

曹嫦妤, 何奕豪, 林丽明, 等. 槲皮素对鹌鹑生产性能、蛋品质及肠道菌群的影响[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(10): 1904-1913.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.10.015

槲皮素对鹌鹑生产性能、蛋品质及肠道菌群的影响

曹嫦妤¹, 何奕豪¹, 林丽明¹, 刘 阳², 李欣然^{1,3}

(1. 佛山大学生命科学与工程学院, 广东 佛山 528225; 2. 佛山大学食品科学与工程学院/全国名特优新产品全程质量控制技术佛山中心<CAQS-GAP-KZZX043>, 广东 佛山 528225; 3. 佛山大学附属教学动物医院, 广东 佛山 528225)

摘要: 为明确日粮中添加槲皮素对鹌鹑生产性能、蛋品质和性激素水平及肠道菌群的影响, 促进槲皮素在鹌鹑生产中的应用, 将 288 羽 7 周龄黄羽产蛋雌鹌鹑随机平均分为 4 组, 分别饲喂基础饲料、添加 0.02% 槲皮素的基础饲料、添加 0.04% 槲皮素的基础饲料、添加 0.08% 槲皮素的基础饲料, 饲喂 56 d, 测定各处理鹌鹑生产性能指标、蛋品质指标、卵巢激素水平, 并对鹌鹑粪便进行 16S rDNA 测序, 分析日粮中添加槲皮素对鹌鹑肠道微生物群落的影响。结果表明, 添加 0.04% 槲皮素的日粮处理能够增强鹌鹑的蛋壳强度, 添加 0.08% 槲皮素的日粮处理能够提高鹌鹑的产蛋率、蛋壳比例、蛋壳强度和蛋黄比例, 但对平均蛋重、日采食量和料蛋比无显著影响; 添加 0.08% 槲皮素的日粮处理可显著提高鹌鹑卵巢中孕酮 (PROG) 浓度和降低催乳素 (PRL) 浓度; 添加 0.08% 槲皮素的日粮处理可降低有害菌群相对丰度。综上, 添加 0.08% 槲皮素的日粮处理可提高鹌鹑生产性能和蛋品质, 且槲皮素可降低肠道内有害菌群的相对丰度, 促进机体健康。

关键词: 槲皮素; 鹌鹑; 生产性能; 蛋品质; 肠道菌群

中图分类号: S839 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)10-1904-10

Effects of quercetin on production performance, egg quality and gut microbiota of quails

CAO Changyu¹, HE Yihao¹, LIN liming¹, LIU Yang², LI Xinran^{1,3}

(1. College of Life Science and Engineering, Foshan University, Foshan 528225, China; 2. School of Food Science and Engineering, Foshan University/Whole Process Quality Control Technical Center (Foshan) of National Famous, Special and Excellent New Agricultural Products (CAQS-GAP-KZZX043), Foshan 528225, China; 3. Foshan University Teaching Veterinary Hospital, Foshan 528225, China)

Abstract: In order to clarify the effects of quercetin on the production performance, egg quality, sex hormone levels and gut microbiota of quails, and to promote the application of quercetin in quail production, 288 seven-week-old yellow-feathered egg-laying female quails were randomly divided into four groups and fed with basal diet, basal diet supplemented with 0.02% quercetin, basal diet supplemented with 0.04% quercetin, and basal diet supplemented with 0.08% quercetin for 56 days. The production performance indices, egg quality indices and ovarian hormone levels of quails were measured, and the feces of quails were sequenced by 16S rDNA. The effects of dietary quercetin on the intestinal microbial community of quails were analyzed. The results showed that the dietary treatment with 0.04% quercetin

收稿日期: 2023-12-07

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFE0139500)

作者简介: 曹嫦妤 (1989-), 女, 黑龙江伊春人, 博士, 副研究员, 主要从事动物营养代谢病的研究。(E-mail) cychao@fosu.edu.cn

通讯作者: 刘 阳, (E-mail) liuyang@fosu.edu.cn

supplementation could enhance the eggshell strength of quails. The dietary treatment with 0.08% quercetin supplementation could increase the laying rate, eggshell specific gravity, eggshell strength and yolk specific gravity of quails, but had no significant effect on average egg

weight, daily feed intake or feed-egg ratio. The diet supplemented with 0.08% quercetin could significantly increase the concentration of progesterone (PROG) and decrease the concentration of prolactin (PRL) in quail ovary. The dietary treatment with 0.08% quercetin supplementation could reduce the relative abundance of harmful microbiota. In summary, dietary treatment with 0.08% quercetin supplementation can improve the production performance and egg quality of quails and reduce the relative abundance of harmful microbiota in the intestine and promote the health of the body.

Key words: quercetin; quail; production performance; egg equality; intestinal microbiota

鹌鹑是一种特种经济动物,在中国禽类养殖中占据重要地位。鹌鹑养殖业是仅次于鸡养殖业的第二大禽类养殖业。鹌鹑具有生长速度快、开产时间短、繁殖能力强、经济效益高、蛋肉营养价值高等特点^[1]。随着鹌鹑养殖业规模的日益扩大,进一步提高鹌鹑生产性能、蛋品质和饲料转化效率的措施与方法备受关注。

槲皮素广泛存在于植物的茎皮、花、叶、芽、种子、果实中,具有多种生物活性,属于天然的饲料添加剂。饲料中添加适宜浓度的槲皮素可以有效地提高畜禽的生产性能。李贤等^[2]研究发现,饲料中添加洋葱槲皮素能显著提升肉鸡腿肌和胸肌的肉品质。刘红南等^[3]研究发现,饲料中添加槲皮素可以增加蛋鸡的产蛋量、降低料蛋比、提高鸡蛋蛋黄的蛋白质含量,降低蛋黄胆固醇含量。Simitzis 等^[4]研究发现,饲料中添加槲皮素可以降低鸡蛋的脂质过氧化水平,提高鸡蛋蛋黄的抗氧化性能,延长鸡蛋的保质期。此外,饲料中添加槲皮素还可以提高母鸡血清中雌二醇(E₂)、孕酮(PROG)、促黄体生成素(LH)和促卵泡生成素(FSH)的水平,增加激素分泌量,有利于母鸡生殖系统的发育和保持^[5]。姚佳颖等^[6]研究发现,使用浓度为 0.4 mg/L 以上的槲皮素处理猪肠上皮细胞,能显著提升猪肠上皮细胞中蛋白质含量,即槲皮素可以提高细胞吸收蛋白质的能力,从而提高饲料转化率。

畜禽生产性能的提高与肠道菌群的平衡密不可分^[7-9]。肠道菌群紊乱可导致动物机体代谢紊乱、炎性肠病、免疫功能障碍,进而影响生产性能。适当的饲料添加剂可以促进畜禽对营养物质的消化和吸收、调节肠道菌群组成,进而有效地维持畜禽的健康水平,提高生产性能^[10-12]。针对饲料中添加槲皮素对鹌鹑生产性能和肠道菌群的影响研究缺乏的现状,本研究在基础饲料的基础上,添加不同质量浓度的槲皮素(0.02%、0.04%、0.08%)进行鹌鹑养殖试验,分析槲皮素对鹌鹑生产性能、蛋品质和卵巢激素水平及肠道菌群的影响,为鹌鹑的优质安全生产、槲

皮素的鹌鹑养殖应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

槲皮素(有效含量 97%以上,批号 S25567)购自上海源叶生物科技有限公司;性激素检测试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司;DNA 提取试剂盒购自美国 Omega 生物科技有限公司;核酸纯化试剂盒购自美国 Beckman Coulter 有限公司。重量一致的健康 7 周龄黄羽产蛋鹌鹑 288 羽,购自佛山市顺德区桂洲镇容里珍禽养殖场。基础饲料由广东省实验动物中心制作生产,基础饲料的原料组成及营养水平见表 1。在每 1 kg 的基础饲料中分别添加 0.2 g、0.4 g、0.8 g 的槲皮素,利用搅拌机混合均匀后,即得到添加 0.02% 槲皮素的混合饲料、添加 0.04% 槲皮素的混合饲料和添加 0.08% 槲皮素的混合饲料。

1.2 试验仪器

组织研磨仪购自武汉赛维尔生物科技有限公司;Biotek 800TS 吸收光酶标仪购自德国 BMG CLARIOstar 公司;蛋壳蛋品测定仪购自美国 Orka 生物科技有限公司;MISEQ PE300 测序仪购自因美纳(中国)科学器材有限公司;Bio-rad T100 PCR 扩增仪购自安诺伦(北京)生物科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 购得的 288 羽 7 周龄鹌鹑适应性养殖 7 d 后,随机分成 4 个组,每组 72 羽。采用笼养的方式,分别饲喂基础饲料(CK)、添加 0.02% 槲皮素的混合饲料(T2)、添加 0.04% 槲皮素的混合饲料(T4)、添加 0.08% 槲皮素的混合饲料(T8),自由采食和饮水,饲养环境温度设置为(20±2)℃,定期打扫卫生,保证鹌鹑饲养环境干净整洁。饲养历时 56 d。试验结束前 1 d,每羽鹌鹑分开单独饲养,采集粪便装入无菌离心管中,进行 16S rDNA V3~V4 区测序,分析肠道菌群结构。

表 1 基础饲料组成及营养水平(以干物质计)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diet (dry matter)

项目	类别	数值
原料	大豆蛋白粉含量(%)	33.79
	玉米淀粉含量(%)	41.81
	鱼粉含量(%)	8.80
	石粉含量(%)	3.98
	矿物质预混料 ¹⁾ 含量(%)	0.40
	磷酸铵含量(%)	1.99
	蔗糖含量(%)	1.99
	纤维素含量(%)	3.97
	维生素预混料 ²⁾ 含量(%)	0.30
	DL-蛋氨酸含量(%)	0.40
	氯化胆碱含量(%)	0.38
	豆油含量(%)	1.99
	赖氨酸含量(%)	0.20
	含量合计(%)	100.00
营养水平	代谢能(MJ/kg)	16.68
	粗蛋白质含量(%)	23.81
	钙含量(%)	0.91
	磷含量(%)	0.49

¹⁾ 矿物质预混料为 1 kg 基础饲料提供: K₂PO₄ 10.6 g, NaH₂PO₄ 2.1 g, MgSO₄ · 7H₂O 1.6 g, NaCl 4.6 g, 柠檬酸铁 0.9 g, KI 30.0 mg, MnSO₄ · H₂O 0.15 g, ZnCl₂ 20.0 mg, CuSO₄ · 5H₂O 10.0 mg。²⁾ 维生素预混料为 1 kg 饲料粮提供: 盐酸硫胺素 1.0 mg, 维生素 B₂ 5.0 mg, 烟酸 75.0 mg, 泛酸 10.0 mg, 盐酸吡哆醇 3.0 mg, 胆碱 402.0 mg, 叶酸 1.0 mg, 生物素 0.1 mg, 维生素 B₁₂ 0.012 mg, 硫酸氢钠钾 1.6 mg, D-泛酸钙 30.0 mg, 视黄醇棕榈酸酯 40.0 mg, 维生素 D₃ 8.0 μg, 维生素 E 120.0 mg。

1.3.2 生产性能测定 根据产蛋数、蛋重、日采食量和饲喂天数计算产蛋率、平均蛋重、日采食量和料蛋比,各指标测定方法如下:

产蛋率:每日 21:00 h 时记录各处理的产蛋数,根据日产蛋率=日产蛋数/鹌鹑数量×100%,计算日产蛋率。

平均蛋重:试验期间每周三至周五 21:00 h 收集鹌鹑蛋,称量各处理的总蛋重,按平均蛋重=总产蛋重/总产蛋数,计算平均蛋重。

日采食量:每周一至周日 21:00 h 进行各处理鹌鹑耗料量和余料量统计,按日采食量=(每周饲喂量-每周余料量)/饲喂天数,计算日平均采食量。

料蛋比为日采食量与日平均蛋重的比值。

1.3.3 蛋品质测定 利用槲皮素饲喂鹌鹑 35 d 后,每日从各处理鹌鹑蛋中随机挑取 50 枚,于当天检测蛋品质,检测指标如下:鹌鹑蛋重量、蛋壳比例、蛋白高度、蛋黄比例、蛋形指数、蛋壳强度和哈夫单位。

其中,蛋壳比例=蛋壳重量/蛋重量×100%;蛋黄比例=蛋黄重量/蛋重量×100%;蛋形指数=长边径/短边径。蛋壳强度通过蛋壳强度测定仪测定,蛋白高度和哈夫单位通过蛋品质测试仪测定。

1.3.4 性激素水平测定 试验期结束当日,立刻剖检鹌鹑,每处理收集 6 羽鹌鹑卵巢组织,在冰浴条件下,利用组织研磨仪充分研磨卵巢组织(45 s),离心后吸取上清液,应用酶联免疫吸附试验法检测催乳素(PRL)、促卵泡激素(FSH)、促黄体激素(LH)、雌二醇(E₂)和孕酮(PROG)的浓度。

1.3.5 样品 DNA 提取、PCR 扩增及高通量测序 试验期结束前 1 d,采集直肠粪便装入无菌离心管中,粪便中的微生物 DNA 提取方式按照 Omega Stool DNA Kit 的说明书进行。将提取到的微生物 DNA 使用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法进行 DNA 质量与浓度检测。样本质检合格后于 -20 ℃ 保存备用。根据测序区域,使用带有 Barcode 的特异性引物扩增 16S rDNA 的 V3~V4 区。上游引物序列为 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3',下游引物序列为 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。利用 PCR 产物构建微生物多样性测序文库,使用 Illumina Miseq PE300 高通量测序平台进行测序。

1.4 数据分析

根据 Barcode 序列来拆分样本,使用 Pear 软件对数据进行过滤和拼接。使用 Vsearch 软件的 Denovo 方法去除短序列和嵌合体序列,得到高质量(优质)序列。使用 Vsearch 软件设置相似性阈值为 97%,对高质量(优质)序列进行 OTU(操作分类单元)聚类。采用 Blast 算法将聚类结果与 GenBank 非冗余核酸序列数据库(NT)进行比对,获得每个 OTU 所对应的物种分类信息。然后利用 QIIME 软件进行物种的 α 多样分析(包括 Observed-species、Shannon、Simpson 和 Chao1 等指数)。根据物种注释和相对丰度的结果,使用 R 软件进行门水平和属水平物种分类组成分析。使用 QIIME 软件计算 β 多样性;使用 R 软件进行主坐标分析(PCoA),以明确微生物群落构成的差异性 or 相似性。利用 Mothur 软件实行 Metastats 组间差异分析,使用 Python 软件进行 LEfSe 分析。

运用 GraphPad Prism7 软件绘制图片,使用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA),采用 LSD(最小显著性差异)法进行组间差异分析。

2 结果与分析

2.1 槲皮素对鹌鹑生产性能的影响

槲皮素添加量对鹌鹑生产性能的影响如表 2 所示。添加 0.08% 槲皮素处理的鹌鹑产蛋率为 94.60%,比 CK 高 8.23%,增加显著,而中、低槲皮素添加量(0.02%、0.04%)处理下,鹌鹑产蛋率与 CK 无显著差异。不同槲皮素添加量处理下,日采食量、平均蛋重、料蛋比均与 CK 无显著差异。

2.2 槲皮素对鹌鹑蛋品质的影响

槲皮素添加量对鹌鹑蛋品质的影响如表 3 所示。从表中可以看出,添加 0.08% 槲皮素处理的鹌鹑蛋壳比例和蛋黄比例分别比 CK 显著增加 10.67%和 11.22%,而中低槲皮素添加量(0.02%和 0.04%)处理下,鹌鹑蛋蛋壳比例和蛋黄比例与 CK 无显著差异。与 CK 相比,添加 0.04%槲皮素处理和添加 0.08%槲皮素

处理的蛋壳强度分别比 CK 提高 27.14%和 25.71%;添加 0.04%槲皮素和添加 0.08%槲皮素处理的蛋壳强度显著高于添加 0.02%槲皮素处理。不同槲皮素添加量处理下,蛋形指数、蛋壳厚度、蛋白高度及哈夫单位均与 CK 无显著差异。

表 2 槲皮素对鹌鹑生产性能的影响

Table 2 Effects of quercetin on production performance of quail

处理	产蛋率 (%)	平均蛋重 (g)	日采食量 (g, 1 羽)	料蛋比
CK	87.41±2.57b	11.40±0.04a	21.52±2.11a	2.20±0.22a
T2	86.45±4.44b	11.49±0.29a	20.33±1.81a	2.00±0.18a
T4	88.89±1.98b	11.51±0.11a	22.28±2.33a	2.15±0.23a
T8	94.60±1.45a	11.55±0.16a	20.86±0.99a	2.08±0.10a

CK、T2、T4、T8 分别为饲喂基础饲料、添加 0.02%槲皮素的混合饲料、添加 0.04%槲皮素的混合饲料、添加 0.08%槲皮素的混合饲料的处理。同一列数字后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

表 3 槲皮素对鹌鹑蛋品质的影响

Table 3 Effects of quercetin on the egg quality of quail

处理	蛋壳比例 (%)	蛋形指数	蛋黄比例 (%)	蛋壳厚度 (mm)	蛋壳强度 (kg)	蛋白高度 (mm)	哈夫单位
CK	9.93±0.62b	1.28±0.06a	30.13±0.93b	0.30±0.02a	1.40±0.14b	2.83±0.31a	57.93±1.90a
T2	10.08±0.73b	1.26±0.03a	32.02±0.90b	0.32±0.05a	1.47±0.13b	3.13±0.21a	58.20±4.92a
T4	10.25±0.19b	1.28±0.02a	31.68±2.37b	0.32±0.01a	1.78±0.14a	2.77±0.29a	62.50±2.62a
T8	10.99±0.25a	1.26±0.06a	33.51±1.84a	0.31±0.01a	1.76±0.04a	2.93±0.15a	62.10±1.01a

CK、T2、T4、T8 分别为饲喂基础饲料、添加 0.02%槲皮素的混合饲料、添加 0.04%槲皮素的混合饲料、添加 0.08%槲皮素的混合饲料的处理。同一列数字后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

2.3 槲皮素对鹌鹑卵巢性激素的影响

槲皮素添加量对鹌鹑卵巢中性激素质量浓度的影响如表 4 所示。与 CK 相比,3 个槲皮素添加处理的鹌鹑卵巢雌二醇、促卵泡激素和促黄体激素质量

浓度均与 CK 无显著差异。而随着槲皮素添加量的增加,鹌鹑卵巢催乳素的质量浓度呈下降趋势。添加 0.08%槲皮素处理的催乳素质量浓度显著低于 CK,而孕酮质量浓度显著高于 CK。

表 4 槲皮素对鹌鹑卵巢性激素的影响

Table 4 Effects of quercetin on ovarian sex hormones in quail

处理	雌二醇质量浓度 (pg/mL)	促卵泡激素含量 (mIU/mL)	促黄体激素含量 (mIU/mL)	催乳素质量浓度 (ng/mL)	孕酮质量浓度 (ng/mL)
CK	92.41±4.83a	3.62±0.75a	2.80±0.09a	33.85±3.68a	4.60±0.57b
T2	81.74±7.36a	3.34±0.28a	2.88±0.43a	30.76±2.50a	4.58±0.34b
T4	81.61±6.34a	4.11±0.26a	2.89±0.53a	30.18±3.49a	4.41±0.36b
T8	89.84±5.64a	3.67±0.23a	2.94±0.13a	28.13±1.73b	5.56±0.65a

CK、T2、T4、T8 分别为饲喂基础饲料、添加 0.02%槲皮素的混合饲料、添加 0.04%槲皮素的混合饲料、添加 0.08%槲皮素的混合饲料的处理。同一列数字后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

2.4 菌群测序数据样本信息统计

鹌鹑粪便 16S rDNA 测序后得到的优质序列长度

分布如图 1 所示。从图中可以看出,优质测序数据的长度主要集中在420.1~440.0 bp,符合测序要求。

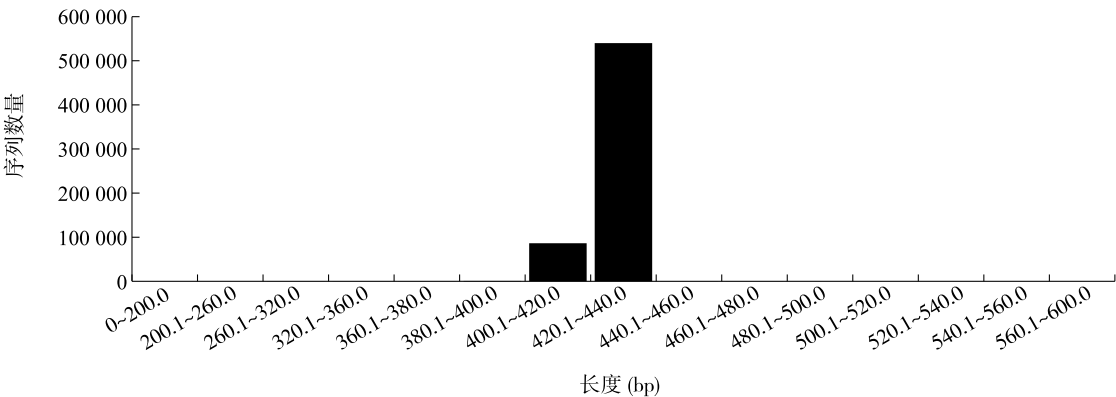
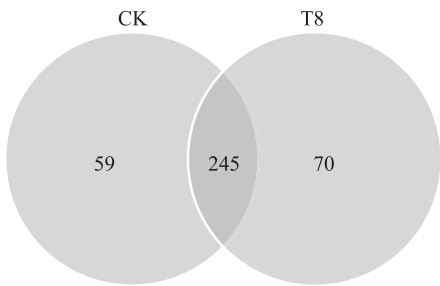


图 1 优质序列的长度分布
Fig.1 Length distribution of sequences with high quality

2.5 肠道菌群 OTU 分析

3 个槲皮素添加处理下,OTU 差异不大,因此,使用添加 0.08%槲皮素的处理与 CK 进行比较,分析槲皮素对鹌鹑肠道菌群的影响。CK 和 0.08%槲皮素添加处理的鹌鹑肠道共产生 374 个 OTU。其中,2 个处理共同含有的 OTU 数量为 245 个,CK 特有的 OTU 数量为 59 个,0.08%槲皮素添加处理特有的 OTU 数量为 70 个(图 2)。



CK、T8 分别为饲喂基础饲料和添加 0.08%槲皮素的混合饲料的处理。图中数据为 OTU 数量。

图 2 操作分类单元 (OTU) 分布 Venn 图

Fig.2 Venn diagram of operational taxonomic unit (OTU) distribution

2.6 肠道菌群 α 多样性分析

鹌鹑肠道菌群 α 多样性指数如表 5 所示。从表中可以看出,0.08%槲皮素添加处理的鹌鹑肠道菌群丰富度指数 (Observed-species 指数和 Chao 1 指数)和多样性指数 (Simpson 指数和 Shannon 指数)与 CK 差异不显著。

2.7 肠道菌群 β 多样性分析

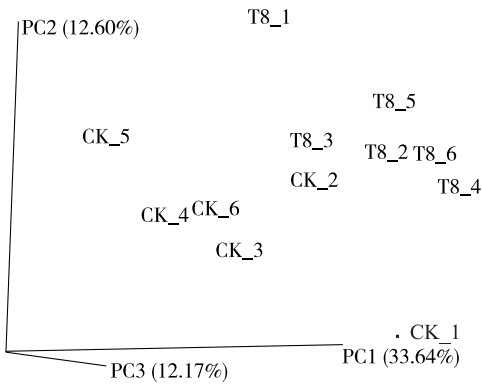
肠道菌群主坐标分析 (PCoA 分析) 结果如图 3 所示。从图中可以看出,3 个主成分 (PC1、PC2 和 PC3) 的贡献率分别为 33.64%、12.60% 和 12.17%。

0.08%槲皮素添加处理样本之间的距离相对较近,表明该处理的组内重复较好。而 CK 样本之间的距离较大,个别样本偏离较远,说明 CK 的组内重复差异较大。0.08%槲皮素添加处理与 CK 样本之间的距离相对较远,说明 0.08%槲皮素添加处理与 CK 的组间差异较大,即 2 个处理的微生物种群结构差异较大,组间样品分离性较好。

表 5 肠道菌群 α 多样性分析

Table 5 Analysis of alpha diversity of gut microbiota			
项目	CK	T8	P 值
Chao 1 指数	119.95±19.15a	136.55±22.28a	0.383
Observed-species 指数	94.33±10.02a	88.00±14.00a	0.559
Shannon 指数	2.43±0.27a	2.34±0.48a	0.789
Simpson 指数	0.72±0.05a	0.67±0.08a	0.441

CK、T8 分别为饲喂基础饲料和添加 0.08%槲皮素的混合饲料的处理。



CK_1~CK_6、T8_1~T8_6 分别为饲喂基础饲料和添加 0.08%槲皮素的混合饲料的样本。

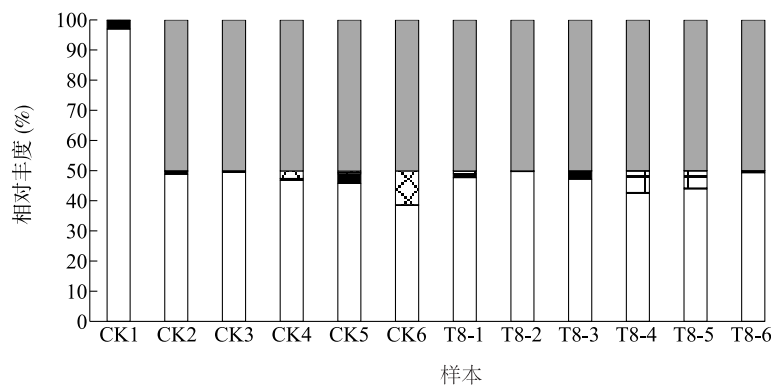
图 3 三维非加权主坐标分析 (PCoA) 结果

Fig.3 Results of three-dimensional unweighted principal co-ordinates analysis (PCoA)

2.8 肠道菌群物种丰度与差异分析

鹌鹑肠道菌群门水平物种相对丰度分布如图4所示。从图中可以看出,不同处理鹌鹑肠道菌群以厚壁菌门、变形菌门、放线菌门和弯曲杆菌门为主。其中,厚壁菌门占比93%,在肠道菌门中占有绝对优势。鹌鹑肠道菌群属水平物种相对丰度分布如图5所示。从图中可以看出,不同处理鹌鹑肠道菌群以乳酸杆菌属、肠球菌属、螺杆菌属、乳球菌属、大肠杆菌-志贺氏菌属、韦永氏菌属、卡氏杆菌属、葡萄球菌属、双歧杆菌属、梭菌属、棒状杆菌属、弯曲杆菌属

为主。其中乳酸杆菌属、肠球菌属、螺杆菌属、乳球菌属、大肠杆菌-志贺氏菌属占80%以上,是肠道中的优势菌属。鹌鹑肠道菌群物种相对丰度线性判别分析(LDA)值分布如图6所示。0.08%槲皮素添加处理的肠杆菌目(Enterobacterales)、放线菌目(Actinomycetales)、梭菌属(*Clostridium sensu stricto 10*)、嗜氢菌科(Hydrogenophilaceae)相对丰度比CK有显著提高,而弯曲杆菌目(Campylobacterales)、葡萄球菌属(*Turicibacter*)、螺杆菌属(*Helicobacter*)的相对丰度显著低于CK。

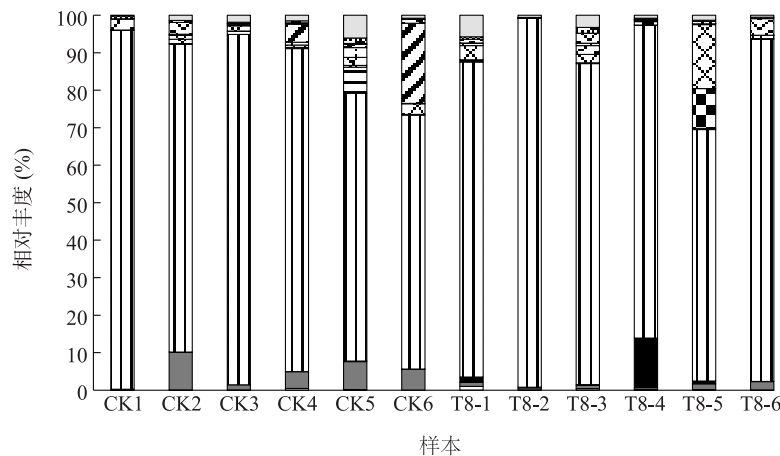


□厚壁菌门(Firmicutes); ■放线菌门(Actinobacteriota); ▨变形菌门(Proteobacteria); ▤弯曲杆菌门(Campilobacterota); ■其他

CK1~CK6 为饲喂基础饲料的鹌鹑样本; T8-1~T8-6 为饲喂 0.08% 槲皮素混合饲料的鹌鹑样本。

图4 门水平物种相对丰度分布

Fig.4 Distribution histogram of microbiota in the level of phylum

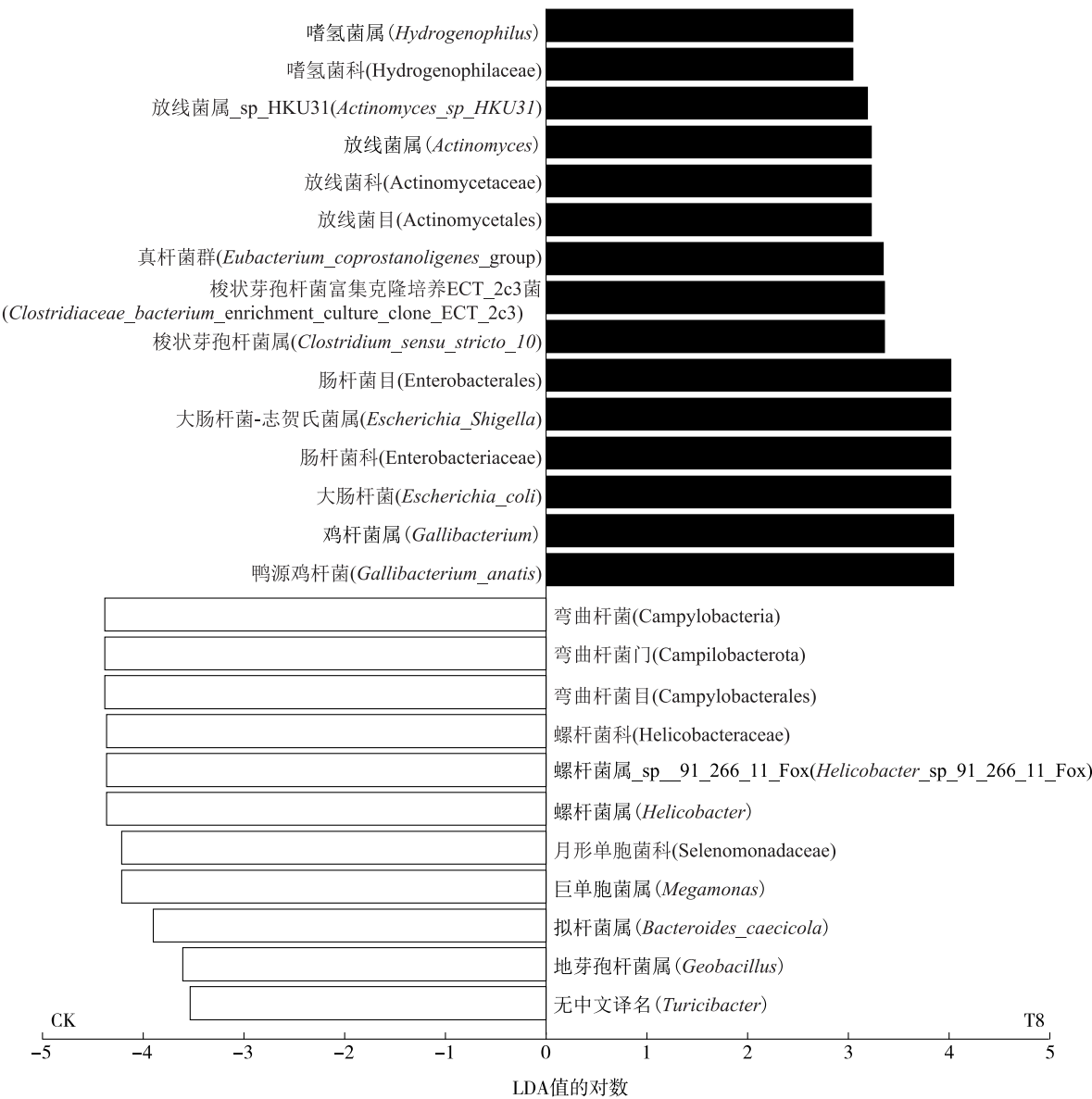


□乳球菌属(*Lactococcus*); ■分节丝状菌属(*Candidatus_Arthromitus*); ■大肠杆菌-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*);
▤乳酸杆菌属(*Lactobacillus*); ▨葡萄球菌属(*Staphylococcus*); ▤卡氏杆菌属(*Gallibacterium*); ▤肠球菌属(*Enterococcus*);
▤双歧杆菌属(*Aeriscardovia*); ▤棒状杆菌属(*Corynebacterium*); ▤螺杆菌属(*Helicobacter*); ▤弯曲杆菌属(*Campylobacter*);
▤韦永氏菌属(*Veillonella*); ▤梭菌属(*Clostridium_sensu_stricto_1*); □其他

CK1~CK6 为饲喂基础饲料的鹌鹑样本; T8-1~T8-6 为饲喂 0.08% 槲皮素混合饲料的鹌鹑样本。

图5 属水平物种相对丰度分布

Fig.5 Distribution histogram of microbiota in the level of genus



CK、T8 分别为饲喂基础饲料和添加 0.08% 槲皮素的混合饲料的处理。
图 6 线性判别分析 (LDA) 值分布柱状图
Fig.6 Distribution histogram of linear discriminant anylysis (LDA) score

3 讨论

3.1 槲皮素对鹌鹑生产性能的影响

黄酮类化合物具有多种生物活性,广泛分布在植物界中。饲料中添加黄酮类化合物在家禽养殖中有较多研究与应用,其对家禽生产性能的影响取决于黄酮的种类、添加剂量、动物种类以及动物年龄等。邵丹等^[13]研究发现,在蛋鸡的饲料中添加质量浓度为 30 mg/kg 的大豆黄酮,蛋鸡的产蛋能力得到显著提高。饶体宇^[14]的研究发现,单一补充浓度为

0.1%~0.2% 的辣木叶黄酮对蛋鸭的生产性能无显著影响。王红琴等^[15]的研究结果表明,蛋鸡日粮中添加质量浓度 6 mg/kg 的大豆异黄酮能提高产蛋率,降低料蛋比,减少鸡蛋表面色斑,改善蛋品质量。槲皮素是一种富含黄酮类化合物的植物,在家禽的养殖中已有较多应用。杜晓霞等^[16]研究发现在 70 周龄蛋鸡的饲料中添加 0.02% 的槲皮素黄酮能显著提高蛋鸡的日采食量。刘莹^[17]在 39~47 周龄蛋鸡的饲料中添加 0.02% 或 0.04% 的槲皮素能显著提高蛋鸡产蛋率。孙丹彤^[18]研究发现在蛋鸡的饲

粮中添加 0.02% 或 0.04% 槲皮素能显著提高蛋鸡的产蛋率,降低料蛋比。本试验结果表明,饲粮中添加 0.08% 的槲皮素能显著提高鹌鹑的产蛋率,但对平均蛋重、日采食量和料蛋比无显著影响。

3.2 槲皮素对鹌鹑蛋品质的影响

蛋形指数、蛋壳比例、蛋壳厚度、蛋壳强度等蛋壳质量指标是评价蛋品质的重要标准,这些指标对蛋运输、保存和孵化等性能有重要影响^[18]。Huang 等^[19]的研究结果表明,日粮中添加桑叶类黄酮能改善老龄种鸡蛋壳的厚度和强度,提高蛋壳质量,其机制在于桑叶类黄酮能提高鸡的抗氧化能力及钙转运相关基因的表达水平。索艳丽^[20]研究发现,槲皮素能显著提高鸡蛋蛋壳钙含量,并极显著提高血钙含量,说明适宜浓度的槲皮素能够调节蛋鸡的钙代谢,并显著改善蛋品质。汪智云^[21]研究认为,槲皮素通过提高机体雌激素水平,增强子宫中碳酸钙晶体形成相关酶的活性。本试验结果表明,鹌鹑日粮中添加 0.08% 槲皮素可显著提高蛋壳比例,添加 0.04% 和 0.08% 槲皮素可显著提高蛋壳强度。

蛋白高度和哈夫单位均可反映鸡蛋的鲜嫩程度。蛋白高度和哈夫单位高,表明蛋白的黏稠度高,鸡蛋质量更好。本试验结果显示,槲皮素水平对鹌鹑蛋的蛋白高度和哈夫单位均无显著影响。蛋黄比例是测量蛋营养含量的一项关键指标。蛋黄比例高,表示蛋营养价值大。本研究结果表明,日粮中添加 0.08% 槲皮素可显著提高蛋黄比例。Amevor 等^[22]研究发现槲皮素与维生素 E 联用可提高鸡蛋品质。因此,在后续研究中可进一步尝试槲皮素与其他天然化合物联合使用,以实现更优质的鹌鹑蛋生产。

3.3 槲皮素对鹌鹑卵巢性激素的影响

黄酮类化合物与雌激素在化学结构上有一定的相似度,能够发挥类雌激素作用。邵丹等^[13]的研究结果表明,日粮中添加大豆黄酮可显著提高产蛋种鸡血清中 LH 水平,但对 FSH、PROG 等激素水平无显著影响。Li 等^[23]研究发现,日粮中添加大豆异黄酮能提高蛋鸡的 PROG、LH 和 FSH 水平,上调雌激素受体 α 基因的表达水平。Ni 等^[24]和 Xiao 等^[25]将大豆异黄酮直接作用于鸡颗粒细胞,发现大豆异黄酮可与 ER- β 相结合,促进 3 β -HSD 关键酶的表达,进而提高 PROG 水平。由莹^[26]的研究结果表明,日粮中添加 0.02% 和 0.04% 槲皮素可显著增加

蛋鸡血清中 E₂、FSH、LH 和 PROG 等激素的浓度。本研究中,3 个浓度的槲皮素添加处理对鹌鹑卵巢中 E₂、FSH 和 LH 的浓度均无显著影响,而 0.08% 槲皮素添加处理能显著增加鹌鹑卵巢中 PROG 的浓度,显著降低 PRL 的浓度。PRL 激素参与禽类就巢行为的调控^[27]。PRL 浓度的降低能减少鹌鹑的就巢行为,有利于提高产蛋量。刘莹^[17]的研究结果表明,随着日粮中槲皮素浓度的增加,蛋鸡雌二醇(E₂)、FSH 和 LH 的浓度呈现出先升高后降低的趋势,高浓度(0.06%)槲皮素对蛋鸡卵巢表现出拮抗作用,使得产蛋率下降。但本研究在日粮中添加 0.08% 槲皮素对鹌鹑并未表现出类似拮抗作用,仍能发挥雌激素激动剂作用,促进鹌鹑卵巢排卵。槲皮素等黄酮类化合物具有类雌激素和抗雌激素的双重作用,主要取决于动物本身的性激素水平和机体自身的状态。根据本试验的结果推测鹌鹑本身的内源性雌激素水平可能较低,槲皮素与相关受体结合主要表现为类雌激素作用。

3.4 槲皮素对鹌鹑肠道菌群的影响

肠道菌群及其代谢产物共同调节宿主的食物消化、营养吸收和免疫能力,并保护肠道黏膜。肠道菌群平衡状态受饮食习惯、遗传、药物、疾病和环境等因素的影响,良好的菌群结构对维持肠道和机体健康极为关键;菌群失调时,易引起机体二重感染,不利于机体健康。

黄酮类化合物可被肠道微生物群和宿主组织广泛代谢,具有增强肠道免疫功能、调理肠道菌群、预防和治疗炎症性肠道疾病的功能^[28-30]。Shi 等^[31]在给抗生素诱导的肠道菌群生态失调小鼠补充槲皮素后发现,补充槲皮素可显著改善小鼠肠道菌群的多样性,有效恢复肠道微生物群。Liu 等^[32]研究发现,日粮中添加适量的槲皮素可显著降低蛋鸡盲肠中拟杆菌科和拟杆菌属的相对丰度,显著提高乳酸杆菌科和乳酸杆菌属的相对丰度,但槲皮素对蛋鸡盲肠微生物区系的多样性没有显著影响。本试验的 16S rDNA 测序分析结果显示,3 个槲皮素添加处理和 CK 的鹌鹑肠道菌群 α 多样性指数(Chao 1 指数、Observed-species 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数)无显著差异。值得注意的是,本试验的对照动物是正常饲养的,与 Liu 等^[32]使用的健康蛋鸡相似,但不同于 Shi 等^[31]使用的菌群失调小鼠,这说明对于未出现菌群失调的健康动物,槲皮素并未显

著影响其肠道菌群的多样性。另外,菌群失调小鼠的槲皮素添加量是 0.2%^[31],蛋鸡的槲皮素添加量为 0.05%^[32],而本试验的鹌鹑槲皮素添加量为 0.08%,即除研究对象的差异外,槲皮素浓度的不同也可能是导致试验结果差异的原因。

本研究结果表明,在门水平上,鹌鹑的肠道菌群以厚壁菌门、变形菌门、弯曲杆菌门和放线菌门为主,其中厚壁菌门占 93%,为鹌鹑肠道的优势菌门;在属水平上,肠道菌群以乳酸杆菌属、肠球菌属、螺杆菌属、乳球菌属、大肠杆菌-志贺氏菌属、韦永氏菌属、卡氏杆菌属、葡萄球菌属、双歧杆菌属、梭菌属等为主。其中,乳酸杆菌属、肠球菌属、螺杆菌属、乳球菌属、大肠杆菌-志贺氏菌属占 80% 以上,为肠道中的优势菌属。上述结果与 Wilkinson 等^[33]的研究结果一致。槲皮素添加处理还可降低弯曲杆菌目、螺杆菌属等菌群的相对丰度。厚壁菌门的许多组成细菌都是有益菌,乳酸杆菌就是一类能把葡萄糖等糖类分解成乳酸的益生菌,属厚壁菌门。乳酸杆菌还能通过生成细菌素、乳酸、有机酸、过氧化氢、双乙酰等化合物调节肠道 pH 值,活化免疫细胞,抑制外来细菌生长和增殖,避免病原菌影响机体健康^[34]。双歧杆菌是肠道中一类较为重要的有益菌,能够促进机体健康、改善营养吸收、增强生物屏障和免疫功能、提高胃肠道功能等。弯曲杆菌是引起食物中毒病例中的最常见病因,弯曲杆菌感染可引发胃痛、严重腹泻和高烧。弯曲杆菌易在畜禽胃肠道繁殖生长,当被感染的畜禽被宰杀后,弯曲杆菌会从肠道进入肉中,污染的肉会引发食品安全问题,从而危害人类健康。螺杆菌感染后也易引发消化性溃疡、慢性胃炎、十二指肠肠炎等。因此,日粮中添加槲皮素处理能降低鹌鹑肠道有害菌群的相对丰度,预防弯曲杆菌和螺杆菌感染,减少食源性肉品污染。

4 结论

日粮中添加槲皮素能提高鹌鹑卵巢孕酮浓度、降低催乳素浓度,降低肠道有害菌群的相对丰度,进而促进鹌鹑机体健康,提高鹌鹑生产性能和改善蛋品质。鹌鹑日粮适宜的添加质量浓度为 0.08%。

参考文献:

[1] 张 哲. 河南省蛋用鹌鹑养殖现状与对策研究[D]. 洛阳:河南科技大学,2015.

[2] 李 贤,李敬双,于 洋. 洋葱槲皮素对肉鸡肉品质,血液生化及免疫功能的影响[J]. 饲料研究,2021,44(6):45-49.

[3] 刘红南,滕 楠,李 垚,等. 饲料添加槲皮素对蛋鸡蛋品质和蛋组分的影响[J]. 动物营养学报,2014,26(8):2246-2252.

[4] SIMITZIS P, SPANOU D, GLASTRA N, et al. Impact of dietary quercetin on laying hen performance, egg quality and yolk oxidative stability[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2018, 239: 27-32.

[5] YANG J X, CHAUDHRY M T, YAO J Y, et al. Effects of phyto-oestrogen quercetin on productive performance, hormones, reproductive organs and apoptotic genes in laying hens[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(2):505-513.

[6] 姚佳颖,毛彦军,王杉杉,等. 槲皮素对猪肠上皮细胞利用蛋白质的作用机制[J]. 动物营养学报,2021,33(1):553-562.

[7] SINGH A K, KIM W K. Effects of dietary fiber on nutrients utilization and gut health of poultry: a review of challenges and opportunities[J]. *Animals (Basel)*, 2021, 11(1):181.

[8] ZHAO L L, WANG G, SIEGEL P, et al. Quantitative genetic background of the host influences gut microbiomes in chickens[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3:1163.

[9] KUMAR S, CHEN C, INDUGU N, et al. Effect of antibiotic withdrawal in feed on chicken gut microbial dynamics, immunity, growth performance and prevalence of foodborne pathogens[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2):e0192450.

[10] BINDARI Y R, GERBER P F. Centennial review: factors affecting the chicken gastrointestinal microbial composition and their association with gut health and productive performance[J]. *Poultry Science*, 2022, 101(1):101612.

[11] IQBAL Y, COTTRELL J J, SULERIA H A R, et al. Gut microbiota-polyphenol interactions in chicken: a review[J]. *Animals*, 2020, 10(8):1391.

[12] AN X D, BAO Q, DI S, et al. The interaction between the gut microbiota and herbal medicines[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 118:109252.

[13] 邵 丹,胡 艳,王 强,等. 大豆黄酮对产蛋后期蛋鸡生产性能、激素水平和繁殖性能的影响[J]. 中国家禽,2016,38(20):28-32.

[14] 饶体宇. 辣木叶黄酮和益生菌对蛋鸭生产性能、脂质代谢及免疫功能的影响研究[D]. 贵阳:贵州大学,2020.

[15] 王红琴,李鸿俊,杨 旭,等. 大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡产蛋性能及品质影响[J]. 中国畜禽种业,2019,15(11):174-175.

[16] 杜晓霞,丁孟松,吴光兴,等. 日粮添加槲皮黄酮对蛋鸡生产性能、蛋品质及蛋黄抗氧化性能的影响[J]. 中国饲料,2018(10):56-60.

[17] 刘 莹. 槲皮素对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2013.

[18] 孙丹彤. 槲皮素对蛋鸡生产性能、体内和体外抗氧化指标的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2015.

[19] HUANG Z W, DAI H J, JIANG J L, et al. Dietary mulberry-leaf flavonoids improve the eggshell quality of aged breeder hens[J].

- Theriogenology, 2022, 179: 177-186.
- [20] 索艳丽. 槲皮素对不同时期蛋鸡生产性能和蛋壳品质的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2013.
- [21] 汪智云. 25-(OH)D₃、维生素 C、4,7-二羟基黄酮对鸡蛋壳质量及钙代谢的影响[D]. 武汉:华中农业大学, 2020.
- [22] AMEVOR F K, CUI Z F, NING Z F, et al. Synergistic effects of quercetin and vitamin E on egg production, egg quality, and immunity in aging breeder hens[J]. Poultry Science, 2021, 100(12): 101481.
- [23] LYU Z P, YAN S J, LI G, et al. Genistein improves the reproductive performance and bone status of breeder hens during the late egg-laying period[J]. Poultry Science, 2019, 98(12): 7022-7029.
- [24] NI Y D, ZHU Q, ZHOU Z L, et al. Effect of dietary daidzein on egg production, shell quality, and gene expression of ER- α , GH-R, and IGF-IR in shell glands of laying hens[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(17): 6997-7001.
- [25] XIAO Y Q, SHAO D, TONG H B, et al. Genistein increases progesterone secretion by elevating related enzymes in chicken granulosa cells[J]. Poultry Science, 2019, 98(4): 1911-1917.
- [26] 由莹. 槲皮素对蛋鸡产蛋性能的雌激素样作用[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2016.
- [27] 尹玲倩, 冉金山, 李菁菁, 等. 禽类就巢性状的遗传调控[J]. 遗传, 2019, 41(5): 391-403.
- [28] JIANG R S, XU G Y, ZHANG X Q, et al. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens[J]. Poultry Science, 2005, 84(6): 839-845.
- [29] PEI R, LIU X, BOLLING B. Flavonoids and gut health[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2020, 61: 153-159.
- [30] HUANG J C, CHEN L, XUE B, et al. Different flavonoids can shape unique gut microbiota profile *in vitro* [J]. Journal of Food Science, 2016, 81(9): H2273-H2279.
- [31] SHI T, BIAN X, YAO Z, et al. Quercetin improves gut dysbiosis in antibiotic-treated mice [J]. Food & Function, 2020, 11(9): 8003-8013.
- [32] LIU J Y, FU Y X, ZHOU S S, et al. Comparison of the effect of quercetin and daidzein on production performance, anti-oxidation, hormones, and cecal microflora in laying hens during the late laying period[J]. Poultry Science, 2023, 102(6): 102674.
- [33] WILKINSON N, HUGHES R J, ASPDEN W J, et al. The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese quail, *Coturnix japonica* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(9): 4201-4209.
- [34] PETROVA, M I, REID G, VANEECHOUTTE M, et al. Lactobacillus iners: friend or foe? [J]. Trends in Microbiology, 2017, 25(3): 182-191.

(责任编辑:石春林)