meal (43% CP)	25.00	17.00
膨化大豆 Extruded soybean	4.50	3.50
干酒糟及其可溶物 DDGS	8.50	7.50
米糠 Rice bran		6.00
玉米麸皮 Corn gluten		2.00
大豆油 Soybean oil	1.70	4.60
石粉 Limestone	1.40	1.40
发酵豆粕		2.40
Fermented soybean meal		2.40
预混料 Premix ¹⁾	4.00	4.00
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.23	12.91
粗蛋白质 CP	22.02	19.11
粗脂肪 EE	5.50	8.60
蛋氨酸 Met	0.54	0.45
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.88	0.74
赖氨酸 Lys	1.18	0.97

续表 1

项目 Items	1~21 日龄	22~42 日龄
	1 to 21 days of age	22 to 42 days of age
苏氨酸 Thr	0.86	0.71
色氨酸 Trp	0.23	0.20
钙 Ca	0.82	0.73
总磷 TP	0.65	0.57

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 10 000 IU, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 8.0 mg, VB₅ 40 mg, VB₆ 4.0 mg, VB₁₂ 0.013 mg, VD₃ 3 000 IU, VE 30 IU, VK₃ 1.3 mg, 生物素 biotin 0.04 mg, 叶酸 folic acid 40 mg, D-泛酸钙 D-pantothenate calcium 10 mg, 烟酸 nicotinic acid 40 mg, 氯化胆碱 choline chloride 400 mg, Cu 7.5 mg, Fe 80 mg, Mn 110 mg, Zn 65 mg, L-赖氨酸(1~21 日龄) L-lysine (1 to 21 days of age) 3.4 g, L-赖氨酸(22~42 日龄) L-lysine (22 to 42 days of age) 3.5 g, DL-蛋氨酸(1 to 21 days of age) DL-methionine 1.5 g, DL-蛋氨酸(22~42 日龄) DL-methionine (22 to 42 days of age) 1.1 g, 食盐 NaCl 3 g, 石粉 limestone 14 g, 载体为沸石粉 zeolite powder as carrier。

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

1.2 饲养管理

试验在浙江惠嘉生物科技股份有限公司试验基地进行,试验鸡饲养于同一鸡舍内,每个重复 1 笼,自由采食和饮水,24 h 光照,以重复为单位记录饲料投放量。免疫接种及疾病预防、消毒按常规方法进行。

1.3 样品采集

试验第 42 天,以重复为单位空腹称重。随后,每个组中各选取生长状况相近的 8 只试验鸡(每个重复 1 只)空腹 12 h 后屠宰采样。屠宰前对每只试验鸡进行分别称重,记录活重和全净膛重,采用游标卡尺测量胸肌的肌间脂肪宽度(胸骨侧突部位)和皮下脂肪厚度(从尾根部切线向上沿第一切线剥离 2 侧皮肤,测量剥离皮肤的部位)并记录。采集肉鸡的左侧胸肌称重后用于肉品质检测,采集右侧胸肌样品用液氮速冻后置于 -80 ℃ 冰箱中保存,用于后期常规化学成分和抗氧化功能检测。

1.4 指标检测

1.4.1 屠宰性能

屠宰率(%) = (屠体重/宰前体重) × 100;

全净膛率(%) = (全净膛重/宰前体重) × 100;

胸肌率(%)=(胸肌重/全净膛重)×100;

腹脂率(%)=(腹脂重/全净膛重)×100。

1.4.2 胸肌肉品质 and 常规化学成分测定

根据 Liu 等^[7]描述的方法分别,对肉鸡胸肌肉色[亮度(L*)、红度(a*)和黄度(b*)]、滴水损失、蒸煮损失以及宰后 45 min 和 24 h 的 pH 进行测定。肌肉肉色使用色差仪(CX0857, ColorFlex EZ, HunterLab)测定,肌肉 pH 使用装载肌肉专用电极的 pH 计(HI99121, Hanna Instruments, Inc.)测定。胸肌的常规化学成分即水分、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分含量的测定参照食品安全国家标准^[8-11]进行,测定使用的主要仪器包括脂肪测定仪(SOX406,海能仪器股份有限公司)、自动定氮仪(华焯 KDN-103A,上海纤检仪器有限公司)、电热鼓风干燥箱(101-8,上海锦屏仪器仪表有限公司)和陶瓷纤维马弗炉(SX2-4-10NP,广州越特科学仪器有限公司)等。

1.4.3 胸肌抗氧化功能测定

剪取 0.15~0.20 g 胸肌组织样品于 2 mL 匀浆管中,并加入 9 倍体积预冷的生理盐水与适量灭

菌匀浆液,利用匀浆仪(DS1000,湖北新纵科病毒疾病工程技术有限公司)进行匀浆,随后 4 000 r/min、4 ℃离心 10 min,取上清液于-80 ℃冰箱保存待用。按照检测试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)说明书依次检测样品的总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC, Fe²⁺还原法)和总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD, 羟胺法)、过氧化氢酶(catalase, CAT, 钼酸铵法)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx, 酶促比色法)活性以及丙二醛(malondialdehyde, MDA, 硫代巴比妥酸法)含量。参考 Ibrahim 等^[12]描述的方法,提取肉鸡胸肌的总 RNA,进行反转录反应,利用荧光定量试剂盒测定抗氧化相关基因——*Nrf2*、*Kelch* 样环氧氯丙烷相关蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, *Keap1*)、*GPx1*、超氧化物歧化酶 1(superoxide dismutase 1, *SOD1*)、超氧化物歧化酶 2(superoxide dismutase 2, *SOD2*)、*CAT* 和血红素氧合酶 1(heme oxygenase 1, *HO1*)的 mRNA 相对表达量,目的基因引物序列见表 2。

表 2 目的基因引物序列

Table 2 Primer sequences of target genes

目的基因 Target genes	登录号 Accession No.	上游引物 Forward primers (5'—3')	下游引物 Reverse primers (5'—3')
核因子 E2 相关因子 2 <i>Nrf2</i>	NM_205117.1	GATGTCACCCTGCCCTTAG	CTGCCACCATGTTATTCC
Kelch 样环氧氯丙烷 相关蛋白 1 <i>Keap1</i>	KU321503.1	GTACCAGATCGACAGCGTGG	GGCAGTGGGACAGGTTGAAG
谷胱甘肽过氧化 物酶活性 1 <i>GPx1</i>	NM_001277853.1	CGCTACAGCCGCCACTT	TTCGGAGAATCCCACAACG
超氧化物歧化酶 1 <i>SOD1</i>	NM_205064.1	TTGTCTGATGGAGATCATGGCTTC	TGCTTGCCTTCAGGATTAAGTGAG
超氧化物歧化酶 2 <i>SOD2</i>	NM_204211.1	CAGATAGCAGCCTGTGCAAATCA	GCATGTTCCCATACATCGATTCC
过氧化氢酶 <i>CAT</i>	NM_001031215.1	CGTTGGCGGTAGGAGTC	CCAGTGGTCAAGGCATCT
血红素氧合酶 1 <i>HO1</i>	NM_205344	GGTCCCGAATGAATGCCCTTG	ACCGTTCTCTGGCTCTTGG

1.5 数据统计分析

试验数据采用 Excel 2007 进行初步整理,利用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,采用单因素方差

(one-way ANOVA)进行差异显著性检验,并采用 Duncan 氏法进行多重比较检验,结果用平均值和均值标准误表示, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 丁酸梭菌对肉鸡屠宰性能的影响

由表 3 可知,与对照组相比,丁酸梭菌组肉鸡末重、屠宰率和全净膛率显著提高($P<0.05$),抗生

素组肉鸡屠宰率、全净膛率和肌间脂肪宽度显著提高($P<0.05$)。抗生素组和丁酸梭菌组间肉鸡末重、屠宰率、全净膛率、胸肌率和肌间脂肪宽度无显著差异($P>0.05$),各组间肉鸡腹脂率和皮下脂肪厚度均无显著差异($P>0.05$)。

表 3 丁酸梭菌对肉鸡屠宰性能的影响

Table 3 Effects of *Clostridium butyricum* on slaughter performance of broilers

项目 Items	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	丁酸梭菌组 <i>Clostridium butyricum</i> group	SEM	P 值 P-value
末重 Final weight/g	2 510.46 ^b	2 626.91 ^{ab}	2 659.95 ^a	26.01	0.040
屠宰率 Carcass yield/%	92.05 ^b	93.42 ^a	93.52 ^a	0.28	0.045
全净膛率 Eviscerated yield/%	70.72 ^b	72.18 ^a	72.24 ^a	0.25	0.011
胸肌率 Breast muscle yield/%	30.37	31.44	31.13	0.57	0.751
腹脂率 Abdominal fat yield/%	2.38	2.58	2.38	0.13	0.776
肌间脂肪宽度 Intramuscular fat width/mm	12.64 ^b	15.91 ^a	14.23 ^{ab}	0.49	0.016
皮下脂肪厚度 Subcutaneous adipose thickness/mm	6.52	6.37	6.93	0.24	0.631

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

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

2.2 丁酸梭菌对肉鸡胸肌肉品质的影响

由表 4 可知,与对照组相比,丁酸梭菌组肉鸡胸肌屠宰后 24 h 的 a^* 值和 pH 显著提高($P<$

0.05),胸肌屠宰后 24 h 的 L^* 值和蒸煮损失显著降低($P<0.05$)。丁酸梭菌组肉鸡胸肌蒸煮损失显著低于抗生素组($P<0.05$)。

表 4 丁酸梭菌对肉鸡胸肌肉品质影响

Table 4 Effects of *Clostridium butyricum* on breast muscle quality of broilers

项目 Items		对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	丁酸梭菌组 <i>Clostridium butyricum</i> group	SEM	P 值 P-value
45 min 肉色 Meat color at 45 min	亮度 L^*	41.31	40.01	40.34	0.85	0.824
	红度 a^*	19.70	20.15	20.21	0.49	0.908
	黄度 b^*	16.94	17.59	17.26	0.36	0.780
24 h 肉色 Meat color at 24 h	亮度 L^*	40.20 ^a	38.70 ^{ab}	35.68 ^b	0.77	0.043
	红度 a^*	17.86 ^b	19.59 ^{ab}	21.35 ^a	0.57	0.036
	黄度 b^*	29.61	31.13	31.14	0.66	0.574
pH	pH _{45 min}	5.93	5.98	6.07	0.03	0.141
	pH _{24 h}	5.65 ^b	5.80 ^{ab}	5.99 ^a	0.05	0.023
滴水损失 Drip loss/%	24 h	3.06	2.95	2.71	0.11	0.396
	48 h	6.32	5.98	5.63	0.19	0.350
蒸煮损失 Cooking loss/%		31.69 ^a	28.37 ^a	27.38 ^b	0.71	0.026

2.3 丁酸梭菌对肉鸡胸肌常规化学成分的影响

由表 5 可知,与对照组相比,丁酸梭菌组肉鸡胸肌粗蛋白质和粗脂肪含量显著提高($P<0.05$),

抗生素组肉鸡胸肌粗蛋白质含量显著提高($P<0.05$)。各组间肉鸡胸肌水分、有机物和粗灰分含量均无显著差异($P>0.05$)。

表 5 丁酸梭菌对肉鸡胸肌常规化学成分的影响

Table 5 Effects of *Clostridium butyricum* on conventional chemical compositions in breast muscle of broilers %

项目 Items	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	丁酸梭菌组 <i>Clostridium butyricum</i> group	SEM	P 值 P-value
水分 Moisture	74.25	73.69	73.27	0.27	0.354
有机物 Organic matter	23.25	24.09	24.52	0.27	0.147
粗蛋白质 Crude protein	19.53 ^b	20.64 ^a	20.52 ^a	0.20	0.038
粗脂肪 Ether extract	2.08 ^b	2.39 ^{ab}	2.58 ^a	0.08	0.038
粗灰分 Crude ash	2.50	2.22	2.20	0.08	0.205

2.4 丁酸梭菌对肉鸡胸肌抗氧化功能的影响

由表 6 可知,与对照组相比,丁酸梭菌肉鸡胸肌 T-SOD 和 GPx 活性和 T-AOC 显著提高 ($P < 0.05$),胸肌 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$); 抗生

素组肉鸡胸肌 T-SOD 活性显著提高 ($P < 0.05$),胸肌 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$)。各组间肉鸡胸肌 CAT 活性无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 6 丁酸梭菌对肉鸡胸肌抗氧化功能的影响

Table 6 Effects of *Clostridium butyricum* on antioxidant function in breast muscle of broilers

项目 Items	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	丁酸梭菌组 <i>Clostridium butyricum</i> group	SEM	P 值 P-value
总超氧化物歧化酶 T-SOD/(U/mg prot)	53.46 ^b	64.15 ^a	72.34 ^a	2.41	0.002
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	1.64 ^a	1.23 ^b	1.03 ^b	0.08	0.003
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	0.59 ^b	0.66 ^{ab}	0.73 ^a	0.02	0.024
过氧化氢酶 CAT/(U/mg prot)	0.45	0.57	0.59	0.04	0.260
谷胱甘肽过氧化物酶 GPx/(U/mg prot)	15.79 ^b	17.12 ^{ab}	19.32 ^a	0.54	0.018

2.5 丁酸梭菌对肉鸡胸肌抗氧化相关基因表达的影响

由表 7 可知,与对照组相比,丁酸梭菌组肉鸡胸肌 *Nrf2*、*GPx1*、*SOD1* 和 *HO1* 的 mRNA 相对表达量显著提高 ($P < 0.05$),*Keap1* 的 mRNA 相对表达量显著降低 ($P < 0.05$); 抗生素组肉鸡胸肌 *Nrf2*

和 *HO1* 的 mRNA 相对表达量显著提高 ($P < 0.05$)。丁酸梭菌组肉鸡胸肌 *Keap1* 的 mRNA 相对表达量显著低于抗生素组 ($P < 0.05$)。各组间肉鸡胸肌 *CAT* 和 *SOD2* 的 mRNA 相对表达量无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 7 丁酸梭菌对肉鸡胸肌抗氧化相关基因表达的影响

Table 7 Effects of *Clostridium butyricum* on antioxidation-related gene expression in breast muscle of broilers

项目 Items	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	丁酸梭菌组 <i>Clostridium butyricum</i> group	SEM	P 值 P-value
核因子 E2 相关因子 2 <i>Nrf2</i>	1.00 ^b	1.55 ^a	1.67 ^a	0.11	0.016
Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 <i>Keap1</i>	1.00 ^a	0.89 ^a	0.55 ^b	0.06	0.006
谷胱甘肽过氧化物酶活性 1 <i>GPx1</i>	1.00 ^b	1.30 ^{ab}	1.56 ^a	0.08	0.014
超氧化物歧化酶 1 <i>SOD1</i>	1.00 ^b	1.32 ^{ab}	1.67 ^a	0.10	0.015
超氧化物歧化酶 2 <i>SOD2</i>	1.00	1.41	1.50	0.11	0.159
过氧化氢酶 <i>CAT</i>	1.00	1.40	1.50	0.13	0.250
血红素氧合酶 1 <i>HO1</i>	1.00 ^b	1.58 ^a	1.58 ^a	0.09	0.007

3 讨论

3.1 丁酸梭菌对肉鸡屠宰性能的影响

研究表明,给仔猪饲喂添加1%丁酸梭菌的饲料能显著提高断奶仔猪的平均日增重,当丁酸梭菌添加量提高到3%时,料重比显著降低^[13]。另有研究表明,饲料添加丁酸梭菌和枯草芽孢杆菌复合益生菌添加剂可提高育肥猪的生长性能^[14]。赵旭^[15]研究表明,丁酸梭菌可通过调节肉鸡胰岛素、甲状腺素、生长激素、胰高血糖素、瘦素和游离三碘甲状腺原氨酸水平调控肉鸡脂肪代谢。本试验结果表明,饲料添加500 mg/kg 丁酸梭菌能够显著提高肉鸡的末重、屠宰率、全净膛率和肌间脂肪宽度,这与前人研究结果一致。这可能是丁酸梭菌产生的生物活性物质促进了双歧杆菌、乳酸菌和粪杆菌等肠道有益菌群的增殖,从而促进动物机体对营养物质的代谢吸收,提高营养物质的转化率,进而改善动物的生长和屠宰性能^[16]。本试验中,抗生素组和丁酸梭菌组之间肉鸡末重、屠宰率、全净膛率、胸肌率、腹脂率、肌间脂肪宽度和皮下脂肪厚度均无显著差异,提示丁酸梭菌作为抗生素替代品用于提高肉鸡屠宰性能具有良好的应用潜力。

3.2 丁酸梭菌对肉鸡胸肌品质的影响

肉品质作为一个综合性状,其特性被概括为感官品质、加工品质、营养价值和卫生质量4个方面,能直接反映肉品质的测定指标主要包括色泽、pH、滴水损失、蒸煮损失及嫩度等^[17-18]。在肌肉色泽测定中,一般 L^* 值越小,表明肌肉的颜色越浅,肌肉不发白,肉质越好; a^* 值越高,表示肌肉颜色更好; b^* 值越低,表示肌肉颜色越好^[19]。pH对肌肉的颜色、系水力、风味、嫩度和保质期均有影响,是肉品质性状的一个重要指标^[20]。肌肉系水力一般是指肌肉的保水能力,通常用滴水损失和蒸煮损失来进行评估。滴水损失是指肌肉仅在重力作用下损失的液体重量,蒸煮损失则是指肌肉在蒸煮过程中水分损失的百分比,通常认为,肌肉的滴水损失和蒸煮损失越低,系水力越高^[7]。本试验结果显示,饲料添加丁酸梭菌显著降低了肉鸡胸肌蒸煮损失和24 h的 L^* 值,显著提高了胸肌24 h的 a^* 值和pH,提示丁酸梭菌可有效改善肉鸡胸肌品质。同时,与抗生素组相比,丁酸梭菌组肉鸡胸肌蒸煮损失显著降低,提示丁酸梭菌在调

节肉鸡肌肉保水性能方面优于抗生素。

3.3 丁酸梭菌对肉鸡胸肌常规化学成分的影响

研究表明,肠道菌群可以通过调控与脂肪代谢相关酶的mRNA表达量和对血液生化指标、腹脂率、肝脂率的影响来调控机体脂肪代谢^[21]。Huang等^[22]研究表明,丁酸梭菌可调节肠道微生物菌群组成,促进有益微生物菌群生长。因此,丁酸梭菌可能通过调控肉鸡肠道菌群结构以间接调节肉鸡肌肉脂肪代谢。Zhao等^[21]研究表明,饲料添加丁酸梭菌可增强脂肪生成,显著提高肉鸡肌肉脂肪的含量。本试验结果表明,饲料添加丁酸梭菌可显著提高42日龄肉鸡胸肌粗脂肪和粗蛋白质含量,这可能是由于丁酸梭菌的代谢产物丁酸对肉鸡肠道微生物生态环境的形成具有促进作用,而健康的肠道微生物环境有利于动物对营养物质的消化吸收和脂肪沉积^[23]。此外,肌红蛋白含量是影响肌肉 a^* 值的重要因素之一,二者呈正相关关系, a^* 值越高表明肌肉中粗蛋白质含量越高^[24-25],这与本试验中肉色结果相符,说明丁酸梭菌可能通过提高肉鸡胸肌肌红蛋白含量改善肉品质。

3.4 丁酸梭菌对肉鸡胸肌抗氧化功能的影响

Nrf2作为一种含碱性亮氨酸拉链结构的转录因子,广泛表达于机体的各个组织器官中,是细胞解毒反应和抗氧化的主要调控因子^[5]。Keap1是一种富含半胱氨酸的细胞质肌动蛋白结合蛋白,正常生理状态下,Nrf2与Keap1偶联呈抑制状态,当遭受氧化应激时,Nrf2发生去磷酸化并与Keap1解偶联,使其活性激活,参与抗氧化反应^[26]。同时,Nrf2对机体超氧化物歧化酶、CAT、GPx和HO1具有调控作用^[27-28]。Nrf2信号通路激活,通路上相关抗氧化基因表达量提高,刺激机体对相关抗氧化酶蛋白的转录,其中,T-SOD和CAT具有清除超氧自由基和过氧化物以及减少羟基自由基形成的功能^[29]。T-AOC是反映机体总抗氧化能力高低的重要指标,MDA含量提高提示机体脂质氧化程度增加^[30]。前人研究表明,丁酸梭菌产生的丁酸等物质可通过降低ROS代谢物和提高抗氧化酶活性参与机体的抗氧化活动^[31-32]。研究报道,丁酸钠可以缓解肉鸡由皮质醇诱导的氧化应激,提高肉鸡胸肌CAT活性并降低MDA含量^[32]。相关报道亦指出,丁酸可改善肠黏膜的抗氧化功能,而丁酸梭菌是一种重要的产丁酸菌,

饲料添加丁酸梭菌可显著提高猪肠道内容物中丁酸含量^[6]。本试验中,饲料添加 500 mg/kg 丁酸梭菌可以显著提高肉鸡胸肌抗氧化相关基因 *Nrf2*、*GPx1*、*SOD1* 和 *HO1* 的 mRNA 相对表达量,显著降低胸肌 *Keap1* 的 mRNA 相对表达量,显著提高胸肌 T-SOD 和 GPx 活性以及 T-AOC,显著降低胸肌 MDA 含量。丁酸梭菌对肉鸡抗氧化功能的改善作用一部分可能是部分代谢产物能够激活机体细胞中的 Nrf2 信号通路,进而刺激相关基因的表达,从而提高相关抗氧化酶蛋白的转录;另一部分源于其代谢产物丁酸盐本身具有抗氧化的作用,能够直接参与机体氧化应激的调节。本试验中,饲喂添加抗生素饲料的肉鸡仅表现出胸肌 *Nrf2* 和 *HO1* 的 mRNA 相对表达量和胸肌 T-SOD 活性的提高以及胸肌 MDA 含量的降低,提示丁酸梭菌缓解肉鸡氧化应激的能力在一定程度上优于抗生素。

4 结 论

饲料添加丁酸梭菌可提高肉鸡末重,改善屠宰性能、胸肌肉品质以及粗蛋白质和粗脂肪含量,激活 Nrf2 信号通路相关基因的表达,增强肌肉抗氧化功能,表明丁酸梭菌可作为抗生素替代物应用于肉鸡饲料。

参考文献:

- [1] ZHANG C, GENG Z Y, CHEN K K, et al. *L*-theanine attenuates transport stress-induced impairment of meat quality of broilers through improving muscle antioxidant status [J]. *Poultry Science*, 2019, 98 (10): 4648–4655.
- [2] BEN Y J, FU C X, HU M, et al. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment; a review [J]. *Environmental Research*, 2019, 169: 483–493.
- [3] LYU J, YANG L S, ZHANG L, et al. Antibiotics in soil and water in China—a systematic review and source analysis [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 266: 115147.
- [4] 王锦. 硒和维生素 E 缓解肉鸡氧化应激的研究 [D]. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
WANG J. Dietary selenium and vitamin E alleviate DEX-induced oxidative stress in broilers [D]. Master's Thesis. Yangling: Northwest A & F University, 2012. (in Chinese)
- [5] LU Z, HE X F, MA B B, et al. Dietary taurine supplementation improves breast meat quality in chronic heat-stressed broilers via activating the Nrf2 pathway and protecting mitochondria from oxidative attack [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99 (3): 1066–1072.
- [6] WANG K L, CAO G T, ZHANG H R, et al. Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function, intestinal morphology, volatile fatty acids, and intestinal flora in a piglet model [J]. *Food & Function*, 2019, 10 (12): 7844–7854.
- [7] LIU Y H, LI Y Y, FENG X C, et al. Dietary supplementation with *Clostridium butyricum* modulates serum lipid metabolism, meat quality, and the amino acid and fatty acid composition of Peking ducks [J]. *Poultry Science*, 2018, 97 (9): 3218–3229.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.3—2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.3—2016 National food safety standard of determination of moisture in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2017. (in Chinese)
- [9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.4—2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.4—2016 National food safety standard of determination of crude ash in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2017. (in Chinese)
- [10] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.5—2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, China Food and Drug Administration. GB 5009.5—2016 National food safety standard of determination of crude protein in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2017. (in Chinese)
- [11] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.6—2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, China Food and Drug Administration. GB 5009.6—

- 2016 National food safety standard of determination of ether extract in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2017. (in Chinese)
- [12] IBRAHIM D, KISHAWY A T Y, KHATER S I, et al. Effect of dietary modulation of selenium form and level on performance, tissue retention, quality of frozen stored meat and gene expression of antioxidant status in ross broiler chickens [J]. *Animals*, 2019, 9 (6): 342.
- [13] 张彩云, 刘来亭, 杜灵广, 等. 酪酸芽孢杆菌对断奶仔猪生产性能和血清生化指标的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2009, 45 (13): 43-45.
ZHANG C Y, LIU L T, DU L G, et al. Effects of *Clostridium butyricum* on growth performance and serum biochemical index of weaned pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2009, 45 (13): 43-45. (in Chinese)
- [14] MENG Q W, YAN L, AO X, et al. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2010, 88 (10): 3320-3326.
- [15] 赵旭. 丁酸梭菌对肉鸡脂肪代谢的影响及其机理研究 [D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2014.
ZHAO X. Effects of *Clostridium butyricum* on lipid metabolism of broiler chickens and its underlying mechanism [D]. Ph.D. Thesis. Beijing: China Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [16] KUROIWA T, KOBARI K, IWANAGA M. Inhibition of enteropathogens by *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 [J]. *Kansenshogaku Zasshi*, 1990, 64 (3): 257-263.
- [17] FERNÁNDEZ-BARROSO M Á, SILIÓ L, RODRÍGUEZ C, et al. Genetic parameter estimation and gene association analyses for meat quality traits in open-air free-range iberian pigs [J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2020, 137 (4): 581-598.
- [18] WEN Y Y, LIU H H, LIU K, et al. Analysis of the physical meat quality in partridge (*Alectoris chukar*) and its relationship with intramuscular fat [J]. *Poultry Science*, 2020, 99 (2): 1225-1231.
- [19] 孙京新. 冷却猪肉肉质质量分析与评定及肉质稳定性研究 [D]. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2004.
SUN J X. Analysis and assessment of chilled pork color and its color stability [D]. Ph.D. Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2004. (in Chinese)
- [20] BERNAD L, CASADO P D, MURILLO N L, et al. Meat quality traits in the greater rhea (*Rhea americana*) as influenced by muscle, sex and age [J]. *Poultry Science*, 2018, 97 (5): 1579-1587.
- [21] ZHAO X, GUO Y M, GUO S S, et al. Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecium* on growth performance, lipid metabolism, and cecal microbiota of broiler chickens [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97 (14): 6477-6488.
- [22] HUANG T, PENG X Y, GAO B, et al. The effect of *Clostridium butyricum* on gut microbiota, immune response and intestinal barrier function during the development of necrotic enteritis in chickens [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2309.
- [23] GREINER T, BÄCKHED F. Effects of the gut microbiota on obesity and glucose homeostasis [J]. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2011, 22 (4): 117-123.
- [24] SUMAN S P, JOSEPH P. Myoglobin chemistry and meat color [J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2013, 4: 79-99.
- [25] HUGHES J M, CLARKE F M, PURSLOW P P, et al. Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19 (1): 44-63.
- [26] SHAW P, CHATTOPADHYAY A. Nrf2-ARE signaling in cellular protection: mechanism of action and the regulatory mechanisms [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235 (4): 3119-3130.
- [27] MA Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2013, 53: 401-426.
- [28] ZHU X S, ZHU L, LANG Y P, et al. Oxidative stress and growth inhibition in the freshwater fish *Carassius auratus* induced by chronic exposure to sublethal fullerene aggregates [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27 (9): 1979-1985.
- [29] VINCENT R R, APPUKUTTAN D, VICTOR D J, et al. Oxidative stress in chronic periodontitis patients with type II diabetes mellitus [J]. *European Journal of Dentistry*, 2018, 12 (2): 225-231.
- [30] OHSAWA I, ISHIKAWA M, TAKAHASHI K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals [J]. *Nature*

Medicine, 2007, 13(6):688-694.

- [31] ZHANG W H, GAO F, ZHU Q F, et al. Dietary sodium butyrate alleviates the oxidative stress induced by corticosterone exposure and improves meat quality in broiler chickens [J]. Poultry Science, 2011, 90(11):

2592-2599.

- [32] HAMER H M, JONKERS D M A E, BAST A, et al. Butyrate modulates oxidative stress in the colonic mucosa of healthy humans [J]. Clinical Nutrition, 2009, 28(1):88-93.

Effects of *Clostridium butyricum* on Slaughter Performance, Muscle Quality and Antioxidant Function of Broilers

HUANG Cuicui ZHOU Ruoyu SHEN Yuanyuan ZHANG Ruiqiang YANG Caimei*

(Zhejiang Provincial Engineering Laboratory for Animal Health Inspection and Internet Technology, Key Laboratory of Applied Technology on Green-Eco-Healthy Animal Husbandry of Zhejiang Province, College of Animal Science and Technology, College of Veterinary Medicine, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an 311300, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of *Clostridium butyricum* on the slaughter performance, muscle quality and antioxidant function of broilers. A total of 360 healthy one-day-old male Arbor Acres broiler chicks were randomly divided into 3 groups with 8 replicates per group and 15 chicks per replicate. Broilers in the control group were fed a non-antibiotic basal diet, those in the antibiotic group were fed the basal diet supplemented with 75 mg/kg aureomycin, and those in the *Clostridium butyricum* group were fed the basal diet supplemented with 500 mg/kg *Clostridium butyricum* containing 1.0×10^9 CFU/g viable bacteria. The experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) compare with the control group, the final weight, carcass yield and eviscerated yield of broilers in the *Clostridium butyricum* group were significantly increased ($P < 0.05$), the redness value and pH at 24 h in breast muscle were significantly increased ($P < 0.05$), the contents of crude protein and ether extract in breast muscle were significantly increased ($P < 0.05$), the brightness value at 24 h and cooking loss in breast muscle were significantly decreased ($P < 0.05$), the total antioxidant capacity and the activity of total superoxide dismutase and glutathione peroxidase in breast muscle were significantly increased ($P < 0.05$), the malondialdehyde content in breast muscle was significantly decreased ($P < 0.05$), and the mRNA relative expression levels of nuclear factor E2-related factor 2 (*Nrf2*), glutathione peroxidase 1, superoxide dismutase 1 and heme oxygenase 1 in breast muscle were significantly increased ($P < 0.05$). 2) Compared with the antibiotic group, the cooking loss in breast muscle of broilers in the *Clostridium butyricum* group was significantly decreased ($P < 0.05$). In conclusion, dietary *Clostridium butyricum* can increase the final weight, improve the slaughter performance and breast muscle quality, activate the expression of *Nrf2* signaling pathway related genes, and enhance the muscle antioxidant function of broilers. These results indicate that *Clostridium butyricum* can be used as an antibiotic substitute in broilers' diets. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(6):3250-3258]

Key words: broilers; *Clostridium butyricum*; slaughter performance; meat quality; antioxidant function; *Nrf2*