

DOI: 10.11686/cyxb2025334

http://cyxb.magtech.com.cn

张浩东, 荆玉倩, 冯家欣, 等. 25-羟基维生素D₃对奶公牛生产性能和肌肉蛋白质合成基因表达的影响. 草业学报, 2026, 35(8): 134—143.

ZHANG Hao-dong, JING Yu-qian, FENG Jia-xin, *et al.* Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ on growth performance and expression of genes related to protein synthesis in muscle of dairy bulls. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(8): 134—143.

25-羟基维生素D₃对奶公牛生产性能和肌肉蛋白质合成基因表达的影响

张浩东, 荆玉倩, 冯家欣, 刘百娇, 冯江, 孙楠, 霍文婕, 郭刚, 刘强*, 王聪

(山西农业大学动物科学学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 本试验旨在探究25-羟基维生素D₃(CAL)和包被CAL(CCAL)对奶公牛生长性能、养分消化、瘤胃发酵、血液指标和肌肉蛋白质合成关键基因表达的影响。选择50头体重[(175.6±16.81) kg]和年龄[(6.0±0.2)月]相近的荷斯坦公牛, 依据随机区组设计分为5组, 每组10头牛。对照组饲喂基础日粮, 低CAL(LCAL)、高CAL(HCAL)、低CCAL(LCCAL)和高CCAL(HCCAL)组分别以CAL或CCAL的形式补充0.5或1.0 mg CAL·d⁻¹。公牛饲养试验期为70 d, 其中预饲期10 d, 正式试验期间测定公牛体重, 采集饲料样、粪样、瘤胃液、血液和肌肉组织样品。结果显示: 1) 随CAL或CCAL添加水平的增加, 公牛平均日增重(ADG)线性提高($P<0.05$), 料重比线性降低($P<0.05$); 干物质、有机物和中性洗涤纤维表观消化率线性提高($P<0.05$); 瘤胃总挥发性脂肪酸(TVFA)含量、异丁酸和异戊酸摩尔比线性提高($P<0.05$), 乙酸/丙酸线性降低($P<0.05$); 血液总蛋白、白蛋白、胰岛素样生长因子1(IGF-1)、总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、CAL和1,25-二羟基维生素D₃含量线性提高($P<0.05$), 丙二醛含量线性降低($P<0.05$); 肌肉IGF-1、胰岛素样生长因子-1受体(IGF-1R)、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和核糖体蛋白S6激酶(P70S6K)mRNA相对表达量线性提高($P<0.05$)。2) CCAL组公牛ADG、血液T-AOC、GSH-Px、CAL和1,25-二羟基维生素D₃含量、肌肉IGF-1、IGF-1R、PI3K、mTOR和P70S6K mRNA相对表达量显著高于CAL组($P<0.05$), 养分消化率和瘤胃TVFA含量与CAL组无显著差异($P>0.05$), 料重比显著低于CAL组($P<0.05$)。综上表明, CCAL对提高公牛生长性能和降低料重比较CAL更有效。

关键词: 25-羟基维生素D₃; 养分消化; 瘤胃发酵; 抗氧化状态; 肌肉蛋白质合成; 荷斯坦公牛

Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ on growth performance and expression of genes related to protein synthesis in muscle of dairy bulls

ZHANG Hao-dong, JING Yu-qian, FENG Jia-xin, LIU Bai-qiao, FENG Jiang, SUN Nan, HUO Wen-jie, GUO Gang, LIU Qiang*, WANG Cong

College of Animal Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

Abstract: We evaluated the effects of 25-hydroxyvitamin D₃ (CAL) and coated CAL (CCAL) on the average daily weight gain, nutrient digestibility, rumen fermentation, blood metabolites, and transcript profiles of genes related to protein synthesis in muscle of dairy bulls. Fifty Holstein bulls with (175.6 ± 16.81) kg body weight and (6.0 ± 0.2) months of age were assigned in a randomized block design to five groups with 10 bulls per group. Bulls in the

收稿日期: 2025-08-18; 改回日期: 2025-09-22

基金项目: 山西省肉牛产业技术创新战略联盟(2025CXRYH-048)和山西省现代农业牛产业技术体系建设项目(2025CYJSTX13)资助。

作者简介: 张浩东(2001—), 男, 天津人, 在读硕士。E-mail: 2864494680@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: liuqiangabc@163.com

control group received no supplementation, and those in the low CAL (LCAL), high CAL (HCAL), low CCAL (LCCAL), and high CCAL (HCCAL) groups received supplementation of 0.5 or 1.0 mg·d⁻¹ in the form of CAL or CCAL, respectively. The experimental period was 70 days, with 10 days for adaptation. During the data and sample collection period, the body weights of bulls were measured, and samples of feed, feces, ruminal fluid, blood, and muscle were collected. 1) It was found that with increasing CAL or CCAL supplementation, the average daily gain (ADG) increased linearly ($P<0.05$), and the feed-to-gain ratio decreased linearly ($P<0.05$). The apparent digestibility of dry matter, organic matter, and neutral detergent fiber increased linearly ($P<0.05$) with increasing CAL or CCAL supplementation. Ruminal total volatile fatty acid (TVFA) content and molar proportions of isobutyrate and isovalerate increased linearly ($P<0.05$), but the acetate-to-propionate ratio decreased linearly ($P<0.05$) with increasing CAL or CCAL supplementation. Blood total protein, albumin, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), total antioxidant capacity (T-AOC), glutathione peroxidase (GSH-Px), CAL, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ increased linearly ($P<0.05$), but the malondialdehyde content decreased linearly ($P<0.05$) with increasing CAL or CCAL supplementation. The transcript levels of *IGF-1*, *IGF-1R*, *PI3K*, *mTOR*, and *P70S6K* (encoding insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor-1 receptor, phosphatidylinositol 3-kinase, mechanistic target of rapamycin, and ribosomal protein S6 kinase, respectively) in muscle increased linearly ($P<0.05$) with increasing CAL or CCAL supplementation. 2) Compared with bulls in the CAL groups, those in the CCAL groups had higher ADG, blood T-AOC, GSH-Px, CAL, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ levels and higher transcript levels of *IGF-1*, *IGF-1R*, *PI3K*, *mTOR* and *P70S6K* in muscle, similar nutrient digestibility and ruminal TVFA contents, but lower feed-to-gain ratio. These results indicate that CCAL is more effective than CAL for increasing the growth performance of bulls and decreasing the feed-to-gain ratio.

Key words: 25-hydroxyvitamin D₃; nutrient digestibility; rumen fermentation; antioxidant status; muscle protein synthesis; Holstein bull

25-羟基维生素 D₃(caldiol, CAL)能改善动物生产性能和养分利用,而且不依赖于钙磷代谢^[1-2]。CAL 与细胞内维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)结合,激活维生素 D 信号通路,调控免疫因子合成、抗氧化酶活性以及蛋白质与脂质合成^[1-2]。研究发现,断奶前犊牛补充 CAL 显著提高了平均日增重(average daily gain, ADG)、干物质(dry matter, DM)和中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)全消化道表观消化率以及粪中有益菌群的相对丰度^[3]。生长期公牛补充 CAL 显著提高了 ADG^[4]。育肥公牛补充 CAL 显著提高了屠宰率、背最长肌面积、肌肉组织胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor 1, *IGF-1*)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin protein, *mTOR*)mRNA 相对表达量^[5]。对单胃动物的研究发现,补充维生素 D₃显著提高了猪回肠丁酸含量、微生物 β-多样性、乳酸菌和芽孢杆菌丰度^[6],显著提高了人肠道拟杆菌门与厚壁菌门的比例^[7]。体外试验发现,补充维生素 D₃显著提高了黄牛瘤胃液 48 h 的累积产气量、有机物(organic matter, OM)降解率和异戊酸摩尔比^[8]。基于现有研究可以推断,CAL 能调控公牛瘤胃发酵。公牛吸收 CAL 的主要部位在小肠。早期的研究发现,瘤胃中维生素 D 的降解率与 DM 相同^[9],体外培养 24 h,约 80% 的维生素 D 被瘤胃微生物代谢为无活性产物^[10]。采用双层包膜工艺生产的包被 CAL(coated CAL, CCAL)添加剂,能减少 CAL 在瘤胃中的释放,避免微生物的过度降解和破坏,与 CAL 相比,能更有效提高公牛生产性能。目前,CAL 对公牛瘤胃发酵的调控特点及其在反刍动物生产中的最佳添加方式(CAL 或 CCAL)均需明确。因此,本研究选用 CAL 和 CCAL 添加剂,探究其对荷斯坦公牛生长性能、养分消化、瘤胃发酵、抗氧化状态和肌肉组织 *IGF-1/mTOR* 通路关键基因表达的影响,初步探究 CAL 调控公牛生长性能和养分利用的可能机制及其适宜添加方式。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于2025年4—6月在山西农业大学动物科学学院实验基地开展,试验牛的使用与管理遵循山西农业大学实验动物伦理委员会规定(编号: SXAU-EAW-2024CO. LN. 011030224)。试验用CAL购于凯恩格生物科技有限公司,纯度0.05%。CCAL购于山西国牧科技有限公司,由35%CAL和65%包被壁材(二氧化硅、棕榈脂肪、氢化椰子油和硬脂酸钙)组成,其中CAL在瘤胃和肠道的释放率分别为28.1%和67.4%。

选择50头体重 $[(175.6 \pm 16.81) \text{ kg}]$ 和年龄 $[(6.0 \pm 0.2) \text{ 月}]$ 相近的荷斯坦公牛,依据随机区组设计分为5组,每组10头牛。对照组饲喂基础日粮,低CAL(low CAL, LCAL)、高CAL(high CAL, HCAL)、低CCAL(low coated CAL, LCCAL)和高CCAL(high coated CAL, HCCAL)组分别以CAL或CCAL的形式补充0.5或1.0 $\text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。CAL或CCAL的添加水平依据Martins等^[5]的试验结果确定。公牛全混合日粮(total mixed ration, TMR)依据肉牛营养需要^[11]推荐量配制(表1)。试验牛单栏饲养,6:00和17:10饲喂,自由采食和饮水。每日晨饲前,先将每头牛补充的CAL或CCAL与约1 kg TMR混合后饲喂,确保采食完毕后,再喂剩余日粮。公牛饲养试验期为70 d,其中预饲期10 d。

1.2 样品采集与指标测定

1.2.1 采食量和体重的测定 正式试验期间,记录每头牛每天的喂料量和剩料量,每隔10 d采集TMR样和每头牛剩料样1次,测定DM含量^[12],计算干物质采食量(dry matter intake, DMI)。正式试验期第1、30和60天,记录每头牛晨饲前的空腹体重,计算ADG。

1.2.2 粪样的采集与测定 正式试验期第57、58和59天,通过直肠采集每头牛的粪便样品,每天4次,每次采集不少于150 g, -20°C 保存。试验结束后,将每头牛的粪样依据湿重比例制成混合样,加入10%酒石酸溶液, 65°C 条件下烘干至恒重。将TMR样和粪样粉碎(1 mm),测定DM、OM、粗蛋白质(crude protein, CP)、粗脂肪(ether extract, EE)、NDF、酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)和酸不溶灰分含量^[12],计算各养分的表观消化率。

1.2.3 瘤胃液的采集与测定 正式试验期第58、59和60天,晨饲后3 h,用胃管式采样器采集每头牛瘤胃液样品约200 mL,立即用pH分析仪(TP310,中国北京)测定pH,然后分为3份,分别保存于 -20°C 。用气相色谱仪(6890N,中国北京)和内标法测定各挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFA)含量^[12],用双光束紫外可见分光光度计(TU-1901,中国青岛)和比色法测定氨态氮含量^[12],用酶标仪(DR200-Bn,中国山东)和考马斯亮蓝法测定微生物蛋白(microbial protein, MCP)含量^[13]。

1.2.4 血液的采集与测定 正式试验期第60天,晨饲后3~4 h,通过尾静脉采集每头牛的血液样品约10 mL,

表1 基础日粮组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diet (dry matter basis)

原料 Ingredient	含量 Content (%)	营养水平 ²⁾ Nutrient level	含量 Content
玉米青贮 Corn silage	35.00	有机物 OM (%)	91.92
苜蓿干草 Alfalfa hay	7.00	粗蛋白质 CP (%)	13.41
麦秸 Wheat straw	8.00	粗脂肪 EE (%)	1.42
玉米 Corn	31.00	中性洗涤纤维 NDF (%)	42.41
麸皮 Wheat bran	4.70	酸性洗涤纤维 ADF (%)	26.31
豆粕 Soybean meal	5.00	钙 Ca (%)	0.81
菜籽粕 Rapeseed meal	2.50	磷 P (%)	0.42
棉籽粕 Cottonseed meal	5.00	增重净能 $\text{NE}_g (\text{MJ} \cdot \text{kg}^{-1})$	6.18
碳酸钙 CaCO_3	0.50		
食盐 NaCl	0.50		
磷酸氢钙 CaHPO_4	0.30		
预混料 ¹⁾ Premix	0.50		
合计 Total	100.00		

OM: Organic matter; CP: Crude protein; EE: Ether extract; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; NE_g : Net energy for weight gain; ¹⁾每kg预混料包含 One kg premix contained the following: Fe 20000 mg, Cu 1600 mg, Mn 8000 mg, Zn 7500 mg, I 120 mg, Se 60 mg, Co 20 mg, VA 820000 IU, VD 300000 IU 和 VE 10000 IU; ²⁾营养水平为实测值,增重净能为计算值 Nutrient levels were measured values, and net energy for weight gain was a calculated value.

3800 r·min⁻¹离心 15 min 后制备血清, -20 ℃保存。依据上海酶联试剂盒说明书, 用酶标仪(DR200-Bn, 中国山东)测定血清中葡萄糖、总蛋白、白蛋白、尿素氮、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、CAL、1, 25-二羟基维生素 D₃、钙、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和 IGF-1, 用双光束紫外可见分光光度计(TU-1901, 中国青岛)测定血清中磷和总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)。

1.2.5 肌肉样品的采集与测定 正式试验期第 60 天, 每组随机选择 5 头公牛, 用皮肤取样器(15110-10, 中国上海)采样牛第 13 肋骨上方肌肉样品 0.5~1.0 g, 用无菌滤纸吸净表面的水分和血液, 放入液氮保存^[14]。以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参基因, 采用实时荧光定量 PCR 技术测定肌肉组织中 IGF-1、胰岛素样生长因子-1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R)、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、mTOR 和核糖体蛋白 S6 激酶(ribosomal protein S6 kinase, P70S6K)mRNA 的相对表达量^[15]。

1.3 数据统计分析

采用 SAS 9.0 软件中混合模型对 CAL 添加水平(0、0.5 和 1.0 mg·d⁻¹)和 CCAL 添加水平(0、0.5 和 1.0 mg·d⁻¹)进行线性和二次曲线显著性分析, 同时对 CAL 和 CCAL 之间的显著性进行分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 CAL 和 CCAL 对公牛生长性能的影响

随 CAL 或 CCAL 添加水平的增加, 公牛试验 1~30 d、30~60 d 和 1~60 d DMI, 试验第 1 天体重无显著变化($P > 0.05$, 表 2); 试验第 30 和 60 天体重, 1~30 d、30~60 d 和 1~60 d ADG 线性提高($P < 0.05$), 1~30 d、30~60 d 和 1~60 d 料重比线性降低($P < 0.05$)。CCAL 组公牛试验第 30 和 60 天体重, 1~30 d ADG 和料重比与 CAL 组无显著差异($P > 0.05$); 试验 30~60 d 和 1~60 d ADG 显著高于 CAL 组($P < 0.05$), 料重比显著低于 CAL 组($P < 0.05$)。

表 2 25-羟基维生素 D₃和包被 25-羟基维生素 D₃对公牛生长性能的影响

Table 2 Effects of calcidiol (CAL) and coated calcidiol (CCAL) on growth performance in bulls

项目 Item	天数 Days (d)	组别 Group					标准误 SEM	P 值 P-value				
		CK	LCAL	HCAL	LCCAL	HCCAL		CAL vs CCAL	CAL		CCAL	
									线性 Linear	二次 Quadratic	线性 Linear	二次 Quadratic
干物质采 食量 DMI (kg·d ⁻¹)	1~30	5.60	5.64	5.69	5.78	5.86	0.113	0.277	0.246	0.253	0.286	0.716
	30~60	6.36	6.43	6.52	6.59	6.34	0.098	0.334	0.297	0.278	0.686	0.587
	1~60	5.98	6.04	6.10	6.18	6.10	0.104	0.261	0.237	0.217	0.305	0.223
体重 BW (kg)	1	189.42	190.63	191.64	194.54	188.83	3.374	0.862	0.764	0.637	0.268	0.312
	30	225.67	227.24	230.01	233.45	228.13	4.016	0.542	0.033	0.231	0.027	0.108
	60	263.78	265.92	271.43	274.15	268.21	3.148	0.267	0.023	0.199	0.018	0.301
平均日增 重 ADG (kg·d ⁻¹)	1~30	1.21	1.22	1.28	1.30	1.31	0.021	0.105	0.011	0.238	0.013	0.221
	30~60	1.27	1.29	1.38	1.40	1.36	0.023	0.039	0.033	0.207	0.015	0.216
	1~60	1.24	1.26	1.33	1.35	1.34	0.017	0.044	0.020	0.249	0.017	0.194
料重比 DMI/ ADG	1~30	4.63	4.62	4.45	4.44	4.47	0.108	0.107	0.034	0.122	0.011	0.217
	30~60	5.01	4.97	4.72	4.71	4.66	0.106	0.046	0.023	0.371	0.009	0.222
	1~60	4.83	4.80	4.59	4.58	4.57	0.087	0.038	0.021	0.175	0.014	0.261

DMI: Dry matter intake; BW: Body weight; ADG: Average daily gain; CK: 对照组 Control group; LCAL: 添加 CAL 0.5 mg·d⁻¹ Addition with CAL 0.5 mg·d⁻¹; HCAL: 添加 CAL 1.0 mg·d⁻¹ Addition with CAL 1.0 mg·d⁻¹; LCCAL: 添加 CCAL 0.5 mg·d⁻¹ Addition with CCAL 0.5 mg·d⁻¹; HCCAL: 添加 CCAL 1.0 mg·d⁻¹ Addition with CCAL 1.0 mg·d⁻¹; CAL vs CCAL: CAL 组与 CCAL 组相比 Contrast between the addition of CAL and CCAL; SEM: Standard error of the mean; 下同 The same below.

2.2 CAL和CCAL对公牛养分表观消化率的影响

随CAL或CCAL添加水平的增加,公牛DM、OM和NDF表观消化率线性提高($P<0.05$,表3),CP、EE和ADF表观消化率无显著变化($P>0.05$)。CCAL组公牛各养分表观消化率与CAL组无显著差异($P>0.05$)。

表3 25-羟基维生素D₃和包被25-羟基维生素D₃对公牛养分表观消化率的影响

Table 3 Effects of calcidiol (CAL) and coated calcidiol (CCAL) on nutrient apparent digestibility in bulls

项目 Item	养分表观消化率					标准误 SEM	P值 P-value				
	Nutrient apparent digestibility (%)						CAL vs CCAL	CAL		CCAL	
	CK	LCAL	HCAL	LCCAL	HCCAL			线性 Linear	二次 Quadratic	线性 Linear	二次 Quadratic
干物质 Dry matter	71.32	72.45	74.13	73.67	74.56	1.065	0.217	0.027	0.871	0.016	0.538
有机物 Organic matter	73.01	74.78	75.89	75.21	76.04	0.912	0.116	0.020	0.834	0.023	0.488
粗蛋白质 Crude protein	77.78	78.22	77.20	77.89	78.56	1.113	0.215	0.239	0.795	0.554	0.672
粗脂肪 Ether extract	86.67	85.94	87.13	88.44	86.50	1.574	0.108	0.586	0.558	0.408	0.513
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	54.42	57.31	57.45	56.82	58.14	1.339	0.372	0.035	0.673	0.037	0.814
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber	41.43	41.56	40.13	40.94	42.32	1.408	0.346	0.174	0.782	0.632	0.493

2.3 CAL和CCAL对公牛瘤胃发酵的影响

随CAL或CCAL添加水平的增加,公牛瘤胃液pH、乙酸、丙酸、丁酸和戊酸摩尔比、氨态氮和MCP含量无显著变化($P>0.05$,表4),总挥发性脂肪酸(total volatile fatty acids, TVFA)含量、异丁酸和异戊酸摩尔比线性提高($P<0.05$),乙酸/丙酸线性降低($P<0.05$)。CCAL组公牛瘤胃发酵各指标与CAL组无显著差异($P>0.05$)。

2.4 CAL和CCAL对公牛血液指标的影响

随CAL或CCAL添加水平的增加,公牛血液葡萄糖、尿素氮、钙、磷含量和ALP活性无显著变化($P>0.05$,表5),总蛋白、白蛋白、IGF-1、T-AOC、GSH-Px、CAL和1,25-二羟基维生素D₃含量线性提高($P<0.05$),MDA

表4 25-羟基维生素D₃和包被25-羟基维生素D₃对公牛瘤胃发酵的影响

Table 4 Effects of calcidiol (CAL) and coated calcidiol (CCAL) on rumen fermentation in bulls

项目 Item	组别 Group					标准 误 SEM	P值 P-value				
	CK	LCAL	HCAL	LCCAL	HCCAL		CAL vs CCAL	CAL		CCAL	
								线性 Linear	二次 Qua- dratic	线性 Linear	二次 Qua- dratic
pH	6.39	6.32	6.35	6.38	6.37	0.026	0.305	0.366	0.205	0.217	0.432
总挥发性脂肪酸 TVFA (mmol·L ⁻¹)	98.32	101.30	108.21	110.14	107.32	3.561	0.103	0.026	0.267	0.014	0.305
乙酸 Acetate (%)	65.56	64.21	64.44	64.62	65.53	0.818	0.167	0.491	0.687	0.396	0.318
丙酸 Propionate (%)	20.72	21.54	21.11	22.20	21.42	0.561	0.222	0.192	0.269	0.157	0.126
丁酸 Butyrate (%)	10.13	10.21	10.78	10.24	9.98	0.062	0.304	0.267	0.226	0.454	0.329
戊酸 Valerate (%)	1.14	1.12	1.08	1.04	1.03	0.048	0.268	0.495	0.610	0.461	0.497
异丁酸 Isobutyrate (%)	1.06	1.21	1.15	1.16	1.20	0.053	0.527	0.024	0.626	0.029	0.166
异戊酸 Isovalerate (%)	1.49	1.88	1.81	1.77	1.84	0.046	0.108	0.042	0.283	0.037	0.493
乙酸/丙酸 Acetate/Propionate	3.16	2.98	3.05	2.91	3.06	0.055	0.332	0.028	0.561	0.022	0.398
氨态氮 NH ₃ -N (mg·dL ⁻¹)	12.93	11.78	11.32	11.90	12.31	1.022	0.234	0.272	0.347	0.206	0.108
微生物蛋白质 MCP (mg·mL ⁻¹)	0.87	0.83	0.86	0.84	0.81	0.031	0.372	0.124	0.257	0.365	0.201

TVFA: Total volatile fatty acids; MCP: Microbial protein.

含量线性降低($P<0.05$)。CCAL 组公牛血液总蛋白、白蛋白、IGF-1 和 MDA 含量与 CAL 组无显著差异($P>0.05$), T-AOC、GSH-Px、CAL 和 1,25-二羟基维生素 D₃ 含量显著高于 CAL 组($P<0.05$)。

表 5 25-羟基维生素 D₃和包被 25-羟基维生素 D₃对公牛血液指标的影响

Table 5 Effects of calcidiol (CAL) and coated calcidiol (CCAL) on blood indicators in bulls

项目 Item	组别 Group					标准误 SEM	P 值 P-value				
	CK	LCAL	HCAL	LCCAL	HCCAL		CAL vs CCAL	CAL		CCAL	
								线性 Linear	二次 Quadratic	线性 Linear	二次 Quadratic
葡萄糖 Glucose (mmol·L ⁻¹)	4.97	4.90	4.90	4.89	5.01	0.198	0.254	0.452	0.296	0.430	0.479
总蛋白 Total protein (g·L ⁻¹)	68.67	70.00	72.62	73.54	72.31	1.382	0.096	0.037	0.482	0.022	0.376
白蛋白 Albumin (g·L ⁻¹)	34.73	35.11	37.03	36.62	37.52	1.057	0.237	0.036	0.639	0.024	0.241
尿素氮 Urea nitrogen (mmol·L ⁻¹)	4.54	4.25	4.50	4.39	4.28	0.281	0.316	0.364	0.291	0.378	0.462
胰岛素样生长因子 1 IGF-1 (ng·mL ⁻¹)	85.42	93.44	114.53	122.01	99.03	6.791	0.205	0.036	0.280	0.037	0.098
总抗氧化能力 T-AOC (U·mL ⁻¹)	12.31	15.20	18.10	20.32	18.89	1.059	0.026	0.012	0.394	0.007	0.235
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px (U·mL ⁻¹)	73.43	91.64	97.42	114.33	110.74	3.250	0.013	0.036	0.268	0.016	0.319
丙二醛 MDA (nmol·L ⁻¹)	4.09	3.22	3.17	2.94	3.13	0.113	0.401	0.045	0.591	0.039	0.243
CAL (ng·mL ⁻¹)	45.82	55.91	105.31	185.45	194.72	15.217	0.002	0.013	0.490	0.008	0.346
CCAL (pg·mL ⁻¹)	94.32	104.78	103.91	136.74	141.67	14.092	0.003	0.012	0.300	0.006	0.278
钙 Ca (mmol·L ⁻¹)	2.55	2.58	2.54	2.54	2.52	0.049	0.407	0.232	0.396	0.645	0.358
磷 P (mmol·L ⁻¹)	1.17	1.16	1.35	1.36	1.25	0.119	0.325	0.237	0.424	0.308	0.586
碱性磷酸酶 ALP (U·L ⁻¹)	111.63	113.12	107.24	109.21	108.34	12.463	0.216	0.184	0.311	0.271	0.174

IGF-1: Insulin-like growth factor 1; T-AOC: Total antioxidant capacity; GSH-Px: Glutathion peroxidase; MDA: Malonaldehyde; ALP: Alkaline phosphatase; 下同 The same below.

2.5 CAL 和 CCAL 对公牛肌肉蛋白质合成基因表达的影响

随 CAL 或 CCAL 添加水平的增加,公牛肌肉 IGF-1、IGF-1R、PI3K、mTOR 和 P70S6K mRNA 相对表达量线性增加($P<0.05$, 表 6)。CCAL 组公牛肌肉 IGF-1、IGF-1R、PI3K、mTOR 和 P70S6K mRNA 相对表达量显著高于 CAL 组($P<0.05$)。

表 6 25-羟基维生素 D₃和包被 25-羟基维生素 D₃对公牛肌肉蛋白质合成基因表达的影响

Table 6 Effects of calcidiol (CAL) and coated calcidiol (CCAL) on expression of genes related to protein synthesis in bulls

项目 Item	组别 Group					标准 误 SEM	P 值 P-value				
	CK	LCAL	HCAL	LCCAL	HCCAL		CAL vs CCAL	CAL		CCAL	
								线性 Linear	二次 Qua- dratic	线性 Linear	二次 Qua- dratic
胰岛素样生长因子 1 <i>IGF-1</i>	1.04	1.13	1.38	1.60	1.49	0.083	0.019	0.043	0.441	0.005	0.312
胰岛素样生长因子 1 受体 <i>IGF-1R</i>	1.04	1.11	1.70	1.86	1.78	0.062	0.011	0.027	0.362	0.013	0.370
磷脂酰肌醇 3-激酶 <i>PI3K</i>	1.04	1.23	1.28	1.44	1.36	0.042	0.025	0.015	0.257	0.013	0.254
哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 <i>mTOR</i>	1.01	1.14	1.39	1.55	1.47	0.074	0.016	0.018	0.112	0.006	0.388
核糖体蛋白 S6 激酶 <i>P70S6K</i>	1.03	1.12	1.63	1.84	1.73	0.081	0.032	0.021	0.386	0.011	0.346

IGF-1R: Insulin-like growth factor 1 receptor; PI3K: Phosphatidylinositol 3-kinase; mTOR: Mammalian target of rapamycin protein; P70S6K: Ribosomal protein S6 kinase.

3 讨论

3.1 CAL和CCAL对公牛生长性能的影响

本试验中,补充CAL或CCAL对公牛DMI无显著影响,与Martins等^[5]的育肥牛试验结果一致。CAL对牛采食量的调控与动物的维生素D或磷状态有关^[16]。维生素D或磷缺乏状态下,即血液中CAL含量低于 $30\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 或磷含量低于 $0.65\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,补充CAL能显著提高肉牛采食量^[4,16]。本试验中,对照组公牛血液中CAL和磷含量分别为 $45.82\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.17\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,表明基础日粮中维生素D和磷的含量能满足公牛的需要。

本试验中,补充CAL或CCAL显著提高了公牛ADG并降低了料重比,与DM表观消化率、血液抗氧化酶活性以及肌肉 $IGF-1/PI3K/mTOR$ 通路关键基因相对表达量显著提高的结果一致。研究发现,肉牛ADG和饲料效率与养分消化率和牛的抗氧化状态呈正相关^[11,17]。提高饲料养分消化和改善牛的抗氧化状态能使更多的营养物质被分配到体组织中用于动物生长^[11,17]。 $IGF-1/PI3K/mTOR$ 通路基因表达上调,表明肌肉组织蛋白质合成被促进^[18]。类似的研究也发现,补充CAL 0.15 或 $0.30\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 显著提高了断奶前犊牛ADG^[3]。补充CAL $1.0\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 显著提高了生长期公牛ADG^[4]。然而,Martins等^[5]的试验发现,补充CAL 1 或 $3\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 对育肥肉牛ADG和饲料效率无显著影响。可见,CAL对牛生长性能的调控与其添加水平和牛的生长阶段有关。

3.2 CAL和CCAL对公牛养分表观消化率的影响

本试验中,补充CAL或CCAL显著提高了公牛全消化道DM、OM和NDF表观消化率,归因于瘤胃和肠道养分消化的改善;CAL或CCAL组公牛瘤胃TVFA含量显著提高,表明养分在瘤胃中的降解增加。其中,NDF表观消化率的提高与瘤胃乙酸含量显著提高的结果一致,后者表明纤维物质在瘤胃中的降解增加了。本试验中,对照组、LCAL、HCAL、LCCAL和HCCAL组瘤胃乙酸含量分别为 65.56% 、 64.21% 、 64.44% 、 64.62% 和 65.53% 。据报道,CAL与消化道上皮细胞中的VDR结合后能激活维生素D信号通路,促进消化道上皮细胞生长,改善消化道屏障功能、免疫和抗氧化状态,提高消化酶活性^[6,19]。维生素D信号通路还能通过上调消化道上皮紧密连接蛋白的产生,改善消化道的结构与功能,提高养分消化吸收的速度^[1]。其他研究同样发现,体外黄牛瘤胃发酵液中添加维生素D₃显著提高了OM的降解率^[8]。断奶前犊牛补充CAL显著提高了DM和NDF全消化道表观消化率^[3]。

3.3 CAL和CCAL对公牛瘤胃发酵的影响

本试验中,各组公牛瘤胃液pH均大于 6.30 ,适宜微生物生长和对养分的降解^[20]。研究发现,瘤胃pH与VFA含量呈负相关^[20]。然而,本试验中,补充CAL或CCAL对公牛瘤胃液pH无显著影响,与TVFA浓度显著提高的结果不一致。黄牛体外瘤胃发酵试验同样发现,添加维生素D₃对瘤胃液pH无显著影响^[8]。

本试验中,补充CAL或CCAL显著提高了公牛瘤胃TVFA含量、异丁酸和异戊酸摩尔比,显著降低了乙酸/丙酸。具体而言,异丁酸和异戊酸摩尔比提高,表明补充CAL或CCAL增加了支链氨基酸在瘤胃的降解,促进了纤维分解菌的生长,表现为瘤胃乙酸产量和NDF表观消化率提高。异丁酸和异戊酸是缬氨酸和亮氨酸在瘤胃中的降解产物,可作为生长因子促进纤维分解菌生长和对纤维的降解^[21]。乙酸/丙酸显著降低的结果表明,补充CAL或CCAL使公牛瘤胃发酵类型趋向于产生更多的丙酸。据报道,CAL与VDR结合后,通过激活维生素D信号通路,能提高消化道细胞免疫和抗氧化能力^[1]。瘤胃上皮细胞通过分泌免疫和抗氧化因子调控瘤胃菌群组成和发酵过程^[22]。因此,本试验中,CAL对公牛瘤胃发酵的调控与其改善消化道免疫和抗氧化状态的营养生理功能有关^[7,23]。已有报道,补充维生素D₃改变了犊牛唾液和粪中菌群组成^[23],提高了体外瘤胃发酵48 h的累积产气量和异戊酸摩尔比^[8],增加了人肠道菌群丰度,提高了淀粉类降解菌(拟杆菌门)与纤维类降解菌(厚壁菌门)的比例^[7]。补充CAL显著提高了犊牛粪中有益菌群(毛螺菌科和普雷沃氏菌科)的相对丰度^[3]。目前,CAL对牛瘤胃发酵和菌群的调控特点及机制还需要进一步研究。

3.4 CAL和CCAL对公牛血液指标的影响

本试验中,补充CAL或CCAL对公牛血液葡萄糖含量无显著影响,与瘤胃丙酸摩尔比无显著变化的结果一

致。公牛血液中的葡萄糖主要来源于肝脏糖异生,丙酸是糖异生的主要前体^[11]。其他研究同样发现,补充 CAL 对断奶前犊牛血液葡萄糖含量无显著影响^[3,24]。血液总蛋白、白蛋白和 IGF-1 主要在肝脏中合成,可作为反映公牛日粮蛋白质利用率和组织蛋白质合成状况的指标,而且肝脏免疫和抗氧化状态改善时,血液白蛋白水平提高^[25]。本试验中,补充 CAL 或 CCAL 对瘤胃氨态氮和 MCP 含量、CP 表观消化率和血液尿素氮含量均无显著影响。因此,CAL 或 CCAL 组公牛血液总蛋白、白蛋白和 IGF-1 含量显著提高的结果表明,公牛肝脏组织蛋白合成和免疫状态改善,与 CAL 或 CCAL 组公牛肌肉 *IGF-1/PI3K/mTOR* 通路关键基因相对表达量显著提高的结果一致。

本试验中,CAL 或 CCAL 补充组公牛血液 T-AOC 和 GSH-Px 活性显著提高,MDA 含量显著降低。这一结果验证了 CAL 抗氧化的营养生理功能。据报道,动物几乎所有的组织与细胞都含有 VDR,并且能将 CAL 转化为 1,25-二羟基维生素 D₃^[26]。1,25-二羟基维生素 D₃ 或 CAL 与 VDR 结合后,激活维生素 D 信号通路,通过诱导单核细胞和巨噬细胞产生抗菌肽,降低细胞内离子浓度,增加细胞自噬,或通过上调谷胱甘肽还原酶等细胞氧化酶的活性,减少氧自由基的形成,提高细胞免疫力和抗氧化能力^[1,26]。

血液 CAL 含量是衡量公牛维生素 D 状态的指标,低于 30 ng·mL⁻¹,表示维生素 D 缺乏,高于 200 ng·mL⁻¹ 时,表示维生素 D 中毒,表现出高血钙症(血钙含量超过 2.70 mmol·L⁻¹)^[11,27]。本试验中,对照组、LCAL、HCAL、LCCAL 和 HCCAL 组公牛血液中 CAL 含量分别为 45.82、55.91、105.31、185.45 和 194.72 ng·mL⁻¹,而且各组公牛血液 ALP 活性、钙和磷含量无显著差异。本试验结果表明,补充 CAL 或 CCAL 改善了公牛的维生素 D 状态,而且对钙磷平衡无显著影响,与 Blakely 等^[24]的犊牛试验结果一致。然而,王丽华等^[3]的试验发现,犊牛补充 CAL 显著提高了血液中 CAL、钙和磷含量。动物体钙磷平衡受甲状旁腺素、降钙素和 ALP 等的严格调控^[16]。因此,试验动物的钙磷和维生素 D 状态是影响试验结果的关键因素。

本试验中,CAL 或 CCAL 组公牛血液 1,25-二羟基维生素 D₃ 含量显著提高,与血液钙、磷和 ALP 无显著变化的结果不一致,可归因于细胞对 1,25-二羟基维生素 D₃ 利用的减少。肾脏中 1,25-二羟基维生素 D₃ 的合成受血液中钙含量的严格调控^[16]。CAL 与 VDR 的结合对 1,25-二羟基维生素 D₃ 的利用产生了竞争性抑制^[16,28]。Blakely 等^[24]也发现,补充 CAL 对犊牛血液钙和磷含量无显著影响,但是显著提高了血液 1,25-二羟基维生素 D₃ 含量。

3.5 CAL 和 CCAL 对公牛肌肉蛋白质合成基因表达的影响

IGF-1 与 *IGF-1R* 结合后激活 *PI3K*,调控下游基因 *mTOR* 和 *P70S6K* 的表达,促进肌肉蛋白质合成^[18]。本试验中,补充 CAL 或 CCAL 显著提高了公牛肌肉组织中 *IGF-1*、*IGF-1R*、*PI3K*、*mTOR* 和 *P70S6K* mRNA 的相对表达量,与 Martins 等^[5]的育肥肉牛试验结果一致。结合本试验中 CAL 或 CCAL 组公牛血液 *IGF-1* 含量显著提高的结果可以推断,*IGF-1* 可能是 CAL 调控肌肉蛋白质合成的关键基因。对单胃动物和模型动物(鼠)的研究同样得出了类似的结论^[29],但是肌肉组织中 CAL、VDR 和 *IGF-1* 之间的互作调控机制还未建立。

3.6 CAL 和 CCAL 补充效果比较

比较 CAL 不同添加形式(不包被和包被)对公牛生长性能的影响,本试验发现,CCAL 组公牛试验全期 ADG 和料重比显著优于 CAL 组,与其养分表观消化率、瘤胃 TVFA 含量与 CAL 组无显著差异的结果不一致,与其血液 T-AOC、GSH-Px、CAL 和 1,25-二羟基维生素 D₃ 含量以及肌肉组织 *IGF-1/PI3K/mTOR* 通路基因 mRNA 相对表达量显著高于 CAL 组的结果一致。本试验结果表明,与直接补充 CAL 相比,以 CCAL 的形式补充 CAL 对公牛养分消化和瘤胃发酵无显著影响,但是对改善公牛生长性能、饲料效率、抗氧化能力和 CAL 状态更有效。

4 结论

生长期荷斯坦公牛补充 CAL 或 CCAL 能显著提高 ADG 和降低料重比;CAL 或 CCAL 有提高公牛养分消化率、瘤胃 TVFA 含量、抗氧化状态和肌肉蛋白质合成关键基因表达的作用;相同水平条件下,补充 CCAL 对提高公牛生产性能比 CAL 更有效。

参考文献 References:

- [1] Eder K, Grundmann S M. Vitamin D in dairy cows: Metabolism, status and functions in the immune system. *Archives of Animal Nutrition*, 2022, 76(1): 1—33.
- [2] Tangestani H, Boroujeni H K, Djafarian K, *et al.* Vitamin D and the gut microbiota: A narrative literature review. *Clinical Nutrition Research*, 2021, 10(3): 181—191.
- [3] Wang L H, Xu H J, Zhang Q Y, *et al.* Effects of different doses of 25-hydroxyvitamin D₃ on growth performance, nutrient apparent digestibility, plasma metabolites and fecal flora of pre-weaning calves. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(1): 404—412.
王丽华, 徐宏建, 张全宇, 等. 不同剂量 25 羟基维生素 D₃ 对断奶前犊牛生长性能、营养物质表观消化率、血浆代谢物及粪便菌群的影响. *动物营养学报*, 2022, 34(1): 404—412.
- [4] Mudado F S, Silveira M B, Fernandes H J, *et al.* Supplementation with 25-hydroxicolecalciferol increases the nutritional efficiency and carcass growth of grazing Nellore young bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 2024, 318: 116138.
- [5] Martins T E, Gouvêa V N, Perdigão A, *et al.* Effects of supplemental 25-hydroxyvitamin D₃ on growth performance, physiological responses, and gene expression of skeletal muscle growth of finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*, 2025, 103: skaf090.
- [6] Zhou X Y, Zou Y W, Xu Y H, *et al.* Dietary supplementation of 25-hydroxyvitamin D₃ improves growth performance, antioxidant capacity and immune function in weaned piglets. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1750.
- [7] Singh P, Rawat A, Alwakeel M, *et al.* The potential role of vitamin D supplementation as a gut microbiota modifier in healthy individuals. *Scientific Reports*, 2020, 10: 21641.
- [8] Hao B B. Effects of vitamin D₃ supplementation on rumen fermentation, blood parameters and meat quality of Yanbian yellow cattle. Yanji: Yanbian University, 2024.
郝贝贝. 补饲维生素 D₃ 对延边黄牛瘤胃发酵、血液指标及肉品质的影响. 延吉: 延边大学, 2024.
- [9] Hymøller L, Jensen S K. Stability in the rumen and effect on plasma status of single oral doses of vitamin D and vitamin E in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93(12): 5748—5757.
- [10] Horst R L, Reinhardt T A. Vitamin D metabolism in ruminants and its relevance to the periparturient cow. *Journal of Dairy Science*, 1983, 66(4): 661—678.
- [11] Meng Q X, Zhou Z M, Wu H. Nutrient requirements of beef cattle. Beijing: Science Press, 2018.
孟庆翔, 周振明, 吴浩. 肉牛营养需要. 北京: 科学出版社, 2018.
- [12] Horwitz W, Jr Latimer G W. Official methods of analysis (the 18th edition). Gaithersburg: AOAC International, 2006.
- [13] Makkar H P S, Sharma O P, Dawra R K, *et al.* Simple determination of microbial protein in rumen liquor. *Journal of Dairy Science*, 1982, 65(11): 2170—2173.
- [14] Wang J Q. Research methods in ruminant nutrition. Beijing: Modern Education Press, 2011.
王加启. 反刍动物营养学研究方法. 北京: 现代教育出版社, 2011.
- [15] Liu Y J, Chen J Z, Wang D H, *et al.* Effects of guanidinoacetic acid and coated folic acid supplementation on growth performance, nutrient digestion and hepatic gene expression in Angus bulls. *British Journal of Nutrition*, 2021, 126(4): 510—517.
- [16] Mcgrath J J, Savage D B, Godwin I R. The potential for pharmacological supply of 25-hydroxyvitamin D to increase phosphorus utilization in cattle. *Animal Production Science*, 2013, 53: 1238—1245.
- [17] Russell J R, Sexten W J, Kerley M S, *et al.* Relationship between antioxidant capacity, oxidative stress, and feed efficiency in beef steers. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(7): 2942—2953.
- [18] Yoon M S. mTOR as a key regulator in maintaining skeletal muscle mass. *Frontiers in Physiology*, 2017, 8: 788.
- [19] Huang Z X, Fu Z M, Wang J, *et al.* Effects of dietary supplementation levels of vitamin A and vitamin D₃ on growth performance, jejunal function, and tibia development in goslings from 1 to 28 days of age. *Poultry Science*, 2025, 104: 104780.
- [20] Dijkstra J, Ellis J L, Kebreab E, *et al.* Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 172(1): 22—33.
- [21] Liu Q, Wang C, Pei C X, *et al.* Effects of isovalerate supplementation on microbial status and rumen enzyme profile in steers fed on corn stover based diet. *Livestock Science*, 2014, 161: 60—68.
- [22] Palma-hidalgo J M, Belanche A, Jimenez E, *et al.* Multi-omics *in vitro* study of the salivary modulation of the goat rumen microbiome. *Animal*, 2023, 17: 100895.
- [23] Vigors S, Flores-villalva S, Meade K G. The impact of vitamin D₃ supplementation on the faecal and oral microbiome of dairy

- calves indoors or at pasture. *Scientific Reports*, 2023, 13: 9111.
- [24] Blakely L P, Wells T L, Kweh M F, *et al.* Effect of vitamin D source and amount on vitamin D status and response to endotoxin challenge. *Journal of Dairy Science*, 2023, 106(2): 912—926.
- [25] Oh Y K, Kim J H, Kim K H, *et al.* Effects of level and degradability of dietary protein on ruminal fermentation and concentrations of soluble non-ammonia nitrogen in ruminal and omasal digesta of Hanwoo steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2008, 21(3): 392—403.
- [26] Martens P J, Gysemans C, Verstuyf A, *et al.* Vitamin D's effect on immune function. *Nutrients*, 2020, 12: 1248.
- [27] Mcgrath J J, Savage D B, Nolan J V, *et al.* Phosphorus and calcium retention in steers fed a roughage diet is influenced by dietary 25OH vitamin D. *Animal Production Science*, 2012, 52(7): 636—640.
- [28] Rowling M J, Gliniak C, Welsh J, *et al.* High dietary vitamin D prevents hypocalcemia and osteomalacia in CYP27B1 knockout mice. *The Journal of Nutrition*, 2007, 137(12): 2608—2615.
- [29] Montenegro K R, Cruzat V, Carlessi R, *et al.* Mechanisms of vitamin D action in skeletal muscle. *Nutrition Research Reviews*, 2019, 32: 192—204.