

裂殖壶藻对牦牛生长性能的影响及其机制

高磊, 洪金, 张丽萍, 阿怀娜, 刘晨曦, 卢福山, 常兰, 张寿*

(青海大学农牧学院, 西宁 810016)

摘要: 为了研究裂殖壶藻饲喂对牦牛生长性能的影响, 将24头2~3岁健康雄性牦牛分为对照组和微藻组, 每组12头, 对照组饲喂基础日粮, 微藻组每天在基础日粮加入200 g·头⁻¹的裂殖壶藻, 进行为期60 d的饲喂试验。试验期间记录两组牦牛日均采食量变化; 测定两组牦牛饲喂前后体重和体尺指标变化; ELISA检测血清生长激素(GH)、三碘甲状腺原氨酸(T3)和甲状腺素(T4)变化规律; 饲喂结束后进行屠宰, 分离器官和组织计算屠宰率; 同时荧光定量PCR(qPCR)和蛋白免疫印迹(WB)检测试验60 d后两组牦牛体内生长相关因子表达变化, 探究裂殖壶藻饲喂影响牦牛生长性能的作用机制。结果表明, 与对照组相比, 裂殖壶藻饲喂后, 牦牛体重、胸围和屠宰率显著增加($P < 0.05$), 血清生长相关激素GH、T3和T4含量均显著增加($P < 0.01$), 生长相关基因(*Ampka1*、*Mc4r*、*Lxr α* 、*Lkb1*)和生长相关蛋白(AMPK α 1)表达显著上调($P < 0.01$)。综上所述, 裂殖壶藻饲喂促进牦牛生长激素水平升高, 调控牦牛生长相关因子表达, 从而加快其生长发育和生长性能提升, 为牦牛繁育和饲料改良提供了一定的理论依据。

关键词: 裂殖壶藻; 牦牛; 生长性能; 生长激素; AMPK α 1

中图分类号: S823.85; S818.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2022)06-0927-08

Effect of *Schizochytrium* affecting the growth performance and its mechanism in yaks

GAO Lei, HONG Jin, ZHANG Liping, A Huaina, LIU Chenxi, LU Fushan, CHANG Lan, ZHANG Shou

(College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016)

Abstract: In order to study the effect of *Schizochytrium* feeding on the growth performance in yaks, 24 healthy male yaks aged 2-3 years were divided into control group and microalgae group, with 12 in each group. The control group was fed with basic diet, and the microalgae group added 200 g·head⁻¹ *Schizochytrium* to the basic diet every day for 60 days. During the experiment, the changes of daily average feed intake of yaks in two groups were recorded; The changes of body weight and body size were measured before and after feeding; Changes of serum Growth hormone (GH), Triiodothyronine (T3) and Thyroxine (T4) were detected and analyzed by ELISA. After feeding, the carcass percentage was calculated by separating organs and tissues; Fluorescence quantitative PCR (qPCR) and Western blotting (WB) were used to detect the expression changes of growth related factors in the two groups after 60 days, so as to explore the mechanism of *Schizochytrium* feeding on the growth performance in yaks. The results showed that, compared with control group, the body weight, chest circumference and slaughter rate were significantly increased ($P < 0.05$), the expression levels of serum growth related hormones GH, T3 and T4 were significantly increased ($P < 0.01$), and the growth related genes (*Ampka1*, *Mc4r*, *Lxra*, *Lkb1*) and growth related protein (AMPK α 1) were significantly up-regulated ($P < 0.01$) after *Schizochytrium* feeding in yaks. In conclusion, *Schizochytrium* feeding increase the growth hormone levels, via regulates the expression of growth related factors and promotes their growth and development performance in yak, which provides a certain theoretical basis for yak breeding and feed improvement.

Key words: *Schizochytrium*; Yak; growth performance; growth hormone; AMPK α 1

收稿日期: 2021-12-26

基金项目: 青海省科技厅自然科学基金青年项目(2022-ZJ-934Q), 青海大学青年科研基金(2021-QNY-8), 青海省科技厅科技成果转化专项(2018-NK-107)和青海省科技厅科技援青合作专项(2020-QY-217)共同资助。

作者简介: 高磊, 博士, 讲师。E-mail: 2019990029@qhu.edu.cn

* 通信作者: 张寿, 教授。E-mail: 895169158@qq.com

牦牛 (*Bos grunniens*) 作为世居青藏高原的土著动物, 与当地经济、文化和生态环境等息息相关^[1]。牦牛肉具有极高的营养价值, 富含蛋白质、氨基酸及钙、磷等微量元素, 脂肪含量低, 热量高, 对增强人体免疫力有显著作用^[2]。高原地区冬季漫长, 牧草枯萎, 会造成牦牛营养缺乏、免疫力低下甚至体况衰竭死亡, 产生重大的经济损失^[3]。牦牛生长和繁育性能较低^[4], 严重制约着牦牛产业的发展。

裂殖壶藻 (*Schizochytrium*) 是一种单细胞海洋真菌, 具有体积小、种类多, 繁殖速度快、光合效率高的特点, 是生态系统的初级生产者^[5]。裂殖壶藻中含有丰富的维生素 (如生物素、叶酸、泛酸等)、氨基酸 (含有赖氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸 6 种必需氨基酸)、多糖、不饱和脂肪酸、核酸、矿物质 (如碘、铁、钾等)、色素 (如类胡萝卜素和叶绿素) 等, 被广泛应用于医疗保健、化妆品等行业^[6]。反刍动物可以消化藻类生物的细胞壁, 从而利用藻类的非蛋白氮, 因此可将裂殖壶藻作为反刍动物的饲料添加剂^[7]。研究表明, 裂殖壶藻作为一种饲料添加剂, 可以促进家畜的生长与发育, 提高家畜生长性能^[8]。裂殖壶藻饲喂可以显著提高生长羔羊的生产性能和脂肪酸含量^[9]。日粮添加裂殖壶藻对鸡的种蛋受精率、孵化率和健雏率都有明显的促进作用^[10]。

综上所述, 裂殖壶藻饲喂可以提高反刍动物和禽类的生长性能及抵抗力, 但对牦牛的生长性能是否也有影响, 却鲜见报道。因此, 为探明裂殖壶藻饲喂对牦牛生长性能的影响机制, 本研究通过分析裂殖壶藻饲喂牦牛前后其体重、体尺指标, 血清 GH、T3 和 T4 水平, 屠宰率和生长相关因子变化规律, 以期寻找一种新的提升牦牛生长和繁育水平的有效途径, 为牦牛繁育和肉品质改良提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物

牦牛, 24 头, 2~3 岁、雄性、健康、初始体重 (200 kg 左右) 相近, 由青海省海西州金穗牧业有限公司提供。

1.2 试验材料和主要试剂

生长激素 (GH)、三碘甲状腺原氨酸 (T3) 和甲状腺素 (T4) 试剂盒, 均购自南京建辰生物工程研究所有限公司; 蛋白裂解液购自碧云天公司; 蛋白浓度检测试剂盒购自凯基生物公司; 兔抗腺苷磷酸激活蛋白激酶 $\alpha 1$ (AMPK $\alpha 1$, ab32047) 抗体购

自 Abcam 公司; 鼠抗 β -actin 抗体购自三箭生物技术有限公司; 驴抗兔 IgG (H+L) 二抗购自 Thermo Fisher 公司; TRIzol、反转录试剂盒和 SYBR® Premix Ex Taq II 均购自 TaKaRa 公司; 裂殖壶藻 (营养成分: 水分 2.3%, 粗灰分 2.8%, 蛋白质 21%, 脂质 41.2%, 碳水化合物 32.7%), 购自西安小草植物科技有限责任公司; 精料补充料, 购自青海河湟青牧饲料科技开发有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 试验设计及饲喂管理 将 24 头年龄为 2~3 岁、初始体重为 200 kg 左右的雄性牦牛分为对照组和微藻组, 每组 12 头, 每组分为 4 栏, 每栏 3 头。根据文献报道^[11], 对照组饲喂基础日粮, 微藻组在基础日粮中加入 200 g·d⁻¹·头⁻¹ 的裂殖壶藻, 每天 8:00 和 18:00 饲喂 2 次, 并记录饲喂量, 第 2 天饲喂前记录剩余饲料量, 计算日采食量, 试验期为 60 d。基础日粮由粗饲料及精料补充料构成, 将裂殖壶藻混入精料补充料中, 保证每天每头牛能够采食足够的裂殖壶藻。根据农业部肉牛饲养标准 (NY/T 815-2004)^[12]进行规范化消毒、防疫、驱虫工作, 自由采食和饮水。日粮组成及营养水平见表 1 所示。

1.3.2 日均采食量 试验期间每天记录饲喂前后饲料重量, 计算每头牦牛的采食量, 然后计算两组牛每天的日均采食量; 饲喂试验结束后, 计算并对比对照组与微藻组牦牛的总日均采食量, 分析两组牦牛日均采食量差异。

1.3.3 体重和体尺指标 分别于试验前 (第 0 天) 和试验后 (第 61 天), 在牦牛处于放松的自然站立状态下, 用电子秤测定两组牛体重, 使用体尺仪和皮质软尺分别测定两组牛体高、体长、胸围和管围等生长指标, 分析饲喂试验前后两组牦牛体重和体尺指标的变化。

1.3.4 屠宰性能 饲喂试验结束后 (第 61 天), 在定点屠宰场, 按照牛屠宰操作规程 (GB/T 19477-2018)^[13]进行屠宰; 屠宰前称宰前活重, 每头牦牛颈静脉放血, 去头、蹄、尾和内脏, 保留双肾以及周围脂肪, 剥皮劈半后称胴体重, 计算屠宰率^[14], 公式如下:

$$\text{屠宰率} = \frac{\text{屠宰后胴体重}}{\text{宰前活体重}} \times 100\%$$

1.3.5 血清生长相关激素 分别于试验前 (第 0 天) 和试验后 (第 61 天) 对每头牦牛进行颈静脉采血, 室温环境析出血清, 2 000 r·min⁻¹ 离心 30 min, 分离得到上清, -20℃ 保存备用。ELISA 检测生长相关激素 GH、T3 和 T4 含量变化, ELISA 检测步骤详见试剂盒说明书。

1.3.6 生长相关基因表达检测 饲喂试验结束后 (第 61 天), 在定点屠宰场屠宰, 采集每头牦牛肝脏组织, 标记后液氮保存。TRIzol 法提取总 RNA, 生物分光光度计测 OD 值并计算总 RNA 浓度, 取 RNA 样品各 1 μg , 进行反转录合成 cDNA。根据 NCBI 公布的基因序列设计合适的 qPCR 引物 (表

2), 按照 qPCR SYBR green MIX 试剂操作说明进行反应。根据样本的 Ct 值, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法进行结果分析, $\beta\text{-actin}$ 为内参基因。qPCR 检测两组牦牛肝脏中生长相关基因 (*Ampka1*、*Mc4r*、*Lxra*、*Lkb1*) 表达量差异。

表 1 基础日粮组成及营养水平
Table 1 Composition and nutritional level of basic diet

日粮组成	比例%	营养水平	含量
玉米青贮 (全株)	60.00	综合净能/ ($\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$)	5.21
玉米	21.60	粗蛋白/%	16.20
小麦	2.00	粗脂肪/%	2.62
麸皮	2.40	粗纤维/%	4.20
豆粕	4.80	粗灰分/%	3.20
菜粕	4.00	钙/%	0.71
棉粕	1.60	磷/%	0.58
枣粉	1.20	中性洗涤纤维 (NDF) /%	15.19
食盐	0.40	酸性洗涤纤维 (ADF) /%	6.62
脂肪酸钙	0.40	赖氨酸/%	0.67
预混料	1.60		

注: 预混料为每 kg 日粮提供维生素 A 4 000 IU, 维生素 D 300 IU, 维生素 E 50 IU, 铁 48 mg, 铜 8 mg, 锰 20 mg, 锌 20 mg, 硒 0.1 mg。

表 2 qPCR 引物序列
Table 2 The sequence of primers for qPCR

基因	引物序列 (5' - 3')	产物长度/bp
<i>Ampka1</i> (腺苷磷酸激活蛋白激酶 $\alpha 1$)	F: ACAGACCACGGTCCAGTTTG R: TGAGACAGAGGACGACATGC	101
<i>Mc4r</i> (黑皮质激素受体 4)	F: TGA ACTCTACCCAGCCCTT R: AGTAGCCTTTTGCCAGGGAC	105
<i>Lxra</i> (肝 X 受体)	F: TGTGCCTGATGTTTCTCTCTG R: CTCCTCCCTGAGGATGCACT	106
<i>Lkb1</i> (肝激酶)	F: CCCGTTTCTTCTACCTTCGAG R: GCAGGGTCTCATCTAACAGG	106
$\beta\text{-actin}$ (管家基因)	F: AGTACTCCGTGTGGATTGGC R: ACAGTCCGCCTAGAAGCATT	131

1.3.7 生长相关蛋白表达检测 饲喂试验结束后 (第 61 天), 在定点屠宰场屠宰, 采集每头牦牛肝脏组织, 标记后液氮保存。采用组织匀浆器研磨肝脏组织提取蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 取 20 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳, 电泳结束后将蛋白转印至 PVDF 膜上; 5% 脱脂奶粉室温封闭 PVDF 膜 2 h; 将 PVDF 膜分别置于一抗工作液中, 在摇床上 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇晃过夜, PBST 洗膜 4 次, 每次 5 min; 将 PVDF 膜置于辣根过氧化物酶 HRP 标记的二抗 IgG 工作液中, 摇床上室温孵育 1.5 h; PBST 洗膜 4

次, 每次 5 min。洗涤结束后, 用 PBS 漂洗 PVDF 膜一次, 稍微晾干, 将膜置于塑料自封袋内, 在暗室中将 ECL 发光液滴加至 PVDF 膜上, 作用 1 min; 然后用图像分析系统测定各带吸光值作定量分析。WB 检测两组牦牛肝脏中生长相关蛋白 (AMPK $\alpha 1$) 表达量差异。

1.4 数据统计与分析

利用 Sigma plot v14.0 软件对试验数据进行计算和处理, 并进行单因素方差分析 (t 检验) 和双因素方差分析 (Two way ANOVA), 数据采用 “平均

值±标准差”形式表示,以 $P < 0.05$ 作为差异显著的判断标准。

2 结果与分析

2.1 日粮中添加裂殖壶藻对牦牛日均采食量影响

测定试验过程两组牦牛每天采食量,计算试验60 d 两组牦牛日均采食量。与对照组相比,微藻组日均采食量并没有显著的增加($P > 0.05$)(表3),说明采食量不会对后续试验结果造成干扰。

2.2 日粮中添加裂殖壶藻对牦牛体重及体尺指标的影响

分别测定试验前后两组牦牛体重和体尺指标

(体长、体高、胸围和管围)的变化,测定结果见表4。

由表4可知,与试验前(第0天)相比,饲喂60 d 后(第61天),两组牦牛体重、胸围和管围均极显著增加($P < 0.001$);对照组牦牛体长极显著增加($P < 0.01$),微藻组牦牛体长显著增加($P < 0.05$);两组牦牛体高均极显著增加($P < 0.01$)。

与对照组相比,微藻组在饲喂60 d 后体重和胸围均极显著增加($P < 0.01$),其余指标变化不明显($P > 0.05$),表明裂殖壶藻饲喂对牦牛体重和体尺指标增加有促进作用。

表3 两组牦牛日均采食量对比结果

Table 3 Comparison of average daily intake of yak in two groups

项目	对照组	微藻组	SEM	P 值
日均采食量/(kg·d ⁻¹)	5.03±0.57	5.27±0.71	0.066	0.91

表4 牦牛体重和体尺指标的测定结果

Table 4 Effect of *Schizochytrium* feeding on body weight and size index in yak

项目	时间	对照组	微藻组	SEM (同行)	P 值 (同行)
体重/kg	试验前	127.88 ^{Aa} ±19.23	128.88 ^{Aa} ±20.81	4.84	0.90
	第61天	172.88 ^{Aa***} ±24.33	190.00 ^{Bb***} ±14.21	5.94	0.001 8
	SEM (同列)	8.09	8.74		
	P 值 (同列)	<0.001	<0.001		
体长/cm	试验前	105.50 ^{Aa} ±4.81	106.88 ^{Aa} ±6.38	1.38	0.56
	第61天	112.25 ^{Aa**} ±5.60	113.00 ^{Aa*} ±7.01	1.54	0.78
	SEM (同列)	1.53	1.80		
	P 值 (同列)	0.004 6	0.036 0		
体高/cm	试验前	95.13 ^{Aa} ±6.06	97.25 ^{Aa} ±6.37	1.53	0.41
	第61天	101.63 ^{Aa**} ±4.93	104.50 ^{Aa**} ±2.27	1.18	0.09
	SEM (同列)	1.58	1.50		
	P 值 (同列)	0.008 9	0.002 6		
胸围/cm	试验前	132.13 ^{Aa} ±9.14	133.12 ^{Aa} ±6.51	1.92	0.76
	第61天	152.75 ^{Aa***} ±8.22	161.00 ^{Bb***} ±13.91	2.84	0.007 0
	SEM (同列)	3.39	3.78		
	P 值 (同列)	<0.001	<0.001		
管围/cm	试验前	15.38 ^{Aa} ±0.92	15.44 ^{Aa} ±1.35	0.28	0.90
	第61天	18.79 ^{Aa***} ±1.19	18.13 ^{Aa***} ±1.46	0.28	0.24
	SEM (同列)	0.48	0.45		
	P 值 (同列)	<0.001	<0.001		

注:同行数据肩标大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$),大写字母相同、小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$),大小写字母均相同表示差异不显著($P > 0.05$);相同指标内,与试验前对比,数据肩标*表示差异显著($P < 0.05$),**表示差异极显著($P < 0.01$),***表示差异极显著($P < 0.001$),未标*表示差异不显著($P > 0.05$)。下同。

表5 裂殖壶藻饲喂对牦牛屠宰性能的影响

Table 5 Effect of *Schizochytrium* feeding on slaughter performance in yak

项目	对照组	微藻组	SEM	P 值
屠宰率/%	44.26±2.42 ^{Aa}	47.66±2.93 ^{Bb}	0.76	0.005 4

2.3 日粮中添加裂殖壶藻对牦牛屠宰率的影响

饲喂试验结束后在定点屠宰场进行屠宰,测定

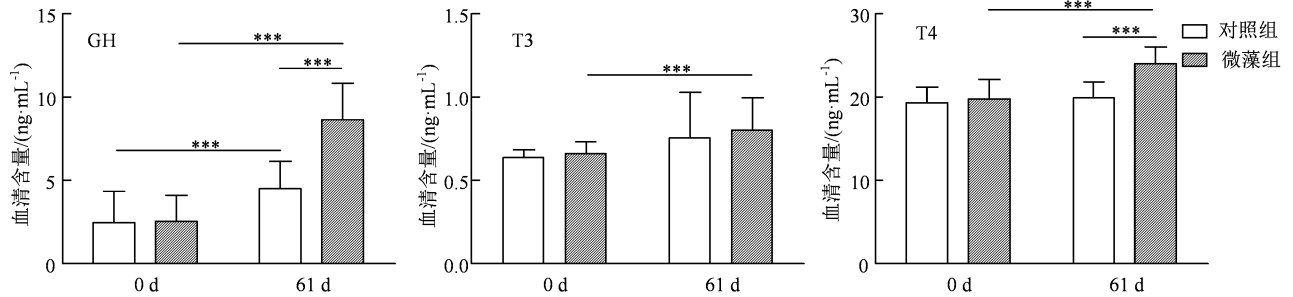
两组牦牛屠宰率。由表5可知,微藻组屠宰率极显著高于对照组($P < 0.01$),说明裂殖壶藻饲喂可以

提高牦牛的屠宰性能。

2.4 日粮中添加裂殖壶藻对牦牛血清生长相关激素的影响

分别在试验前(第0天)和试验后(第61天)颈静脉采血,测定两组牦牛血清生长相关激素水平,测定结果见图1。由结果可知,微藻组(feed)牦牛

第61天血清中GH、T3和T4含量均极显著高于饲喂前($P < 0.001$);与对照组(unfed)相比,微藻组(feed)牦牛第61天血清中GH和T4含量也均极显著升高($P < 0.001$),表明裂殖壶藻饲喂对牦牛血清生长相关激素的分泌有促进作用。



数据肩标*表示差异显著($P < 0.05$), **表示差异极显著($P < 0.01$), ***表示差异极显著($P < 0.001$), 未标*表示差异不显著($P > 0.05$)。unfed表示对照组, feed表示微藻组。下同。

图1 裂殖壶藻饲喂对牦牛血清生长相关激素的影响

Figure 1 Effect of *Schizochytrium* feeding on changes of serum growth related hormones in yak

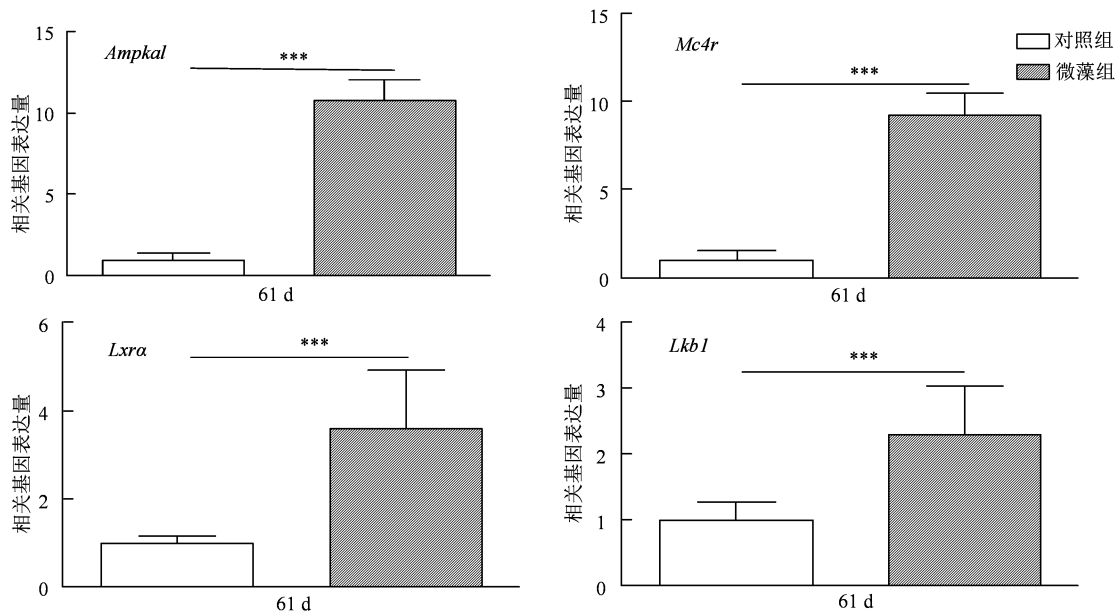
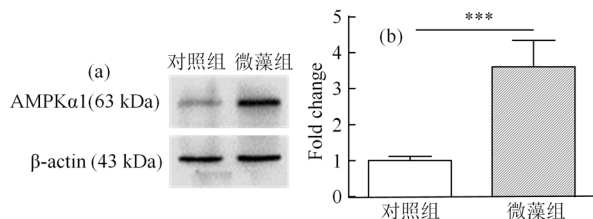


图2 裂殖壶藻饲喂对牦牛肝脏生长相关基因表达的影响

Figure 2 Effect of *Schizochytrium* feeding on expression of growth related genes in yak liver



(a) 蛋白免疫印迹结果; (b) 灰度分析。

图3 裂殖壶藻饲喂对牦牛肝脏生长相关蛋白表达的影响
Figure 3 Effect of *Schizochytrium* feeding on expression of growth related protein in yak liver

2.5 日粮中添加裂殖壶藻对牦牛生长相关基因表达的影响

为了探究裂殖壶藻饲喂对牦牛生长性能影响的机制,饲喂试验结束后在定点屠宰场进行屠宰,取两组牦牛肝脏组织,检测两组牦牛第61天肝脏中生长相关基因表达差异(图2)。由结果可知,与对照组(unfed)相比,微藻组(feed)牦牛第61天肝脏中生长相关基因(*Ampka1*、*Mc4r*、*Lxra*、*Lkb1*)表达量均极显著升高($P < 0.001$),表明裂殖壶藻饲喂对牦牛生长相关基因的表达有促进作用。

2.6 日粮中添加裂殖壶藻对牦牛生长相关蛋白表达的影响

为了探究裂殖壶藻饲喂对牦牛生长性能影响的机制,饲喂试验结束后在定点屠宰场进行屠宰,取两组牦牛肝脏组织,检测两组牦牛第 61 天肝脏中生长相关蛋白表达差异(图 3)。由结果可知,与对照组(unfed)相比,微藻组(feed)牦牛第 61 天肝脏中生长相关蛋白(AMPK α 1)表达极显著升高($P < 0.001$),表明裂殖壶藻饲喂对牦牛生长相关蛋白的表达有促进作用。

3 讨论

3.1 裂殖壶藻饲喂促进牦牛生长发育和屠宰率的提高

研究表明,各类微藻中的蛋白质含量丰富,反刍动物依靠独特的瘤胃微生物系统,对微藻具有更强的消化能力^[15]。因此,在畜牧养殖中,微藻常作为饲料添加剂促进家畜的生长发育^[16]。钝项螺旋藻和小球藻饲喂均能显著提高断奶犊牛的平均日增重和微生物蛋白产量^[17]。微藻饲喂能显著提高羔羊的生长性能和饲料转化率^[18],裂殖壶藻饲喂羔羊的平均日增重显著提高^[9]。添加蓝藻和螺旋藻饲喂猪的平均日增重可以提高 9.26%^[19],螺旋藻饲喂对断奶仔猪生长指标和平均日增重有显著促进作用^[20]。螺旋藻饲喂肉仔鸡体增重和料重比显著提高^[21],螺旋藻饲喂能显著提高肉鸡的平均活体重和试验结束时活体重、饲料转化率^[22],饲料中添加螺旋藻的蛋鸡产蛋率、蛋重和饲料转化率显著提升^[23]。裂殖壶藻粉可以提高星斑川鲈幼鱼的生长性能和营养价值^[24]。通过测定家畜体重和体尺指标计算其不同生长时期的生长曲线并进行预测,可以确定适宜的屠宰年龄,控制家畜的生长发育,同时进行体重、体尺间的相关性分析,以掌握生长发育的规律^[25]。本研究结果与上述研究结果一致,饲喂试验后,两组牦牛体重和体尺指标均有显著增加,这与牛随着日龄的增加,采食和生长有关;饲喂 60 d 后,与对照组相比,微藻组牦牛体重和胸围均显著增加,说明裂殖壶藻饲喂可以增加牦牛生长相关指标,对其生长发育有明显的促进作用。

屠宰性能是动物经济价值的直观表现,是衡量动物产肉性能和生长性能的重要指标^[26],也是判断动物生长发育的主要依据^[27]。作为微藻的一种,裂殖壶藻含有丰富的蛋白质和不饱和脂肪酸,具有改善畜禽产品品质的作用^[11]。研究表明,日粮蛋白水平的提升,可使肉驴背膘厚度增高和脂肪沉积增

加^[28],高精料日粮饲喂可提高肉驴净肉率、肉骨比、屠宰率和脂肪沉积^[29],混合日粮饲喂的绒山羊胴体重和屠宰率显著高于对照组^[30]。其他研究证明,微藻营养丰富,蛋白质、脂质含量较高,饲喂后动物肌肉生长和脂肪的沉积加快^[31],说明添加营养物质丰富的微藻饲喂,通过加快动物肌肉生长和脂肪的沉积,提高屠宰率。本研究结果与上述研究发现一致,微藻组牦牛屠宰率增加,产肉性能提高。

3.2 裂殖壶藻饲喂调控牦牛生长相关因子表达,提高其生长性能

研究表明,腺苷磷酸激活蛋白激酶 α 1 (AMPK α 1) 是一种在真核细胞生物中广泛存在的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。作为细胞内最重要的能量感受器,AMPK α 1 在细胞生长、繁殖、维持机体能量平衡以及细胞代谢过程中发挥重要调节作用^[32]。AMPK α 1 的活性主要受到细胞内磷酸腺苷/三磷酸腺苷(AMP/ATP)水平、肝激酶和钙调素依赖蛋白激酶等因素的影响^[33]。黑皮质激素受体 4 (MC4R) 作为蛋白耦联受体成员之一,在动物的采食、能量代谢和体重调节方面发挥关键作用^[34]。MC4R 作为能量平衡的调控信号分子,可以显著增加陆川猪的背膘厚度^[35]。同时,MC4R 对哺乳动物采食量的调控也有着至关重要的作用^[36]。肝 X 受体 (LXR α) 主要在哺乳动物肝脏组织中广泛表达,是一种氧化固醇激活核受体,参与机体多种生理活动的调节,包括胆固醇的代谢和转运,脂肪的形成^[37]。肝激酶 (LKB1) 是一类多糖裂解酶,参与细胞能量调节、细胞极性调节和细胞凋亡等多种生理学过程。LKB1 依赖于 AMPK α 1 在维持动物机体细胞能量平衡中发挥作用^[38]。LKB1 是 AMPK α 1 的上游激酶,可以磷酸化 AMPK α 1 间接参与调控细胞能量水平和代谢状态,调控细胞的生长,进而影响机体的生长发育^[39]。LKB1 的高表达能促进骨骼发育,进而促进牦牛的产肉性能^[40]。本研究结果与上述研究发现一致,饲喂添加裂殖壶藻的饲料后,微藻组牦牛生长性能、体内 AMPK α 1 蛋白和生长相关基因(*Ampka1*、*Mc4r*、*Lxra*、*Lkb1*) 表达量均显著升高,表明裂殖壶藻饲喂的牦牛通过调控体内生长相关因子的表达,促进能量代谢,加速牦牛生长发育水平,从而影响其生长性能。

3.3 裂殖壶藻饲喂增加牦牛生长激素含量,从而调控生长相关因子表达,提高其生长性能

生长激素(GH)是由动物脑垂体前叶分泌的一种具有特异性的单链蛋白质类激素,能促进骨、软骨、肌肉以及其他组织细胞分裂增殖,蛋白质合成

增加;对糖、脂肪和蛋白质代谢都具有促进作用^[41]。GH 可以促进牛的生长发育^[42]。作为合成 GH 非常重要的前体物质,三碘甲状腺原氨酸(T₃)和甲状腺素(T₄)的含量和比例直接决定机体生成 GH 的多少^[43]。研究表明,T₄通常被认为是一种促激素,需要转化为 T₃ 来发挥生物活性^[42]。T₃ 可以调节细胞生长分化,调节软骨和软骨细胞的发育和增殖^[45]。T₃ 可以促进黑骨鸡生长和肌肉蛋白质积累^[46]。同时,T₃ 和 T₄ 还具有促进糖脂氧化分解,促进生长发育,提高中枢神经系统兴奋性的作用^[47]。本研究结果与上述研究发现一致,饲喂添加裂殖壶藻的饲料后,微藻组牦牛体内的 GH、T₃ 和 T₄ 含量均显著高于饲喂前;饲喂 60 d 后,微藻组牦牛 GH 和 T₄ 含量也明显高于对照组,说明裂殖壶藻饲喂的牦牛通过提升生长相关激素水平,影响其生长性能。

GH 为一种重要的代谢调节激素,可以调节机体能量代谢^[48]。研究表明,GH 能够作用于犊牛肝脏、肌肉等细胞,促进蛋白质的合成代谢和脂肪的分解,将养分分配于各组织间吸收利用,促进机体组织和骨骼的生长^[42]。在细胞水平,GH 通过结合并激活生长激素受体(GHR)及其下游信号通路,诱导对生长和代谢的多种效应^[49]。AMPK 作为线粒体能量代谢信号通路分子,受线粒体内 AMP/ATP 比例影响,调节细胞能量代谢^[50]。研究表明,生长激素受体基因 GHR 敲除鼠体内生长发育受阻,寿命缩短,并且肝脏组织中代谢相关基因 AMPK α 1 表达量显著下调^[51]。IGF1 作为一种 GHR 激活因子,可以激活肝实质细胞 GHR 的表达,从而激活 AMPK α 1 的表达^[52]。GH 基因过表达显著提高了鲑鱼骨骼肌细胞 AMPK α 1 的表达^[53]。以上证据充分说明,GH 可以调节动物体内代谢相关的 AMPK 信号通路表达。本研究结果与上述研究发现一致,微藻组牦牛生长性能提高,血清 GH 含量升高,同时肝脏 AMPK α 1 表达量显著上调,说明裂殖壶藻饲喂提高牦牛生长激素水平,通过调控 GHR-AMPK 信号通路,增加生长相关因子的表达,促进能量代谢,从而影响其生长性能。

综上所述,裂殖壶藻饲喂提高牦牛生长相关激素含量,调控其体内生长相关因子的表达,加快牦牛的生长发育,促进生长指标和屠宰率等生长性能的提升。

参考文献:

- [1] LIU Y, YAN C Y, MATTHEW C, et al. Key sources and seasonal dynamics of greenhouse gas fluxes from yak grazing systems on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40857.
- [2] 朱青云, 谭亮, 赵静, 等. 青海高原地区牦牛肉营养成分分析与品质评价[J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(11): 97-111.
- [3] WANG X, ZHOU H T, HICKFORD J G H, et al. Variation in the yak lipin-1 gene and its association with milk traits[J]. *J Dairy Res*, 2020, 87(2): 166-169.
- [4] 郝文君, 崔占鸿, 刘书杰. 补饲开食料对哺乳期牦牛犊牛生长性能和血清指标的影响[J]. *饲料研究*, 2021, 44(16): 1-5.
- [5] CHI G X, XU Y Y, CAO X Y, et al. Production of polyunsaturated fatty acids by *Schizochytrium (Aurantiochytrium)* spp.[J]. *Biotechnol Adv*, 2022, 55: 107897.
- [6] 朱路英, 张学成, 王淑芳, 等. 一种海洋真菌: 裂殖壶菌的营养成分分析[J]. *食品科学*, 2009, 30(24): 272-275.
- [7] ALTOMONTE I, SALARI F, LICITRA R, et al. Use of microalgae in ruminant nutrition and implications on milk quality: A review[J]. *Livest Sci*, 2018, 214: 25-35.
- [8] KIBRIA S, KIM I H. Impacts of dietary microalgae (*Schizochytrium* JB5) on growth performance, blood profiles, apparent total tract digestibility, and ileal nutrient digestibility in weaning pigs[J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99(13): 6084-6088.
- [9] MEALE S J, CHAVES A V, HE M L, et al. Dose-response of supplementing marine algae (*Schizochytrium* spp.) on production performance, fatty acid profiles, and wool parameters of growing lambs[J]. *J Anim Sci*, 2014, 92(5): 2202-2213.
- [10] YONKE J A, CHERIAN G. Choline supplementation alters egg production performance and hepatic oxidative status of laying hens fed high-docosahexaenoic acid microalgae[J]. *Poult Sci*, 2019, 98(11): 5661-5668.
- [11] CARVALHO J R R, BRENNAN K M, LADEIRA M M, et al. Performance, insulin sensitivity, carcass characteristics, and fatty acid profile of beef from steers fed microalgae[J]. *J Anim Sci*, 2018, 96(8): 3433-3445.
- [12] 中华人民共和国农业部. 肉牛饲养标准 NY/T 815-2004[S]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [13] 中华人民共和国农业农村部. 畜禽屠宰操作规程 牛 GB/T 19477-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [14] 史建伟, 王婧, 李清, 等. 不同肉牛品种育肥与屠宰性能的比较研究[J]. *中国牛业科学*, 2016, 42(4): 24-29.
- [15] KHOLIF A E, GOUDA G A, HAMDON H A. Performance and milk composition of Nubian goats as affected by increasing level of *Nannochloropsis oculata* microalgae[J]. *Animals (Basel)*, 2020, 10(12): 2453.
- [16] YAO S, LYU S, AN Y, et al. Microalgae-bacteria symbiosis in microalgal growth and biofuel production: a review[J]. *J Appl Microbiol*, 2019, 126(2): 359-368.
- [17] COSTA D F A, QUIGLEY S P, ISHERWOOD P, et al. Supplementation of cattle fed tropical grasses with microalgae increases microbial protein production and average daily gain[J]. *J Anim Sci*, 2016, 94(5): 2047-2058.
- [18] SENOSY W, KASSAB A Y, MOHAMMED A A. Effects of feeding green microalgae on ovarian activity, reproductive hormones and metabolic parameters of Boer goats in arid subtropics[J]. *Theriogenology*, 2017, 96: 16-22.
- [19] MARTINS C F, PESTANA ASSUNÇÃO J, RIBEIRO SANTOS D M, et al. Effect of dietary inclusion of *Spirulina* on production performance, nutrient digestibility

- and meat quality traits in post-weaning piglets[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2021, 105(2): 247-259.
- [20] HOLMAN B W B, MALAU-ADULI A E O. *Spirulina* as a livestock supplement and animal feed[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2013, 97(4): 615-623.
- [21] PARK J H, LEE S I, KIM I H. Effect of dietary *Spirulina (Arthrospira)* platensis on the growth performance, antioxidant enzyme activity, nutrient digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and breast meat quality of broiler chickens[J]. *Poult Sci*, 2018, 97(7): 2451-2459.
- [22] GKARANE V, CIULU M, ALTMANN B A, et al. The effect of algae or insect supplementation as alternative protein sources on the volatile profile of chicken meat[J]. *Foods*, 2020, 9(9): 1235.
- [23] VENKATARAMAN L V, SOMASEKARAN T, BECKER E W. Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fishmeal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks[J]. *Br Poult Sci*, 1994, 35(3): 373-381.
- [24] 张燕, 乔洪金, 李宝山, 等. 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生长、体组成和生理指标的影响[J]. *中国水产科学*, 2017, 24(6): 1223-1233.
- [25] 张晓雪, 李云霞, 赵俊亮, 等. 新疆地区西门塔尔犊牛生长发育规律分析[J]. *中国畜牧杂志*, 2018, 54(8): 35-39.
- [26] 孙芳, 赵晓川, 刘利, 等. 阉割奶牛牛与和杂牛屠宰性能和肉品质的比较[J]. *中国畜牧杂志*, 2015, 51(S1): 121-124.
- [27] 刁志成, 曲扬华, 刘策, 等. 饲用油菜混合青贮对湖羊屠宰性能及肉品质的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(6): 1564-1570.
- [28] 周艳, 张婧, 池越, 等. 饲料能量水平对肉驴生长发育性能和屠宰性能的影响[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(5): 2827-2835.
- [29] 李文强, 陈曦, 曲洪磊, 等. 饲料精饲料水平对生长期德州驴生长、屠宰性能及器官指数的影响[J]. *饲料研究*, 2017(6): 17-21.
- [30] 温琦, 解进, 闫素梅. 自然放牧与放牧补饲育肥对肉羊育肥性能和屠宰性能的影响[J]. *饲料工业*, 2017, 38(5): 29-32.
- [31] XU C C, ZHANG S, SUN B Z, et al. Dietary supplementation with microalgae (*Schizochytrium* sp.) improves the antioxidant status, fatty acids profiles and volatile compounds of beef[J]. *Animals*, 2021, 11(12): 3517.
- [32] THOMSON D M. The role of AMPK in the regulation of skeletal muscle size, hypertrophy, and regeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 3125.
- [33] 陈进超, 孙佳静, 张相鑫, 等. 腺苷酸激活蛋白激酶信号通路及其在动物应激过程中的调节功能[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(2): 575-583.
- [34] WOODS S C, SEELEY R J, PORTE D Jr, et al. Signals that regulate food intake and energy homeostasis[J]. *Science*, 1998, 280(5368): 1378-1383.
- [35] 谢婉, 刘明君, 何剑雄, 等. 陆川猪黑皮质激素受体4基因克隆及序列分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(2): 320-329.
- [36] LOTTA L A, MOKROSINSKI J, MENDES DE OLIVEIRA E, et al. Human gain-of-function *MC4R* variants show signaling bias and protect against obesity[J]. *Cell*, 2019, 177(3): 597-607.e9.
- [37] VOISIN M, GAGE M C, BECARES N, et al. LXR α phosphorylation in cardiometabolic disease: insight from mouse models[J]. *Endocrinology*, 2020, 161(7): bqaa089.
- [38] TAMÁS P, MACINTYRE A, FINLAY D, et al. LKB1 is essential for the proliferation of T-cell progenitors and mature peripheral T cells[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(1): 242-253.
- [39] JANSEN M, TEN KLOOSTER J P, OFFERHAUS G J, et al. LKB1 and AMPK family signaling: the intimate link between cell polarity and energy metabolism[J]. *Physiol Rev*, 2009, 89(3): 777-798.
- [40] 雷召雄, 柏雪, 林亚秋, 等. 牦牛 Lkb1 基因编码区克隆及其在骨骼肌的表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2019, 27(1): 71-79.
- [41] NICHOLLS A R, HOLT R I G. Growth hormone and insulin-like growth factor-1[J]. *Front Horm Res*, 2016, 47: 101-114.
- [42] KASUYA E. Secretory pattern and regulatory mechanism of growth hormone in cattle[J]. *Anim Sci J*, 2016, 87(2): 178-182.
- [43] SCHROEDER A C, PRIVALSKY M L. Thyroid hormones, t3 and t4, in the brain[J]. *Front Endocrinol*, 2014, 5: 40.
- [44] GALTON V A, MARTINEZ M E, DRAGON J A, et al. The intrinsic activity of thyroxine is critical for survival and growth and regulates gene expression in neonatal liver[J]. *Thyroid*, 2021, 31(3): 528-541.
- [45] HSIEH M L, JUANG H H. Cell growth effects of triiodothyronine and expression of thyroid hormone receptor in prostate carcinoma cells[J]. *J Androl*, 2005, 26(3): 422-428.
- [46] HE J H, CAO M H, GAO F X, et al. Dietary thyroid hormone improves growth and muscle protein accumulation of black-boned chickens[J]. *Br Poult Sci*, 2006, 47(5): 567-571.
- [47] WIERSINGA W M. T4+T3 combination therapy: any progress? [J]. *Endocrine*, 2019, 66(1): 70-78.
- [48] BIRZNIECE V, SATA A, HO K K Y. Growth hormone receptor modulators[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2009, 10(2): 145-156.
- [49] YOUNG J, BELL S, QIAN Y R, et al. Mouse models of growth hormone insensitivity[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2021, 22(1): 17-29.
- [50] CARLING D. AMPK signalling in health and disease[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 31-37.
- [51] ZAWADA I, MASTERNAK M M, LIST E O, et al. Gene expression of key regulators of mitochondrial biogenesis is sex dependent in mice with growth hormone receptor deletion in liver[J]. *Aging*, 2015, 7(3): 195-204.
- [52] WIT J M, DE LUCA F. Atypical defects resulting in growth hormone insensitivity[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2016, 28: 57-61.
- [53] CAUSEY D R, KIM J H, DEVLIN R H, et al. The AMPK system of salmonid fishes was expanded through genome duplication and is regulated by growth and immune status in muscle[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9819.