

绵羊饲料利用率与血清激素相关性及相关基因研究

梁祎凡^{1,2}, 曹 阳², 金海国^{1,2*}

(1. 延边大学农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 吉林省农业科学院畜牧科学分院, 吉林 公主岭 136100)

摘要:本试验通过研究绵羊饲料利用率与几种血清激素浓度间的相关性及相关基因在组织中的表达量, 试图探索饲料利用率的影响因素和分子机制。试验选用来自体重相近的15只杜泊羊♂×小尾寒羊♀F₁代公羊, 通过饲养试验获得饲料利用率极端差异的两组, 分别对血清激素指标和相关基因表达进行测定, 开展差异显著性分析和相关性分析, 结果显示: 两组间试验羊饲料利用率和平均日增重差异显著($P<0.01$); 饲料利用率高组神经肽Y(NPY)激素浓度显著低于饲料利用率低组($P<0.05$), 血清中NPY与采食量和饲料利用率呈现低度正相关($r=0.307, P<0.05$; $r=0.447, P<0.05$), 与平均日增重呈现中度负相关($r=-0.620, P<0.05$), 其余激素浓度与饲料利用率相关性状间无显著相关性($P>0.05$)且两组间浓度差异不显著($P>0.05$); NPY基因在饲料利用率高组的表达水平高于饲料利用率低组, 与其在血清中的浓度测定结果相一致; NPY基因在瘤胃中表达量最多, 在肌肉中最少。本结果表明: NPY可能是影响饲料利用率的因素之一, 对于内在调控机制还需要进一步研究。

关键词:饲料利用率; 血清激素浓度; 杜泊羊♂×小尾寒羊♀F₁代公羊; 神经肽Y(NPY)

中图分类号: S826

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2018)06-0032-04

Studies on the Correlation between Sheep Feed Utilization Efficiency and Serum Hormone and Related Genes

LIANG Yifan^{1,2}, CAO Yang², JIN Haiguo^{1,2*}

(1. College of Agronomy, Yanbian University, Yanji 133002; 2. Branch of Animal Husbandry, Jilin Academy of Agricultural Science, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: The study attempts to explore the influencing factors and molecular mechanisms of feed utilization by studying the correlation between sheep feed utilization and several serum hormone concentrations and the expression of related genes in tissues. 15 individuals from the same group that F₁ rams of small-tail Han sheep × Dorper sheep were selected, and the two groups were found to have extreme differences in feed utilization rate through feeding experiments. Serum indicators and related gene expression were measured, and differential analysis and correlation analysis were carried out. The results showed that there was a significant difference in feed utilization and average daily gain between the two groups ($P<0.01$). The neuropeptide Y (NPY) hormone concentration in high feed utilization rate group was significantly lower than that in the low feed utilization rate group ($P<0.05$). The NPY showed a low positive correlation ($r=0.307, P<0.05$; $r=0.447, P<0.05$) with feed consumption and feed utilization rate, and showed a moderate negative correlation with the average daily gain ($r=-0.620, P<0.05$). there was not significant correlation between hormone and feed utilization rate. The expression level of NPY gene in the high feed utilization group was higher than that in the low feed utilization group, which was consistent with the concentration determination in serum; NPY gene was most expressed in the rumen and the least in muscle. The results suggest that NPY may be one of the factors affecting feed utilization, and further research is needed for the intrinsic regulation mechanism.

Key words: Feed utilization efficiency; Serum hormone concentration; F₁ rams of small-tail Han sheep × Dorper sheep; Neuropeptide Y (NPY)

收稿日期: 2018-09-11

基金项目: 国家肉羊产业技术体系(CARS-38); 吉林省科技发展计划(20160412029XH)

作者简介: 梁祎凡(1993-), 女, 在读硕士, 研究方向为动物遗传育种与繁殖。

通讯作者: 金海国, 男, 博士, 研究员, E-mail: khk1962@126.com

在畜牧业生产中,提高饲料利用率,降低饲料成本一直受到广泛关注。饲料利用率常用饲料转化率(Feed Conversion Ratio, FCR)表示,即用料重比作为评价指标,饲料利用率与料重比呈负相关^[1]。饲料效率(Feed Efficiency, FE)即消耗的饲料量与增重的比值。随着生产规模的不断扩大,造成的资源浪费和环境污染问题日益加剧,反刍动物释放的甲烷加剧温室气体排放,提高饲料利用率在降低养殖成本的同时有利于保护环境、节约资源^[2]。传统提高饲料利用率的方法包括日粮加工处理、控制瘤胃发酵、改善日粮平衡、合理使用饲料添加剂、改善饲养环境等^[3]。随着分子遗传学领域的不断探索,肉羊饲料代谢研究从确定饲料中营养物质含量转向分子层面研究,试图对其进行改进和人为调控^[4]。本研究通过饲养试验得到料重比,并据此作为评价饲料利用率的指标,同时配合测定相关血清指标,根据血清激素浓度结果进行实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR),对结果进行进一步验证,以探索激素水平与饲料利用率的相关性、寻找饲料利用率的影响因素,为研究相关调控基因的变化程度奠定基础,为后续研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验于2017年12月在吉林省农业科学院畜牧分院进行,选取乾安示范地15只杜泊羊 $\delta \times$ 小

尾寒羊 ♀ F_1 代公羊。

1.2 试验方法

1.2.1 饲养试验

选择体况良好、体重均匀肉羊置于单栏羊圈中,预试期3 d,试验期19 d。预试前每只试验羊注射伊维菌素溶液2.5 mL进行驱虫处理。预试期第一天称重,试验饲粮参考《肉羊饲养标准》(NY/T816-2004)55 kg体重、日增重为300 g/d肉羊营养需要量配制基础饲粮和主要营养水平,精粗比约为3:7。根据末重和总体采食量计算FCR。

1.2.2 血清指标检测

采血后提取血清于 -20°C 保存,分别测定血清中神经肽Y(NPY)、胃饥饿素(Ghrelin)、瘦素(LEP)、黑皮质激素(MC)、生长激素(GH)、胰岛素样生长因子2(IGF-2)、解偶联蛋白2(UCP2)、解偶联蛋白3(UCP3)指标,由上海晶抗生物工程有限公司利用Elisa法进行测定。

1.2.3 血清激素相关基因的RNA提取和实时定量PCR扩增

使用Trizol试剂提取极端差异个体8只羊瘤胃、肝脏、小肠和肌肉样本的总RNA,利用Prime-ScriptTM RT试剂盒进行cDNA合成。根据NCBI数据库中所得到的NPY基因序列(NM_001009452.1)和已知的 β -肌动蛋白基因序列(NM_001009784.2),用Primer Premier 5软件进行引物设计(表1),对NPY基因进行实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR), β -肌动蛋白用作内参基因。

表1 引物序列

基因	引物序列	产物	退火温度
神经肽Y	F:GCTGCGACTACATCAATCTCA	135bp	60℃
	R:GAGCAAGTTTCATTTCCCATCA		
β -肌动蛋白	F:CCCTGGAGAAGAGCTACGAG	154bp	60℃
	R:GGTAGTTTCGTGAATGCCGC		

1.3 数据整理

采用Excel软件整理数据并用SPSS 23.0软件对试验数据进行统计分析,试验数据以“平均值 \pm 标准差”表示,采用独立样本t检验对两组试验羊各项指标进行显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著;采用皮尔森相关系数(Pearson correlation coefficient)方法分析饲料利用率相关性状和血清激素浓度间的相关性;实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)结果用GraphPad软件对所得数据进行分析整理。

2 结果与分析

2.1 生长性状差异显著性对比

根据饲养试验结果计算平均日增重及采食量,根据所得料重比差异选取最高和最低个体分为两组(表示为E-Low和E-High),每组各4只。对E-Low和E-High两组羊的生长性状进行分类统计,结果见表2。由表2结果可知,初始体重和末重及采食量方面没有显著差异($P > 0.05$);E-High组料重比极显著高于E-Low组,E-Low组平均日增重极显著高于E-High组($P < 0.01$)。

表2 饲料利用率相关性状

项目	初始体重(kg)	末重(kg)	采食量(kg)	平均日增重(kg)	料重比
料重比低 E-Low	49.06±8.42	52.34±8.33	29.95±2.10	0.16 ^a ±0.01	9.50 ^a ±0.69
料重比高 E-High	51.85±6.21	52.49±6.15	30.16±2.17	0.04 ^b ±0.01	39.06 ^b ±3.68

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P > 0.01$),下同

2.2 血清指标显著性对比

分别测定并对比 E-Low 和 E-High 两组血清中 8 个激素的浓度,除 E-Low 组的神经肽 Y(NPY) 浓度显著低于 E-High 组 ($P < 0.05$) 外,其他激素水平差异不显著 ($P > 0.05$),如表 3 所示。

表3 血清激素浓度结果 ng/mL

项目	料重比低 (E-Low)	料重比高 (E-High)
神经肽 Y	204.08 ^a ±36.17	233.08 ^b ±20.40
胃饥饿素	4.05±0.88	4.14±0.97
黑皮质素	564.76±60.72	555.82±41.75
瘦素	8.89±1.86	6.44 ±1.96
生长激素	9.08±2.24	8.33±1.98
胰岛素样生长因子 2	19.40±4.27	19.06±2.94
解偶联蛋白 2	12.01±1.61	11.54±3.81
解偶联蛋白 3	13.39 ±3.04	12.67±0.77

2.3 生长性状与血清指标相关性分析

对血清中各激素浓度与采食量、平均日增重和料重比间的相关系数进行分析,结果显示,神经肽 Y(NPY) 与采食量和料重比呈现低度正相关 ($r=0.307, P < 0.05$; $r=0.447, P < 0.05$); 与平均日增重呈现中度负相关 ($r=-0.620, P < 0.05$),其余激素浓度与饲料利用率相关性状间无显著相关性 ($P > 0.05$),如表 4 所示。

表4 饲料利用率相关性状与血清激素浓度相关性

项目	采食量 (kg)	平均日增重 (kg)	料重比
神经肽 Y	0.307 [*]	-0.620 [*]	0.447 [*]
胃饥饿素	0.187	-0.159	0.116
黑皮质素	-0.157	0.003	-0.015
瘦素	-0.057	0.760	-0.742
生长激素	0.025	0.146	0.167
胰岛素样生长因子 2	0.060	-0.560	0.646
解偶联蛋白 2	-0.154	-0.021	0.681
解偶联蛋白 3	-0.529	0.301	-0.395

注: *表示差异显著 ($P < 0.05$), **表示差异极显著 ($P < 0.01$)

2.4 NPY 在不同组织的表达分析

对饲料利用率高组和低组个体瘤胃、肝脏、小肠和肌肉中 NPY 的表达进行定量分析,以料重比低组为参照,结果显示 NPY 基因在料重比高组的表达整体高于料重比低组(图 1),与血清中的测定结果一致。相关分析结果表明, NPY 与料重比呈中度正相关 ($r=0.447, P < 0.05$)。以肝组织表达量为参照,对比 NPY 基因在不同组织间的表达差异可以发现, NPY 基因在瘤胃中表达量最多,在肌肉中最少(图 2)。

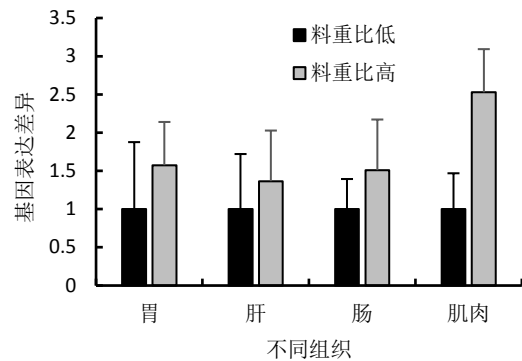


图1 神经肽Y基因在不同料重比组间的表达差异

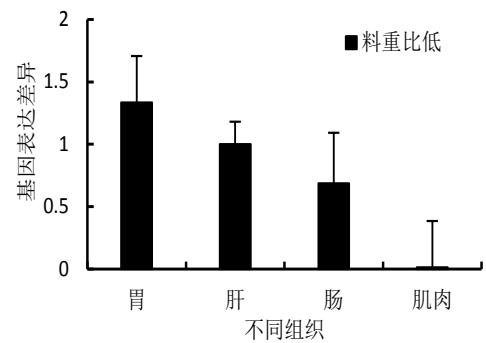


图2 神经肽Y在不同组织间表达差异

3 讨论

当前肉羊生产体系的重要研究方向在于提高饲料利用率,将提高整个体系的生产效益和控制污染有机结合起来。影响饲料利用率的因素有个体差异、环境、日粮组成等原因,不同种群生产性能会存在较大差异^[5]。本研究利用来自同一种群且生长性状相似的肉羊个体,通过对比在环境、日粮相同条件下寻找饲料利用率的差异,为探索

基因表达差异奠定基础。本试验选择的杜泊羊 δ ×小尾寒羊 ♀ F₁代公羊杂种优势明显,兼具杜泊羊产肉性能高和小尾寒羊繁殖性能强的特点,是肉羊产业发展中的优势品种^[6]。采食量和平均日增重是影响饲料利用率的重要因素,采食量越大,造成饲料浪费越多,平均日增重则与之相反,结果显示,绵羊群体间的采食量没有显著差异,但料重比结果却显示差异极显著,可能是由于饲养试验在冬季进行,绵羊因环境温度造成应激反应,料重比高的羊活动量大能量消耗多,所以平均日增重和料重比差异明显。

下丘脑中含有大量调控食欲影响采食量的神经元,这些神经元受到外周血和中枢血中各种激素和酶的刺激和反馈,共同构成复杂的网络影响采食和消化代谢^[7]。本次研究的8种血清激素大多属于下丘脑调节体系,如神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)是食欲调节的重要组成部分^[8],而黑皮质激素、瘦素、GH和IGF-2是影响动物能量代谢、脂肪生成和生长发育的重要调控因素^[9-11],UCP与能量转变成脂肪累积相关,这些因子均广泛分布在中枢神经系统和多种组织中,通过相互作用共同调节采食量,对饲料利用率产生影响。本研究结果显示,两组羊虽然料重比差异明显,但胃饥饿素、NPY、黑皮质激素、瘦素、GH、UCP2、UCP3和IGF-2浓度差异不显著,仅NPY组间存在显著差异,其原因可能是神经复杂性和季节性原因。相关性分析则显示,血清中NPY浓度与采食量和料重比呈现低度正相关,与平均日增重呈现中度负相关。在饲料利用率高组个体瘤胃、肝脏、小肠和肌肉中NPY表达量高于低组,但差异不显著($P>0.05$),而血清中NPY浓度显示差异显著($P<0.05$),出现此种情况的原因有可能是NPY主要起到调节物的作用,其微小的变化即可造成不同的生理效能。在不同的组织中,NPY在瘤胃中表达量最多,而瘤胃对饲料的消化能力是影响采食和饲料转化率的重要原因之一^[12],表明NPY可能影响绵羊饲料利用率。

4 结 论

试验结果表明,血清中的神经肽Y与采食量和料重比呈低度正相关,与平均日增重呈中度负相关,可能是影响绵羊饲料利用率的因素之一。

参考文献:

- [1] Zhao X, Wang V, Mo F, Lin Z, et al. Association of residual feed intake with growth and slaughtering performance, blood metabolism, and body composition in growing lambs[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 12681.
- [2] 宋坤焯, 闫晓刚. 植物活性物质调控反刍动物甲烷排放作用机理研究进展[J]. 东北农业科学, 2018, 43(4): 36-40.
- [3] Jing L, Hou Y, Wu H, et al. Transcriptome analysis of mRNA and miRNA in skeletal muscle indicates an important network for differential Residual Feed Intake in pigs[J]. Scientific Reports, 2015(5): 11953.
- [4] De Oliveira P, Cesar A, DO Nascimento M L, et al. Identification of genomic regions associated with feed efficiency in Nelore cattle[J]. BMC Genetics, 2014, 15(1): 100.
- [5] Walker R S, Martin R M, Buttrey B. Effects of residual feed intake and dam body weight on replacement heifer intake, efficiency, performance, and metabolic response[J]. Journal of Animal Science, 2015, 93(7): 3602-3612.
- [6] 闫秋良, 张云影, 宋玉贵, 等. 杜寒羊杂交效果研究报告[J]. 东北农业科学, 2018, 43(4): 32-35.
- [7] Shi Y C, Lau J, Lin Z, et al. Arcuate NPY controls sympathetic output and BAT function via a relay of tyrosine hydroxylase neurons in the PVN[J]. Cell Metabolism, 2013, 18(1): 144.
- [8] Miller D W, Bennett E J, Harrison J L, et al. Adiposity and plane of nutrition influence reproductive neuroendocrine and appetite responses to intracerebroventricular insulin and neuropeptide-Y in sheep[J]. Reproduction, Fertility and Development, 2011, 23(2): 329.
- [9] Da Silva A A, Spradley F T, Granger J P, et al. Brain-mediated antidiabetic, anorexic, and cardiovascular actions of leptin require melanocortin-4 receptor signaling[J]. Journal of Neurophysiology, 2015, 113(7): 2786-2791.
- [10] Williams Wyss O, Zhang S, Maclaughlin S M, et al. Embryo number and periconceptional undernutrition in the sheep have differential effects on adrenal epigenotype, growth, and development[J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2014, 307(2): E141.
- [11] Sherman E L, Nkrumah J D, Murdocn B M, et al. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle[J]. Journal of Animal Science, 2008, 86(1): 1-16.
- [12] Clarke I J. Interface between metabolic balance and reproduction in ruminants: focus on the hypothalamus and pituitary[J]. Hormones and Behavior, 2014, 66(1): 15-40.

(责任编辑:王 昱)