

低钙、磷水平饲粮添加高剂量植酸酶对 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能、胫骨指标和钙磷代谢的影响

范秋丽 蒋守群* 苟钟勇 李 龙 林厦菁 王一冰

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广州 510640)

摘 要: 本试验旨在研究低钙、磷水平饲粮添加高剂量植酸酶对 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能、胫骨指标和钙磷代谢的影响。试验选用 1 080 只 1 日龄岭南黄羽肉鸡雏, 随机分为 6 个组, 每组 6 个重复, 每个重复 30 只。正对照组(PC 组) 饲喂基础饲粮, 正常添加磷酸氢钙; 中钙、磷水平饲粮组(MP 组) 磷酸氢钙添加量降低 50%, MP+2000、MP+4000 组分别在 MP 组基础上添加 2 000、4 000 FTU/kg 植酸酶; 低钙、磷水平饲粮组(LP 组) 不添加磷酸氢钙, LP+2000、LP+4000 组分别在 LP 组基础上添加 2 000、4 000 FTU/kg 植酸酶。各组钙磷比保持在 1.4:1.0。试验期 42 d。结果表明: 1) 各植酸酶添加组体重、平均日增重、平均日采食量显著高于 MP 组 ($P<0.05$), 且 MP+4000、LP+4000 组显著高于 PC 组 ($P<0.05$)。2) MP+2000、MP+4000 组胫骨骨密度显著高于 MP 组 ($P<0.05$); 各植酸酶添加组胫骨脱脂脱水重显著高于 MP 组 ($P<0.05$), LP+4000、MP+2000、MP+4000 组显著高于 PC 组 ($P<0.05$); LP+2000、LP+4000 组胫骨灰分含量显著低于 MP、PC 组 ($P<0.05$); LP+2000 组胫骨磷、钙含量显著低于 MP、PC 组 ($P<0.05$)。3) 各植酸酶添加组血清碱性磷酸酶活性显著低于 MP 组 ($P<0.05$)。4) MP+4000 组肾脏成纤维生长因子受体 1(*Fgfr1*) 的表达量显著高于 MP、PC 组 ($P<0.05$)。5) LP+4000 组粪钙含量显著低于 MP 组 ($P<0.05$), LP+2000、LP+4000 组显著低于 PC 组 ($P<0.05$); LP+2000、LP+4000 组粪磷含量显著低于 MP 组 ($P<0.05$), MP+4000、LP+2000、LP+4000 组显著低于 PC 组 ($P<0.05$); LP+4000 组钙代谢率显著高于 PC 组 ($P<0.05$)。综上, 低钙、磷水平饲粮添加高剂量植酸酶可提高 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能, 提高胫骨脱脂脱水重, 降低血清碱性磷酸酶活性。中钙、磷水平饲粮添加高剂量植酸酶可提高胫骨密度, 上调肾脏 *Fgfr1* 基因的表达。仅考虑生长性能、血清生化指标、胫骨指标及钙磷代谢指标, 1~42 日龄岭南黄羽肉鸡玉米-豆粕型饲粮中添加高剂量植酸酶可以部分或者完全代替磷酸氢钙。

关键词: 植酸酶; 生长性能; 胫骨指标; 钙磷代谢; 黄羽肉鸡

中图分类号: S831

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2019)04-1743-11

畜禽体内大部分钙、磷参与骨骼和牙齿的构成, 其余则维持正常的生理功能^[1]。饲粮中钙、磷主要来自磷酸氢钙及植物原料^[2-3]。玉米-豆粕型饲粮中 60%~90% 的磷以植酸磷形式存在^[4], 因单

胃动物体内缺乏分解植酸磷的植酸酶, 仅能利用 10%~30% 的磷^[5], 造成资源浪费和环境污染。植酸酶可水解植酸磷, 解除抗营养作用, 产生能被机体利用的磷和微量矿物质^[6-8], 从而改善生长性

收稿日期: 2018-09-06

基金项目: 国家肉鸡产业技术体系项目(CARS-41); 国家“十二五”科技支撑计划项目子课题(2014BAD13B02); 广东省科技计划项目(2017B020202003); 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室运行经费(2014B030301054); 广州市科技计划项目(201804020091)

作者简介: 范秋丽(1987—), 女, 陕西渭南人, 助理研究员, 硕士, 从事黄羽肉鸡营养研究。E-mail: 649698130@qq.com

* 通信作者: 蒋守群, 研究员, 硕士生导师, E-mail: 1014534359@qq.com

能,提高矿物元素沉积^[9-13]。一般在畜禽饲料中添加 500 FTU/kg 植酸酶^[14]。研究表明,超量添加植酸酶(4 倍甚至更多)可充分降解植酸,获得更好的生长性能^[15]。但植酸酶的超量添加并非无限制,韩进诚等^[16]研究表明,植酸酶添加水平为 4 000 FTU/kg时,生长性能及其他生理指标最佳,植酸酶添加水平超出 4 000 FTU/kg 后并无显著差异。目前,关于黄羽肉鸡饲料植酸酶超量添加的研究较少。因此,本试验选用黄羽肉鸡,研究低钙、磷水平饲料添加高剂量(2 000、4 000 FTU/kg)植酸酶对 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能、胫骨指标和钙磷代谢的影响,以期为黄羽肉鸡饲料中植酸酶的科学利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在广东省农业科学院动物科学研究所试验场进行,采用单因子随机设计,选用初始体重为 35.83 g、健康状况良好的 1 日龄岭南黄羽肉公雏

1 080只,根据体重一致原则随机分为 6 个组,每组 6 个重复,每个重复 30 只。

1.2 试验饲料

试验采用玉米-豆粕型基础饲料,根据《中国饲料成分及营养价值表(2004 年第 15 版)》,并参考我国《鸡饲养标准》(NY/T 33—2004)试验饲料,试验饲料组成及营养水平见表 1。各组饲料除钙、磷含量外其他营养水平保持一致。正对照组(PC 组)饲喂基础饲料,正常添加磷酸氢钙;中钙、磷水平饲料组(MP 组)磷酸氢钙添加量降低 50%,MP+2000、MP+4000 组分别在 MP 组基础上添加 2 000、4 000 FTU/kg 植酸酶;低钙、磷水平饲料组(LP 组)不添加磷酸氢钙,LP+2000、LP+4000 组分别在 LP 组基础上添加 2 000、4 000 FTU/kg 植酸酶。各组钙磷比保持在 1.4:1.0。配制饲料时,植酸酶按照不同添加水平等重量替代预混料的载体玉米芯粉。试验用耐热植酸酶由挑战集团提供,植酸酶为颗粒性,活性为 10 000 FTU/kg,制粒后留存率大于 40%。

表 1 试验饲料组成及营养水平(饲喂基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (as-fed basis)							%
项目 Items	1~21 日龄 1 to 21 days of age			22~42 日龄 22 to 42 days of age			
	基础饲料 Basal diet	中钙、磷 水平饲料 Medium calcium and phosphorus level diet	低钙、磷 水平饲料 Low calcium and phosphorus level diet	基础饲料 Basal diet	中钙、磷 水平饲料 Medium calcium and phosphorus level diet	低钙、磷 水平饲料 Low calcium and phosphorus level diet	
原料 Ingredients							
玉米 Corn	56.16	56.16	56.16	61.90	61.90	61.90	
豆粕 Soybean meal	32.40	32.40	32.40	25.40	25.40	25.40	
玉米蛋白粉 Corn protein powder	2.50	2.50	2.50	3.00	3.00	3.00	
双低菜籽粕 Double-low rapeseed meal	2.50	2.50	2.50	3.00	3.00	3.00	
豆油 Soybean oil	2.00	2.00	2.00	2.50	2.50	2.50	
赖氨酸 Lysine				0.11	0.11	0.11	
蛋氨酸 Methionine	0.12	0.12	0.12	0.07	0.07	0.07	
石粉 Limestone	1.26	1.19	1.14	1.20	1.14	1.10	
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.76	0.88		1.52	0.76		
食盐 NaCl	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	
预混料 Premix ¹⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
沸石粉 Zeolite powder		0.95	1.88		0.82	1.62	
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	

续表 1

项目 Items	1~21 日龄 1 to 21 days of age			22~42 日龄 22 to 42 days of age		
	基础饲料 Basal diet	中钙、磷 水平饲料 Medium calcium and phosphorus level diet	低钙、磷 水平饲料 Low calcium and phosphorus level diet	基础饲料 Basal diet	中钙、磷 水平饲料 Medium calcium and phosphorus level diet	低钙、磷 水平饲料 Low calcium and phosphorus level diet
营养水平 Nutrient levels ²⁾						
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.10	12.10	12.10	12.47	12.47	12.47
粗蛋白质 CP	20.92	20.92	20.92	18.84	18.84	18.84
赖氨酸 Lys	1.05	1.05	1.05	0.98	0.98	0.98
蛋氨酸 Me	0.46	0.46	0.46	0.40	0.40	0.40
半胱氨酸 Cys	0.37	0.37	0.37	0.34	0.34	0.34
钙 Ca	1.00	0.77	0.54	0.90	0.70	0.51
总磷 TP	0.71	0.55	0.39	0.64	0.51	0.37
非植酸磷 NPP	0.45	0.30	0.15	0.40	0.27	0.14

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: 1~21 日龄 1 to 21 days of age, VA 15 000 IU, VD₃ 3 300 IU, VB₁ 1.8 mg, VB₂ 3.6 mg, VB₆ 3.5 mg, VB₁₂ 0.01 mg, VE 10 IU, VK 0.5 mg, 烟酸 nicotinic acid 35 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 10 mg, 叶酸 folic acid 0.55 mg, 生物素 biotin 0.15 mg, 氯化胆碱 choline chloride 1 000 mg, Fe 80 mg, Cu 8 mg, Zn 60 mg, Mn 80 mg, I 0.35 mg, Se 0.15 mg; 22~42 日龄 22 to 42 days of age, VA 15 000 IU, VD₃ 3 300 IU, VB₁ 3 mg, VB₂ 9 mg, VB₆ 6 mg, VB₁₂ 0.03 mg, VE 10 IU, VK 6 mg, 烟酸 nicotinic acid 300 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 18 mg, 叶酸 folic acid 1.5 mg, 生物素 biotin 0.36 mg, 氯化胆碱 choline chloride 750 mg, Fe 80 mg, Cu 12 mg, Zn 75 mg, Mn 100 mg, I 0.35 mg, Se 0.15 mg。

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

1.3 饲养管理

试验鸡地面平养,自由采食颗粒料及饮水,常规饲养和免疫。

1.4 样品的采集与制备

试验结束,每重复选取接近平均体重的 2 只鸡称重,翅静脉采血 5 mL,室温静置 1 h,离心(3 500 r/min,10 min)制备血清,-20 ℃保存备测血清生化指标。采血后试验鸡颈部放血屠宰,剖取肾脏装于 1.5 mL 离心管,做好标记后立即置于液氮中,待样品采集完后转移至-80 ℃冰箱保存,备测钙磷代谢关键基因表达量。取两侧胫骨,去除表面肌肉筋膜组织并编号,右侧胫骨于采样当天测胫骨断裂强度,左侧胫骨置于-20 ℃保存,备测其他指标。

1.5 指标测定与方法

1.5.1 生长性能

试验开始和结束前 1 天 22:00 断料供水,次日 08:00 以重复为单位准确称试验鸡体重,统计耗料量,计算平均日采食量(ADFI)、平均日增重

(ADG)、料重比(F/G)。试验全期每日观察鸡只健康状况和精神状态,出现死鸡,立即称重并计算耗料量,以消除死鸡对试验结果的影响。

1.5.2 胫骨指标

右侧胫骨采用嫩度仪(INSTRON-441 型,Instron 公司,美国)测定胫骨断裂强度。左侧胫骨外送暨南大学附属第一医院核医学科测定胫骨密度。测定骨密度后的胫骨高温蒸煮 6 min 后剥离所有软组织,105 ℃烘干 24 h 脱水后用纯度为 99.5%的乙醚浸泡 96 h,65 ℃烘干 4 h 至恒重,称重,胫骨粉碎过 40 目筛,混匀 550 ℃马弗炉中灰化 24 h,称重计算灰分含量。灰分含量测定参照 GB/T 6438—1992 的方法,灰分中钙含量测定采用乙二胺四乙酸(EDTA)直接容量法(GB/T 6436—1992),灰分中磷含量测定采用钒钼酸铵法(GB/T 6437—1992)。

1.5.3 血清生化指标

血清钙、磷含量和碱性磷酸酶(AKP)活性的测定在多功能酶标仪(Spectra Max M-5, Molecular

Devices 公司,美国)上进行,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,检测方法和结果计算按说明书进行。

1.5.4 钙磷代谢关键基因表达

在 80 mg 肾脏样品中加入 1 mL Trizol 试剂 (TaKaRa, 日本) 提取总 RNA。依照试剂盒 (TaKaRa, 日本) 说明书将提取的 RNA (1 μg) 反转录为 cDNA。根据 GenBank 中鸡的基因序列,使

用 Primer Premier 3.0 设计引物(表 2)。荧光定量 PCR 反应体系(20 μL):2 μL cDNA,10 μL SYBR Green 2×Mix,上、下游引物各 1 μL(100 nmol/L),6 μL ddH₂O。反应条件:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 15 s,退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,40 个循环。以 β-肌动蛋白(β-actin)作为实时荧光定量 PCR 的内参基因。采用 2^{-ΔΔCt}法计算目的基因表达量。

表 2 实时定量 PCR 引物序列
Table 2 Primer sequences for real-time qPCR

基因名 Gene names	引物序列 Primer sequences (5'—3')	大小 Size/bp	登录号 Accession No.	退火温度 Tm/℃
β-肌动蛋白 β-actin	F:GAGAAATTGTGCGTGACATCA R:CCTGAACCTCTCATTGCCA	152	NM_205518.1	60
克洛索蛋白 <i>Klotho</i>	F:CGGCTCTTCTTCTTGCATC R:CCCAGGGAAGGTTGTGAGAT	229	XM_417105.5	61
成纤维生长因子受体 1 <i>Fgf1</i>	F:CTTCTCCGTCAACGTCTCAG R:GTTCCGGCTTGGTGTATCC	103	NM_205510.1	59
1α-羟化酶 1α-hydroxylase	F:ATAGCACAAGCCACTTTCAC R:CAGTAGTCACATTCCCATCCT	222	XM_422077.4	58

1.5.5 粪钙、磷含量及代谢率

42 日龄时,每个组选取 6 只接近平均体重的鸡转移到代谢笼,单笼饲养。采用全收粪法进行代谢试验,预饲 5 d 后禁食排空 48 h,待适应后进入正试期。代谢笼下放置集粪盘,每只鸡单独收粪,将其中混有的皮屑和羽毛用镊子夹出,其余收集于装有适量 10% 盐酸的自封袋内,-20 ℃ 保存。连续收集 4 d,准确记录正试期每只鸡采食量和排泄量。试验结束,将每只鸡 4 d 的粪样混匀,65 ℃ 烘干至恒重,置室温下回潮 24 h 后粉碎过 40 目筛并编号,测定其中钙、磷含量,测定方法同胫骨灰分中钙、磷含量的测定。利用以下公式计算钙、磷代谢率:

某养分代谢率(%)=[(食入营养分量-粪中该养分分量)/食入营养分量]×100。

1.6 数据统计分析

试验数据采用 SPSS 17.0 软件中的 ANOVA 过程进行单因子方差分析,当处理效应差异显著时进行 Duncan 氏法多重比较。 $P<0.05$ 表示差异显著, $0.05\leq P<0.10$ 表示有趋势。试验数据均以平均值±标准误(mean±SE)表示。

2 结 果

2.1 植酸酶对 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能的影响

由表 3 可知,与 PC 组相比,MP 组体重、ADG、ADFI 降低($P>0.05$);与 MP 组相比,各植酸酶添加组体重、ADG、ADFI 显著提高($P<0.05$),同时 MP+4000、LP+4000 组显著高于 PC 组($P<0.05$)。

2.2 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡胫骨指标的影响

由表 4 可知,与 PC 组相比,MP 组胫骨骨密度显著降低($P<0.05$);与 MP 组相比,MP+2000、MP+4000 组胫骨骨密度显著升高($P<0.05$)。与 PC 组相比,MP 组胫骨脱水脱脂重显著降低($P<0.05$);与 MP 组相比,各植酸酶添加组胫骨脱水脱脂重显著升高($P<0.05$),除 LP+2000 组外,其他各组显著高于 PC 组($P<0.05$)。与 PC 和 MP 组相比,LP+2000、LP+4000 组胫骨灰分含量显著降低($P<0.05$)。与 PC 组相比,MP 组胫骨磷、钙含量降低($P>0.05$);与 MP 和 PC 组相比,LP+2000 组胫骨磷、钙含量显著降低($P<0.05$)。

表 3 植酸酶对 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能的影响

Table 3 Effects of phytase on growth performance of yellow-feathered chickens aged from 1 to 42 days

项目 Items	组别 Groups						P 值 P-value
	PC	MP	MP+2000	MP+4000	LP+2000	LP+4000	
体重 BW/g	1 372.52 ±23.28 ^{bc}	1 333.13 ±12.79 ^c	1 411.79 ±11.65 ^{ab}	1 450.00 ±20.54 ^a	1 416.67 ±12.83 ^{ab}	1 441.33 ±20.97 ^a	<0.001
平均日增重 ADG/g	31.83 ±0.55 ^{bc}	30.89 ±0.30 ^c	32.76 ±0.28 ^{ab}	33.67 ±0.49 ^a	32.88 ±0.31 ^{ab}	33.46 ±0.50 ^a	<0.001
平均日采食量 ADFI/g	60.22 ±0.60 ^{bc}	59.12 ±0.62 ^c	63.13 ±0.34 ^a	63.13 ±0.74 ^a	62.32 ±0.44 ^{ab}	63.44 ±1.92 ^a	0.006
料重比 F/G	1.89 ±0.03	1.92 ±0.02	1.93 ±0.02	1.88 ±0.01	1.90 ±0.01	1.90 ±0.03	0.396

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.

表 4 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡胫骨指标的影响

Table 4 Effects of phytase on tibia indexes of yellow-feathered chickens at 42 days of age

项目 Items	组别 Groups						P 值 P-value
	PC	MP	MP+2000	MP+4000	LP+2000	LP+4000	
断裂强度 Broking strength/N	20.13±1.15	17.75±1.31	21.12±1.24	22.63±1.74	18.79±0.73	20.17±1.02	0.120
骨密度 Bone density/ (g/cm ³)	0.14±0.00 ^{ab}	0.13±0.00 ^c	0.14±0.00 ^{ab}	0.15±0.00 ^a	0.13±0.00 ^{abc}	0.13±0.00 ^{bc}	0.016
脱水脱脂重 Dehydrated and degreased weight/g	3.80±0.08 ^b	3.54±0.04 ^c	4.07±0.07 ^a	4.13±0.12 ^a	3.96±0.06 ^{ab}	4.10±0.04 ^a	<0.001
灰分含量 Ash content/%	47.23±0.63 ^a	46.48±0.34 ^a	47.49±0.26 ^a	47.15±0.34 ^a	44.78±0.42 ^b	45.15±0.59 ^b	<0.001
磷含量 Phosphorus content/%	8.79±0.21 ^a	8.43±0.12 ^{ab}	8.76±0.12 ^a	8.70±0.08 ^a	7.86±0.07 ^c	8.22±0.14 ^{bc}	<0.001
钙含量 Calcium content/%	16.88±0.22 ^a	16.34±0.23 ^{ab}	16.94±0.17 ^a	16.52±0.14 ^{ab}	15.60±0.23 ^c	16.05±0.17 ^{bc}	<0.001

2.3 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡血清生化指标的影响

由表 5 可知,与 PC 组相比,MP 组血清 AKP 活性显著升高 ($P<0.05$);与 MP 组相比,各植酸酶添加组血清 AKP 活性显著降低 ($P<0.05$),但与 PC 组相比差异不显著 ($P>0.05$)。

2.4 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡钙磷代谢关键基因表达的影响

由表 6 可知,与 MP 和 PC 组相比,MP+4000、LP+4000 组肾脏克洛索蛋白 (*Klotho*) 表达量有上升的趋势 ($P=0.092$)。与 PC 组相比,MP 组肾脏成纤维生长因子受体 1 (*Fgfr1*) 表达量上升 ($P>0.05$);与 MP 和 PC 组相比,MP+4000 组肾脏 *Fgfr1* 表达量显著上升 ($P<0.05$)。

表 5 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡血清生化指标的影响

Table 5 Effects of phytase on serum biochemical indexes of yellow-feathered chickens at 42 days of age

项目 Items	组别 Groups						P 值 P-value
	PC	MP	MP+2000	MP+4000	LP+2000	LP+4000	
钙含量 Calcium content/(mmol/L)	3.17±0.08	3.10±0.12	3.35±0.05	3.37±0.07	3.19±0.04	3.27±0.09	0.118
磷含量 Phosphorus content/(mmol/L)	1.09±0.09	1.03±0.05	1.13±0.06	1.26±0.06	1.04±0.05	1.10±0.07	0.171
碱性磷酸酶活性 AKP activity/ (U/L)	92.11±1.24 ^b	141.09±3.69 ^a	79.25±1.77 ^b	73.90±1.29 ^b	90.82±1.99 ^b	66.89±0.96 ^b	0.037

表 6 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡钙磷代谢关键基因表达的影响

Table 6 Effects of phytase on the expression of key genes of calcium and phosphorus
metabolism of yellow-feathered chickens at 42 days of age

项目 Items	组别 Groups						P 值 P-value
	PC	MP	MP+2000	MP+4000	LP+2000	LP+4000	
克洛索蛋白 <i>Klotho</i>	1.04±0.13	0.89±0.14	1.13±0.11	1.50±0.26	1.04±0.21	1.32±0.13	0.092
成纤维生长因 子受体 1 <i>Fgf1</i>	1.04±0.13 ^b	0.89±0.20 ^b	1.35±0.14 ^b	1.81±0.10 ^a	1.09±0.16 ^b	1.24±0.18 ^b	0.006
1α-羟化酶 1α-hydroxylase	1.02±0.08	1.44±0.31	1.45±0.35	0.80±0.22	1.21±0.23	1.41±0.27	0.382

2.5 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡粪钙、磷含量及代谢率的影响

由表 7 可知,与 PC 组相比,MP 组粪钙含量降低 ($P>0.05$);与 MP 组相比,LP+4000 组粪钙含量显著降低 ($P<0.05$),同时显著低于 PC 组 ($P<0.05$)。与 PC 组相比,MP 组粪磷含量降低 ($P>0.05$);与 MP 组相比,LP+2000、LP+4000 组粪磷含量显著降低 ($P<0.05$);且 MP+4000、LP+2000、LP+4000 组显著低于 PC 组 ($P<0.05$)。与 PC 组相比,MP 组钙代谢率显著升高 ($P<0.05$);与 MP 组相比,MP+4000 组钙代谢率显著降低 ($P<0.05$);LP+4000 组钙代谢率显著高于 PC 组 ($P<0.05$)。与 MP 和 PC 组相比,LP+4000 组磷代谢率有升高的趋势 ($P=0.067$)。

3 讨 论

3.1 植酸酶对 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能的影响

单胃动物不能有效地利用植物性饲料中的植酸磷,需额外添加无机磷,造成磷资源的浪费和成本增加^[17]。植酸酶水解植酸,产生肌醇和正磷酸,解除抗营养作用,释放氨基酸、消化酶、脂肪酸等,促进动物对营养物质吸收,改善生长性能^[18]。研究表明,饲粮中钙、磷水平降低会影响肉鸡生长性能^[19-20],饲粮添加植酸酶可提高生长性能,且添加量越高效果越明显^[21-22]。本试验表明,饲粮钙、磷水平降低,试验鸡体重、ADG、ADFI 降低,但与正常钙、磷水平组相比,差异不显著,可能是钙、磷水平的减少不足以影响试验鸡生长性能^[23]。饲粮添加 2 000、4 000 FTU/kg 植酸酶均可提高体重、ADG、ADFI,且 4 000 FTU/kg 添加组效果优于

2 000 FTU/kg添加组,说明低钙、磷水平饲粮添加高剂量植酸酶可提高1~42日龄黄羽肉鸡生长性能。

表 7 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡粪钙、磷含量及代谢率的影响
Table 7 Effects of phytase on contents and metabolic rates of calcium and phosphorus in faeces of yellow-feathered chickens at 42 days of age

项目 Items	组别 Groups						P 值 P-value
	PC	MP	MP+2000	MP+4000	LP+2000	LP+4000	
钙含量 Calcium content	2.07±0.05 ^a	1.78±0.19 ^{ab}	2.06±0.18 ^a	2.04±0.13 ^a	1.49±0.09 ^{bc}	1.30±0.09 ^c	<0.001
磷含量 Phosphorus content	1.67±0.07 ^a	1.40±0.16 ^{ab}	1.49±0.11 ^{ab}	1.36±0.09 ^b	1.02±0.05 ^c	0.90±0.06 ^c	<0.001
钙代谢率 Metabolic rate of calcium	17.12±3.38 ^{bc}	28.92±3.26 ^a	26.97±2.85 ^{ab}	11.99±2.59 ^c	19.39±4.15 ^{abc}	29.41±2.89 ^a	0.002
磷代谢率 Metabolic rate of phosphorus	20.79±3.88	26.75±1.03	26.07±1.34	26.26±2.55	25.92±2.87	32.73±1.89	0.067

3.2 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡胫骨指标的影响

骨折断力、骨灰分、骨密度、骨重量都是衡量骨骼矿化的常用指标,可反映出饲粮中矿物质,特别是钙、磷的平衡情况^[24-25]。研究表明,钙、磷缺乏会导致结构性骨被吸收,引起骨质疏松^[26],低钙、磷水平饲粮添加植酸酶可提高骨密度和脱水脱脂重^[27-28]。本试验结果表明,低钙、磷水平饲粮显著降低了胫骨骨密度、脱水脱脂重,MP+2000、MP+4000 组胫骨骨密度显著升高,各植酸酶添加组胫骨脱脂脱水重显著升高,且 4 000 FTU/kg 添加组效果优于 2 000 FTU/kg 添加组和 PC 组,但植酸酶完全替代磷酸氢钙对胫骨骨密度无显著影响,可能植酸酶的添加只是缓解了软骨细胞增生引起的骨密度降低,并未完全消除^[29]。研究表明,机体摄入钙、磷不足时会动员骨组织中钙、磷,导致骨中钙、磷、灰分含量降低^[30],添加植酸酶可提高胫骨灰分、钙、磷含量^[31-32]。本试验表明,低钙、磷水平饲粮降低了胫骨灰分、磷、钙含量,MP+2000、MP+4000 组胫骨灰分、钙、磷含量提高;但 LP+2000、LP+4000 组胫骨灰分、钙、磷含量降低,可能无磷酸氢钙添加时胫骨灰分、钙、磷含量降低严重,添加植酸酶也无法弥补^[33]。

3.3 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡血清生化指标的影响

AKP 是畜禽对磷需要的敏感指标^[34]。研究

表明,饲粮磷水平降低,血清 AKP 活性升高^[35],饲粮添加植酸酶可降低血清 AKP 活性^[36]。本试验结果表明,降低饲粮钙、磷水平,血清 AKP 活性显著增加,饲粮添加 2 000、4 000 FTU/kg 植酸酶可显著降低血清 AKP 活性。也有研究表明,植酸酶添加水平越高,血清 AKP 活性降低越明显^[37],本试验中,4 000 FTU/kg 添加组与 2 000 FTU/kg 添加组相比血清 AKP 活性有所降低,但差异不显著,与本试验胫骨磷含量的研究结果相一致。

3.4 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡钙磷代谢关键基因表达的影响

肾脏作为机体钙、磷吸收最主要的器官之一,在调节钙磷平衡方面起到了尤为重要的作用^[38]。成纤维生长因子 23(Fgf23)可远距离作用于肾脏,通过 Fgf23-Klotho-Fgfr1 复合体抑制肾小管上皮细胞中Ⅱ型钠离子依靠磷转运载体 a(NaPi-Ⅱa)的表达来调节血磷平衡^[39]。研究表明,血磷增加超过机体所需量时,肾脏中 Fgfr1 表达量增多,肾脏对磷的重吸收减少^[40]。本试验结果表明,MP+4000 组肾脏 Fgfr1 基因的表达显著上调,降低了肾脏对磷的重吸收,维持机体磷平衡。

3.5 植酸酶对 42 日龄黄羽肉鸡粪钙、磷含量及代谢率的影响

研究表明,饲粮中添加植酸酶能有效地提高钙、磷利用率,降低磷排泄量^[41-42]。本试验表明,

与 PC 组相比,LP+2000、LP+4000 组粪钙、磷含量显著降低,且效果优于 MP+2000、MP+4000 组;LP+4000 组钙、磷代谢率提高,且效果优于 MP+2000、MP+4000 组。这说明高剂量植酸酶完全替代磷酸氢钙可提高钙、磷代谢率,减少钙、磷排放,且饲粮钙、磷水平越低,植酸酶发挥作用的效果越显著^[43]。

4 结 论

① 低钙、磷水平饲粮添加高剂量植酸酶可提高 1~42 日龄黄羽肉鸡生长性能,提高胫骨脱水脱脂重,降低血清 AKP 活性。

② 中钙、磷水平饲粮添加植酸酶可提高胫骨骨密度,上调肾脏 *Fgf1* 基因的表达。

③ 仅考虑生长性能、血清生化指标、胫骨指标及钙磷代谢指标,1~42 日龄岭南黄羽肉鸡玉米-豆粕型饲粮中添加高剂量植酸酶可以部分或者完全代替磷酸氢钙。

参考文献:

- [1] 刘开武,戴红安,邢建成.矿物质缺乏对家禽生理功能的影响[J].湖北畜牧兽医,2008(1):14-15.
- [2] 刘禹含.不同钙水平日粮对仔猪各肠段钙主动吸收影响的比较研究[D].硕士学位论文.长春:吉林农业大学,2013:4-45.
- [3] GUGGENBUHL P, WACHE Y, NUNES C S, et al. Comparative effects of three phytases on the phosphorus and calcium use in the weaned piglet[J]. Journal of Animal Science, 2012, 90(Suppl.4): 95-97.
- [4] GREINER R, LIM B L, CHENG C W, et al. Pathway of phytate dephosphorylation by β -propeller phytases of different origins[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2007, 53(4): 488-495.
- [5] 李光辉.微量元素间及其与营养素之间的协同与拮抗作用[J].乳业科学与技术,2005,27(2):80-82.
- [6] YU S K, KVIDTGAARD M F, ISAKSEN M F, et al. Characterization of a mutant *Buttiauxella* phytase using phytic acid and phytic acid-protein complex as substrates[J]. Animal Science Letters, 2014, 1(1): 18-32.
- [7] ADEOLA O, LAWRENCE B V, SUTTON A L, et al. Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs[J]. Journal of Animal Science, 1995, 73(11): 3384-3391.
- [8] ALMEIDA F N, SULABO R C, STEIN H H. Effects of a novel bacterial phytase expressed in *Aspergillus oryzae* on digestibility of calcium and phosphorus in diets fed to weanling or growing pigs[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2013, 4(1): 8.
- [9] SELLE P H, RAVINDRAN V. Microbial phytase in poultry nutrition[J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 135(1/2): 1-41.
- [10] 张胜燕.植酸酶在动物生产中应用的研究进展[J].家畜生态学报,2015,36(2):84-86.
- [11] 侯爽,王昕陟.植酸酶对畜禽微量元素利用影响的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2018(1):74-76.
- [12] 葛文华,柯昌娇,郑惠文,等.低锌水平秸秆饲粮中添加植酸酶对 5~16 周龄五龙鹅生长性能、胫骨发育及抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2017,29(7):2357-2365.
- [13] PIRGOZLIEV V, BEDFORD M R, ODUGUWA O, et al. The effect of supplementary bacterial phytase on dietary metabolisable energy, nutrient retention and endogenous losses in precision fed broiler chickens[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2012, 96(1): 52-57.
- [14] 郝甜甜,杜红方.植酸酶在饲粮中超量添加的研究进展[J].动物营养学报,2017,29(2):382-388.
- [15] 乔伟.植酸酶超量添加理论和应用效果[J].饲料工业,2016,37(12):59-62.
- [16] 韩进诚,杨晓丹,杨凤霞,等.微生物植酸酶与 1~21 日龄肉鸡饲粮无机磷当量模型研究[J].畜牧兽医学报,2008,39(7):907-914.
- [17] 孟艳莉,张军民,赵青余.植物植酸酶在饲料中应用的研究进展[J].饲料工业,2009,30(16):16-18.
- [18] 于明,边连全,程波.低磷日粮中添加植酸酶对生长猪生产性能及饲料中磷、钙和蛋白质表观消化率的影响[J].畜牧与兽医,2013,45(2):32-36.
- [19] 张芹,曾福海,邹增丁,等.耐热植酸酶对肉鸡生产性能、血液及骨骼钙磷含量的影响[J].中国饲料,2010(3):33-36,41.
- [20] 唐亚东,郑涛,左建军,等.25-OH-VD₃ 和植酸酶对肉鸡生长性能及血清生化指标的影响[J].饲料工业,2011,32(23):20-24.
- [21] 廖志超,夏中生,封伟贤,等.植酸酶对肉鸡生长性能及饲粮养分利用率的影响[J].畜牧与兽医,2010,42(10):33-37.
- [22] TAHERI H R, JABBARI Z, ADIBNIA S, et al. Effect of high-dose phytase and citric acid, alone or in combination, on growth performance of broilers given diets severely limited in available phosphorus[J]. British Poultry Science, 2015, 56(6): 708-715.

- [23] 蒋显仁,罗发洪,张海军,等.日粮非植酸磷水平与植酸酶来源对肉鸡生产性能、血清生化指标和胫骨指标的影响[C]//第二届全国家禽营养与饲料科技研讨会论文集.北京:中国畜牧兽医学会,2007:302-307.
- [24] ONYANGO E M, HESTER P Y, STROSHINE R, et al. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels[J]. Poultry Science, 2003, 82(11): 1787-1791.
- [25] 李恒芝,贺志雄,颜琼娴,等.妊娠期母体营养调控子代骨骼发育与代谢的研究进展[J].基因组学与应用生物学,2015,34(8):1663-1668.
- [26] FLEMING R H, MCCORMACK H A, MCTEIR L, et al. Digitised fluoroscopy (DF) predicts breaking strength in osteoporotic avian bone *in vivo*[J]. British Poultry Science, 1998, 39(Suppl.1):49-51.
- [27] 徐晓娜,王宝维,葛文华,等.植酸酶对五龙鹅屠宰性能及胫骨指标的影响[J].中国畜牧杂志,2014,50(1):30-34.
- [28] CHUNG T K, RUTHERFURD S M, THOMAS D V, et al. Effect of two microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-phosphorus diets for broilers[J]. British Poultry Science, 2013, 54(3):362-373.
- [29] 葛文华,柯昌娇,郑惠文,等.低锌水平秸秆饲料中添加植酸酶对 5~16 周龄五龙鹅生长性能、胫骨发育及抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2017,29(7):2357-2365.
- [30] 徐晓娜,李立文.植酸酶在肉鸡日粮中应用效果的研究进展[J].饲料博览,2013,(5):29-32.
- [31] SHIRLEY R B, EDWARDS H M, Jr. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance[J]. Poultry Science, 2003, 82(4):671-680.
- [32] MANOBHAVAN M, ELANGO VAN A V, SRIDHAR M, et al. Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2016, 100(1):93-100.
- [33] 朱连勤.不同的日粮磷水平下蛋用鸡生长、骨骼发育产蛋性能以及植酸酶应用效果的研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2004:3-56.
- [34] 杨维仁,王庆云,杨在宾,等.不同无机磷水平日粮添加植酸酶对肉鸡生长性能和血清矿物质的影响[J].中国农业大学学报,2008,13(4):87-92.
- [35] 张现玲,梁陈冲,于会民,等.新型耐热植酸酶对肉仔鸡生长性能及血清生理生化指标的影响[J].畜牧兽医学报,2013,44(4):570-576.
- [36] 黄翔,李泽英,刘北华,等.低磷日粮添加植酸酶对肉鸡血清生化指标和养分利用率的影响[J].畜牧兽医科学,2017(8):91-92.
- [37] 孙宏选,高秀华,杨禄良.玉米-豆粕型日粮中添加高剂量植酸酶对肉鸡生长性能和血清生化指标的影响[J].中国畜牧兽医,2011,38(4):11-15.
- [38] 卜舒扬.不同产蛋期蛋鸡小肠及肾脏钙磷代谢相关因子表达变化的研究[D].硕士学位论文.沈阳:沈阳农业大学,2017:4-36.
- [39] NAKATANI T, SARRAJ B, OHNISHI M, et al. *In vivo* genetic evidence for Klotho-dependent, fibroblast growth factor 23 (Fgf23)-mediated regulation of systemic phosphate homeostasis[J]. The FASEB Journal, 2009, 23(2):433-441.
- [40] 金炯娜,翟福利,马厚勋.Klotho、成纤维细胞生长因子-23 及其基因表达与原发性骨质疏松症关系[J].国际老年医学杂志,2010,31(1):24-29.
- [41] 邝声耀,唐凌,白国勇,等.植酸酶对肉鸭生产性能及钙磷代谢的影响[J].中国畜牧杂志,2008,44(3):35-37.
- [42] 郭文文.饲料不同磷水平和钙磷比添加植酸酶对母猪和仔猪钙磷代谢的影响[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2015:16-17.
- [43] 贺丹艳.添加了植酸酶的生长肥育猪饲料中粗蛋白质和磷水平对其钙磷代谢的影响[J].广东饲料,2011,20(1):39-40.

Effects of Low Calcium and Phosphorus Diet Supplemented with High Dose Phytase on Growth Performance, Tibia Indexes and Calcium and Phosphorus Metabolism of Yellow-Feathered Chickens Aged from 1 to 42 Days

FAN Qiuli JIANG Shouqun* GOU Zhongyong LI Long LIN Xiajing WANG Yibing

(State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangdong

Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Institute of Animal Science,

Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The aim of this experiment was to study the effects of low calcium and phosphorus diet supplemented with high dose phytase on growth performance, tibia indexes and calcium and phosphorus metabolism of yellow-feathered chickens aged from 1 to 42 days. One thousand and eighty 1-day-old *Lingnan* yellow-feathered male chickens were randomly assigned to six groups with six replicates per group and 30 chickens per replicate. Chickens in the positive control group (PC group) fed a basal diet with normal dicalcium phosphate supplementation; chickens in medium calcium and phosphorus levels diet group (MP group) reduced by 50% dicalcium phosphate supplementation, chickens in MP+2000 and MP+4000 groups were supplemented with 2 000 and 4 000 FTU/kg phytase based on MP group, respectively; chickens in low calcium and phosphorus levels diet group (LP group) did not supplement with dicalcium phosphate, chickens in LP+2000 and LP+4000 groups were supplemented with 2 000 and 4 000 FTU/kg phytase based on LP group, respectively. The ratio of calcium to phosphorus remained at 1.4:1.0 in each group. The experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) the body weight, average daily gain and average daily feed intake of phytase supplementation groups were significantly higher than those of MP group ($P<0.05$), and those of MP+4000 and LP+4000 groups were significantly higher than those of PC group ($P<0.05$). 2) The tibia bone density of MP+2000 and MP+4000 groups was significantly higher than that of MP group ($P<0.05$); the dehydrated and degreased weight of tibia of phytase supplementation groups was significantly higher than that of MP group ($P<0.05$), and that of LP+4000, MP+2000 and MP+4000 groups was significantly higher than that of PC group ($P<0.05$); the tibia ash content of LP+2000 and LP+4000 groups was significantly lower than that of MP and PC groups ($P<0.05$); the tibia phosphorus and calcium contents of LP+2000 group were significantly lower than those of MP and PC groups ($P<0.05$). 3) The serum alkaline phosphatase activity of phytase supplementation groups was significantly lower than that of MP group ($P<0.05$). 4) The expression of fibroblast growth factor receptor 1 (*Fgfr1*) in kidney of MP+4000 group was significantly higher than that of MP and PC groups ($P<0.05$). 5) The fecal calcium content of LP+4000 group was significantly lower than that of MP group ($P<0.05$), and that of LP+2000 and LP+4000 groups was significantly lower than that of PC group ($P<0.05$); the fecal phosphorus content of LP+2000 and LP+4000 groups was significantly lower than that of MP group ($P<0.05$), and that of MP+4000, LP+2000 and LP+4000 groups was significantly lower than that of PC group ($P<0.05$); the calcium metabolism rate of LP+4000 group was significantly higher than that of PC group ($P<0.05$). In conclusion, low calcium and phosphorus diet supplemented with high dose phytase

* Corresponding author, professor, E-mail: 1014534359@qq.com

can improve the growth performance of yellow feathered chickens aged from 1 to 42 days, increased the dehydrated and degreased weight of tibia, reduce the serum alkaline phosphatase activity. Medium calcium and phosphorus diet supplemented with high dose phytase can improve tibia bone density, and up-regulate the expression of *Fgfr1* gene in kidney. Only considering the growth performance, serum biochemical indexes, tibia indexes and calcium and phosphorus metabolism index, high dose phytase can be used to partially or completely replace the dicalcium phosphate in the corn-soybean meal of *Lingnan* yellow feathered chickens aged from 1 to 42 days. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(4):1743-1753]

Key words: phytase; growth performance; tibia index; calcium and phosphorus metabolism; yellow-feathered chickens