

文章编号: 1001-411X(2002)04-0064-04

不同饲养水平对生长肥育猪生产性能和血清类胰岛素生长因子-I的影响

邓跃林¹, N. OKSBJERG²

(1 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642; 2 丹麦农业研究所畜产品品质系 P. O. Box 50 8830 Tjele, Denmark)

摘要: 试验采用 2×2 因子设计, 即生长期自由采食或喂自由采食量的 60%, 肥育期自由采食或喂自由采食量的 70%。结果表明生长期限制饲养引起的生长受阻, 在肥育期通过充分饲喂可以得到部分补偿。在生长期, 限制饲喂使猪血清中 IGF-I 水平降低 29.4% ($P < 0.01$); 而肥育期限制饲喂则对血清中 IGF-I 含量没有影响。与自由采食的猪血清相比, 生长期限制采食的猪血清, 可使 C₂C₁₂ 细胞的增殖能力降低 18.8% ($P < 0.01$); 肥育期限制采食的猪血清, 则使蛋白质的合成降低 11.5% ($P < 0.01$), 使蛋白质的降解增加 5.5%。试验结果说明肥育期的补偿生长与血清中 IGF-I 水平无关, 可能与血清中其他生长因子的增多有关。

关键词: 猪; 饲养水平; 生产性能; 补偿生长; IGF-I
中图分类号: S831.5 **文献标识码:** A

饲养水平显著影响猪的生长性能。早期的低饲养水平或饲喂某些氨基酸缺乏的日粮可引起生长受阻, 通过后期的营养强化, 生长潜力可以部分或全部补偿回来^[1], 目前对于补偿生长的机理还没有一致的结论。动物的生长受内分泌系统调控, 其中类胰岛素生长因子-I(IGF-I)是直接控制动物肌肉生长的因子^[2]。大量的研究表明体外培养肌肉细胞是研究肌肉组织生长发育的重要工具^[3]。本研究的目的是探讨生长期的饲养水平对猪肥育期生产性能的影响及其血清对肌肉细胞系 C₂C₁₂ 增殖和肌管蛋白质代谢的影响, 以确定血清中的 IGF-I 在补偿生长方面的作用。

1 材料与方法

1.1 饲养试验

试验采用 2×2 因子设计, 生长期(28~90 日龄) 2 个饲养水平(自由采食或自由采食的 60%)×肥育期(91~170 日龄) 2 个饲养水平(自由采食或自由采食的 70%), 共 4 个处理。从 8 窝 4 周龄的仔猪中, 每窝选出 4 头母仔猪, 分配到 4 个处理中, 试验猪单笼饲养。试验日粮参照丹麦 1998 年猪的饲养标准, 采用大麦、小麦、豆粕型日粮, 营养水平见表 1。记录猪的耗料量, 生长期末和肥育期末各称体重 1 次。

1.2 血清样品的制备及 IGF-I 分析

生长期末和肥育期末, 分别从每头试验猪的颈静脉采集 10 mL 血液样品, 分离并收集血清, 过滤

后, 保存在 -20℃ 的冰箱中备用。血清中 IGF-I 的含量采用双抗体放射免疫分析法测定。

1.3 屠宰试验

在试验结束时, 屠宰全部试验猪, 分离胴体瘦肉, 测定每头猪的瘦肉产量。

1.4 C₂C₁₂ 细胞增殖试验及肌管的蛋白质代谢

(1) 细胞增殖: C₂C₁₂ 细胞是一种来自鼠的肌肉细胞系, C₂C₁₂ 细胞按 6 000 个/cm² 的密度接种到 96 孔的培养板上, 培养液为 $\varphi = 10\%$ 牛胚胎血清和 $\varphi = 90\%$ 的 Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)。培养液中加入 100 IU 的青霉素和 3 mL/L 的庆大霉素、50 mL/L 的硫酸链霉素和 3 mL/L 的两性霉素 B。细胞培养在 $\varphi(\text{CO}_2) = 5\%$ 的空气、37℃、100%湿度的细胞培养箱中。细胞经 24 h 的培养后, 培养液换成 $\varphi = 3\%$ 的试验血清及 $\varphi = 97\%$ 的 DMEM, 培养 72 h。孔中的细胞数量测定方法是: 每孔中加 10 μL 的甲臞盐培养 4 h, 甲臞盐(浅红色)可被活细胞线粒体中的醛脱氢酶分解成甲臞(深红色), 然后用 Power WaveX 比色仪在 450 nm 处比色。丹麦农业研究所畜产品品质系细胞室的研究表明细胞培养液在 450 nm 处的吸光度($A_{450\text{nm}}$)和用血球计数仪测定的细胞数量呈线性关系, 因此这里用 $A_{450\text{nm}}$ 来表示每孔中 C₂C₁₂ 细胞的数量。

(2) 肌管的蛋白质合成: 细胞接种在 24 孔的培养板上, 培养液为 $\varphi = 10\%$ 牛胚胎血清和 $\varphi = 90\%$ 的 DMEM。培养到细胞布满孔的底部时, 把培养液换成

$\varphi=4\%$ 的牛胚胎血清和 $\varphi=96\%$ 的DMEM.融合3 d,使肌细胞融合成肌管,再把培养液换成 $\varphi=6\%$ 的试验猪血清和 $\varphi=94\%$ 的DMEM,培养24 h.然后每孔中加入 7.4×10^{-4} Bq的 ^3H -酪氨酸,继续培养5 h.最后弃去培养液.单层细胞都用0.2 mL, $\varphi=10\%$ 冰冻的三氯醋酸洗2次,并加入0.2 mL, $\varphi=5\%$ 的三氯醋酸在 4°C 冰箱中过夜.弃上清液,单层细胞再用0.5 mol/L的NaOH 0.25 mL溶解,在 37°C 下保持2 h.取1 mL液体到5 mL闪烁液中,用 β 计数器计数.并测定每孔中的蛋白质含量,蛋白质的合成量以下式表示:孔中的 β 计数/孔中蛋白质含量.

表1 试验猪饲料的营养水平

Tab. 1 The nutrient content of diets for experimental pig

营养成分 nutrients	日龄 day of age/ d		
	35~70	71~112	113~170
消化能 digestible energy / (MJ·kg ⁻¹)	14.42	14.00	13.58
w(粗蛋白 crude protein)/%	21.0	18.5	16.5
w(钙 calcium)/%	0.85	0.80	0.75
w(有效磷 available phosphorous)/%	0.40	0.30	0.25
w(可消化赖氨酸 digestible lysine)/%	1.17	0.88	0.74
w(可消化蛋氨酸+可消化胱氨酸 digestible methionine+digestible cystine)/%	0.61	0.54	0.47

(3)肌管的蛋白质降解:将已融合成肌管的C₂C₁₂细胞,用含 ^3H -酪氨酸的培养液培养48 h,弃去培养液,单层细胞用PBS缓冲液冲洗,再用0.25 mL含 $\varphi=6\%$ 的试验猪血清和2 mmol/L未有同位素标记的酪氨酸的DMEM培养液,继续培养24 h.然后先收集培养液,另用0.15 mL的PBS缓冲液冲洗细胞2次,收集冲洗液,并在这些液体中加入 $\varphi=10\%$ 的三氯乙酸,使收集液中三氯乙酸的浓度达 $\varphi=5\%$.将收集的液体在13 000 r/min下离心5 min,再收集上清液(I),而沉淀部分和单层细胞再用0.5 mol/L的NaOH 0.25 mL溶解,在 37°C 下保持2 h.各取1 mL液体到5 mL闪烁液中,用 β 计数器计数.蛋白质分解率(%)以下式表示:上清液(I)的 β 计数/总的 β 计数.

表3 不同饲养水平对肥育猪生产性能和胴体瘦肉量的影响¹⁾

Tab. 3 The effect of different feeding levels on the performance and carcass lean meat of finishing pigs

测定指标 tested item	A-A	A-R	R-A	R-R	处理间差异显著水平 P value	
					生长期	肥育期
					growing phase	finishing phase
日采食量 daily feed intake/ kg	3.23	2.25	3.20	2.27	0.970	0.000 1
日增质量 daily gain/ g	1 037	817	1 101	889	0.060	0.000 1
耗料:增质量 feed :gain	3.11	2.75	2.91	2.55	0.005	0.000 7
胴体瘦肉 carcass lean meat/ kg	56.5	53.5	56.8	50.5	0.270	0.000 9

1) A:自由采食 ad libitum, R:限制采食 restrictive feeding

1.5 统计分析

生产性能及细胞培养的结果按SAS 6.12 (SAS1997)的总线性模型(GLM)进行分析,以检验生长期、肥育期不同饲养水平对生产性能、血清中IGF-I含量的影响及其血清对细胞增殖和细胞蛋白质代谢的影响.

2 结果与分析

2.1 不同饲养水平对生长肥育猪生产性能、胴体瘦肉产量的影响

试验结果见表2、表3.结果表明无论是生长期、还是肥育期,限制采食显著降低猪的生长速度($P<0.01$),但可显著改善饲料转化率($P<0.01$).在生长期限制饲养的猪与自由采食的猪相比,到肥育期有较高的平均日增质量($P=0.06$)和最好的饲料转化率($P=0.005$),出现了明显的补偿生长现象.屠宰试验表明生长期适度限制采食对猪胴体瘦肉产量无显著影响,肥育期限制饲养则可显著降低胴体瘦肉量($P<0.01$),如限制采食自由采食组与自由采食-自由采食组相比,虽然肥育期末的猪体质量低,但二者的胴体瘦肉量无差异,说明前期限制饲养可提高胴体瘦肉率.目前,生产猪场普遍采用的是肥育期限制饲养,以期提高猪胴体瘦肉率和饲料转化率,但生长速度受影响^[4].从本试验的结果来看,在生长期限饲,甚至更有利.

表2 不同饲养水平对生长猪生产性能的影响

Tab. 2 The effect of different feeding levels on the performance of growing pigs

生产性能 performance	自由采食	限饲	处理间差异
	ad libitum	restrictive feeding	显著水平 P value
日采食量 daily feed intake/ kg	1.22	0.71	0.000 1
日增质量 daily gain/ g	691	511	0.000 1
耗料:增质量 feed :gain	1.77	1.39	0.000 1

2.2 血清中的 IGF-I 水平及细胞培养

试验结果见表4、表5。生长期限制采食显著降低猪生长期末血清中 IGF-I 的水平 ($P < 0.01$), 血清中 IGF-I 降低 29.4%, 而肥育期限制采食对血清中 IGF-I 的含量影响不明显。生长期的结果与前人研究结果一致, Reecy 等^[3] 给蛋白质缺乏的牛皱胃灌注酪蛋白, 可以使血清中 IGF-I 显著升高; 绝食的断奶仔猪, 其血清中 IGF-I 含量显著降低^[6]。但在本试验肥育期, 限制饲喂对血清中 IGF-I 的含量无明显影响, 具体原因不明, 可能与肥育阶段肌肉生长能力相对减弱, 脂肪沉积能力增强, 内分泌系统对轻度的蛋白

质缺乏不如生长期敏感有关。

表4 生长猪血清中的 IGF-I 含量及其血清对 C_2C_{12} 细胞增殖和蛋白质周转的影响

Tab. 4 Contents of serum IGF-I and effects of serum of growing pigs on C_2C_{12} proliferation and protein turnover

测定指标 tested item	自由采食 ad libitum	限饲 restrictive feeding	差异显著 水平 P value
IGF-I/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	238	168	0.001
细胞增殖 cell proliferation ($A_{450\text{nm}}$)	1.17	0.95	0.034
蛋白质合成 protein synthesis/ ($10^0 \text{Bq} \cdot \text{g}^{-1}$)	7.29	6.97	0.336
蛋白质降解 protein degradation/ %	29.3	29.3	0.957

表5 肥育猪血清中的 IGF-I 含量及其血清对 C_2C_{12} 细胞增殖和蛋白质代谢的影响¹⁾

Tab. 5 Contents of serum IGF-I and effects of serum of finisher pigs on C_2C_{12} proliferation and protein turnover

测定指标 tested item	A-A	A-R	R-A	R-R	处理间差异显著水平 P value	
					生长期	肥育期
					growing phase	finishing phase
IGF-I/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	148	146	168	165	0.200	0.860
细胞增殖 cell proliferation ($A_{450\text{nm}}$)	1.17	1.07	1.09	1.10	0.760	0.580
蛋白质合成 protein synthesis/ ($10^{10} \text{Bq} \cdot \text{g}^{-1}$)	7.90	7.06	8.20	7.19	0.228	0.001
蛋白质降解 protein degradation/ %	29.4	29.8	27.3	30.0	0.160	0.075

1) A: 自由采食 ad libitum, R: 限制采食 restrictive feeding

在细胞培养方面, 生长期末, 限制饲喂猪的血清与自由采食猪的血清相比, 可显著降低 C_2C_{12} 细胞增殖能力 ($P = 0.034$), 细胞增殖能力降低 18.8%, 而对肌管的蛋白质合成和降解无显著影响; 肥育期末, 限制采食猪的血清与同期自由采食猪的血清相比, 对细胞增殖无明显影响, 却能显著降低蛋白质的合成 ($P = 0.001$), 提高蛋白质的降解 ($P = 0.075$), 蛋白质合成能力降低 11.5%, 蛋白质的分解能力提高 5.5%。本试验结果与 Reecy^[3] 和 White^[9] 的研究结果基本一致。至于本试验中生长期与肥育期猪血清在肌细胞增殖和蛋白质代谢方面的差异, 可能与动物肌肉组织生长发育规律有关, 猪出生后, 其肌肉生长包括两个生物学过程, 即卫星细胞增殖和蛋白质的沉积。在生长期猪肌肉中肌卫星细胞增殖迅速, 而在肥育期猪肌肉组织的生长则主要以细胞肥大为主, 与蛋白质沉积密切相关。

IGF-I 是最重要的成肌细胞增殖促进因子^[3]。此外 IGF-II、胰岛素(超过生理剂量范围)和成纤维细胞生长因子对肌肉卫星细胞的增殖有促进作用。IGF-II 主要在胚胎发育过程中起作用, IGF-I 是在出生后发挥作用。本试验中, 在生长期自由采食猪的血清有较高的促细胞增殖的能力, 似乎与 IGF-I 的水平有关, 而肥育期自由采食猪的血清具有促进肌管蛋白

质合成, 降低蛋白质降解的能力, 则与 IGF-I 的水平无关, 似乎与其他生长因子有关, 如胰岛素等, 因为高水平饲养可以提高血清中胰岛素水平^[7], 而胰岛素则可促进蛋白质的合成、降低体内蛋白质的分解。

3 结论

(1) 生长期限制饲养显著降低猪血清中 IGF-I 水平, 肥育期限制饲养则对血清中 IGF-I 含量没有影响。

(2) 与同期自由采食猪的血清相比, 生长期限制采食猪的血清可以降低 C_2C_{12} 细胞的增殖能力, 而肥育期限制采食猪的血清, 可降低肌管蛋白的合成, 增加肌管蛋白的降解。

(3) 猪的补偿生长与血清中 IGF-I 的水平无关, 可能与血清中其他生长因子的增多有关。

参考文献:

- [1] CHIBA L I. Effect of nutritional history on the subsequent and overall growth performance and carcass traits of finisher pigs [J]. Anim Feed Sci Technol, 1995, 53: 1-16.
- [2] EWTON D Z, FLORINI J R. Relative effects of the somatomedins multiplication-stimulating activity and growth hormone on myoblasts and myotubes in culture [J]. Endocrinology, 1980, 106: 577.

- [3] KOTTS C E, WHITE M E, ALLEN C E, et al. A statistically standardized muscle cell culture bioassay measuring the effect of swine serum on muscle proliferation[J]. *J Anim Sci*, 1987, 64: 615—622.
- [4] 叶耀辉. 限饲对猪皮下各脂肪层脂肪沉积及胴体的影响[J]. *福建农业大学学报*, 1998 (4): 42—45.
- [5] REECY J M, WILLIAMS J E, KERLEY M S, et al. Abomasal casein infusion enhance the mitogenic activity of serum from protein-restricted steers[J]. *J Nutr*, 1994, 124: 67—77.
- [6] WHITE M E, RAMSAY T G, OSBORNE J M, et al. Effect of weaning at different ages on serum Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF binding proteins and serum *in vitro* mitogenic activity in swine[J]. *J Anim Sci*, 1991, 69: 134—145.
- [7] GARLICK P J. Amino acid infusion increases the sensitivity of muscle protein synthesis *in vivo* to insulin[J]. *Biochem J*, 1988, 254: 579—584.

The Effect of Different Feeding Levels on Performance and Serum Insulin-Like Growth Factor I of Growing-Finishing Pigs

DENG Yue-lin¹, N. OKSBJERG²

(1 College of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Dept. of Animal Product Quality, Research Centre Foulum, P. O. Box 50, 8830 Tjele, Denmark)

Abstract: A 2×2 factor design with two feeding levels, ad libitum or restrictive feeding (60% ad libitum), in growing phase and two feeding levels, ad libitum or restrictive feeding (70% ad libitum), in finishing phase was adopted in the experiment. An obvious compensatory growth appeared in the pigs fed restrictively in growing phase and fed ad libitum in finishing phase. In the growing phase, restrictive feeding reduced serum IGF-I by 29.4% ($P < 0.01$). In the finishing phase, feeding levels had no influence on serum IGF-I. Compared with the serum of pigs fed ad libitum in growing phase, sera of pigs fed restrictively in the same phase decreased the capacity of C₂C₁₂ proliferation by 18.8% ($P < 0.01$). Sera of pigs fed restrictively in finishing phase decreased protein synthesis of myotubes by 11.5% ($P < 0.01$) and increased protein degradation of myotubes by 5.5%. The study demonstrated that compensatory growth was caused by increased serum growth factors other than IGF-I.

Key words: pigs; feeding level; performance; compensatory growth; IGF-I

【责任编辑 柴 焰】