

网络出版时间:2014-04-25 15:48

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.05.029

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.05.029.html

日粮能量水平对幼龄獭兔血液生化指标及肝脏 *PPAR γ* 、*INSIG-2* 基因表达的影响

宋洪新¹,任战军¹,杨雪娇¹,贺国瑞¹,韩 营¹,常万波¹,颌宏兵²

(1 西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌 712100;2 甘肃康园有限公司,甘肃 甘谷 741200)

[摘 要] **【目的】**研究日粮能量水平对断奶至 3 月龄獭兔血液生化指标以及肝脏过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ 基因(*PPAR γ*)、胰岛素诱导基因 2(*INSIG-2*)表达的影响。**【方法】**选用断奶的健康獭兔 160 只,随机分为 4 组,每组 40 只,4 组试验兔的日粮能量水平分别为 9.7、10.5、11.3 和 12.1 MJ/kg,试验分断奶~2 月龄、2~3 月龄 2 个阶段。分别于试验开始的第 30、60 天早晨采血,测定血液中的葡萄糖、甘油三酯、总蛋白、总胆固醇、高密度胆固醇、低密度胆固醇含量及谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶活性;并取肝脏样品,采用实时荧光定量法测定 *PPAR γ* 和 *INSIG-2* 基因的表达情况。**【结果】**在 2 月龄时,日粮能量水平对獭兔血液中的总胆固醇含量和谷草转氨酶活性有极显著影响($P<0.01$),对高密度胆固醇和低密度胆固醇含量有显著影响($P<0.05$),对其他血液指标影响不显著。3 月龄时,日粮能量水平对獭兔血液中的总蛋白质含量有极显著影响($P<0.01$),对谷草转氨酶活性有显著影响($P<0.05$),对其他血液指标影响不显著。在 2、3 月龄时,*PPAR γ* 基因均分别以 11.3 和 12.1 MJ/kg 日粮能量水平下的表达量最高,*INSIG-2* 基因则分别以 11.3 和 9.7 MJ/kg 日粮能量水平下的表达量最高。**【结论】**日粮能量水平对幼龄獭兔血液中总蛋白质、总胆固醇、高密度胆固醇、低密度胆固醇含量和谷草转氨酶活性有显著影响,对其他血液指标无显著影响;日粮能量水平对幼龄獭兔肝脏 *PPAR γ* 、*INSIG-2* 基因的表达量均有显著影响。

[关键词] 獭兔;日粮;能量水平;血液指标;基因表达量

[中图分类号] S829.15

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)05-0011-06

Effect of diet energy level on blood parameters and expression of *PPAR γ* and *INSIG-2* genes in liver of juvenile rabbits

SONG Hong-xin¹,REN Zhan-jun¹,YANG Xue-jiao¹,HE Guo-rui¹,

HAN Ying¹,CHANG Wan-bo¹,XIE Hong-bing²

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Gansu Kangyuan Limited Company, Gangu, Gansu 741200, China)

Abstract: **【Objective】**This study aimed to study the effect of diet energy level on blood parameters and expression of *PPAR γ* and *INSIG-2* genes in liver of juvenile rabbits. **【Method】**160 healthy weaning rabbits were divided them into 4 groups randomly, each group contained 40 rabbits. Diets energy levels of the 4 groups were 9.7, 10.5, 11.3 and 12.1 MJ/kg, respectively. The experiment had two stages, weaning-2 months and 2—3 months. **【Result】**Diet energy levels had extremely significant effect on the contents of TC and AST ($P<0.01$), significant effect on the contents of HDLC and LDLC ($P<0.05$), no significant

[收稿日期] 2013-03-08

[基金项目] 陕西省农业科技攻关项目(2010K01-16)

[作者简介] 宋洪新(1986—),女,黑龙江庆安人,在读硕士,主要从事特种经济动物营养调控研究。

E-mail:songhongxin_1986@126.com

[通信作者] 任战军(1966—),男,陕西淳化人,副教授,硕士生导师,主要从事特种经济动物研究。

E-mail:renzhanjun@nwsauf.edu.cn

effect on other parameters in blood of 2 months old rabbits. Diet energy levels had extremely significant effect on the content of TP ($P<0.01$), significant effect on the content of AST ($P<0.05$), and no significant effect on other parameters in blood of 3 months old rabbits. Expression levels of *PPAR γ* gene were the highest in 2 and 3 months old rabbits with energy level of 11.3 and 12.1 MJ/kg, respectively. Expressions of *INSIG-2* gene were the highest in 2 months old rabbits with energy level of 11.3 MJ/kg and in 3 months old rabbits with energy level of 9.7 MJ/kg. 【Conclusion】 Diet energy levels had significant effect on the contents of TP, TC, HDLC, LDLC and AST, while no significant influence on other blood indicators of young rabbits. Effect of diet energy levels on expression of *PPAR γ* and *INSIG-2* was significantly.

Key words: rabbit; diet; energy level; blood parameters; gene expression quantity

过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (PPAR γ) 是调控脂肪细胞分化及调节糖脂代谢的重要酶类^[1]。在动物生长期, PPAR γ 能控制脂肪的储存和释放, 维持机体能量平衡和血糖的稳定^[2]。现有研究表明, PPAR- γ 确实与糖脂代谢关系密切, 而且 PPAR- γ 的高表达可能改善糖脂的代谢情况^[3-4]。胰岛素诱导基因 2 (Insulin induced gene 2, *INSIG-2*) 是胰岛素诱导基因 (Insulin induced gene, *INSIG*) 的一个亚型^[5], 是调控脂肪细胞分化和脂类代谢的重要基因, 可以调节脂肪合成所需的多种酶的转录^[6], 在维持体内胆固醇代谢稳定方面也具有十分重要的作用。*INSIG-2* 与 PPAR γ 均与体内脂质代谢紊乱的发生和发展存在密切关系, 因此日益受到人们的关注, 有关二者的研究也越来越多, 但是有关日粮能量水平对 PPAR γ 、*INSIG-2* 基因表达的影响研究尚较少。本试验以幼龄獭兔为研究对象, 通过饲喂不同能量水平的饲料, 检测能量水平对其血液指标及 *INSIG-2*、PPAR γ 基因表达量的影响, 旨在从基因水平阐明日粮能量水平对幼龄獭兔糖脂代谢影响的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物及饲养管理 健康状况良好、体质量相近的 160 只断奶(45 日龄)獭兔, 由甘肃省甘谷县康园兔业有限公司提供。

1.1.2 试验日粮 试验日粮参照美国 NRC(1977) 及法国 AEC(1993) 獭兔的营养需要量, 设计能量水平分别为 9.7, 10.5, 11.3, 12.1 MJ/kg 的 4 种日料, 日粮其他营养成分基本相同, 分别含粗蛋白 16.5%(质量分数)、粗纤维 13%(质量分数)。将日粮加工成直径为 4~6 mm 的颗粒饲料备用。

1.1.3 主要试剂及仪器 DNase I、 β -巯基乙醇、Taq DNA 聚合酶、oligo(dt)、琼脂糖、RNAprep

Pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒(由上海天根生物有限公司提供)、Fast Quant Cdna 第 1 链合成试剂盒(由上海天根生物有限公司提供)。

低温高速冷冻离心机、电泳仪、水平电泳槽、Gel Doc 2000 凝胶成像系统、梯度 PCR 仪、Nanodrop 2000 微量紫外分光光度计(购自美国 Thermo Scientific 科技有限公司)、CFX96TM Real-Time System 实时荧光定量 PCR 仪(购自美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 试验设计

试验在甘肃省甘谷县康园(兔业)有限公司进行, 试验日期为 2012-04-07—06-15, 预试期 7 d, 正试期分为断奶~2 月龄和 2~3 月龄 2 个阶段。将 160 只供试獭兔随机分为 1, 2, 3, 4 共 4 组, 每组 40 只, 单笼饲养, 分别饲喂能量水平为 9.7, 10.5, 11.3 和 12.1 MJ/kg 的 4 种日粮。试验期间每日喂食 2 次, 自由采食, 自由饮水。

1.3 日粮能量水平对幼龄獭兔血液生化指标的影响

分别于试验开始后的第 30、60 天早晨, 每组随机选取 6 只试验兔, 空腹称体质量后, 心脏采血 10 mL/只, 肝素钠抗凝, 室温避光静置 15 min 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 将分离所得血清分装于 Eppendorf 管中, 于 -20℃ 下冷冻保存待测。血液指标由杨凌示范区医院检测, 测定指标包括葡萄糖 (GLU)、甘油三酯 (TG)、总蛋白 (TP)、总胆固醇 (TC)、高密度胆固醇 (HDL)、低密度胆固醇 (LDL) 含量及谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性。

1.4 日粮能量水平对幼龄獭兔肝脏中 PPAR γ 、*INSIG-2* 基因表达的影响

1.4.1 引物设计及合成 参照 GenBank 公布的兔 PPAR γ 基因序列、*INSIG-2* 基因序列和 GAPDH 序列, 用 primer5.0 软件设计引物, 交由上海生工生

物技术有限公司合成。引物序列见表 1。

表 1 *PPAR* γ 、*INSIG*-2 基因及内参基因 *GADPH* 的引物序列

Table 1 Sequence of primers for *PPAR* γ , *INSIG*-2 and *GADPH*

引物名称 Primer name	引物序列 Sequence of primer
<i>GADPH</i>	F:5'-TGCCACCCACTCCTCTACCTTCG-3' R:5'-CCGGTGGTTTGAGGGCTCTTACT-3'
<i>PPAR</i> γ	F:5'-AGGACATCCAGGACAACC-3' R:5'-GTCTCCGTCTTCTTTATCAC-3'
<i>INSIG</i> -2	F:5'-TGGACTGTGGTGGACTTT-3' R:5'-TGTTTCCCATTGTTATGC-3'

1.4.2 *PPAR* γ 、*INSIG*-2 基因相对表达量的检测

供试獭兔采血后立即屠宰,快速采取肝脏组织相对固定部位样品,放入无酶的 Eppendorf 管中,每管约 0.5 g,每只兔做 2 管重复,液氮速冻后于-70℃保存,用于 RNA 定量检测。

(1)总 RNA 的提取。用 RNAprep Pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒提取肝脏总 RNA,用琼脂糖凝胶电泳鉴定其完整性,用紫外分光光度计测定总 RNA 纯度和浓度,并分别在 230,260 和 280 nm 下测定吸光度(OD₂₃₀、OD₂₆₀、OD₂₈₀),计算 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 和 OD₂₆₀/OD₂₃₀ 值。若 RNA 样品的 OD₂₆₀/OD₂₈₀=2.0±0.1,且 OD₂₆₀/OD₂₃₀ 值为 1.8~2.1,说明提取的 RNA 纯度较高,适宜进行下一步试验。

(2)反转录。用 RNase-Free ddH₂O 将 RNA 提取液的质量浓度稀释到 50~200 ng/mL。并将试剂在室温下解冻后置冰上保存,且以下所有操作均在冰上进行。

cDNA 第 1 链的合成:取 200 μ L 的 RNase-Free 管,加入 2 μ L RNA 提取液、4 μ L gDNA、14 μ L RNase-Free ddH₂O,42℃下 PCR 孵育 3 min 后,取出放置在冰上。然后加入 4 μ L 的 10×Fast RT Buffer、2 μ L 的 RT Enzyme Mix、4 μ L 的 FQ-RT Primer Mix、10 μ L 的 RNase-Free ddH₂O,42℃下 PCR 孵育 15 min,95℃下 PCR 孵育 3 min 后得到 cDNA 样品,取出放置在冰上,分装 2 管,每管 20 μ L,-20℃保存。

(3)PCR 反应。以 *GADPH* 为内参基因,进行实时荧光定量 PCR 扩增。*PPAR* γ 、*INSIG*-2 基因 PCR 扩增的反应体系为:2×UltraSYBR Mixture 5 μ L、Template DNA 1 μ L、上、下游引物各 0.2 μ L, RNase-Free ddH₂O 3.6 μ L。采用两步法进行 PCR 反应,PCR 扩增的反应条件为:95℃ 15 min,95℃ 10 s,55℃退火 60 s,40 个循环。融解曲线分析:设置融解曲线温度为 60~95℃,读取 *PPAR* γ mR-

NA、*INSIG*-2 mRNA 和 *GAPDH* mRNA 的 ΔC_t 值,以 *GAPDH* 作为参照基因,用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算 *PPAR* γ 、*INSIG*-2 基因的相对表达量。每个样本重复 3 次。

1.5 数据处理

采用 SPSS(1.8 版本)程序对试验数据进行单因素方差分析和显著性检验,用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算基因的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 日粮能量水平对幼龄獭兔血液生化指标的影响

2.1.1 2 月龄獭兔的血液生化指标 从表 2 可以看出,对于 2 月龄的獭兔,其血液中的葡萄糖、甘油三酯和总蛋白质含量及乳酸脱氢酶活性均随日粮能量水平的升高而先升高后降低,且均以第 3 组最高,但各组之间差异不显著;总胆固醇含量逐渐上升,2 组与 3 组含量基本相同,1 组与 4 组之间差异极显著($P<0.01$);高密度胆固醇含量总体呈持续上升趋势,2 组和 3 组含量基本相同,1 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$);低密度胆固醇含量呈持续上升趋势,2 组和 3 组含量基本相同,1 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$);谷丙转氨酶活性呈逐渐下降趋势,各组之间差异不显著;谷草转氨酶活性呈下降趋势,1 组含量最高,与 2、3、4 组之间差异极显著($P<0.01$);碱性磷酸酶活性先上升后下降,以第 3 组最高,但各组之间差异不显著。

2.1.2 3 月龄獭兔的血液生化指标 从表 3 可以看出,对于 3 月龄的獭兔,随着日粮能量水平的升高,其血液中的葡萄糖含量先上升后下降,以第 3 组含量最高,各组之间差异不显著;甘油三酯含量呈持续上升趋势,各组之间差异不显著;总蛋白质含量先上升后下降,但下降趋势不明显,以第 3 组含量最高,1 组与 3 组之间差异极显著($P<0.01$),1 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$);总胆固醇含量持续上升,且上升趋势比较明显,1 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$);高密度胆固醇含量先上升后下降,以第 3 组含量最高,各组之间差异不显著;低密度胆固醇含量呈持续上升趋势,各组之间差异不显著;谷丙转氨酶先上升后下降,以第 1 组活性最低,第 3 组活性最高,2 组与 3 组活性比较接近,各组之间差异不显著;谷草转氨酶活性呈下降趋势,1 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$);碱性磷酸酶活性先上升后下降,以第 3 组活性最高,第 1 组活性最低,各组之间差异

不显著;乳酸脱氢酶活性先上升后下降,以第 3 组活性最高,第 4 组活性最低,各组之间差异不显著。

表 2 日粮能量水平对 2 月龄獭兔血液生化指标的影响

Table 2 Blood parameters of 2 months old rabbits

组别 Group	葡萄糖/ (mmol·L ⁻¹) GLU	甘油三酯/ (mmol·L ⁻¹) TG	总蛋白/ (g·L ⁻¹) TP	总胆固醇/ (mmol·L ⁻¹) TC	高密度胆固醇/ (mmol·L ⁻¹) HDLc
1	19.67±0.60 a	0.94±0.32 a	49.63±1.67 a	1.02±0.30 aA	0.31±0.12 a
2	20.10±1.15 a	1.16±0.44 a	49.73±0.64 a	1.33±0.34 aAB	0.42±0.16 ab
3	20.84±1.81 a	1.39±0.11 a	50.46±2.34 a	1.31±0.50 aAB	0.41±0.23 ab
4	20.34±1.12 a	1.12±0.14 a	48.40±1.98 a	1.80±0.40 bB	0.55±0.25 b

组别 Group	低密度胆固醇/ (mmol·L ⁻¹) LDLC	谷丙转氨酶/ (U·L ⁻¹) ALT	谷草转氨酶/ (U·L ⁻¹) AST	碱性磷酸酶/ (U·L ⁻¹) ALP	乳酸脱氢酶/ (U·L ⁻¹) LDH
1	0.47±0.24 a	54.28±33.73 a	24.03±1.21 aA	151.25±34.25 a	132.25±13.72 a
2	0.56±0.20 ab	49.54±16.36 a	15.48±1.48 bB	184.25±7.14 a	135.25±10.63 a
3	0.54±0.40 ab	48.40±17.20 a	16.48±2.41 bB	198.00±42.36 a	136.08±9.85 a
4	0.78±0.40 b	31.58±15.07 a	14.26±2.47 bB	186.25±34.96 a	125.00±13.74 a

注:同列数据后标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$);标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);下同。
Note:Different uppercase letters in each column indicate extremely significant difference ($P<0.01$) and different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same below.

表 3 日粮能量水平对 3 月龄獭兔血液生化指标的影响

Table 3 Blood parameters of 3 months old rabbits

组别 Group	葡萄糖/ (mmol·L ⁻¹) GLU	甘油三酯/ (mmol·L ⁻¹) TG	总蛋白/ (g·L ⁻¹) TP	总胆固醇/ (mmol·L ⁻¹) TC	高密度胆固醇/ (mmol·L ⁻¹) HDLc
1	21.14±1.90 a	0.90±0.17 a	47.48±5.88 aA	1.38±0.77 a	0.24±0.12 a
2	21.27±1.07 a	0.96±0.42 a	54.35±8.43 abAB	1.81±0.58 ab	0.30±0.24 a
3	22.28±1.74 a	1.27±0.23 a	59.64±7.47 bB	2.09±0.55 ab	0.46±0.16 a
4	21.18±1.80 a	1.31±0.31 a	57.00±3.04 bAB	2.62±1.03 b	0.37±0.24 a

组别 Group	低密度胆固醇/ (mmol·L ⁻¹) LDLC	谷丙转氨酶/ (U·L ⁻¹) ALT	谷草转氨酶/ (U·L ⁻¹) AST	碱性磷酸酶/ (U·L ⁻¹) ALP	乳酸脱氢酶/ (U·L ⁻¹) LDH
1	0.76±0.48 a	21.62±13.80 a	24.42±4.53 a	73.00±38.18 a	86.50±23.33 a
2	1.06±0.42 a	40.02±21.05 a	23.60±8.04 ab	109.25±77.89 a	101.33±24.09 a
3	1.18±0.33 a	41.18±21.00 a	18.14±5.35 ab	115.66±43.75 a	119.75±81.44 a
4	1.42±0.77 a	36.67±26.50 a	16.38±3.65 b	97.67±52.60 a	81.00±20.42 a

2.2 日粮能量水平对幼龄獭兔肝脏 PPARγ、IN-SIG-2 基因表达的影响

2.2.1 PPARγ 基因的表 达 从表 4 可以看出,对 2 月龄獭兔来说,随着日粮能量水平的升高,肝脏 PPARγ 基因的相对表达量也逐渐升高,以第 3 组的表达量最高,第 1 组与 2、3、4 组之间差异极显著

($P<0.01$);对 3 月龄獭兔来说,随着日粮能量水平的升高,肝脏中 PPARγ 基因的相对表达量也逐渐升高,但升高幅度很小,以第 4 组表达量最高,3 组与 4 组之间的表达量基本相同,1 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$)。总体来看,3 月龄獭兔肝脏 PPARγ 基因的相对表达量较 2 月龄高。

表 4 日粮能量水平对幼龄獭兔肝脏 PPARγ 基因相对表达量的影响

Table 4 Effect of energy level on expression of PPARγ gene

组别 Group	2 月龄 2 months age	3 月龄 3 months age	组别 Group	2 月龄 2 months age	3 月龄 3 months age
1	5.91±0.96 aA	7.87±0.20 a	3	8.05±0.43 bB	8.22±0.91 ab
2	7.78±0.70 bB	7.99±0.18 ab	4	8.03±0.17 bB	8.22±0.26 b

2.2.2 INSIG-2 基因的表 达 从表 5 可以看出,对 2 月龄獭兔来说,随日粮能量水平的升高,肝脏 INSIG-2 基因的相对表达量呈先上升后下降趋势,以第 3 组表达量最高,1 组与 3 组之间差异显著

($P<0.05$);对 3 月龄獭兔来说,随日粮能量水平的升高,肝脏 INSIG-2 基因的相对表达量呈逐渐下降趋势,以第 1 组表达量最高,1 组与 4 组之间差异极显著($P<0.01$),2 组与 4 组之间差异显著($P<0.05$)。

表 5 日粮能量水平对幼龄獭兔肝脏 *INSIG*-2 基因相对表达量的影响

Table 5 Effect of energy level on expression of *INSIG*-2 gene

组别 Group	2 月龄 2 months age	3 月龄 3 months age	组别 Group	2 月龄 2 months age	3 月龄 3 months age
1	2.40±0.50 a	4.95±0.91 abA	3	3.82±0.98 b	2.88±0.36 abAB
2	3.41±0.87 ab	3.68±0.81 aAB	4	3.55±0.81 ab	2.08±0.84 bB

3 讨 论

3.1 日粮能量水平与血液生化指标

血液生化指标能够反映动物机体的物质代谢水平和某些组织器官的机能状态^[7]。正常情况下,动物体内各血液生化指标的量值呈相对稳定状态,但不同的日粮组成却能通过影响动物的血液生化值,进而影响动物机体的代谢以及健康状况。

葡萄糖作为重要的营养性单糖,是机体新陈代谢的能源物质。血液中的葡萄糖含量与动物能量摄入量有关^[8],可以反映机体的能量代谢水平。本试验发现,随着日粮能量水平的升高,2、3 月龄獭兔血液中的葡萄糖含量均先上升后下降,但变化幅度不大,表明血液中的葡萄糖含量在一定范围内会随日粮能量水平的升高而升高,但机体可以通过葡萄糖-脂肪酸代谢途径来调节血液中的葡萄糖含量^[9],以保证血液中的葡萄糖含量处于恒稳状态,这与吴淑军等^[10]的研究结果一致。

甘油三酯和胆固醇是血液脂肪的组成部分,其水平可间接反映全身脂类代谢状况,脂类在体内发生运输障碍时,血脂含量会有所升高^[11]。本试验中,随着日粮能量水平的升高,2、3 月龄獭兔血液中的甘油三酯和胆固醇含量均呈上升趋势,这与王宗伟等^[12]的研究结果基本一致,表明高能量水平可以提高血液中的甘油三酯和胆固醇含量,且对胆固醇的影响更为明显。

高密度胆固醇和低密度胆固醇是胆固醇的运输者,本试验中,随着胆固醇含量的增高,二者也呈上升趋势,表明随着日粮能量水平的升高,高密度胆固醇和低密度胆固醇的含量也随之升高。对于 2 月龄獭兔,日粮能量对高密度胆固醇的影响更显著一些,对于 3 月龄獭兔,日粮能量对低密度胆固醇的影响更显著一些。这可能与高密度胆固醇和低密度胆固醇的功能不同有关,低密度胆固醇的功能主要是将胆固醇从肝脏运送到全身组织,高密度胆固醇的功能正好相反,是将各组织中的胆固醇运送回肝脏。对于 2 月龄獭兔来说,日粮能量水平越高,血液中的胆固醇含量越高,这时需要高密度胆固醇将血液中的胆固醇运送到肝脏中进行代谢;而 3 月龄獭兔由

于长时间饲喂高能日粮导致体内沉积的胆固醇含量较高,肝脏不能快速对其进行代谢,所以向肝脏运送胆固醇的高密度胆固醇含量就会减少,从肝脏运出胆固醇的低密度胆固醇含量就有所增多。

血液中总蛋白含量的多少,可以反映机体蛋白质摄取量的多少^[13],本试验高能组血液中总蛋白含量的下降,主要是因为采食量下降引起的。日粮能量过高,獭兔采食量下降,导致蛋白质的摄入量也随之下降。

酶是动物机体新陈代谢的有效调节剂,酶活性的大小直接影响着动物的新陈代谢水平,进而影响动物的健康和生长状况^[14]。谷丙转氨酶和谷草转氨酶在氨基酸代谢中起重要作用,二者活性升高时,可使蛋白质分解代谢下降,合成代谢加强,有利于氮在体内的蓄积,动物生长较快^[14]。本试验中,随着日粮能量水平的升高,这 2 种酶总体呈下降趋势,表明机体的氨基酸代谢水平随着日粮能量水平的升高而有所下降。碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶都是与生长发育和消化代谢有关的重要酶,碱性磷酸酶是消化代谢的关键酶,其活性在一定程度上可以反映獭兔的生长速度^[15]。本试验中,随着日粮能量水平的升高,碱性磷酸酶的活性先上升后下降,表明在一定的能量范围内,随着能量水平的升高,碱性磷酸酶活性升高,但影响不显著。乳酸脱氢酶是机体能量代谢过程中参与糖酵解的一种重要酶,与血糖含量有关,本试验中,能量水平对乳酸脱氢酶含量的影响不显著。总体来说,日粮能量水平对幼龄獭兔血液中的总蛋白质、总胆固醇、高密度胆固醇、低密度胆固醇和谷草转氨酶含量都有显著影响,但对其他血液指标的影响相对较小。

3.2 日粮能量水平与 *PPAR* γ 、*INSIG*-2 基因的表达

PPAR γ 不仅调控机体的脂肪代谢、维持能量平衡和血糖的稳定,同时又调控着参与脂类代谢的相关基因的表达^[2]。本试验结果表明,随着日粮能量水平的升高,*PPAR* γ 基因的表达量也相应增高,2、3 月龄獭兔 *PPAR* γ 基因的表达量分别在日粮能量水平为 11.3 和 12.1 MJ/kg 时达到最高值,且 3 月龄獭兔 *PPAR* γ 基因表达量总体高于 2 月龄,说

明高能量水平的日粮能促进 *PPARγ* 基因的表达。

INSIG-2 在维持体内胆固醇代谢稳定方面也具有十分重要的作用。本试验中,*INSIG-2* 基因在 2、3 月龄时分别于 11.3 和 9.7 MJ/kg 的日粮能量水平下表达量最高。*INSIG-2* 基因的表达量并非简单地随血液胆固醇含量的变化而变化,而可能与 *INSIG-2* 在调控脂类代谢的同时也调控参与脂类代谢所需的多种酶的表达有关,*INSIG-2*、*PPARγ* 在其他一些与糖脂代谢有关的酶的共同作用下,对动物机体的糖脂代谢进行调控,在这一复杂的机制下,使 *INSIG-2* 基因的表达量不会简单地随着日粮能量水平的升高而升高。有关日粮能量水平对其他与糖脂代谢有关基因表达量的影响,以及各种基因调控糖脂代谢的机制还有待进一步研究。

4 结 论

2 月龄时,日粮能量水平对獭兔血液中的总胆固醇、高密度胆固醇、低密度胆固醇含量和谷草转氨酶活性有显著影响;3 月龄时,日粮能量水平对獭兔血液中的总蛋白质、总胆固醇含量和谷草转氨酶活性有显著影响。2、3 月龄时,日粮能量水平对幼龄獭兔肝脏 *PPARγ*、*INSIG-2* 基因的表达量均有显著影响,在 2、3 月龄獭兔肝脏中,*PPARγ* 基因分别在 11.3 和 12.1 MJ/kg 日粮能量水平下的表达量最高,*INSIG-2* 基因则分别于 11.3 和 9.7 MJ/kg 的日粮能量水平下表达量最高。

[参考文献]

[1] Wang Y X, Lee C H, Tiep S, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor δ activates fat metabolism to prevent obesity [J]. *Cell*, 2003, 113: 159-170.

[2] 潘洪彬, 王 静, 黄 英, 等. 饲料能量水平对乌金猪脂肪组织脂类分解代谢相关基因表达的影响 [J]. *动物营养学报*, 2011, 23(11): 1946-1952.

Pan H B, Wang J, Hang Y, et al. Fodder energy levels to sharply the lipolysis of swine adipose tissue metabolism related genes expression effect [J]. *Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(11): 1946-1952. (in Chinese)

[3] 冯晓丽, 杨大春, 梁琳郎, 等. 替米沙坦对自发性高血压大鼠肌肉组织中 *PPARγ* 和 *PPARδ* 表达的影响 [J]. *中国医科大学学报*, 2009, 38(3): 172-174.

Feng X L, Yang D C, Liang L L, et al. Telmisartan *PPAR* gamma in the muscle tissue in spontaneously hypertensive rats and *PPAR* delta express [J]. *Journal of China Medical University*, 2009, 38(3): 172-174. (in Chinese)

[4] 王战建, 王 隽. 2 型糖尿病与炎症及 *PPARγ* 激动剂 [J]. *实用糖尿病杂志*, 2006, 2(2): 7-9.

Wang Z J, Wang J. Type 2 diabetes, and inflammation and *PPAR* gamma agonist [J]. *Practical Diabetes Care*, 2006, 2(2): 7-9. (in Chinese)

[5] Yabe D, Komuro R, Liang G, et al. Liver-specific mRNA for *INSIG2* down-regulated by insulin: Implications for fatty acid synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(6): 3155-3160.

[6] 陈 科, 莫朝晖, 邢晓为, 等. *INSIG2* 稳定表达细胞系的建立及该基因对脂肪代谢的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2008, 28(7): 713-718.

Chen K, Mo Z H, Xing X W, et al. *INSIG2* establishing stable expression cell lines and the gene effect on fat metabolism [J]. *Journal of Basic Medicine and Clinical*, 2008, 28(7): 713-718. (in Chinese)

[7] 江 山, 杨飞云, 刘作华, 等. 能量蛋白对种公猪血液中 T3、T4、TP、BUN 和 GLU 的影响 [J]. *畜牧兽医杂志*, 2009, 28(1): 7-10.

Jiang S, Yang F Y, Liu Z H, et al. Energy protein of boars T3, T4, TP and BUN in blood and the impact of GLU [J]. *Journal of Animal Husbandry and Veterinary*, 2009, 28(1): 7-10. (in Chinese)

[8] 多 乐, 莫子艺, 孔 鹏, 等. 不同能量和蛋白质水平日粮对石岐杂鸡免疫器官发育及血液生化指标的影响 [J]. *中国饲料*, 2011(4): 36-38, 41.

Duo L, Mo Z Y, Kong P, et al. Different energy and protein levels in diet on Shi Qi hybrid chicken immune organ development and blood biochemical index [J]. *The Influence of Feed in China*, 2011(4): 36-38, 41. (in Chinese)

[9] 周东胜, 吴 德, 卓 勇, 等. 能量水平和来源对后备母猪血液代谢产物、激素分泌及卵泡液成分的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(5): 683-690.

Zhou D S, Wu D, Zhuo Y, et al. The energy level and the source of the gilt blood metabolites, hormone secretion and the influence of the follicular fluid composition [J]. *Journal of Animal Husbandry and Veterinary*, 2009, 40(5): 683-690. (in Chinese)

[10] 吴淑军, 李福昌, 王雪鹏, 等. 日粮能量水平对断奶至 3 月龄獭兔生长发育、消化代谢、血液生化和盲肠发酵的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(7): 1071-1078.

Wu S J, Li F C, Wang X P, et al. The diet energy levels for weaning to 3 months rabbit growth and development, digestion and metabolism, blood biochemical and caecum fermentation effect [J]. *Journal of Animal Husbandry and Veterinary*, 2012, 43(7): 1071-1078. (in Chinese)

[11] 景 炜, 蒲雪松, 卞欣欣, 等. 日粮不同能量和蛋白水平对多浪羊繁殖性能及血液生化指标的影响 [J]. *中国草食动物*, 2010, 30(5): 21-25.

Jing W, Pu X S, Bian X X, et al. The diet different energy and protein levels on surf sheep reproductive performance and blood biochemical index [J]. *The Influence of Livestock Grazing Animals in China*, 2010, 30(5): 21-25. (in Chinese)

lage [J]. Journal of China Agricultural University, 2003, 8(2): 21-25. (in Chinese)

[8] 张慧杰. 饲草青贮微生物菌群动态变化与乳酸菌的鉴定筛选 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.

Zhang H J. The dynamic changes of microbial florain forage silage and identification and screening of Lactic Acid Bacteria species isolated from forage silage [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011. (in Chinese)

[9] 陈耀钦. 酵母菌在奶牛饲料中的应用研究 [J]. 饲料研究, 2011 (2): 22-24.

Chen Y Q. Yeast in dairy cattle feed in applied research [J]. Feed Research, 2011(2): 22-24. (in Chinese)

[10] 杨云贵, 张越利, 杜 欣, 等. 2 种玉米青贮饲料青贮过程中主要微生物的变化规律研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(3): 397-403.

Yang Y G, Zhang Y L, Du X, et al. Study on the major micro-organism changes during the silage processing of two kinds of corn silage [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2012, 43(3): 397-403. (in Chinese)

[11] 褚长增, 周顺成, 党治军, 等. 饲料中的霉菌毒素对养殖业的危害及防对策略 [J]. 畜牧与饲料科学, 2011, 32(8): 60-61.

Zhu C Z, Zhou S C, Dang Z J, et al. The hazards and prevention strategies of mycotoxins in feed for aquaculture industry [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2011, 32(8): 60-61. (in Chinese)

(上接第 16 页)

[12] 王宗伟, 牟晓玲, 杨国伟, 等. 日粮营养水平对东北肉鹅生长性能及血液生化指标的影响 (1~28 日龄) [J]. 核农学报, 2009, 23(5): 891-897.

Wang Z W, Mou X L, Yang G W, et al. The diet nutrient levels on northeast goose growth performance and blood biochemical indicators of impact (1—28 days of age) [J]. Nuclear Agronomy, 2009, 23(5): 891-897. (in Chinese)

[13] 张召兄, 潘晓亮, 任耀军, 等. 不同蛋白能量比日粮对荷斯坦奶公犊育肥效果及血液生化指标的影响研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34(7): 75-77.

Zhang Z X, Pan X L, Ren Y J, et al. Effect of different level of ratio of protein to energy in ration on growth performance and biochemical serum indexes in holstein male calf [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2007, 34(7): 75-77. (in Chinese)

[14] 白小彦, 王炳文, 杨富民, 等. 美系獭兔血液生理生化指标测定 [J]. 甘肃农业大学学报, 2011, 46(2): 23-26.

Bai X Y, Wang B W, Yang F M, et al. Beauty is a beaver rabbit blood physiological and biochemical index determination [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2011, 46(2): 23-26. (in Chinese)

[15] 董 兵, 谷子林, 刘亚娟, 等. 不同水平大蒜素对獭兔生产性能及血液生化指标的影响 [J]. 贵州农业科学, 2010, 38(4): 138-141.

Dong B, Gu Z L, Liu Y J, et al. Different levels of allicin effect on production performance and blood biochemical indicators of otter rabbit [J]. Journal of Guizhou Agricultural Science, 2010, 38(4): 138-141. (in Chinese)