

日粮添加壳聚糖对鹅生长性能、血脂及脂代谢相关基因表达的影响

盛东峰^{1,2} 赵悦¹ 胥蕾¹ 杨海明¹ 王杏龙¹ 王志跃^{1*}

(1.扬州大学 动物科学与技术学院,江苏 扬州 225009;

2.周口师范学院 生命科学与农学院,河南 周口 466001)

摘要 为研究日粮中添加不同剂量的壳聚糖对肉仔鹅生长性能、血脂成分、肝脏脂代谢关键酶及其 mRNA 表达的影响,探讨壳聚糖调控鹅脂质代谢的机理。选取 14 日龄扬州鹅公仔鹅 360 只,随机分为 5 组各 6 个重复,每个重复 12 只。即基础饲料组(对照组,C),基础饲料+250 mg/kg(I),基础饲料+500 mg/kg(II)、基础饲料+1 000 mg/kg(III)及基础饲料+2 000 mg/kg(IV)壳聚糖组,试验期 56 d。结果表明:1)饲料中添加 250 和 500 mg/kg 的壳聚糖均能显著提高试验鹅日采食量(ADFI)、日增重(ADG)及 70 日龄体重($P<0.05$);2)在 250~1 000 mg/kg 范围内,和对照组相比,试验组血清总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白(LDL)浓度显著降低($P<0.05$);不同处理组间血清甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)差异不显著($P>0.05$);3)饲料中添加 250 和 500 mg/kg 的壳聚糖能够显著降低肝脏乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)活性,并抑制 ACC 和脂肪酸合成酶(FAS)mRNA 的表达($P<0.05$)。试验鹅肝脏过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)mRNA 表达水平随着壳聚糖水平提高,显著上调;4)在 250~2 000 mg/kg 范围内,壳聚糖添加量不影响试验鹅肝脏 FAS 及 LPL 活性($P>0.05$)。但 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖能显著降低其肝脏 HL 活性。综上所述,壳聚糖能够通过影响肝脏脂肪代谢酶活性及脂代谢相关基因的表达,调控试验鹅血脂代谢,提高其生长性能,添加量以 250~500 mg/kg 效果最佳。

关键词 壳聚糖; 鹅; 生长性能; 血脂; 基因表达

中图分类号 S835

文章编号 1007-4333(2018)04-0060-09

文献标志码 A

Effect of dietary chitosan on growth performance, serum lipid and the expression of genes related to lipid metabolism in geese

SHENG Dongfeng^{1,2}, ZHAO Yue¹, XU Lei¹, YANG Haiming¹, WANG Xinglong¹, WANG Zhiyue^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. School of Life Science and Agronomy, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466001, China)

Abstract The objective of this study was to investigate the effect of dietary chitosan (CTS) levels on the growth performance and mechanism of dietary CTS levels on the hepatic lipid metabolism of geese. Three hundred and sixty 14-day-old healthy Yangzhou male geese were randomly divided into five groups with 6 replicates per group and 12 geese each. Geese were respectively fed with basal diet (control group), normal diet + 250 mg/kg CTS diet (group I), normal diet + 500 mg/kg CTS diet (group II), normal diet + 1 000 mg/kg CTS diet (group III) and normal diet + 2 000 mg/kg CTS diet (group IV) for fifty and six days, respectively. The results showed that: 1) Supplement of 250 - 500 mg/kg CTS significantly increased ADFI and ADG and 70-day-old body weight ($P<0.05$); 2) Compared with the control group, serum TC and LDL concentrations significantly decreased with supplement of CTS within 250 - 1 000 mg/kg range ($P<0.05$). Serum TG and HDL-C concentration had no significant difference among five groups; 3) Supplement of 250 - 500 mg/kg CTS reduced ACC activity and the mRNA expression of ACC and FAS. The expression of PPAR- α was up-regulated with the increasing of CTS dose; 4) The CTS dose had no significant effect on FAS and LPL activity in

收稿日期: 2017-06-06

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-42-11); 江苏省农业三新工程项目(SXGC[2016]323)

第一作者: 盛东峰, 博士研究生, 副教授, 主要从事畜产品安全生产与加工研究。E-mail: shengdongfeng@126.com

通讯作者: 王志跃, 教授, 博士生导师, 主要从事家禽育种与营养研究。E-mail: dkwzy@263.net

the liver ($P>0.05$). The HL activities of 500 and 1 000 mg/kg CTS groups were significantly decreased. In conclusion, supplemental CTS increased ADFI and ADG, decreased serum TC and LDL levels, affected liver lipid metabolism enzyme activity and related genes expression. The optimal dietary of 250 - 500 mg/kg chitosan in diet was recommended.

Keywords chitosan; goose; growth performance; serum lipid; gene expression

体脂是动物贮存能量的主要形式。适量的体脂有利于提高动物的健康水平,增加禽产品风味和营养价值。但体脂过多又容易造成饲料利用率降低、屠体质量下降、环境污染等不良后果,生产优质、绿色、无污染的畜禽产品,是现代畜牧业的发展方向^[1]。壳聚糖是甲壳素经脱乙酰化反应后生成的一种带正电荷的天然高分子多糖。具有多种生物学活性,如抑菌、抗氧化、抗肿瘤和免疫调节等^[2]。作为一种新型饲料添加剂,壳聚糖具有明显的促进动物生长、改善产品品质、调控脂肪代谢、增强免疫力及提高抗氧化的功能^[3]。随着禽产品脂肪含量偏高问题的不断出现,壳聚糖调控脂质代谢的功能日益被关注。壳聚糖可减少肠道对脂肪的吸收,增加粪便中脂肪的排出,减少体脂沉积,并降低血清总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平^[4]。目前国内外的相关研究主要集中在鼠上^[5],畜禽方面的研究相对较少,鹅则鲜有报道。本研究拟通过分析在鹅饲料中添加不同水平的壳聚糖对生长性能、血清脂代谢、肝脏脂肪酶活性及PPAR- α 、FAS、ACC等基因mRNA表达的影响,初步探讨壳聚糖调控鹅脂肪代谢机理。

1 材料与方 法

饲养试验在扬州大学实验农牧场进行。

1.1 试验材料

壳聚糖,由济南海得贝海洋生物工程有限公司提供。产品分子式为 $(C_6H_{11}NO_4)_n$,原白色,无味,半透明粉末状,粒度0.178 mm,脱乙酰度 $>95.38\%$,粘度50 mPa·s。

乙醚、无水乙醇、异丙醇、三氯甲烷为分析纯,实验室自备;定量PCR反应引物由上海英拜生物工程有限公司合成。

低温高速离心机(Kaltis390)、超微量可见分光光度计(TGem)、实时荧光定量PCR仪(ABI Q6)、移液器(Eppendorf)、电泳凝胶成像系统(BIO-RAD)、梯度PCR仪(Applied Biosystems)、全自动生化分析仪(Uni Cel Dxc 800 Syn Chron,美国)。

1.2 试验动物及饲养管理

选用同一批出雏、饲养管理一致、体重相近的14日龄扬州鹅公仔鹅360只,按《扬州鹅饲养技术规程》(DB32/T 1184—2008),采用自然光照,网上平养。试验周期56 d,自由采食,统一供应清洁饮水,定期消毒,保持圈舍卫生。

1.3 试验日粮

基础饲料为玉米-豆粕-稻壳型日粮,营养标准参照NRC(1994)及本实验室相关鹅营养学研究成果^[6],按照鹅的生长发育阶段营养需要配制。基础日粮成分组成及营养水平见表1。

1.4 试验设计

360只扬州鹅公仔鹅,采用单因子完全随机试验设计,按初始体重差异不显著的原则,随机分成5个试验组,每组6个重复,每个重复12只。试验分组及处理见表2。

1.5 样品采集与指标测定

1.5.1 样品采集

70日龄时,于08:00(此前夜间禁食12 h,自由饮水),以每个重复(12只)为单位,称重。每个重复中随机选取2只接近平均体重的试验鹅,无菌翅静脉采血5 mL,室温条件下静置30 min,4℃、3 000 r/min低速离心15 min,取上清液,编号分装于1.5 mL指型管中,-20℃保存备用,用于血清指标的测定。采血后屠宰试验鹅,迅速在肝脏相同位置取黄豆大小肝脏(约0.5 g,3粒)冻存管液氮速冻,并置于-70℃冰箱中保存,用于脂肪代谢关键基因表达分析。剩余肝脏迅速放入-40℃冰箱中冻存,用于肝脏脂肪代谢酶活性测定。

1.5.2 生化指标测定

按照南京建成生物工程研究所试剂盒提供的方法,采用全自动生化分析仪(Uni Cel Dxc 800 Syn Chron,美国)测定同一批血清样中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。

FAS、ACC酶活采用酶联免疫试剂盒(美国RD公司)测定。MDA、LPL、HL酶活采用相应的测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)

项目 Item	14~28 日龄 Day 14-28	29~70 日龄 Day 29-70
原料 Material ingredient		
玉米/% Corn	61.55	63.00
豆粕/% Soybean	29.55	25.25
稻壳/% Rice hull	4.95	8.10
碳酸钙/% Limestone	1.25	1.00
磷酸氢钙/% Calcium hydrogen phosphate	1.25	1.25
食盐/% Salt	0.30	0.30
DL-蛋氨酸/% DL-methionine	0.15	0.10
预混料/% Premix ^①	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient level ^②		
代谢能/(MJ/kg) ME	11.20	11.14
粗蛋白质/% CP	18.71	16.91
粗纤维/% CF	4.89	6.02
钙/% Ca	0.95	0.86
总磷/% TP	0.64	0.63
L-赖氨酸/% L-lysine	0.97	0.89
蛋氨酸/% Methionine	0.43	0.36

注:①每千克预混料含;②营养水平为计算值。

Note:① In one kilogram of premix;② Calculated values.

表 2 试验动物分组及处理

Table 2 Grouping and disposition of trial geese

组别 Group	处理 Disposition
对照 CK	玉米+豆粕型基础饲粮
I	基础饲粮+250 mg/kg 壳聚糖
II	基础饲粮+500 mg/kg 壳聚糖
III	基础饲粮+1 000 mg/kg 壳聚糖
IV	基础饲粮+2 000 mg/kg 壳聚糖

1.5.3 PPAR、FAS、ACC 基因 mRNA 表达量的测定

将肝脏样品从冰箱中取出,迅速剪取约 50~100 mg,采用 Invitrogen 公司的 Trizol reagent 提取各处理组样品的总 RNA,并通过琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。不同个体相同处理的总 RNA 采

用半定量 RT-PCR 方法检测肝脏组织中 PPAR α 、ACC 和 FAS 基因表达情况。根据美国国立生物技术信息中心(NCBI)公布的鹅的相关基因序列,应用 Premier 5.0 软件设计引物。以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参基因,检测各 RNA 样品的完整性和反转录效率,目的基因 mRNA 含量表示为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 目的基因。引物购自上海英拜生物技术公司,详细资料见表 3。

PCR 扩增条件:95 °C 预热 30 s,45 个 PCR 循环,每个循环中 95 °C 变性 15 s,55~60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30~40 s。反应结束后用 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳检测 DNA 条带,并在紫外分析仪上进行电泳图像分析。每个样品的目的基因浓度与内参基因浓度的比即为此样品此基因 mRNA 的相对丰度。

表3 目的基因及 β -actin 的引物序列
Table 3 Primers of targeted genes and β -actin

名称 Name	引物序列 Primer sequence	产品长度/bp Product size
β -actin-F	5' CAACGAGCGGTTTCAGGTGT 3'	96
β -actin-R	5' ATGATGGAGTTGAAGGTGGTCT 3'	
FAS-F	5' TGGGAGTAACACTGATGGCTTT 3'	109
FAS-R	5' TCCAGGCTTGATACCACATTCT 3'	
ACC-F	5' ATGCCTCCGAGAACCCTAAACTA 3'	166
ACC-R	5' CGAAGACCACTGCCACTCCA 3'	
PPRA-a-F	5' TGTTGAAATACGGAGTTTATGAAGC 3'	229
PPPA-a-R	5' CAAATGATGGCAGCGACAAA 3'	

1.6 数据统计分析

试验数据用 Excel 2003 初步整理,用 SPSS 17.0 统计软件 ONE-WAY ANOVA 程序进行单因素方差分析,并采用 LSD 法进行多重比较。以 $P < 0.05$ 作为差异显著性判断标准。试验数据均以均数±标准差 (Mean±SD) 表示。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖对肉仔鹅体重变化的影响

壳聚糖对鹅生长性能的影响见表4。壳聚糖能够提高试验鹅70日龄体重。其中II组试验鹅体重显著高于对照组和其它试验各组 ($P < 0.05$)。和对照组相比, I 和 II 组 ADG 和 ADFI 分别显著

($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$) 提高, III 组、IV 组和对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。进一步分析显示, II 组试验鹅饲料消耗量与鹅增加体重比 (F/G) 显著低于其它处理组 ($P < 0.05$)。

2.2 壳聚糖对肉仔鹅血清脂代谢指标的影响

不同水平壳聚糖添加均能影响试验鹅血脂含量见表5。其中 I、II、III 组血清总胆固醇 (TC) 水平显著低于对照组 ($P < 0.05$); 和对照组相比, 试验组低密度脂蛋白 (LDL) 显著 ($P < 0.05$) 或极显著降低 ($P < 0.01$)。试验组血清甘油三酯 (TG) 随壳聚糖添加量的增加先降低后上升, 但各处理组间差异不显著 ($P > 0.05$)。试验组高密度脂蛋白 (HDL) 和对照组未见显著差异 ($P > 0.05$)。

表4 不同水平壳聚糖对 14~70 日龄扬州鹅生长性能的影响

Table 4 Effects of different chitosan levels on the growth performance of geese

项目 Item	组别 Group				
	CK	I	II	III	IV
初体重/g Initial body weight	413.47±7.33	413.69±8.98	413.19±12.20	412.50±10.87	413.89±9.44
末体重/g Final body weight	3 399.83±61.02 a	3 471.83±66.92 b	3 530.50±62.58 c	3 410.83±60.25 a	3 409.83±61.61 a
平均日增重/(g/d) ADG	53.49±0.15 a	54.60±0.34 b	55.67±0.19 c	53.54±0.29 a	53.50±0.31 a
平均日采食量/(g/d) ADFI	219.06±2.22 a	222.27±2.22 b	225.09±1.10 c	219.44±0.98 a	218.70±1.3 a
饲料消耗量/鹅增加 体重 F/G	4.10±0.05 b	4.07±0.03 ab	4.04±0.03 a	4.10±0.04 b	4.09±0.02 b

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

Note: Values with different lowercase letters within same row represent significant differences at $P < 0.05$. The same below.

表5 不同水平壳聚糖对70日龄扬州鹅血清脂代谢指标的影响

Table 5 Effects of different chitosan levels on serum lipid of 70 days geese mmol/L

项目 Item	组别 Group				
	C	I	II	III	IV
TC	3.79±0.18 ce	3.33±0.20 a	3.36±0.24 a	3.48±0.15 ad	3.65±0.33 bde
TG	1.23±0.11	1.16±0.10	1.08±0.10	1.13±0.18	1.15±0.21
LDL	1.19±0.14 c	0.88±0.11 a	0.89±0.15 a	1.09±0.14 bd	1.00±0.17 ad
HDL	1.58±0.29	1.48±0.27	1.74±0.25	1.56±0.33	1.64±0.27

2.3 壳聚糖对肉仔鹅肝脏脂肪代谢关键酶活的影响

壳聚糖对70日龄试验鹅肝脏脂肪代谢关键酶活性的影响见表6。饲料中添加250和500 mg/kg水平的壳聚糖能够显著抑制鹅肝脏ACC酶活性

($P < 0.01$)。而III和IV组和对对照组未见显著差异($P > 0.05$)。和对对照组相比,II、III组肝脂酶(HL)活性显著降低($P < 0.05$),I和IV差异不显著($P > 0.05$)。饲料中添加壳聚糖对肝脏FAS和LPL活性的影响均不显著($P > 0.05$)。

表6 不同水平壳聚糖对70日龄扬州鹅肝脏关键酶活的影响

Table 6 Effects of different chitosan levels on lipid metabolism related enzyme activities in liver of 70 days geese

项目 Item	组别 Group				
	CK	I	II	III	IV
FAS	345.45±20.12	343.23±44.62	351.92±12.18	347.82±57.36	350.39±22.28
ACC	5 240.91±631.55 ad	4 563.37±421.73 a	4 997.79±607.90 ab	5 412.61±171.89 bd	5 742.45±295.02 cd
LPL	339.23±23.40	333.48±14.32	341.64±21.52	348.59±19.54	338.41±23.82
HL	64.93±4.61 bd	64.57±0.44 bcd	58.59±5.41 ac	57.71±4.03 a	62.15±1.87 ad

2.4 壳聚糖对肉仔鹅肝脏脂肪代谢关键基因表达的影响

壳聚糖对70日龄试验鹅肝脏脂肪代谢相关基因表达的影响见表7。粮添加壳聚糖能够影响试验鹅肝脏中FAS、ACC mRNA的相对表达量。和对对照组相比,FAS/mRNA相对表达量II组极显著($P <$

0.01),I、III组显著下调($P < 0.05$)。饲料中添加250和500 mg/kg壳聚糖能够显著抑制ACC/mRNA的表达($P < 0.05$),但III和IV组和对对照组差异不显著($P > 0.05$)。日粮中添加壳聚糖能够上调PPAR- α 的mRNA表达水平,III、IV组显著高于对照组($P < 0.05$)。

表7 不同水平壳聚糖对70日龄扬州鹅肝脏脂质代谢相关基因表达的影响

Table 7 Effects of different chitosan levels on the expression of genes related to lipid metabolism of liver of 70 days geese

项目 Item	组别 Group				
	CK	I	II	III	IV
FAS	1.09±0.12 c	0.77±0.07 b	0.57±0.05 a	0.76±0.01 b	1.15±0.04 c
ACC	0.84±0.11 cd	0.67±0.05 ab	0.56±0.02 a	0.73±0.08 bd	0.87±0.05 cd
PPAR- α	0.39±0.05 a	0.46±0.02 ad	0.49±0.03 ad	0.57±0.08 bde	0.67±0.06 ce

3 讨论与结论

3.1 壳聚糖对肉仔鹅生长性能的影响

作为一种动物纤维素,壳聚糖可被消化酶分解,增殖肠道有益菌,保护肠粘膜完整性,促进肠道健康。通过分子携带的 NH_3^+ 与有害菌粘膜上的负电荷残基结合,壳聚糖可扰乱其正常代谢,抑制菌群增殖^[7-8],提高动物的免疫力^[9-10]。研究表明,壳聚糖能够增加试验鸡的增重速度,提高其生产性能^[11-12]。且添加 120 mg/kg 效果显著^[13]。鸭的研究显示,添加 1.2 g/kg 的壳聚糖能够实现较好的促生长效果^[14]。本研究结果表明,饲料中添加 250~2 000 mg/kg 的壳聚糖可提高试验鹅 ADFI、ADG 和 70 日龄体重,添加效果以 250~500 mg/kg 最优。

作为甲壳素的脱乙酰基产物,壳聚糖的性质与甲壳素来源、生产工艺和流程密切相关,不同厂家的产品粘度、分子量、水分等均不同;再加上试验动物类型、生长阶段及壳聚糖添加水平的差异,不同研究结果差别较大^[15-16]。日粮中添加 2% 的壳聚糖不影响试验鸡的体增重及料重比^[17]。但添加 3% 或 4% 的壳聚糖,试验鸡的日采食量、日增重均低于对照组 ($P < 0.05$)^[18]。与国外研究报道相似^[19-20]。低剂量的壳聚糖添加对动物生长有促进作用,而高剂量在造成适口性变差,采食量下降的同时,生产性能及添加效果均会下降。其原因有待进一步探讨。

3.2 壳聚糖对肉仔鹅血清脂代谢指标的影响

血清 TG、TC 是血脂代谢两个重要指标。其含量与机体脂肪及胆固醇代谢密切相关。研究发现,壳聚糖能够通过降低鼠血清中 TG 和 TC 的含量调控其脂肪代谢^[21-22]。在家禽的研究中,江国亮等^[23]发现,0.15% 壳聚糖能够显著降低肉仔鸡血清总甘油三酯和总胆固醇含量 ($P < 0.05$)。Li 等^[24]发现,添加 0.75% 分子量为 5、50 u 的壳聚糖能够显著降低麒麟鸡血清 TC ($P < 0.05$);其中 5 u 壳聚糖组血清 TG 显著低于其它处理组 ($P < 0.05$)。本研究显示,在饲料中添加 250~2 000 mg/kg 的壳聚糖均能降低试验鹅血清 TC 水平,且以 250~1 000 mg/kg 降低效果显著;壳聚糖有降低血清 TG 的趋势,但各试验组未见显著差异 ($P > 0.05$)。因此,壳聚糖对血脂的影响,不仅和试验动物有关,还与其分子量和添加水平有关。

HDL 是由肝脏合成并分泌的一种脂蛋白。其主要功能是将外周组织及血液中的 TC 运送至肝脏

代谢;LDL 恰恰相反,它将肝脏合成的 TC 运送到肝外组织中代谢^[25]。作为一种有效的降脂药物,壳聚糖对血清 LDL、HDL 影响的研究主要集中在鼠上,研究显示,壳聚糖能够通过升高 HDL,降低 LDL 水平,减少 TC 对肝脏的损害,维持机体 TC 代谢平衡^[26-28]。本研究结果表明,饲料中添加 250~2 000 mg/kg 的壳聚糖均能显著降低鹅血清 LDL 水平,但其对 HDL 影响不显著 ($P > 0.05$)。

作为一种高分子聚合物,壳聚糖在动物消化道内主要以凝胶形式存在。通过静电吸附、疏水和包埋作用,壳聚糖凝胶能够吸附大量的脂肪酸、胆固醇、胆汁酸等饲料脂类,大大减少饲料脂类和消化酶的接触,增加其从粪便中的排泄量,脂肪利用率下降,血脂水平随之降低^[4,29]。目前,壳聚糖对血脂影响的研究较多,但结果差别较大,刘静娜^[30]认为,壳聚糖降 TG 作用明显,但降 TC 作用不明显 ($P > 0.05$);李兆杰^[31]发现经壳聚糖灌胃处理 28 d 后,试验鼠血清 TC 降低,但 TG 含量升高;Khambualai 等^[32]指出,0.01%~0.06% 添加量不影响试验鼠血清 TC、TG ($P > 0.05$);Wang 等^[33]也强调,壳聚糖对鼠血清 LDL 无影响 ($P > 0.05$);在家禽研究中,吕丹娜等^[16]曾报道,添加 1% 壳聚糖对试验鸡血脂无影响 ($P > 0.05$)。本研究发现壳聚糖有一定的降血脂效果,但和高剂量组相比,250~500 mg/kg 添加量表现出更好的降 TC 和 LDL 效果,这说明壳聚糖调控脂肪代谢除了吸收、包埋作用外,可能还有其他途径。

3.3 壳聚糖对肉仔鹅肝脏脂肪代谢酶活性的影响及其分子机制

对禽类而言,脂肪酸主要由肝脏经从头合成途径生成,其中乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 和脂肪酸合成酶 (FAS) 是禽脂肪酸合成的 2 个关键酶。ACC 催化乙酰 CoA、三磷酸腺苷和二氧化碳合成丙二酰单酰 CoA,是脂肪酸从头合成的第一个限速酶。FAS 则催化丙二酰单酰 CoA 和乙酰 CoA 从头合成脂肪酸。因此,FAS、ACC 的活性及其 mRNA 的表达量对禽脂肪代谢具有重要的影响^[34]。已有研究结果显示,FAS、ACC 活性降低及其 mRNA 表达量减少,机体 TG、TC 沉积也相应减少^[28]。刘志友^[35]研究表明,低剂量壳聚糖能提高 28 d 蛋种鸡 ACC 活性及其 mRNA 表达水平,但对 56 d ACC 活性及其 mRNA 表达水平无影响。本试验结果表明,饲料中添加不同剂量的壳聚糖对鹅肝脏 FAS 活性无显

著影响,但 250 mg/kg、500 mg/kg 的壳聚糖能显著抑制肝脏 ACC 酶活性 ($P < 0.05$)。和壳聚糖对 FAS 及 ACC 酶活的影响不同,饲料中添加 250~1 000 mg/kg 的壳聚糖均能显著下调 FAS、ACC mRNA 的表达水平。这与江国亮等^[23]、刘志友^[35]及黎秋萍^[36]的研究结果相似。据此可以推测,鹅肝脏 FAS 和 ACC 酶活性,除与基因表达水平相关外,还应该有其他调控途径。

LPL 和 HL 均为脂肪水解酶,其主要功能是催化血液中富含脂质的脂蛋白降解,在 TG 的水解中扮演着重要角色。壳聚糖能通过提高 LPL 和 HL 的活性来调节内源性脂类的代谢,从而降低血清和肝脏中 TG 和 TC 水平^[37];壳聚糖有激活鼠肝脏 HL 活性及增强 LPL 活性的能力,且随着摄入时间的延长,这种效果越明显^[30];黎秋萍^[36]指出,中、低分子量(5u、2u)壳聚糖能显著提高麒麟鸡肝脏 LPL、HP 活性 ($P < 0.05$)。刘志友^[35]发现,在 250~2 000 mg/kg 范围内,壳聚糖对蛋种鸡 LPL 无显著性影响^[35]。本试验结果表明,添加 250~2 000 mg/kg 的壳聚糖对试验鹅肝脏 LPL 无明显影响。和前者^[35]的研究结果不同,饲料中添加 500~1 000 mg/kg 的壳聚糖能降低鹅肝脏 HL 活性。造成这种结果的原因,可能与本试验使用的分子量较低有关,较低分子量的壳聚糖更容易在胃肠道内吸收,调控肝脂代谢^[36]。

PPAR 是脂质代谢过程中的重要转录因子,与脂代谢紊乱、肥胖、糖尿病等多种疾病的发生密切相关。研究表明,壳聚糖能够上调试验鼠肝脏 PPAR- α 的基因表达,增强脂肪酸的 β 氧化,直接影响鼠体脂沉积^[30,38]。也能通过促进 PPAR- α 的蛋白表达,继而影响 HL 蛋白表达间接调控鼠脂肪代谢^[4]。在鸡的研究中也有相似结果^[35]。本研究结果显示,在 250~2 000 mg/kg 范围内,随着壳聚糖添加水平的提高,试验鹅肝脏 PPAR- α 表达水平逐渐升高,1 000 和 2 000 mg/kg 组显著高于对照组。具体原因有待进一步研究。

综上所述,壳聚糖能够通过提高日采食量,增加日增重提高试验鹅生长性能,并通过升高 HDL,降低 LDL 水平,降低肝脏 ACC 酶活性,下调 FAS、ACC 的 mRNA 及上调 PPAR 的 mRNA 的表达水平,直接或间接影响试验鹅血脂代谢。在本试验条件下,添加量 250~500 mg/kg 效果最佳。

参考文献 References

- [1] 盛东峰,朱自学,武安泉. 饲料营养元素对水禽腹脂沉积影响的研究[J]. 动物营养学报, 2016, 28(2): 303-309
Sheng D F, Zhu Z X, Wu A Q. A review of effects of dietary nutrients on abdominal fat deposition in waterfowls [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(2): 303-309 (in Chinese)
- [2] Zhang J, Zhang W, Mamadoba B, Xia W. A comparative study on hypolipidemic activities of high and low molecular weight chitosan in rats [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 51(4): 504-508
- [3] 李俊良. 壳聚糖对断奶仔猪免疫功能的影响及其调节机制的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014
Li J L. Effects of chitosan on immune function in weaned piglets and the underlying regulation mechanisms [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [4] 黄贵东. 壳聚糖及相关产物降脂活性和机制研究[D]. 广州: 广东药学院, 2015
Huang G D. Study on the lipid lowering effect and mechanism of chitosan and the related products [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2015 (in Chinese)
- [5] 申杰, 叶希韵, 沈菊, 金百胜, 王耀发. 壳聚糖对高脂血症小鼠降血脂及肝脏保护的作用[J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(9): 35-44
Shen J, Ye X Y, Shen J, Jin B S, Wang Y F. Studies on the effect of chito oligosaccharide on reducing lipid and protecting liver of chito oligosaccharide in hyperlipidemia mice [J]. *Journal of Northwest A&F University*, 2007, 35(9): 35-44 (in Chinese)
- [6] 施寿荣. 5~10 周龄扬州鹅能量和蛋白需要量的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2007
Shi S R. Research on energy and protein requirement for 5-10 week Yangzhou goose [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2007 (in Chinese)
- [7] 陈虹, 侯伟革, 臧素敏. 壳聚糖对鹌鹑生产性能和免疫功能的影响[J]. 经济动物学报, 2006, 10(1): 18-21
Chen H, Hou W G, Zang S M. Affect of Oligochitosan on production performance and immune function of quail [J]. *Journal of Economic Animal*, 2006, 10(1): 18-21 (in Chinese)
- [8] 徐元庆, 史彬林, 郭玮玮, 李倜宇, 李俊良. 壳聚糖对断奶仔猪免疫器官及胃肠道发育的影响[J]. 饲料工业, 2013, 34(3): 32-35
Xu Y Q, Shi B L, Guo W W, Li T Y, Li J L, Yu P, Guo X Y. Effects of chitosan on the development of immune organs and gastrointestinal tracts in weaned piglets [J]. *Feed Industry*, 2013, 34(3): 32-35 (in Chinese)
- [9] 李宗楠. 壳聚糖对蛋种鸡营养物质代谢及肠道相关指标的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016
Li Z N. Effects of chitosan on nutrient metabolism and

- intestine related indexes in breeding layers[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [10] Swiatkiewicz S, Arczewska A, Wlosek, Jozeflok D. Feed enzymes, probiotic or chitosan can improve the nutritional efficacy of broiler chicken diets containing a high level of distillers dried grains with solubles [J]. *Livestock Science*, 2014, 163: 110-119
- [11] 张丽英, 王宝维, 单虎, 巩青军, 朱风华. 壳聚糖对肉仔鸡体内胆固醇及 PUFA 含量的影响[J]. *中国家禽*, 1998(1): 19-20
Zhang L Y, Wang B W, Gong Q J, Zhu F H. Influence of chitosan on cholesterol and PUFA level in broiler[J]. *Chinese Poultry*, 1998(1): 19-20 (in Chinese)
- [12] 马小珍, 杨焯, 谢新东, 冯玉兰. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能和脂肪代谢的影响[J]. *福建农业大学学报*, 2001, 16(4): 30-34
Ma X Z, Yang Y, Xie X D, Feng Y L. Effect of chitosan on growth performance and lipometabolism of broiler chickens (male)[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 16(4): 30-34 (in Chinese)
- [13] 李阳, 常文环, 张姝, 郑爱娟, 刘国华, 蔡辉益, 刘伟. 饲料添加壳寡糖和干酪乳杆菌对肉鸡生长性能、肌肉品质及抗氧化性能的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(5): 1450-1461
Li Y, Chang W H, Zhang S, Zheng A J, Liu G H, Cai H Y, Liu W. Effects of dietary chitosan oligosaccharide and *Lactobacillus casei* on growth performance, meat quality and antioxidant function of broilers[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(5): 1450-1461 (in Chinese)
- [14] Yuan S B, Chen H. Effects of dietary supplementation of chitosan on growth performance and immune index in ducks [J]. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, 11(14): 3490-3495
- [15] 杨伟丽, 胡琴, 王春梅, 葛蓉, 刘春雪, 温超, 洪平, 周岩民. 低聚壳聚糖和合生元对生长育肥猪生产性能、血清指标及肌肉成分的影响[J]. *家畜生态学报*, 2016, 37(4): 27-31
Yang W L, Hu Q, Wang C M, Ge R, Liu C X, Wen C, Hong P, Zhou Y M. Effect of oligochitosan and synbiotics on growth performance, serum parameters and muscle composition of growing finishing pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 37(4): 27-31 (in Chinese)
- [16] 吕丹娜. 不同脱乙酰度壳聚糖在肉仔鸡饲料中应用研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015
Lv D N. Study on chitosans with different desacetylated degree in broiler diets[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [17] 王述柏, 王宝维. 壳聚糖对肉鸡生产性能及血液生化指标的影响[J]. *中国饲料*, 1998(12): 19
Wang S B, Wang B W. Effect of chitosan on growth performance and serum parameters of broiler chickens [J]. *Chinese Feed*, 1998(12): 9 (in Chinese)
- [18] 刘海英, 于森, 杨桂琴. 壳聚糖对肉鸡生产性能、脂肪代谢的影响[J]. *饲料博览*, 2003(5): 1-4
Liu H Y, Yu M, Yang Gui Q. Effect of chitosan on growth performance and lipometabolism of broiler chickens[J]. *Feed Review*, 2003(5): 1-4 (in Chinese)
- [19] Keser O, Bilal T, Ckutay H C, Abas I, Eseceli H. Effects of chitosan oligosaccharide and/or beta-glucan supplementation to diets contained organic zinc on performance and some blood indices in broilers[J]. *Pakistan Veterinary Journal*, 2012, 32(1): 15-19
- [20] Sayde M A, Islam M T, Haque M M, Shah M J H, Ahmed R, Siddiqui M N, Hossain M A. Dietary effects of chitosan and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) on the performance and serum lipid profile of broiler chicks[J]. *South African Journal of Animal Science*, 2015, 45(4): 429-439
- [21] Zhou T X, Chen Y J, Yoo J S, Cho J H. Effects of chitosan oligosaccharide supplementation on performance, blood characteristics, relative organ weight and meat quality in broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2009, 88: 593-600
- [22] 李忠荣, 冯玉兰. 壳聚糖对河田鸡脂肪沉积的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(3): 39-41
Li Z R, Feng Y L. Effect of chitosan on fat deposition of Hetian chicks[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2010, 46(3): 39-41 (in Chinese)
- [23] 江国亮, 潘文, 王润莲, 赵玉振, 杜炳旺, 任莉, 黄晓亮. 不同脱乙酰度的壳聚糖对肉鸡生长、胴体性能及脂质代谢的影响[J]. *广东农业科学*, 2014, 14: 106-109
Jiang G L, Pan W, Wang R L, Zhao Y Z, Du B W, Ren L, Huang X L. Effects of chitosan with different deacetylated degrees on growth, carcass characteristics and lipid metabolism in chicken [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 14: 106-109 (in Chinese)
- [24] Li Q P, Gooneraeneb S R, Wang R L, Zhang R, An L L, Chen J J, Pan W. Effect of different molecular weight of chitosans on performance and lipid metabolism in chicken[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 211: 174-180
- [25] 马建爽, 常文环, 张姝, 郑爱娟, 刘国华, 蔡辉益. 甜菜碱对肉鸡生长性能、脂质代谢及肌肉风味品质的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(1): 185-195
Ma J S, Chang W H, Zhang S, Zheng A J, Liu G H, Cai H Y. Effects of betaine on growth performance, lipid metabolism and flavor quality in muscle of broilers [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(1): 185-195 (in Chinese)
- [26] Liu X, Zhi X, Liu Y, Wu B, Sun Z, Shen J. Effect of chitosan, -carboxymethyl chitosan, and N-(2-hydroxy-3-N, N-dimethylhexadecyl ammonium) propyl] chitosan chloride on overweight and insulin resistance in a murine diet-induced obesity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(13): 3471-3476
- [27] Zhang W, Xian W S. Effect of media milling on lipid-lowering and antioxidant activities of chitosan[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 1402-1405
- [28] Chiu C Y, Chan I L, Yang T H, Liu S H, Chiang M T. Supplementation of chitosan alleviates high-fat diet-enhanced

- lipogenesis in rats via adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase activation and inhibition of lipogenesis-associated genes [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(11):2979-2988
- [29] Kohda N, Inoue S, Noda T, Saito T. Effects of a chitosan intake on the fecal excretion of dioxins and fat in rats[J]. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry*, 2012, 76(8):1544-1548
- [30] 刘静娜. 壳聚糖降脂作用机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008
Liu J N. Study on the hypolipidemic mechanism of chitosan [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008 (in Chinese)
- [31] 李兆杰. 壳聚糖快速制备技术及其降血脂、免疫增强活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010
Li Z J. Studies on the rapid preparation of chitosan from chitin and its lipid regulation and immunomodulatory effects on experimental mice [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010 (in Chinese)
- [32] Khambualai O, Koh-En Y, Tangtaweewipat S, Boonlom C I. Effects of dietary chitosan diets on growth performance in broiler chickens[J]. *Journal of Poultry Science*, 2008, 45(3): 206-209
- [33] Wang D, Han J, Yu Y, Yu Y, Li X, Wang Y, Tian H, Guo S, Jin S, Luo T, Qin S. Chitosan oligosaccharide decreases very-low-density lipoprotein triglyceride and increases high-density lipoprotein cholesterol in high-fat-diet-fed rats [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2011, 236(9):1064-1069
- [34] 王建, 朱振鹏, 董飏, 龚道清, 卞友庆, 王利刚, 左伟勇. 填饲对黑羽番鸭产肝性能、组织营养成分、肝脏组织学及脂调控基因表达水平的影响[J]. *南京大学学报*, 2014, 37(6):149-154
Wang J, Zhu Z P, Dong B, Gong D Q, Bian Y Q, Wang L G, Zuo W Y. Measurement of liver performance, nutrient composition, histology and adipogenic genes transcriptional expression of black muscovy ducks in response to overfeeding [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2014, 37(6):149-154 (in Chinese)
- [35] 刘志友. 日粮添加壳聚糖对蛋种鸡脂质代谢的影响及其机理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016
Liu Z Y. Effects of chitosan on lipid metabolism in laying breeders and the underlying mechanism [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [36] 黎秋萍. 不同分子质量壳聚糖对麒麟鸡脂质代谢的影响及其机理[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015
Li Q P. Effects of different molecular weight chitosans on lipid metabolism of frizzled chickens and its underlying mechanisms [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2015 (in Chinese)
- [37] 张威. 纳米壳聚糖的制备及降脂活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013
Zhang W. The preparation of nanosized chitosan and its hypolipidemic activity [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013 (in Chinese)
- [38] Pan H T, Yang Q Y, Huang G D, Ding C, Cao P G Q, Huang L L, Xiao T C, Guo J, Su Z Q. Hypolipidemic effects of chitosan and its derivatives in hyperlipidemic rats induced by a high-fat diet [J]. *Food & Nutrition Research*, 2016, 60:31137

责任编辑: 杨爱东