

妊娠中后期饲料添加氮氨甲酰谷氨酸对新生子代滩羊生长发育、脂肪沉积相关基因表达以及母羊血清生化指标的影响

钟 锐¹ 李荫柱¹ 刘 博¹ 牛文智² 张桂杰^{1*}

(1.宁夏大学动物科学系,银川 750021;2.吴忠市红寺堡区天源良种羊繁育养殖有限公司,吴忠 751900)

摘要: 本试验旨在探讨妊娠中后期饲料添加氮氨甲酰谷氨酸(NCG)对新生子代滩羊生长发育、脂肪沉积相关基因表达以及母羊血清生化指标的影响。选用胎次(第2胎次)、年龄(3岁龄)和体重[(47.75±1.20) kg]相近的滩羊母羊80只,同期发情后人工授精,成功受孕63只,选择60只妊娠母羊进行试验。妊娠70 d后将母羊按体重随机分为2组,每组5个重复,每个重复6只羊。对照组母羊饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中添加0.10% NCG。试验直至分娩结束,各组母羊均产羔羊1只。结果表明:1)与对照组相比,试验组新生子代滩羊初生重显著上升了6.1%($P<0.05$),体长和体高有上升趋势($0.05\leq P<0.10$)。2)与对照组相比,试验组新生子代滩羊肾周脂肪中脂蛋白脂酶(LPL)mRNA相对表达水平显著提高了18.6%($P<0.05$),而肾周脂肪中葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)mRNA相对表达水平显著下降了13.3%($P<0.05$);新生子代滩羊肠脂、肾脂和尾脂中硬脂酰辅酶A去饱和酶(SCD)mRNA相对表达水平有上升趋势($0.05\leq P<0.10$)。3)与对照组相比,试验组母羊血清总蛋白和球蛋白含量有上升趋势($0.05\leq P<0.10$),血清胆固醇、葡萄糖和尿素氮含量有下降趋势($0.05\leq P<0.10$)。综上所述,妊娠中后期滩羊饲料中添加0.10% NCG能显著提高新生子代滩羊初生重,同时改善新生子代滩羊脂肪沉积相关基因LPL、SCD和GLUT4的表达。

关键词: 妊娠期;氮氨甲酰谷氨酸;子代滩羊;血清生化指标;脂肪沉积

中图分类号: S826

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2021)04-2355-10

反刍动物脂肪组织形成主要发生在胚胎期^[1]。脂肪沉积包括脂肪细胞增殖和肥大,脂肪细胞增殖主要通过妊娠中后期肌内脂肪发育开始时增加脂肪沉积位点来实现,而脂肪细胞肥大主要通过育肥阶段营养供应实现^[2]。妊娠期母体营养水平与胚胎发育及其血管生成密切相关,因此妊娠中后期母体营养供给模式可改变胎儿脂肪发育与沉积^[3-5],直接影响到成年子代胴体品质和肉

品质。随着动物营养学研究的深入,业内人士越来越重视功能性氨基酸在动物生产及营养调控方面的作用。氮氨甲酰谷氨酸(N-carbamyl glutamate, NCG)能有效激活内源性精氨酸(arginine, Arg)合成途径中关键酶——氨甲酰磷酸合成酶-I(carbamoyl phosphate synthase-I, CPS-I),启动内源性Arg合成^[6-9],Arg直接参与动物体内多胺和一氧化氮(NO)形成。血液中NO含量升

收稿日期:2020-09-02

基金项目: 国家自然科学基金——妊娠中后期氮氨甲酰谷氨酸对新生子代滩羊脂肪沉积的作用及营养调控(31702134);教育部霍英东青年教师基金——妊娠中后期氮氨甲酰谷氨酸对子代滩羊脂肪分配的程序化作用及营养调控(161106);宁夏高等学校一流学科建设(草学学科)资助项目(NXYLXK2017A01);农牧交错带牛羊牧繁育关键技术集成示范项目(16200158-08)

作者简介: 钟 锐(1995—),男,陕西榆林人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 962267798@qq.com

* 通信作者:张桂杰,教授,博士生导师,E-mail: Guijiezhang@126.com

高有助于血管扩张和血液流动,可增强胚胎与母体之间的联系,与胚胎期的脂肪发育启动密切相关。与 Arg 相比, NCG 性质稳定、半衰期长,可提高母体胎盘的最外层及滋养层细胞数量、形态及活性,促进离子、糖、水及氨基酸进入胎儿,促进营养物质利用率并改善胎盘发育^[10]。研究表明,在猪饲料中添加适量的 NCG 可显著提升胚胎存活率,上调与胚胎着床相关因子的表达,并诱导胚胎和胎儿发育^[11-12]。

本团队前期研究发现,饲料添加 0.10% NCG 可以显著提高滩羊肌内脂肪含量,改善育肥期滩羊的体脂分配,显著提高肉质^[13-14]。但关于家畜妊娠阶段饲料添加 NCG 是否调控新生子代生长发育和脂肪沉积,尚缺乏理论支持。因此,本试验旨在探讨妊娠中后期母体供给 NCG 对新生子代滩羊生长发育、不同部位脂肪沉积相关基因表达与母体血清生化指标的影响,以期 NCG 调控母子一体化高效生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲料

试验选用胎次、年龄和体重 [(47.75 ± 1.20) kg] 相近的经产滩母羊 80 只,采用同期发情后进行人工授精配种,成功受孕 63 只。选择成功受孕的 60 只母羊进行试验。妊娠 70 d 按母羊体重随机分为 2 组,每组 5 个重复,每个重复 6 只羊。分娩结束时,每只妊娠母羊均产羔羊 1 只,共计 60 只。

试验基础饲料参考 NRC (2007) 设计,其组成及营养水平见表 1,对照组母羊饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中添加 0.10% NCG (NCG 含量 ≥ 95%,水分含量 ≤ 3%,总磷含量 ≤ 5 mg/kg,铅含量 ≤ 10 mg/kg)。

1.2 饲养管理

试验羊打耳号后饲养在通风良好的半开放式羊舍内,妊娠前期统一进行饲喂,妊娠中后期进行分群饲喂。预试期 7 d,正试期至分娩结束。每天 08:00 和 16:00 分 2 次饲喂,自由饮水。按羊场操作程序进行消毒、驱虫和免疫。每天根据饲料剩余量调整饲喂量,保证饲料剩余量 < 5%,直至分娩结束。

1.3 样品采集与处理

每个组中随机挑选母羊 5 只,共计 10 只,妊娠

结束后,立即将新生羔羊进行屠宰,擦干新生羔羊体外胎液后测定初生重及体尺指标。母羊分娩后静脉采血 5 mL,收集血清,置于 -20 °C 冰箱保存,待测。分别采集新生羔羊肾周脂肪(肾脂)、肠系膜脂肪(肠脂)、腹部皮下脂肪(皮脂)和尾部脂肪(尾脂)约 10 g,因母羊妊娠结束时间并不统一,为防止样品 RNA 降解,样品置于液氮中保存,备用。

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米青贮 Corn silage	11.50
青干草 Green hay	30.00
苜蓿草 Alfalfa hay	8.50
玉米 Corn	29.50
麦麸 Wheat bran	6.80
豆粕 Soybean meal	7.70
棉籽粕 Cottonseed meal	4.00
预混料 Premix ¹⁾	2.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
有机物 OM	90.52
粗灰分 Ash	8.33
代谢能 ME/(MJ/kg)	11.95
粗蛋白质 CP	14.75
粗脂肪 EE	5.52
中性洗涤纤维 NDF	45.33
酸性洗涤纤维 ADF	25.58

1) 每千克预混料含 Per kg of the premix contained: Ca 10.5 g, P 6.2 g, VA 22 000 IU, VD₃ 10 000 IU, VE 100 mg, Fe 1 g, Na 3.5 g, Mn 50 mg, Zn 100 mg, Cu 15 mg, Se 0.3 mg, I 0.9 mg, Co 0.6 mg。

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

1.4 指标测定

1.4.1 新生子代滩羊的初生重与体尺

测定所有新生子代滩羊的初生重和体尺。
初生重:擦干新生羔羊体外胎液后称重。
体高:肩胛骨最高点到地面的垂直距离。
体长:肩端至坐骨结节末端距离。
胸深:髻甲至胸骨下缘的垂直距离。
胸围:肩胛骨后缘绕胸 1 周的长度。

1.4.2 母羊血清生化指标

所选 10 只母羊妊娠结束后, 静脉采血 5 mL, 置于离心管中, 1 980×g、4 °C 离心 15 min, 收集血清, 置于-20 °C 冰箱保存。采用全自动生化分析仪 (TBA-40FR, 日本东芝公司), 通过比色法测定血清总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、球蛋白 (GLB)、总胆固醇 (CHO)、葡萄糖 (GLU)、尿素氮 (UN) 含量, 试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 按照说明书要求进行操作。

1.4.3 新生子代滩羊不同部位脂肪组织中脂肪沉积相关基因表达

采用 TRIzol 法提取新生子代滩羊肾脂、肠脂、

皮脂和尾脂的总 RNA, 取少量 RNA 用 1% 琼脂糖凝胶电泳验证。参照 TIAN Script RT Kit 反转录试剂盒说明书操作获得 cDNA, 并以此为模板, 采用实时荧光定量 PCR 方法测定脂蛋白脂酶 (LPL)、脂肪酸合成酶 (FAS)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (SCD) 和葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) mRNA 相对表达水平。引物采用 Primer 5.0 软件设计, PCR 引物序列见表 2。以 β -肌动蛋白 (β -actin) 为内参, 在 ABI7500 荧光定量 PCR 仪上进行实时荧光定量 PCR 反应。根据目的基因和 β -actin 的阈值循环 (Ct), 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算样品中各脂肪沉积相关基因 mRNA 相对表达水平^[15]。

表 2 PCR 引物序列

Table 2 PCR primer sequences

基因名称 Gene names	引物序列 Primer sequence (5'—3')	退火温度 Tm/°C	扩增产物大小 Amplification product size/bp
β -肌动蛋白 β -actin	F: CTTCCAGCCTTCCTTCCTGG R: GCCAGGGCAGTGATCTCTTT	60	180
脂蛋白脂酶 LPL	F: AGCTCCAAGTCGCCTTTCTC R: CGGAGAGCTTCCCAATGTT	60	171
脂肪酸合成酶 FAS	F: CCACGTGGCTGGTATCAACT R: GGCTGACAGAAAACAGGTG	60	108
硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 SCD	F: TGCTGATCCCCACAATTCCC R: CACCCATAGATACCACGGC	60	218
葡萄糖转运蛋白 4 GLUT4	F: CAGGATCGACCACTATCGGC R: TGGCGTGCTTTCTTCTCCAT	60	136

1.5 数据统计方法

试验数据用 Excel 2010 软件进行初步整理计算, 采用 SAS 8.2 TTEST 过程统计分析, 组间差异利用 *t* 检验进行比较, $P < 0.05$ 表示差异显著, $0.05 \leq P < 0.10$ 表示有显著趋势。

2 结果

2.1 NCG 对新生子代滩羊初生重及体尺的影响

由表 3 可见, 与对照组相比, 试验组新生子代滩羊初生重显著上升了 6.1% ($P < 0.05$), 体长和体高有上升趋势 ($0.05 \leq P < 0.10$), 胸围和胸深无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 3 NCG 对新生子代滩羊初生重及体尺的影响

Table 3 Effects of NCG on birth weight and body size of newborn offspring Tan sheep ($n=5$)

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	SEM	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
初生重 Birth weight/kg	3.80 ^b	4.03 ^a	0.07	0.03
体长 Body length/cm	27.50	28.58	0.27	0.07
体高 Body height/cm	32.58	33.17	0.35	0.09
胸围 Bust/cm	33.91	34.58	0.43	0.41
胸深 Chest depth/cm	11.67	12.67	0.26	0.29

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

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

2.2 NCG 对新生子代滩羊不同部位脂肪组织中脂肪沉积相关基因 mRNA 表达的影响

由表 4 可见,与对照组相比,试验组新生子代滩羊肾脂中 *LPL* mRNA 相对表达水平显著提高了 18.6% ($P < 0.05$),而肾脂中 *GLUT4* mRNA 相对表达水平显著下降了 13.3% ($P < 0.05$);试验组新生子代滩羊肠脂中 *LPL* mRNA 相对表达水平有降低

趋势 ($0.05 \leq P < 0.10$);新生子代滩羊肠脂、肾脂和尾脂中 *SCD* mRNA 相对表达水平有上升趋势 ($0.05 \leq P < 0.10$),皮脂中 *SCD* mRNA 相对表达水平无显著差异 ($P > 0.05$);新生子代滩羊肠脂、肾脂、皮脂和尾脂中 *FAS* mRNA 相对表达水平无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 4 NCG 对新生子代滩羊不同部位脂肪组织中脂肪沉积相关基因 mRNA 表达的影响

Table 4 Effects of NCG on mRNA expression of fat deposition related genes in different parts of fatty tissue of newborn offspring *Tan* sheep ($n = 5$)

项目 Items		对照组 Control group	试验组 Experimental group	SEM	P 值 P-value
脂蛋白脂酶 <i>LPL</i>	肠脂 Enterolactone	0.89	0.71	0.16	0.06
	肾脂 Pararenal fat	0.75 ^b	0.89 ^a	0.20	0.02
	皮脂 Sebum	0.90	0.91	0.16	0.88
	尾脂 Tail fat	1.48	1.49	0.12	0.74
脂肪酸合成酶 <i>FAS</i>	肠脂 Enterolactone	0.91	1.03	0.26	0.51
	肾脂 Pararenal fat	1.09	1.39	0.18	0.55
	皮脂 Sebum	1.30	2.15	0.54	0.34
	尾脂 Tail fat	1.51	1.66	0.55	0.57
硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 <i>SCD</i>	肠脂 Enterolactone	0.91	1.10	0.12	0.11
	肾脂 Pararenal fat	1.30	1.43	0.15	0.07
	皮脂 Sebum	1.22	1.21	0.11	0.09
	尾脂 Tail fat	1.63	2.45	0.61	0.05
葡萄糖转运 蛋白 4 <i>GLUT4</i>	肠脂 Enterolactone	1.05	1.37	0.19	0.31
	肾脂 Pararenal fat	1.80 ^a	1.56 ^b	0.42	0.03
	皮脂 Sebum	2.77	2.83	1.31	0.52
	尾脂 Tail fat	1.73	1.77	0.74	0.59

2.3 妊娠前、后母羊体重和日采食量

由表 5 可见,对照组与试验组妊娠前、后母羊

体重和日采食量均无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 5 妊娠前、后母羊体重和日采食量

Table 5 Body weight before and after pregnancy and daily feed intake of ewe ($n = 30$)

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	SEM	P 值 P-value
妊娠前体重 Body weight before pregnancy/kg	47.75	47.73	1.20	0.88
妊娠后体重 Body weight after pregnancy/kg	50.33	50.45	1.11	0.37
日采食量 Daily feed intake/g	2 524	2 540	16.78	0.25

2.4 NCG 对妊娠母羊血清生化指标的影响

由表 6 可见,与对照组相比,试验组母羊血清 TP 和 GLB 含量有上升趋势 ($0.05 \leq P < 0.10$),血清 CHO、GLU 和 UN 含量有下降趋势 ($0.05 \leq P < 0.10$)。

3 讨论

3.1 NCG 对新生子代滩羊初生重及体尺的影响

动物出生体重及体尺是反映其生长发育状况的重要指标^[10,13]。胎儿发育依靠血液从母体内获

得大量营养物质来满足自身需要,母体营养不良会导致胎儿生长发育受阻^[16]。因此妊娠期母羊的营养调控至关重要。NCG 能激活 CPS-I 及二氢吡咯-5 羧酸合成酶(P5CS),从而促进内源性 Arg 的合成。Arg 是动物生产中条件性必需氨基酸且积极参与胚胎、胎盘及胎儿的生长发育^[6,17-18]。大量研究表明,在妊娠母猪饲料中添加不同水平 NCG 或 Arg 在改善母猪繁殖性能的同时可以提高窝产活仔数和初生窝重,保证胎儿的存活、生长和发育^[19-20]。本研究发现,NCG 显著提高了新生子代滩羊的初生重,而且体高和体长均有上升趋势,

可能是饲料中添加 NCG 提高母体血液和子宫液中 Arg 浓度,进而促进胎盘 NO 和多胺的合成^[10,21]。NO 含量增加可促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的产生,诱导血管舒张并促进血流速度,多胺刺激血管生成、胚胎发育和胎盘生长,提高胎盘对胎儿营养物质供应^[22-23]。此外,NCG 的补充还可影响 VEGF 中 miR-15b、miR-222 和脐静脉内皮表面一氧化氮合酶(NOS)基因的表达,从而改善脐静脉功能和容积,使胎儿从母体获得更多的营养和氧气^[22-25],进而改善胎儿生长发育。

表 6 NCG 对妊娠母羊血清生化指标的影响

Table 6 Effects of NCG on serum biochemical indices of regnant ewes ($n=5$)

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group	SEM	P 值 P-value
总蛋白 TP/(g/L)	64.43	72.40	0.13	0.05
白蛋白 ALB/(g/L)	30.43	30.70	0.65	0.37
球蛋白 GLB/(g/L)	34.00	41.70	0.78	0.08
胆固醇 CHO/(mmol/L)	3.28	2.60	0.52	0.09
尿素氮 UN/(mmol/L)	4.93	3.37	0.39	0.06
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	3.56	2.28	0.11	0.07

3.2 NCG 对新生子代滩羊不同部位脂肪组织中脂肪沉积相关基因表达的影响

脂肪的合成主要有 2 种方式,其一为小肠黏膜细胞由甘油单酸酯与脂肪酸合成脂肪,其二为肝细胞与脂肪细胞由甘油二酸酯合成脂肪,然后通过血液循环运输到肌肉等不同组织中沉积^[26]。体脂的沉积是动物贮存能量的主要方式,其沉积量取决于脂肪合成代谢与分解代谢速度的高低^[27]。反刍动物脂肪组织的形成多发生在妊娠中后期^[4],而肠脂、肾脂、皮脂和尾脂组织过度发育会导致脂肪过度累积,影响滩羊的胴体品质。探究与脂肪沉积相关的候选基因和分子机制已成为脂肪沉积研究中的热点内容,不增加或降低无效脂肪的形成并增加脂肪内风味物质的沉积,才能改善胴体品质^[28]。研究表明,LPL、FAS、SCD 和 GLUT4 等在脂肪代谢调节过程中起着关键作用^[29-31]。

LPL 是脂质代谢和转运的关键酶,主要在脂肪组织、心脏肌肉和巨噬细胞中表达^[32-33],其活性的高低反映脂肪的蓄积程度,对组织的脂肪的沉积起负向调控作用。LPL 能够使动物机体内甘油

三酯降解为甘油和游离脂肪酸,以供机体组织储存和利用。LPL 可调节肌肉和脂肪甘油三酯的分配,是决定脂肪细胞大小的重要因素。LPL 基因也通过调节不同组织内脂蛋白的沉积而影响胴体品质^[34]。本研究中,LPL mRNA 相对表达水平在肾脂中显著上升,抑制肾周脂囤积,与 Bonnet 等^[35]研究结果相一致。这说明妊娠中后期滩羊母羊饲料中添加 NCG 能够影响新生子代羔羊 LPL 的表达,可调控羔羊的脂肪分配,对提高新生子代滩羊的胴体品质有积极作用。

FAS 是合成动物内源性脂肪酸和脂质积累的关键酶,在靶组织中参与脂质代谢,可改变脂肪酸生物合成速率。主要分布于高脂肪代谢和对激素敏感的组织中,可催化乙酰辅酶 A 和丙二酸单酰辅酶 A 用以长链脂肪酸的合成^[36-37]。因此,FAS 表达可调控脂肪酸合成速度,其活性与胴体脂肪含量呈正相关^[34]。本研究中,NCG 没有提高新生子代滩羊肠脂、肾脂、皮脂和尾脂中 FAS mRNA 相对表达水平。这说明妊娠中后期滩羊母羊饲料中添加 NCG 没有增加新生子代滩羊肠脂、肾脂、皮脂和尾脂长链脂肪酸合成量,对肠脂、肾脂、皮脂

和尾脂中脂质积累物无影响,新生子代滩羊的胴体品质未受影响。

SCD 是一种定位于内质网的跨膜蛋白,是合成单不饱和脂肪酸的关键酶,可在脂肪酸 C9 位置引入不饱和双键,将饱和脂肪酸转化成不饱和脂肪酸^[38],影响着羊肉大理石花纹,脂肪柔软度及羊肉内风味物质的沉积等^[36]。在哺乳动物中,SCD 主要在肝脏、脂肪等脂肪生成的组织中表达,其次在肾脏、肺脏等组织中表达,其对肝脏脂肪的沉积起着重要作用^[38]。本研究结果表明,NCG 可提高新生子代滩羊肠脂、肾脂和尾脂中 SCD mRNA 相对表达水平。这说明妊娠中后期滩羊母羊饲料中添加 NCG 会诱导子代滩羊 SCD 的表达。

GLUT4 在哺乳动物 GLU 跨膜转运过程中起重要作用,对调节能量平衡和调控脂肪沉积作用显著^[39]。GLUT4 作为胰岛素中介导信号转导的关键因子,主要分布在脂肪组织细胞,这些细胞在胰岛素刺激下 GLU 摄入量迅速升高,其表达不足会使胰岛素敏感性降低,导致对 GLU 的利用减少^[28,35,40]。本研究通过对滩羊 GLUT4 在不同脂肪组织中 mRNA 表达的研究发现,NCG 使新生子代滩羊肾脂 GLUT4 mRNA 相对表达水平显著下降,可能是妊娠中后期滩羊母羊饲料中添加 NCG 可降低子代滩羊肾脏周围脂肪组织细胞对 GLU 的吸收利用,进而抑制子代滩羊肾脏周围脂肪的生成,对改善羔羊体况发育起积极作用。

3.3 NCG 对母羊血清生化指标的影响

血清生化指标是反映动物机体免疫功能、酶活性及脏器功能完整性的重要指标^[41]。血清 TP 含量的高低反映了蛋白质的代谢水平,TP 含量变高,有利于促进动物生长,提高饲料转化效率。血清 UN 含量是衡量机体内蛋白质代谢和氨基酸平衡的重要指标,蛋白质代谢良好则血清 UN 含量降低,相反饲料中 1 种或多种氨基酸缺乏或过量时会造成血清 UN 含量的上升^[42-43]。研究表明,瘤胃上皮细胞和十二指肠细胞具有利用 NCG 进行尿素再循环的能力^[44],此外,饲料中添加 NCG 能有效降低哺乳仔猪及断奶仔猪血清 UN 含量^[45]。山羊羔羊灌服适量 NCG 可提高血清 TP、ALB 和 Arg 含量^[9]。Arg 可提高泌乳奶牛对蛋白质的利用,增加血清 TP 含量^[10]。GLU 是动物机体糖代谢平衡的重要指标,GLU 含量的恒定可优先满足大脑、胎儿和泌乳等需求。GLU 含量的动态平衡

是依靠 GLU 来源和去路的协调来维持,动物在采食消化吸收期间,由肠道吸收大量 GLU,其去路主要为各种组织中分解供能或转变为脂肪储存^[46],此外,母畜妊娠胎儿时必须利用 GLU,泌乳时需大量的 GLU 合成乳糖^[47]。本研究中,妊娠中后期滩羊母羊饲料中添加 NCG 后,妊娠母羊血清 TP 含量增高,血清 UN、GLU 含量降低,且均处于正常范围内,可能是由于妊娠期母羊饲料添加 NCG 促进母羊体内蛋白质的合成效率,同时激活 CPS-I 将体内多余的氨化为尿素,并提供更多 GLU 满足胎儿和泌乳需求。

4 结 论

妊娠中后期滩母羊饲料中添加 0.10% NCG 可提高新生子代羔羊初生重,改善生长发育,调控脂肪沉积相关基因 *LPL*、*SCD* 和 *GLUT4* 的表达。

参考文献:

- [1] HARRIS C L, WANG B, DEAVILA J M, et al. Vitamin A administration at birth promotes calf growth and intramuscular fat development in Angus beef cattle [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2018, 9: 55.
- [2] DU M, DODSON M V. Advanced techniques to enhance marbling in meat [M]. Kerala: Research Signpost, 2011: 105-115.
- [3] REDMER D A, WALLACE J M, REYNOLDS L P. Effect of nutrient intake during pregnancy on fetal and placental growth and vascular development [J]. *Domestic Animal Endocrinology*, 2004, 27 (3): 199-217.
- [4] SFERRUZZI-PERRI A N. Regulating needs: exploring the role of insulin-like growth factor-2 signalling in materno-fetal resource allocation [J]. *Placenta*, 2018, 64 Suppl 1: S16-S22.
- [5] 孙玲伟. RP-Arg 和 NCG 对妊娠期营养限饲湖羊胎儿和胎盘发育的影响 [D]. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2017.
SUN W L. Effect of RP-Arg and NCG supplementation on fetal and placental development in underfed hu sheep during pregnancy [D]. Ph. D. Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [6] WU G Y, KNABE D A, KIM S W. Arginine nutrition in neonatal pigs [J]. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134(10): 2783S-2390S.

- [7] GESSLER P, BUCHAL P, SCHWENK H U, et al. Favourable long-term outcome after immediate treatment of neonatal hyperammonemia due to N-acetylglutamate synthase deficiency [J]. *European Journal of Pediatrics*, 2010, 169 (2) : 197-199.
- [8] CHACHER B, ZHU W, YE J A, et al. Effect of dietary N-carbamoylglutamate on milk production and nitrogen utilization in high-yielding dairy cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97 (4) : 2338-2345.
- [9] 董晓静, 崔凯, 马泽芳, 等. N-氨甲酰谷氨酸对育成期水貂生长性能、营养物质消化率、氮代谢及血清生化指标的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49 (6) : 1194-1203.
- DONG X J, CUI K, MA Z F, et al. Effects of dietary N-carbamoylglutamate on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen metabolism and serum biochemical indexes of growing mink [J]. *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 2018, 49 (6) : 1194-1203. (in Chinese)
- [10] 冯涛, 马文清, 白佳桦, 等. N-氨甲酰谷氨酸在调控仔猪初生重中的应用及其作用机理 [J]. *中国畜牧杂志*, 2019, 55 (4) : 29-33.
- FENG T, MA W Q, LIU Y, et al. Application of N-carbamylglutamate in regulating piglet birth weight and its mechanism [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2019, 55 (4) : 29-33. (in Chinese)
- [11] WU G, BAZER F W, BURGHARDT R C, et al. Impacts of amino acid nutrition on pregnancy outcome in pigs: mechanisms and implications for swine production [J]. *Journal of Animal Science*, 2010, 88 (Suppl. 13) : E195-E204.
- [12] ZHANG B, CHE L Q, LIN Y, et al. Effect of dietary N-carbamylglutamate levels on reproductive performance of gilts [J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2014, 49 (5) : 740-750.
- [13] 张桂杰, 寇启芳, 何立荣, 等. 瘤胃保护型 N-氨甲酰谷氨酸 (NCG) 对滩羊生产性能、屠宰性能和脂肪分配的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2015, 51 (15) : 28-32.
- ZHANG G J, KOU Q F, HE L R, et al. Effects of rumen protected N-carbamylglutamate on growth performance, slaughter performance and fat deposition of *Tan* sheep [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2015, 51 (15) : 28-32. (in Chinese)
- [14] 王红梅, 牛文智, 张桂杰. 不同形态 N-氨甲酰谷氨酸对滩羊生长性能、血清生化指标和脂肪分配的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43 (12) : 3221-3226.
- WANG H M, NIU W Z, ZHANG G J. Effects of different types of N-carbamylglutamate on the growth performance, serum biochemical indexes and fat distribution of *Tan* sheep [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43 (12) : 3221-3226. (in Chinese)
- [15] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25 (4) : 402-408.
- [16] 张帆. 妊娠后期母羊精料饲喂水平对母羊和产后羔羊发育的影响 [D]. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- ZHANG F. Effects of maternal dietary concentrate feeding levels of ewes during late gestation on the maternal performance, and growth performance of offspring lambs [D]. Master's Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017. (in Chinese)
- [17] KIM S W, WU G, BAKER D H. Amino acid nutrition of breeding sows during gestation and lactation [J]. *Pig News Information*, 2005, 26 : 89N-99N.
- [18] BÉRARD J, BEE G. Effects of dietary L-arginine supplementation to gilts during early gestation on foetal survival, growth and myofiber formation [J]. *Animal*, 2010, 4 (10) : 1680-1687.
- [19] 唐燕妮, 施魁, 管武太, 等. 功能性氨基酸对母猪胎盘功能影响的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31 (11) : 4927-4932.
- TANG Y N, SHI K, GUAN W T, CHEN F. Research progress on effects of functional amino acids on placental function of sows [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31 (11) : 4927-4932. (in Chinese)
- [20] 李尚. 精氨酸改善宫内发育迟缓、对胎儿生长发育及母猪繁殖性能的影响 [J]. *猪业科学*, 2018, 35 (7) : 50-52.
- LI S. Effects of arginine on intrauterine growth retardation, fetal growth and reproductive performance of sows [J]. *Swine Industry Science*, 2018, 35 (7) : 50-52. (in Chinese)
- [21] ZENG X F, HUANG Z M, MAO X B, et al. N-carbamylglutamate enhances pregnancy outcome in rats through activation of the PI3K/PKB/mTOR signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (7) : e41192.
- [22] LIU X D, WU X, YIN Y L, et al. Effects of dietary L-arginine or N-carbamylglutamate supplementation during late gestation of sows on the miR-15b/16, miR-221/222, VEGFA and eNOS expression in umbilical vein [J]. *Amino Acids*, 2012, 42 (6) : 2111-2119.

- [23] PALENCIA J Y P, SARAIVA A, ABREU M L T, et al. Effectiveness of citrulline and N-carbamoyl glutamate as arginine precursors on reproductive performance in mammals: a systematic review [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0209569.
- [24] CHACHER B, LIU H Y, WANG D M, et al. Potential role of N-carbamoyl glutamate in biosynthesis of arginine and its significance in production of ruminant animals [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2013, 4(1): 16.
- [25] ZHANG H, ZHAO F F, PENG A L, et al. Effects of dietary L-arginine and N-carbamylglutamate supplementation on intestinal integrity, immune function, and oxidative status in intrauterine-growth-retarded suckling lambs [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018.
- [26] 魏殿华. 急性冷应激下 miRNA 对绵羊脂肪代谢影响的研究进展 [J]. *现代畜牧兽医*, 2020(10): 55-60.
WEI D H. Research progress of the effect of miRNA on fat metabolism in sheep under acute cold stress [J]. *Modern Veterinary animal husbandry*, 2020(10): 55-60. (in Chinese)
- [27] SUN L W, ZHANG H, FAN Y X, et al. Metabolomic profiling in umbilical venous plasma reveals effects of dietary rumen-protected arginine or N-carbamylglutamate supplementation in nutrient restriction Hu sheep during pregnancy [J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2017, 52(3): 376-388.
- [28] 谢红月, 瞿秋红, 潘鹏, 等. 影响肌内脂肪沉积的候选基因及分子机制研究进展 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2020(11): 30-34.
XIE H Y, QU Q H, PAN P, XIA Q, JIANG Q Y, HUANG Y N. Research progress on candidate genes and molecular mechanisms affecting intramuscular fat deposition [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2020(11): 30-34. (in Chinese)
- [29] 胡诚军, 张婷, 李华伟, 等. 饲料添加精氨酸和谷氨酸对肥育猪脂代谢相关基因表达的影响 [C] // 中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十二次动物营养学术研讨会论文集. 武汉: 中国畜牧兽医学会, 2016: 1.
HU C J, ZHANG T, LI H W, et al. Effects of dietary supplementation of arginine and glutamate on lipid metabolism related gene expression in fattening pigs [C] // Proceedings of the 12th symposium on animal nutrition, Animal Nutrition Branch of Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Science. Wuhan: Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary, 2016: 1. (in Chinese)
- [30] 代立霞, 周世卫, 田崇奇, 等. 不同日粮对滩羊尾部脂肪沉积及 *Leptin*、*GLUT4* 基因表达的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2017, 38(1): 13-19.
DAI L X, ZHOU S W, TIAN C Q, et al. Effects of different diets on tail-fat depositions and expressions of *Leptin* and *GLUT4* genes of Tan sheep [J]. *Acta Ecologica Animalis Domastici*, 2017, 38(1): 13-19. (in Chinese)
- [31] 杨蕾, 王柏辉, 罗玉龙, 等. 饲养方式对苏尼特羊脂肪组织中脂肪代谢相关基因表达量的影响 [J]. *食品科学*, 2018, 39(19): 13-18.
YANG L, WANG B H, LUO Y L, et al. Effect of different feeding methods on the expression of lipid metabolism genes in different adipose tissues of sunit sheep [J]. *Food Science*, 2018, 39(19): 13-18. (in Chinese)
- [32] PEINE J L, JIA G Q, VAN EMON M L, et al. Effects of maternal nutrition and rumen-protected arginine supplementation on ewe performance and postnatal lamb growth and internal organ mass [J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(8): 3471-3481.
- [33] OKAMOTO S, MURANO T, SUZUKI T, et al. Regulation of secretion and enzymatic activity of lipoprotein lipase by C-mannosylation [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 486(2): 558-563.
- [34] 徐小春. 绵羊尾部脂肪代谢相关调控基因的作用研究 [D]. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
XU X C. Study on metabolism of tail fat regulatory genes in sheep [D]. Ph.D. Thesis. Yangling: Northwest A&F University, 2015. (in Chinese)
- [35] BONNET M, FAULCONNIER Y, HOCQUTTE J F, et al. Nutritional status induces divergent variations of GLUT4 protein content, but not lipoprotein lipase activity, between adipose tissues and muscles in adult cattle [J]. *British Journal of Nutrition*, 2004, 92(4): 617-625.
- [36] 顾悦, 张保军, 高爱武. 家畜肌内脂肪沉积过程相关基因研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(8): 159-162.
GU Y, ZHANG B J, GAO A W. The research progress on genes related to intramuscular fat deposition process [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2014, 40(8): 159-162. (in Chinese)

- [37] AHMED A A, MUSA H H, FEDAIL J S, et al. Gum arabic suppressed diet-induced obesity by alteration the expression of mRNA levels of genes involved in lipid metabolism in mouse liver [J]. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2016, 7(1):15-20.
- [38] 徐乃一, 郑航, 田卫华, 等. 鸡 *SCD* 基因表达调控特性分析[J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(1):123-131.
- XU N Y, ZHENG H, TIAN W H, et al. Characteristics of expression and regulation of *SCD* gene in chicken (*Gallus gallus*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26(1):123-131. (in Chinese)
- [39] 代立霞. 不同日粮对滩羊尾部脂肪沉积及脂肪代谢相关基因表达的影响[D]. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- DAI L X. Effect of different diets on tan sheep tail fat deposition and gene expressions related to fat metabolism[D]. Master's Thesis. Yangling: Northwest A&F University, 2016. (in Chinese)
- [40] 李瑾, 白瑞, 秦卫伟, 等. 晚期糖基化终产物对心肌细胞葡萄糖转运蛋白 4 表达的影响及 p38 丝裂原活化蛋白激酶作用的研究[J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(8):1289-1292.
- LI J, BAI R, QIN W W, et al. Effects of advanced glycation end products on the expression of glucose transporter 4 in cardiomyocytes and the involvement of p38 mitogen-activated protein kinase [J]. *Chinese Remedies & Clinics*, 2018, 18(8):1289-1292. (in Chinese)
- [41] 周水岳. 低聚糖对幼龄动物生产性能、血液生化指标和养分利用的影响[D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2018.
- ZHOU S Y. Effects of oligosaccharide on growth performance, serum biochemical indices and nutrient utilization in neonate[D]. Master's Thesis. Changsha: Hunan Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [42] 李亚辉. 3 种添加剂对断奶羔羊生产性能和血液指标的影响[D]. 硕士学位论文. 郑州: 河南农业大学, 2017.
- LI Y H. Effects of three additives on the production performance and blood index in weaned lambs [D]. Master's Thesis. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [43] 周玉香, 吕玉玲, 王洁, 等. 血液生化指标在动物生产与营养调控研究中的应用概况[J]. *畜牧与饲料科学*, 2012, 33(5/6):72-74.
- ZHOU Y X, LYU Y L, WANG J, et al. Application survey of blood biochemical indices in the studies of animal production and nutritional regulation. *animal husbandry and feed science* [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2012, 33(5/6):72-74. (in Chinese)
- [44] OBA M, BALDWIN V R L, OWENS S L, et al. Metabolic fates of ammonia-N in ruminal epithelial and duodenal mucosal cells isolated from growing sheep [J]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88(11):3963-3970.
- [45] YING P. Indices and intestinal morphology with its proliferation in weanling piglets [J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, 11(16):2926-2929.
- [46] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- FENG Y L. Ruminant nutrition [M]. Beijing: Science Press, 2006. (in Chinese)
- [47] GIALLONGO F, HARPER M T, OH J, et al. Effects of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(6):4437-4452.

Effects of Dietary N-Carbamyl Glutamate in Middle and Late Gestation Period on Growth and Development, Expression of Fat Deposition Related Genes of Newborn Offspring *Tan* Sheep and Serum Biochemical Parameters of Ewes

ZHONG Rui¹ LI Yinzhu¹ LIU Bo¹ NIU Wenzhi² ZHANG Guijie^{1*}

(1. Department of Animal Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. Hongsipu District Tianyuan Well-Bred Sheep Breeding Co., Ltd., Wuzhong 751900, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of dietary N-carbamyl glutamate (NCG) in middle and late gestation period on growth and development, expression of fat deposition related genes of newborn offspring *Tan* sheep and serum biochemical parameters of ewes. Eighty *Tan* sheep ewes with similar parity (the second parity), age (three years old) and body weight [(47.75 ± 1.20) kg] were selected for artificial insemination after synchronous estrus. Sixty-three ewes were successfully conceived, and sixty of them were selected for the experiment. After seventy days of gestation, the ewes were randomly divided into two groups according to their body weight, with five replicates in each group and six ewes in each replicate. Ewes in the control group were fed a basic diet, and others in the experimental group were fed the basic diet supplemented with 0.10% NCG. Until the end of parturition, all ewes in each group produced 1 lamb. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the birth weight of newborn offspring *Tan* sheep in the experimental group increased significantly by 6.1% ($P < 0.05$), and the body length and body height had an upward tendency ($0.05 \leq P < 0.10$). 2) Compared with the control group, the mRNA relative expression levels of lipoprotein lipase (*LPL*) in perirenal fat of newborn offspring *Tan* sheep in the experimental group was significantly increased by 18.6% ($P < 0.05$), while the mRNA relative expression level of glucose transporter 4 (*GLUT4*) in perirenal fat was significantly decreased by 13.3% ($P < 0.05$); and the mRNA relative expression level of stearoyl coenzyme A desaturase (*SCD*) in enterolactone, pararenal fat and tail fat of newborn offspring *Tan* sheep had an upward tendency ($0.05 \leq P < 0.10$). 3) Compared with the control group, the contents of total protein and globulin in serum of ewes had an upward tendency ($0.05 \leq P < 0.10$), and the contents of cholesterol, glucose and urea nitrogen in serum had a downward tendency ($0.05 \leq P < 0.10$). In conclusion, dietary 0.10% NCG of *Tan* sheep in middle and late gestation period can increase the birth weight of newborn offspring *Tan* sheep, and improve the expression of fat deposition related genes in newborn offspring *Tan* sheep, such as *LPL*, *SCD* and *GLUT4*. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(4):2355-2364]

Key words: gestation period; N-carbamyl glutamate; offspring *Tan* sheep; serum biochemical indices; fat deposition