



华中农业大学

HUAZHONG AGRICULTURAL UNIVERSITY

硕士学位论文

MASTER'S DEGREE DISSERTATION

妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能的作用效果研究

EFFECT OF DIETARY GARCINOL SUPPLEMENTATION
ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN SOWS DURING
LATE GESTATION

研究生: 夏军

CANDIDATE: XIA JUN

学 号:
2018302110076

STUDENT NO.:

专 业: 动物营养与饲料科学

MAJOR: ANIMAL NUTRITION AND FEED
SCIENCE

导 师: 黄飞若 教授

SUPERVISOR: PROFESSOR HUANG FEIRUO

中国 武汉

WUHAN, CHINA

二〇二一年六月

JUNE, 2021

华中农业大学硕士学位论文

妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能的作用效果研究

Effect Of Garcinol Supplementation On Reproductive Performance In Sows During Late Gestation

研 究 生：夏 军

学 号：2018302110076

指 导 教 师：黄飞若 教授

指 导 小 组 黄飞若 教授

孙铝辉 教授

张妮娅 副教授

齐智利 副教授

许庆彪 副研究员

专业：动物营养与饲料科学

研究方向：猪的营养

获得学位名称：农学硕士

获得学位时间：2021 年 6 月

华中农业大学动物科技学院动物医学院

二〇二一年六月

目 录

摘 要	i
Abstract.....	iii
缩略语表	v
第一章 文献综述	1
1 前言	1
2 母猪妊娠后期生理特点	2
3 母猪妊娠后期糖脂代谢与繁殖性能	4
3.1 妊娠后期母猪脐带血酸碱平衡与繁殖性能	4
3.1.1 酸碱平衡的定义	5
3.1.2 妊娠后期母猪脐带血酸碱平衡与乳酸代谢	5
3.1.3 乳酸代谢与母猪繁殖性能	6
3.2 妊娠后期母猪胆汁酸代谢与繁殖性能	7
3.2.1 妊娠后期母猪胆汁酸代谢特点与产仔性能	7
3.2.2 妊娠后期母体胆汁酸代谢与 Nrf2 信号通路.....	8
3.2.3 Nrf2 信号通路与氧化应激.....	8
4 抗氧化剂-山竹醇的研究进展	10
4.1 山竹醇的生理功能	10
4.2 山竹醇的应用	11
5 研究目的与意义	12
第二章 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能的影响	13
1 前言	13
2 材料与方法	13
2.1 试验设计与试验动物	13
2.2 试验材料	13
2.3 试验日粮与饲养管理	13
2.4 样品采集与指标测定	15
2.4.1 母猪繁殖性能	15
2.4.2 母猪血液生化指标及血浆抗氧化功能检测	15

2.4.3 初乳乳组成及新生仔猪血浆 IgA 和 IgG 抗体含量检测	15
2.4.4 脐带动静脉血酸碱指标、乳酸浓度及血清总胆汁酸水平	16
2.5 数据处理与统计分析	16
3 结果与分析	16
3.1 山竹醇对母猪繁殖性能的影响	16
3.2 山竹醇对母猪血液参数的影响	17
3.3 山竹醇对母猪血液抗氧化功能的影响	18
3.4 山竹醇对母猪初乳组成及含量的影响	18
3.5 山竹醇对新生仔猪血浆 IgA、IgG 抗体含量的影响	19
3.6 山竹醇对母猪脐带血酸碱平衡的影响	20
3.7 山竹醇对母猪脐带血乳酸浓度的影响	21
3.8 山竹醇对母猪脐带血血清总胆汁酸水平的影响	21
4 讨论	22
4.1 山竹醇对母猪繁殖性能的影响	22
4.2 山竹醇对母猪血液参数及血浆抗氧化功能的影响	23
4.3 山竹醇对初乳组成及新生仔猪血浆 IgA 和 IgG 抗体含量的影响	23
4.4 山竹醇对母猪脐带血酸碱平衡及乳酸浓度的影响	24
4.5 山竹醇对脐带血血清总胆汁酸水平的影响	25
5 小结	25
第三章 山竹醇影响妊娠后期母体胆汁酸代谢的分子机制	26
1 前言	26
2 材料与方法	26
2.1 试验设计与试验动物	26
2.2 试验材料	26
2.3 试验日粮与饲养管理	27
2.4 样品采集与指标测定	28
2.4.1 母鼠血清总胆汁酸水平	28
2.4.2 母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达测定	28
2.4.3 肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达量检测	30
2.5 数据处理与统计分析	31

3 结果与分析	32
3.1 山竹醇对妊娠母鼠血清总胆汁酸水平的影响	32
3.2 山竹醇对妊娠母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达的影响	33
3.3 山竹醇对肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达的影响	33
4 讨论	34
4.1 山竹醇对妊娠母鼠血清总胆汁酸水平的影响	34
4.2 山竹醇对母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达的影响	34
4.3 山竹醇对母鼠肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达的影响	35
5 小结	35
本研究小结、创新点和不足	36
1 小结	36
2 创新点	36
3 不足与展望	36
参考文献	37
附录 研究生在读期间发表的主要论文	49
致 谢	50

摘 要

本课题旨在研究妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能的作用效果，并初步探索山竹醇对母体胆汁酸代谢的作用机制。本研究选取体重、背膘厚、胎次相近的杜×长×大初产母猪 60 头，随机分为对照组和低、高剂量梯度山竹醇组（200、600 mg/kg），每组 20 个重复，每个重复 1 头。试验时间从妊娠期 90 d 至分娩，记录并量化母猪繁殖性能。于妊娠 90、110 d 和分娩后，分别采集母猪血样和脐带血，测定母猪血液生化参数及抗氧化功能、脐带血样酸碱指标、乳酸浓度、总胆汁酸水平。主要探究妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能、母猪脐带血酸碱平衡及胆汁酸代谢的影响，并通过妊娠后期母鼠模型初步探究山竹醇对母体胆汁酸代谢的影响机制。主要内容及结果如下：

（1）母猪繁殖性能结果表明：在妊娠 90~110 d，母猪体重、背膘厚、平均日采食量（ADFI）在对照组与山竹醇组间没有差异（ $P>0.05$ ）；对照组和低剂量山竹醇组两组间的出生窝重无显著差异（ $P>0.05$ ），但高剂量山竹醇组显著提高了新生仔猪的出生窝重，且山竹醇组均显著提高了断奶窝重（ $P<0.05$ ）；山竹醇组和对照组对出生活产仔数量并无影响（ $P>0.05$ ），但山竹醇组显著提高了新生仔猪的存活率（ $P<0.05$ ）。

（2）母猪血液参数、血浆抗氧化指标、初乳组成及新生仔猪 IgA、IgG 抗体含量结果显示：相对于对照组，低高剂量山竹醇组能显著降低母猪血液的白细胞和中性粒细胞数（ $P<0.05$ ）；在妊娠 110 d 时，低剂量山竹醇组与对照组的母猪血浆中超氧化物歧化酶（SOD）的活性没有显著差异（ $P>0.05$ ），但高剂量山竹醇组显著提高（ $P<0.05$ ）；低高剂量山竹醇组的母猪血浆中过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）、总抗氧化能力（T-AOC）活性相对对照组显著提高（ $P<0.05$ ），母猪血浆中丙二醛（MDA）含量显著降低（ $P<0.05$ ），在初乳方面，粗蛋白，IgA、IgG 的含量也显著提高（ $P<0.05$ ），且对新生仔猪体内 IgA、IgG 抗体含量有上升的趋势（ $P>0.05$ ）。

（3）母猪脐带血酸碱平衡、乳酸浓度、脐带血总胆汁酸水平检测结果表明：与对照组相比，妊娠后期日粮添加山竹醇均显著提高了母猪脐带动静脉血中 pH、碱过量值（BE_{ecf}）、HCO₃⁻浓度（ $P<0.05$ ），显著降低了 pCO₂（ $P<0.05$ ）；日粮添加山竹醇均显著降低了母猪脐带动静脉血中的乳酸浓度（ $P<0.05$ ）；低高剂量山竹醇

组相对对照组均显著降低了母猪脐带动静脉血中的血清总胆汁酸水平 ($P<0.05$)

(4) 母鼠血总胆汁酸水平、母鼠肝脏 *Nrf2*、*Keap1*、*Mrp2*、*Mrp3*、*Ntcp*、*Bsep* 的 mRNA 表达结果表明：与对照组相比，低高剂量山竹醇组显著降低了母鼠血清总胆汁酸水平 ($P<0.05$)，且降低了肝脏基因 *Keap1* 的 mRNA 的表达量 ($P<0.05$)，增加了 *Nrf2* 及胆汁酸转运相关基因 *Bsep*、*Mrp2*、*Mrp3*、*Ntcp* 的 mRNA 表达量 ($P<0.05$)。

综上所述：妊娠后期日粮添加山竹醇一方面可能通过降低脐带血乳酸浓度，改善母猪酸碱平衡，降低乳酸对胎儿的毒害作用，另一方面可能通过激活肝脏 *Nrf2* 的信号通路，提高肝脏胆汁酸的转运能力，维持母体胆汁酸代谢稳态，降低胆汁酸对胎儿的毒害作用，从而提高仔猪存活率，增加断奶窝重，改善了母猪繁殖性能。

关键词：山竹醇；母猪；繁殖性能；酸碱平衡；胆汁酸代谢

Abstract

The purpose of this study is to study the effect of garcinol supplementation on the reproductive performance of sows during late pregnancy, and to preliminarily explore the mechanism of garcinol supplementation influencing the mechanism of bile acids metabolism in maternal body. 60 Duroc \times Large White \times Landrace primiparous sows with parallel body weight, thickness of backfat and parity were selected, and were randomly assigned into 3 groups, including control group, and low and high dosage of garcinol groups (200 mg/kg and 600 mg/kg). There are 20 replicates in each group and 1 sow in each replicate. The experiment period started from the 90th day of pregnancy until the end of delivery. Record and quantify reproductive performance of sows. Sows blood and umbilical cord blood samples were collected on days 90 and 110 of gestation and after delivery. sows blood biochemical parameters, antioxidant index and acid-base balance, lactic acid concentration and serum total bile acid levels in umbilical cord blood were measured. The main results shows as follows:

(1) The results of sows reproductive performance showed that from 90 to 110 days of gestation, sow's body weight, back fat, and average daily feed intake (ADFI) among control group and garcinol groups were not significantly different ($P>0.05$); The litter weight of newborn piglets among low dosage of garcinol group and control group was not significantly different ($P>0.05$), but high dosage of garcinol group increased significantly the litter birth weight of newborn piglets ($P<0.05$), and dietary garcinol supplementation increased significantly litter weight of weaned piglets ($P<0.05$). The live size at birth of piglets among garcinol groups and control group was not significantly different ($P>0.05$), but garcinol groups increased significantly the survival rate of newborn piglets ($P<0.05$).

(2) The results of blood parameter, antioxidant index, composition and content of colostrum in sow and the content of immunoglobulin A and G in newborn piglets showed that compared with the control group, dietary garcinol supplementation can significantly reduce the number of white blood cells and neutrophil at 110 days of pregnancy ($P<0.05$); On 110 days of gestation, activity of superoxide dismutase (SOD) among low dosage of garcinol group and control group was not significantly different ($P>0.05$), but high dosage of garcinol group significantly increased the activity of superoxide dismutase (SOD) ($P<0.05$); Compared with control groups, low and high dosage of dietary garcinol supplementation significantly increased the activity of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-px) and the total antioxidant capacity (T-AOC), and significantly

reduced the content of malondialdehyde (MDA) in the plasma of sows ($P<0.05$); Dietary garcinol supplementation significantly increased content of crude protein and IgA and IgG in colostrum ($P<0.05$) and had a rising trend on the content of immunoglobulin A and immunoglobulin G in newborn piglets ($P>0.05$).

(3) The results of acid-base balance and lactic acid concentration and serum bile acid levels in umbilical cord blood of sows showed that compared with the control group, dietary 200, 600 mg/kg garcinol supplementation in the late pregnancy significantly increased the pH and base excess value (BEecf)、 HCO_3^- concentration and significantly reduced the pCO_2 in umbilical cord blood of the sow ($P<0.05$); Dietary 200, 600 mg/kg garcinol significantly reduced the lactic acid concentration in the umbilical cord blood of sows ($P<0.05$); Compared with the control group, dietary garcinol supplementation significantly reduced serum bile acid levels in umbilical cord blood of sows ($P<0.05$).

(4) The results of serum total bile acid levels of female mice and mRNA expression of Nrf2, Keap1 and Mrp2, Mrp3, Ntcp, Bsep in liver of female mice showed that compared with the control group, the garcinol groups can significantly reduce serum bile acid levels and decreased *Keap1* mRNA expression ($P<0.05$) and increased the mRNA expression of *Nrf2*, *Ntcp*, *Bsep*, *Mrp2*, *Mrp3* in liver ($P<0.05$).

To sum up: On the one hand, dietary garcinol supplementation in the late pregnancy can improve acid-base balance in maternal body to decrease toxic effect of lactic acid on the fetus by reducing lactic acid concentration in umbilical cord blood. On the other hand, dietary garcinol supplementation in the late pregnancy can increase hepatic bile acid transport ability and keep the bile acid metabolism balance in maternal body to decrease toxic effect of bile acid on the fetus by improving Nrf2 signalling pathways, thus increasing survival rate of newborn piglets and increasing the litter weight of weaned piglets to improve reproductive performance of sows.

Key words: Garcinol; Sows; Reproductive performance; Acid-base balance; Bile acid metabolism

缩略语表

(Abbreviation)

缩写	英文名称	中文名称
Abbr.	English name	Chinese name
ADFI	Average daily feed intake	平均日采食量
Bsep	Bile salt export pump	胆盐输出泵
CP	Crude protein	粗蛋白
CF	Crude Fiber	粗纤维
CAT	Catalase	过氧化氢酶
DM	Dry matter	干物质
EE	Ether extract	粗脂肪
GSH-px	Glutathione peroxidase	谷胱甘肽过氧化物酶
IgA	Immunoglobulin A	免疫球蛋白A
IgG	Immunoglobulin G	免疫球蛋白G
Keap1	Kelch-like ECH-associated protein-1	Kelch样环氯己烷相关蛋白1
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
Mrp2	Multidrug resistance-associated protein 2	多药耐药相关蛋白2
Mrp3	Multidrug resistance-associated protein 3	多药耐药相关蛋白3
Nrf2	Nuclear factor E2-relate factor	核因子E2相关因子
Ntcp	Sodium/ taurocholate co-transporting polypeptide	钠/牛磺胆酸盐共转运多肽
ROS	Reactive oxygen species	氧自由基
SOD	Superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
SEM	Standard error of mean	平均数标准误
T-AOC	Total antioxidant capacity	总抗氧化能力
UA	Umbilical artery	脐带动脉血
UV	Umbilical vein	脐带静脉血

第一章 文献综述

1 前言

母猪繁殖性能是评估猪场养殖模式和养殖技术的关键参数，参数的高低与猪场的养殖效益紧密相关。近年来研究报道，妊娠后期母猪生理代谢急剧变化且易受到内外环境的影响而引发糖脂代谢异常，严重影响了母猪和仔猪的健康（Kaur 2014, Mosnier et al 2010）。其中酸碱平衡和胆汁酸代谢紊乱是母猪糖脂代谢异常中的两个常见现象。

研究显示，在母猪妊娠后期，母体体内水、电解质极易受到内外因素的影响导致酸碱失衡，造成母体酸中毒。当这种酸碱失调不能被母体调节时，母体可通过胎盘传递给胎儿，导致胎儿酸中毒。这些条件和因素被证明是产时死亡率和新生儿死亡的关键原因，其中酸中毒的程度被认为是决定新生儿结局的主要因素和危险信号（Low et al 1994, Ross and Gala 2002）。在新生胎儿中，代谢性酸中毒是由低氧血期间代谢酸（尤其是乳酸）的过度积累引起的（Low et al 1994）。在猪这种多胞胎动物中，目前相关研究也表明，新生仔猪的存活率与乳酸含量呈负相关，与血液中的 pH 值呈正相关。但由于同一窝的不同新生儿出生间隔不同，酸碱值具有多样性和分布范围，因此代谢性酸中毒的程度也有所差异（Chiang and Rodway 1997）。值得重视的是，随着母体第二产程的持续，母体和胎儿的乳酸浓度都明显增加，特别是母体体内乳酸浓度（Lennart et al 2001）。有趣的是，母猪的妊娠通常引起氧化应激的产生以及糖酵解过程的加剧和乳酸积累。因此，通过在母猪上改善氧化应激和酸碱平衡来减轻胎儿和新生仔猪代谢性酸中毒可能是有意义的。

另一方面，妊娠后期母猪胆汁酸代谢紊乱也会影响胎儿的存活和出生仔猪的性能。研究发现，母体妊娠后期由于生理状态的急剧变化，总胆汁酸水平也随妊娠的发展呈升高趋势，而当这种升高为异常状态，这会通过母子一体化系统对胎儿造成不良结局（Milona et al 2010）。在猪这种多胞胎生物中也已被证明，胎猪存活率与母猪妊娠后期高胆汁酸水平呈负相关（王朋 2016）。研究表明，肝脏胆汁酸转运功能受损是导致妊娠后期母体胆汁酸代谢异常的重要原因（Zhang et al 2015, Arrese and Trauner 2003, Milona et al 2010）。此外，Nrf2 信号因调节肝脏胆汁流动而在胆汁酸转运中扮演重要作用（Ma 2010）。然而，在母体妊娠后期这样一个氧化应激状态，母体肝脏胆汁酸转运基因表达降低，Nrf2 信号功能处于受损状态（Zou et al 2013）。

因此,通过调控 Nrf2 信号来维持母猪肝脏胆汁酸转运平衡从而降低仔猪死亡率可能是有意义的。

最近,许多研究集中在通过日粮补充抗氧化添加剂(例如白藜芦醇和牛至精油)来改善母猪和新生仔猪的性能。作为一种出色的抗氧化植物提取物,山竹醇已被广泛研究和应用。山竹醇主要来源于藤黄属植物果皮,与姜黄素结构相似,含有关键官能团酚羟基和 β -二酮,能够缓解氧化应激和抑制特定乙酰化酶的乙酰化,目前广泛用于啮齿动物的日粮补充中。Yao (2020) 研究表明母鼠妊娠后期日粮添加山竹醇,改善了母鼠氧化应激,并抑制了 P300/CBP 相关因子 (P300/CBP associated factor, PCAF) 的乙酰化,降低了糖酵解相关酶的活性,进一步缓解了母鼠妊娠后期肝脏的乳酸积累和降低了血液中乳酸的浓度 (Yao et al 2020)。但是,有关于在妊娠后期日粮中添加山竹醇对母猪繁殖性能以及脐带血酸碱平衡和胆汁酸代谢的影响研究还未见报道。本试验旨在研究山竹醇对母猪繁殖性能等方面的作用效果,为山竹醇可作为母猪妊娠后期的饲料添加剂提供试验数据支持和理论支撑。

2 母猪妊娠后期生理特点

研究显示,母体会随着妊娠的进展而出现一系列生理代谢变化,尤其在妊娠后期这样一个特殊的生理阶段,由于母体的营养需求量急剧增加,母体营养代谢水平发生重大变化 (Père et al 2000)。

在母猪妊娠后期,为满足胎儿生长,母猪新陈代谢逐渐加强 (图 1-1)。在这个过程中,母猪会逐渐产生胰岛素抵抗,从而导致母体组织对糖利用的速率逐渐减少,由于这种适应,母猪体内的葡萄糖会较多的流向胎儿,而母体自身则消耗了其他高能物质,如游离性脂肪酸。研究表明,母猪妊娠后期这种异常持续的糖代谢会导致母猪血糖的巨大波动,母猪胰岛素敏感性会逐渐降低,这有可能会造成母猪不孕甚至繁殖障碍如流产、发情周期延长等不良结局,同时也会造成新生仔猪低血糖,影响仔猪的生长潜力 (Père et al 2000, Jin et al 2016)。此外,母猪体内脂质和蛋白质代谢旺盛也会为氧自由基 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的升高提供环境,使自身受到氧化损伤的风险大大提高。一旦这种情况发生,母猪可能会出现乏情和返情等现象,甚至导致下一次发情间隔延长,缩短了母猪的使用年限,而这同时也会造成母猪食欲不振,无法为胎儿提供充足的营养来源,进一步导致母猪产仔性能下降。研究表明,母猪出现氧化损伤时,自身的免疫力也会下降,初乳中的抗体含量也呈

下降趋势（吴金原等 2017）。此外相关研究也表明，母猪妊娠后期血液中一些抗氧化酶活性也呈不同程度的降低（陈嘉铭等 2019）。

另外，在妊娠期间，母猪的内分泌系统也会发生变化。为维持妊娠，促进乳腺发育，镇定子宫，母猪体内孕酮和雌激素水平随着妊娠的持续不断升高，并在妊娠后期达到最高水平。研究显示，母体妊娠后三分之一阶段，母体血清总胆汁酸水平会随着雌激素、孕酮代谢物水平的升高而达到最大值（Abu-Hayyeh et al 2013）。当这种升高呈现异常状态，易通过母子一体化系统对胎儿产生不良结局，这种症状在医学上也被定义为妊娠期肝内胆汁淤积（Intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP）。相关研究也已表明，母猪妊娠后期也会出现胆汁酸代谢异常现象，并与死仔的发生存在紧密联系（王朋 2016）。

肝脏是机体进行生命代谢活动的枢纽，在妊娠后期母猪代谢中扮演着不可忽视的作用。母猪在妊娠后期极易遭受内外环境的影响而出现机体糖脂代谢等代谢功能障碍，进而造成肝脏损伤。而肝脏损伤会增加炎症因子分泌，增加氧化应激，同时氧化应激又会刺激炎症因子的分泌，进一步加剧肝脏损伤，久而久之形成一种恶性循环，造成母猪身体机能变差，免疫力变弱。研究表明氧化应激状态下，母猪肝脏从头脂肪合成增加，导致肝脏脂肪合成沉积，进一步促进肝脏活性氧量的升高（Baiceanu et al 2016）。Vendemiale（2010）等研究报道肝脏受到氧化损伤时，MDA、GSH-Px 等抗氧化指标都会发生改变（Vendemiale et al 2010）。

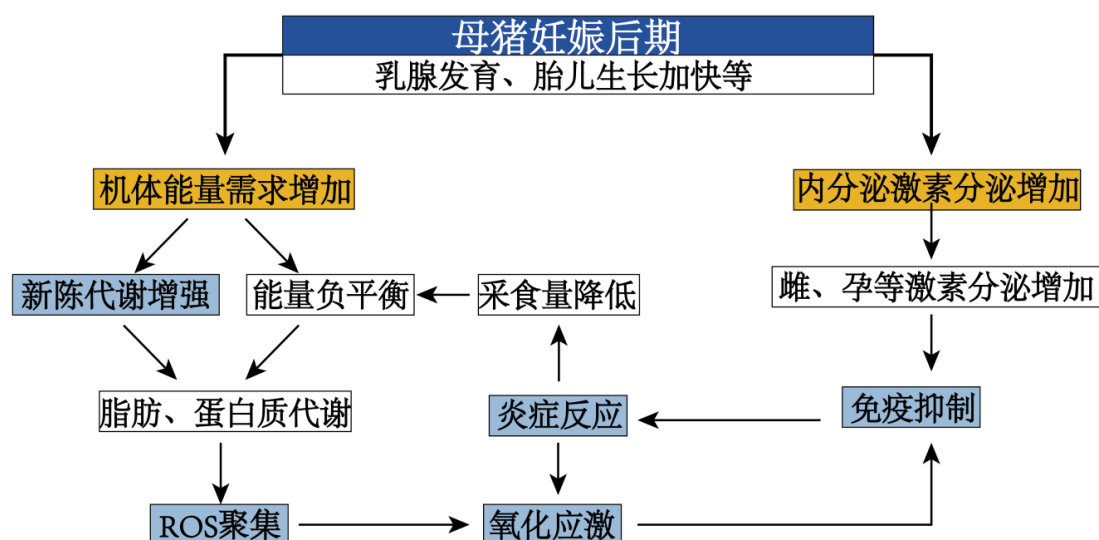


图 1-1.母猪妊娠后期生理变化过程及代谢、免疫、炎症的关系

Fig1-1. Physiological changes and relationship between metabolism and immune and inflammation in sows during late gestation

3 母猪妊娠后期糖脂代谢与繁殖性能

母猪妊娠后期的一系列生理改变也常常伴随着母体代谢的变化，如胰岛素抵抗等（Weissgerber et al 2004）。葡萄糖作为胎儿的重要能量底物，母猪糖脂代谢的平衡是保证胎儿正常生长发育和自身健康体况维持的重要因素（Van Assche et al 1990, Henrichs et al 2010）。研究表明，母猪在妊娠后期极易受到内外因素的影响发生糖脂代谢异常，母猪糖脂代谢异常会造成母猪不孕甚至繁殖障碍如流产、发情周期延长等不良结局，同时也可通过母体-胎盘-胎儿系统作用于胎儿，降低胎猪的存活率，这些都极大影响了母猪的繁殖性能（Jin et al 2016）。在母猪糖脂代谢中，酸碱平衡和胆汁酸代谢紊乱是母猪妊娠后期常见现象，也是影响母猪繁殖性能的两个重要因素。

3.1 妊娠后期母猪脐带血酸碱平衡与繁殖性能

母体在妊娠期间极易受到内外因素的影响而发生内环境紊乱，从而导致母体的水、电解质及酸碱平衡发生相应的改变。虽然母体可凭借自身系统调节来保持母体和胎儿的酸碱平衡，但这种酸碱失衡一旦超过母体的可调节能力，新生儿在出生后也可出现缺氧及代谢性酸中毒（袁静和单若冰 2019）。Rooth 等研究也与此一致，胎儿酸碱平衡与母体存在密切相关性（Rooth 1964）。相关研究也已表明，新生仔猪也存在着酸碱失衡现象（Herpin et al 1996）。在之前的研究中，分娩期间连续的胎儿心率检测通常作为胎儿缺氧窒息的预测指标，但在一些研究中发现了大量的假阳性，于是之后采用了胎儿心率检测与胎儿血液采样和分析来降低假阳性结果的发生率，但胎儿血液采样和分析具有不可连续性，容易对胎儿产生创伤。后续研究发现脐带血酸碱平衡可以很好的监测胎儿健康状况，具有与 pH 测量相同的优点，同时还可以连续且无创的进行（Nickelsen and Weber 1987）。因此，从分娩时脐带获得的血液的酸碱平衡常作为评估胎儿健康状况的重要参数。

大量研究已证实，新生仔猪血液酸碱平衡紊乱与自身存活力紧密相关，而且不同研究对新生仔猪的存活力的评分标准略有差异（De and Downie 1976, Dijk et al 2006）。Gregorio 等对窒息新生仔猪脐带血进行血气分析研究，研究结果发现新生仔猪出现酸中毒时，脐带血中 CO_2 浓度和血液乳酸浓度升高，血液 pH 值降低（Orozco-Gregorio et al 2007）。在人类婴儿中也存在着类似的现象。但与人类婴儿之间又有所不同，人类新生儿酸中毒的程度几乎一致，但在猪这种多胞胎动物中，

由于连续收缩在减少未出生仔猪的氧合作用中所产生的累积效应，以及由于更高的咬合风险，后生仔猪会遭遇更大程度的窒息和酸中毒。尽管子宫内和分娩时长时间或间歇性窒息并不一定会导致分娩死产，但是窒息会使仔猪在出生后生存的适应能力降低（Stanton et al 1973）。进一步的研究发现，在存活的新生仔猪中，当新生仔猪的脐带血中 pH 在 7.3-7.4 之间，81% 新生仔猪被认为是高存活力，到达乳房的平均时间为 23 分钟，体重为 1.5 公斤。当新生仔猪的脐带血 pH 在 7.1-7.3 之间，16% 新生仔猪被认为是中存活力，到达乳房的平均时间进一步增加。当新生仔猪的脐带血 pH 在 6.8-7.1 之间，4% 新生仔猪被认为是低存活力，到达乳房的平均时间为 60 分钟。在 pH 低于 6.8 时，pH 每降低 0.1，新生仔猪就越接近于死亡（Herpin et al 1996）。当然目前也存在着不一致的观点，Gregorio 认为酸碱值不一定能完全评估仔猪的健康状况，胎儿压力、能量代谢状态等参数应被要求进一步的评估（Orozco-Gregorio et al 2007）。

3.1.1 酸碱平衡的定义

机体体液具有相对恒定的酸碱度，其稳定状态为机体正常生命活动所必需，此状态即为酸碱平衡（王岚等 2013）。通常情况下，酸碱稳态由细胞外和细胞内缓冲系统以及生物体的呼吸和肾脏补偿机制严格调节。在生理状态下，正常代谢产生的挥发性酸和固定酸被排泄，pH 保持稳定。而细胞外液中 H^+ 浓度的正常范围是 35 至 45 nEq/L（每升钠当量），分别对应于 pH 的 7.45 和 7.35。挥发性酸中碳酸的占比最大，并且很容易以二氧化碳的形式被肺排出。固定酸平均产生速度约为每公斤体重 1 mmol，即每天 50~70 mmol，各种有机酸占一半，其余的是磷酸和硫酸。固定酸主要被胞外碳酸氢盐缓冲。然后，肾脏通过一系列跨膜转运过程使该过程中使用的碳酸氢盐再生，从而以可滴定酸和铵的形式排出 H^+ （Hood and Tannen 1998）。

然而在妊娠期间，母体易受内外环境因素的影响而导致上述调节机制发生紊乱，引发酸碱失衡。尽管胎盘和羊水可进行一定程度的酸碱协调，但一旦超出其调节能力，胎儿及新生儿也会遭受酸中毒。

3.1.2 妊娠后期母猪脐带血酸碱平衡与乳酸代谢

在新生胎儿中，代谢性酸中毒是由低氧血期间代谢酸（尤其是乳酸）的过度积累引起的（Low et al 1994）。在猪这种多胞胎动物中，目前相关研究也表明，酸中毒的新生仔猪与体内乳酸浓度呈显著相关，乳酸浓度与血液中的 pH 值呈负相关

(Dijk et al 2006)。但由于同一窝的不同新生儿出生间隔不同,酸碱值具有多样性和分布范围,因此代谢性酸中毒的程度也有所差异。值得重视的是,随着母猪第二产程次数增加,母猪和胎儿的乳酸浓度都明显增加,特别是母猪体内乳酸浓度(Lennart et al 2001)。而 Van (2006) 等在研究分娩影响新生仔猪脐带血酸碱平衡的因素时发现,后生仔猪脐带血中 pH、 HCO_3^- 、碱过量值(BEecf)相对较前出生的仔猪明显降低, pCO_2 明显升高(Dijk et al 2006)。这些结果无疑表明乳酸可能是影响脐带血酸碱平衡的重要代谢产物。因此母体乳酸代谢的机制也被众多学者研究报道。Champigny (1980) 等在妊娠后期母鼠模型上也发现丙酮酸、乳酸的积累这一现象,而产生的原因是由于肝脏糖异生被抑制所导致,从而损害了乳酸清除(Champigny et al 1980)。接下来的研究报道母鼠妊娠后期糖异生的抑制与糖酵解的加速有关,从而促进了丙酮酸的积累,进一步加速了乳酸的生成(Berchieri-Ronchi et al 2011)。Yao (2020) 研究报道母体妊娠后期本就是一个氧化应激状态,糖酵解加速的机制是由于糖酵解相关酶被乙酰化,促进了糖酵解相关酶的活性(Yao et al 2020)。因此,妊娠后期母猪体内乳酸浓度的升高可能与以上机制有关。

3.1.3 乳酸代谢与母猪繁殖性能

葡萄糖是细胞活动的基础能量来源。正常生理条件下,葡萄糖首先经过糖酵解过程产生丙酮酸,当氧气不足时,丙酮酸通过无氧糖酵解过程转化为乳酸,这个代谢过程也被称为乳酸代谢。正常水平的乳酸可作为储能物质,当乳酸水平过高时,可导致一系列代谢疾病的发生,如乳酸代谢酸中毒等。研究表明,乳酸代谢与母猪繁殖性能紧密相关(Rempel et al 2018)。Herpin (1996) 等研究将脐带血 pCO_2 、pH 和乳酸浓度这三个参数来作为评估新生仔猪出生时的窒息程度,当新生儿出现窒息时,新生儿血液 pH 降低,血液中 pCO_2 和乳酸浓度升高,新生儿窒息程度随仔猪出生顺序的增加而进一步增加($P<0.01$),即后生仔猪更高,新生儿的窒息程度与存活力呈反比($P<0.01$)(Herpin et al 1996)。Fabila 等 (2018) 在研究出生顺序对新生仔猪的代谢和生理变化影响时,结果发现后四分之一出生的仔猪的生理变化(高血糖、乳酸血症、高碳酸血症)更大,且更容易发生死胎现象(Islas-Fabila et al 2018)。

3.2 妊娠后期母猪胆汁酸代谢与繁殖性能

在母体妊娠后期，由于母体激素和生理状态的急剧改变，母体总胆汁酸水平也随之升高，当这种升高呈现异常状态，易通过母子一体化系统对胎儿产生不良结局，这种症状在医学上也被定义为妊娠期肝内胆汁淤积（ICP）。目前 ICP 只是在临床上被定义，但是否能在其他动物上定义需要进一步的试验和研究。

研究表明，母猪妊娠后期也会发生胆汁酸代谢异常现象，而这种异常可能是引起母猪妊娠后期胎猪存活率降低的原因。王朋（2016）在妊娠中后期母猪血清总胆汁酸水平研究报道，母猪产死仔的比例为 15.2%，意味着平均每一头母猪产死仔 1~2 头，其中母猪妊娠后期相对妊娠中期总胆汁酸水平显著升高的母猪，其出现死胎的比例高达 76.2%，并且出生后仔猪的性能也出现不同程度的降低，这无疑说明了妊娠后期母猪胆汁酸显著升高与胎儿的存活和出生后仔猪的性能存在紧密的联系。因此，维持母猪妊娠后期胆汁酸代谢稳态为提高母猪繁殖性能提供了一个新的思路和对生猪养殖产业具有重大价值（王朋 2016）。

3.2.1 妊娠后期母猪胆汁酸代谢特点与产仔性能

研究显示，母体在妊娠期均会伴随着血清胆汁酸水平的升高，健康孕妇在整个妊娠期总胆汁酸水平变化不大，平均值处于 0~10 $\mu\text{mol/L}$ 之间，但 ICP 孕妇在妊娠后期伴随着异常的血清总胆汁酸水平，平均值均高于 10 $\mu\text{mol/L}$ （Carter 1991）。因此，健康孕妇和 ICP 孕妇血清总胆汁酸临界值为 10 $\mu\text{mol/L}$ （Victoria et al 2014）。猪是一种大型哺乳动物，其生理结构等各方面均与人类似，于是母猪妊娠期血清胆汁酸水平相关研究也引起了广泛关注。王朋等研究表明母猪妊娠中后期胆汁酸水平均出现明显的升高，当母猪妊娠达到 90 d 时，胆汁酸水平达到峰值，之后逐渐下降，在分娩后缓慢恢复到正常水平。而对于一些胆汁酸代谢异常的母猪，90 d 血清总胆汁酸水平与 60 d 血清总胆汁酸水平比值显著高于 60 d 血清总胆汁酸水平与 30 d 血清总胆汁酸水平比值。当妊娠 90 d 与妊娠 60 d 的血清总胆汁酸水平的比值为 3 时，母猪窝产仔数和窝产活仔数显著降低，当比值大于 3 时，活仔率没有显著差异（王朋 2016）。而 Victoria 存在不一致观点，当母体妊娠后期胆汁酸水平高于一定阈值，胎儿受到的风险程度则会进一步增加（Victoria et al 2014）。目前，由于不同个体在同一阶段的血清总胆汁酸水平变化范围较大，对于妊娠母猪正常或异常胆汁酸变化范围的定义标准还有待进一步研究。

3.2.2 妊娠后期母体胆汁酸代谢与 Nrf2 信号通路

胆汁酸主要以胆固醇为底物在相关胆汁酸合成酶的作用下在肝细胞中合成。合成的胆汁酸的流向和去处经过一系列生理代谢过程：初级胆汁酸合成后一般会与牛磺酸、甘氨酸等物质形成复合胆汁酸，因此，胆汁酸池也在初级胆汁酸的基础上进一步扩大，丰富了胆汁酸的代谢活动。这些胆汁酸进入胆囊，在生理信号的刺激下释放进入肠道，为机体营养物质的吸收提供加工和处理，与此同时复合胆汁酸也会在肠道中被进一步分解作用，生成次级胆汁酸，这些肠道中的胆汁酸在回肠末端大部分被重吸收经过机体的代谢机制又循环进入肝脏参与下一轮的释放，而那些小部分胆汁酸会随着代谢废物排出体外。因此，机体需每日摄入少量的固醇类物质来补偿每日胆汁酸的排泄缺口，从而保证机体每日的代谢活动正常运行（Jia et al 2017）。从另一个方面说明，机体对胆汁酸合成的调节需保证足够量的胆固醇被分解代谢以维持稳态以及为肠道提供足够的乳化剂（Lemoy et al 2013, Holm et al 2013）。

近年来，大量研究已经表明肝脏胆汁酸转运功能受损与母体妊娠后期胆汁酸代谢存在紧密联系（Aleksunes et al 2012, Song et al 2014）。核因子 E2 相关因子 2（nuclear factor erythroid-2-related, Nrf2）作为一种调节细胞信号活动的转录调节蛋白，它协调大量细胞保护基因的基础激活和应激诱导激活。然而，研究发现 Nrf2 信号在肝脏胆汁酸转运中扮演重要角色。因此，Nrf2 信号与妊娠后期母体胆汁酸代谢及胆汁酸代谢相关疾病的研究也得到了大量学者的关注。Carino 等（2020）在胆汁淤积小鼠模型中研究发现，肝细胞中 Nrf2 信号功能受损，并伴随胆汁酸外排转运蛋白胆盐输出泵（Bile salt export pump, Bsep）表达的降低（Carino et al 2020）。Okada 等（2008）研究显示，在胆汁淤积小鼠模型中激活 Nrf2 信号，结果改善了胆汁的流动能力，降低了胆汁毒性，并提高了机体抗氧化能力（Okada et al 2008）。Zhang 等（2020）在小鼠模型中研究发现，Nrf2 的激活促进了胆汁的流动，增加了肝脏胆汁转运蛋白多药耐药相关蛋白 3（Multidrug resistance-associated protein 3）的表达（Zhang et al 2020）。这些研究结果无疑均阐述了 Nrf2 在肝脏胆汁酸代谢调节中扮演重要角色，暗示针对 Nrf2 的靶标作用可能对胆汁酸代谢疾病有治疗效果。

3.2.3 Nrf2 信号通路与氧化应激

动物本身每时每刻即一个氧化和还原的动态调节过程，被氧化物和抗氧化物动态调节。活性氧（ROS）和活性氮（RNS）是机体内部环境和在与外界暴露的情况

下不断产生的两种活性氧化物。正常生理条件下，这两种活性物质的产生常被用于细胞生命活动，是调节细胞分裂、炎症、免疫功能、自噬和应激反应等过程的重要信号分子（Finkel and T. 2011）。但当活性氧化物的产生超过了自身的抗氧化调节能力时，氧化还原平衡体系被损坏，引发组织发生相应的氧化损伤，并进一步导致癌症、慢性病的发展。

Nrf2 是 Cap-n-Collar (CNC) 家族的重要成员，其结构在 1994 年被 Moi 等人发现，并被分为 6 个结构功能域，分别为 Neh1-Neh6（Moi et al 1994）。通常情况下，Nrf2 与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1（Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1）捆绑在一起，被束缚在细胞质中，无法发挥相应生理功能。在这种未被激活的状态下，Nrf2 会被泛素化，进而被降解，其浓度被稳定在一定范围内（Hybertson et al 2011）。一旦受到氧化刺激，Nrf2 与 Keap1 的结合就不稳定，Nrf2 被释放出来，开始参与调节下游相关信号通路的激活，调控着下游多个基因如 SOD、CAT、GSH-Px 等的表达，进而翻译出一系列相关蛋白，发挥生理功能（Szklarz 2013）（图 1-2）。因此，Nrf2 信号功能的失调为氧化应激与涉及这个生理过程的大多数代谢疾病之间直接或间接提供了联系。研究显示，妊娠后期母体由于胎儿极大的营养需要而引发组织动员，增加自由基产生，提高氧化应激程度（Al-Gubory et al 2010）。这无疑暗示了 Nrf2 信号的激活可作为妊娠后期母体氧化稳态的调节靶点。

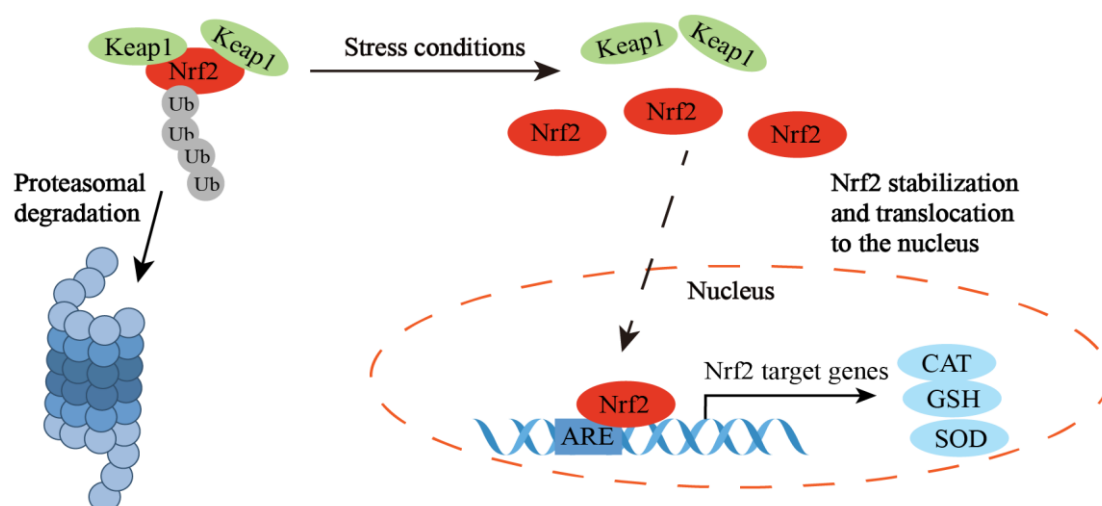


图 1-2. Nrf2 信号激活调节氧化应激机制

Fig1-2.The mechanism of regulating oxidative stress by Nrf2 activation

4 抗氧化剂-山竹醇的研究进展

印度藤黄是一种矮小的常绿乔木，广泛生长在印度西海岸，在印度各地都有不同的名字，如山竹、红芒果等。起初它被人们用于制作海滩上度假中的粉红色甜味饮料，用于避免皮肤损伤和对阳光和热带气候的过敏。后被科学家发现不仅可用于治疗口腔癌和乳腺癌等多种疾病，而且还能用作着色剂和调味剂，被广泛应用于烹饪、医药和工业等方面（Padhye et al 2009）。其果皮中提取的羟基柠檬酸（HCA）是一种重要的降胆固醇成分，可作为潜在的抗肥胖剂（Jayaprakasha and Sakariah 2002, Lakshmi et al 2012）。

山竹醇是藤黄的活性成分，呈橙黄色粉末状，一般可作为调味剂和调色剂，其化学结构（如图 1-3）在 1989 年被研究者所提出（Sahu et al 1989）。山竹醇拥有很强的抗氧化功能，因为它既含有酚羟基，又含有 β -二酮官能基团，在这方面，它与众所周知的植物来源的抗氧化活性物质姜黄素相似（Cheng et al 2010）。此外，一些研究发现，一方面，山竹醇可以通过抑制转录因子（nuclear factor kappa-B, NF- κ B）信号传导来抑制巨噬细胞一氧化氮合酶的产生，减少炎性细胞因子的刺激，从而达到抗炎的效果（Koeberle et al 2009）。另一方面，山竹醇可以通过剂量和时间依赖的方式诱导细胞 caspase-3 蛋白降解而达到抑制肿瘤细胞生长的作用，从而发挥它的抗癌性能。最近的研究表明，山竹醇能影响多种生物途径，提示其在多种疾病中的治疗作用（Behera et al 2016）。

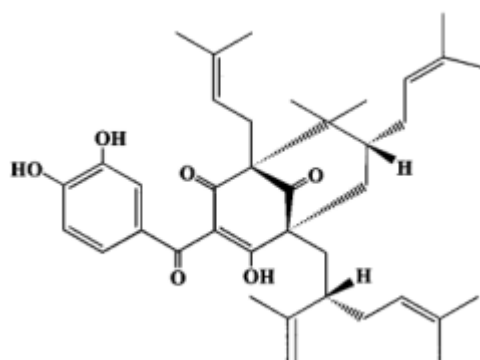


图 1-3. 山竹醇的化学结构

Fig1-3. Chemical structure of garcinol

4.1 山竹醇的生理功能

在正常机体内，机体氧化还原系统存在两面性：当体内氧化活性物产生过量时，过量的氧化物挑战会破坏体内生物分子，造成不同组织相应的氧化损伤（陶磊和傅

淑霞 2011)。当氧化物产生维持在正常生理水平时,抗氧化活性物通过预防、拦截、修复方式维持氧化还原系统平衡(Kohen et al 2002)。研究表明,山竹醇这种活性物质可以有效针对自由基在机体的作用机制,从源头上发挥它的抑制作用,从而表现出它的抗氧化特性(Yamaguchi et al 2000, Negi and Jayaprakasha 2010)。在氧化还原反应体系中,山竹醇对自由基的抑制作用尤其是超氧阴离子的抑制效果等同于维生素 E,而对于羟基自由基来说,维生素 E 不及于山竹醇的抑制效果,而产生这种作用的机理主要归因于山竹醇上的酚羟基结构,它在山竹醇的抗氧化功能中扮演重要作用(Jing et al 2014, Liao et al 2005)。Hong (2006)研究了山竹醇及其衍生物在小鼠体内以 $>1\mu\text{M}$ 的浓度对花生四烯酸代谢和 NO 自由基合成的抗氧化作用的可能机制,其研究结果表明这可能是由于山竹醇与过氧化物反应,导致化学结构产生变化,形成共振对,从而达到抗氧化作用的效果(Hong et al 2006)。最近研究报道,山竹醇还可通过抑制乙酰转移酶 p300 的乙酰化,缓解了 p300 参与的急性肾损伤(Kim et al 2020)。而这归因于山竹醇特有的酚羟基结构,其对乙酰转移酶 p300 和 PCAF 的活性有显著的抑制作用。此外,山竹醇一方面还可通过抑制 NF- κ B 上游通路 toll 样受体的激活从而达到抑制 NF- κ B 通路的目的,进一步抑制炎症。另一个方面,它也可抑制革兰氏菌活性而发挥抑菌特性(Bakana et al 1987)。

4.2 山竹醇的应用

山竹醇因其强抗氧化性等复杂的生物学功能不仅可以调节细胞凋亡和肿瘤生长相关的细胞信号通路,还可以在癫痫发作中发挥治疗用途。但山竹醇能否在动物上具有安全性应用引起了学者们的极大兴趣。Muhammed (2018)在雌性大鼠上研究山竹醇的剂量毒性试验,结果发现在怀孕期间和产后 4 d,没有异常的临床体征和行为变化,生殖和发育参数,总体和组织病理学变化,以及体重,体温,血液学和其他生化参数没有改变,证实了 40%的山竹醇在啮齿动物中的毒性很低,在使用的实验条件下没有观察到任何副作用(Muhammed et al 2018, Kirana and Srinivasan 2010, Yoshida et al 2005)。于是有关在鼠模型上添加山竹醇的相关试验研究正式拉开了序幕。已有研究表明,日粮添加山竹醇可通过对顺铂诱导的大鼠肾急性氧化损伤具有显著的改善作用(Panda et al 2012)。Kang 等(2020)在大鼠体内体外模型添加山竹醇可通过抑制炎症和氧化应激来改善脑缺血-再灌注损伤(Kang et al 2020)。Yao 等(2020)在母鼠妊娠后期日粮添加山竹醇,显著改善了母鼠的氧化应激和降低了

体内的丙酮酸含量（Yao et al 2020）。

然而，山竹醇作为一种出色的抗氧化活性物质，大多数研究集中在小鼠上，而在生猪养殖上应用较少。邵亚飞在研究山竹醇对生长猪肉品质的影响，结果发现山竹醇饲喂 60 d 和 90 d 均显著降低了生长猪的背脂肪厚度，提高了猪肉的抗氧化功能，改善了肉品质（邵亚飞等 2020）。贺琼玉在研究山竹醇调控仔猪氧化应激猪肝脏脂肪合成的作用及机制，结果发现山竹醇显著降低了仔猪肝脏的脂肪沉积，并表明这可能是通过抑制乙酰化酶活性从而降低了肝脏脂肪合成（贺琼玉等 2019）。

5 研究目的与意义

随着我国 2020 年开始进入一个无抗时代，生猪养殖业也正遭遇着新的变革，健康养殖和高效生产成为了企业追求的目标，食品质量和安全保证也成为了人民消费的首要选择，植物提取物以纯天然、种类丰富、可预防和治疗疾病、无有害物质残留等特点被生猪养殖行业广泛利用。母猪妊娠后期酸碱平衡和胆汁酸代谢异常等现象所导致母猪繁殖性能降低，严重影响了养殖和经济效益。因此，如何保障妊娠后期母猪健康和提高繁殖性能就显得很有必要。通过查阅文献我们找到了一种天然植物提取物山竹醇，本试验旨在探究妊娠后期饲料中添加山竹醇对母猪繁殖性能、脐带血酸碱平衡和胆汁酸代谢的影响，为山竹醇可作为母猪妊娠后期的饲料添加剂提供试验数据支持和理论支撑。

第二章 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能的影响

1 前言

母猪的繁殖性能是养猪业发展的关键因素，因此寻找合适的方式和方法来改善母猪繁殖性能是行业一直不懈追求的目标。在母猪实际生产过程中，近年来研究表明，母猪糖脂代谢在妊娠后期极易受到内外环境的影响而产生异常，这种异常可通过母体-胎盘-胎儿系统作用于胎儿，引起胎儿不良结局的发生（Rogne and Jacobsen 2015）。在母猪糖脂代谢中，酸碱平衡和胆汁酸代谢紊乱是母猪妊娠后期常见现象，它们分别均可通过胎盘作用于胎儿，引起胎儿酸中毒和高胆汁酸毒性，最终导致胎儿不良结局。近年来，植物提取物因其抗菌、抗氧化等多种生物学活性被人们广泛应用到动物生产中，提高动物的生产及繁殖性能。例如白藜芦醇和牛至精油已被用作日粮营养补充剂抗氧化营养素来改善母猪和仔猪的性能（Meng et al 2018）。最近研究表明，山竹醇是一种优良的抗氧化植物提取物，已被广泛应用于啮齿动物的日粮补充剂中（Liu et al 2015），但很少有关于妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪及仔猪性能影响的研究报道。本试验通过在母猪妊娠后期日粮添加山竹醇，测定母猪及仔猪性能、母猪血液参数及抗氧化功能等指标，同时考察山竹醇对母猪酸碱平衡及胆汁酸代谢的作用，探究山竹醇对母猪繁殖性能的影响。

2 材料与方法

2.1 试验设计与试验动物

选取体况、预产期相近的杜×长×大初产母猪 60 头，按体况随机分为 3 个组，每组 20 个重复，每个重复 1 头。对照组饲喂基础日粮，试验组在基础日粮中添加 200、600 mg/kg 山竹醇。试验期从妊娠期 90 d 开始，直到分娩结束。

2.2 试验材料

山竹醇提取自藤黄属山竹果皮，由本实验室提取供应，含量为 32.84%。

2.3 试验日粮与饲养管理

基础日粮参照 NRC（2012）妊娠后期母猪营养需要配制，其组成及营养量见表 2-1。在基础日粮中添加试验设计剂量的山竹醇构成试验日粮。

表 2-1 基础日粮组成及营养水平（风干基础）

Table 2-1 Composition and nutrient levels of basal diet (air-dry basis, %)

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	67.00
去皮豆粕 Dehulled Soybean meal	14.00
麦麸 wheat bran	15.40
鱼粉 Fish meal	0.60
磷酸氢钙 CaHPO_4	1.2
石粉 Limestone	0.9
氯化钠 NaCl	0.38
预混料 Premix	0.52
合计 Total	100
营养水平 Nutrient levels	
消化能 DE (MJ/kg)	13.28
干物质 DM	88.6
粗蛋白质 CP	13.6
钙 Ca	0.95
总磷 TP	0.61

注：预混料为每千克日粮提供：锌，90.31 mg；锰，18.01 mg；铁，53.96 mg；铜，5.40 mg；Se，0.30 mg；碘，2.20 mg；烟酸，55.07 mg；泛酸，33.04 mg；维生素 A，11013 IU；维生素 D，2753 IU；维生素 E，55 IU；核黄素，9.9 mg；维生素 K，4.41 mg；维生素 B₁₂，0.06 mg；胆碱，495 mg；维生素 B₆，1.65 mg；叶酸，1.65 mg；硫胺素，1.01 mg。

Note: Premix supplied the following per kilogram of diet: Zn, 90.31 mg as Zn oxide; Mn, 18.01 mg as Mn sulfate; Fe, 53.96 mg as ferrous sulfate; Cu, 5.40 mg as Cu sulfate; Se, 0.30 mg as Na selenite; I, 2.20 mg as K iodate; niacin, 55.07 mg; pantothenic acid, 33.04 mg; vitamin A, 11,013 IU; vitamin D, 2753 IU; vitamin E, 55 IU; riboflavin, 9.9 mg; vitamin K, 4.41 mg; vitamin B₁₂, 0.06 mg; choline, 495 mg; pyridoxine, 1.65 mg; folic acid, 1.65 mg; thiamine, 1.01 mg.

本试验于 2020 年 7 月到 12 月在湖北省十堰市房县武当农夫猪场进行。试验母

猪均饲养于同一栋分娩舍，分娩前一天转入产房。分娩舍中，母猪采用漏缝地板，仔猪采用保温箱保暖。并按统一规定补料。在妊娠期间，每头母猪放在单独的限位栏中，每个限位栏配有水嘴和料槽。从妊娠 90 d 到 100 d，每头母猪每天进餐两次，每天定时（上午 7:00，下午 3:00）饲喂妊娠饲料，限饲 2.4 kg 饲料。从 101 d 到分娩，每天 3.5 kg 饲料。在整个试验期间，母猪和仔猪可自由饮水，圈舍每天打扫卫生，及时清扫粪便，注意通风换气，定期消毒。

2.4 样品采集与指标测定

2.4.1 母猪繁殖性能

所有母猪均于妊娠第 90 d 和第 110 d 测量体重和运用背膘测定仪在母猪自然站立时测量 P₂ 背膘厚度（测定位置为最后一根肋骨距离背中线 6.5 cm 处）。试验期间每天记录每次的投料量和任何残留的饲料以记录采食量。由此计算出试验母猪的平均日采食量（Average daily feed intake, ADFI）。

分娩 24 h 内，记录母猪的产仔数，出生活仔数、断奶活仔数、仔猪初生重、断奶体重、初生窝重、断奶窝重，计算出生仔猪死亡率。

2.4.2 母猪血液生化指标及血浆抗氧化功能检测

所有母猪禁食 12 h 后，于母猪妊娠 90 d 和 110 d 早上喂料前进行前腔静脉采血 10 ml，置于肝素钠采血管中，静置 30 分钟后 3500 r/min 离心 10 min，分离血浆，分装后于 -80 °C 保存待测。

测定血浆总抗氧化能力（Total Antioxidant Capacity, T-AOC）、超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（Glutathione peroxidase, GSH-Px）、过氧化氢酶（Catalase, CAT）活性以及丙二醛（Model Driven Architecture, MDA）含量，所有试剂盒均购自南京建成生物工程研究所，详细操作方法参见试剂盒说明书。

母猪血液参数为血液分析仪测定。

2.4.3 初乳乳组成及新生仔猪血浆 IgA 和 IgG 抗体含量检测

分娩后 3 h 内分别前、中、后各个乳区部位的乳头中收集初乳样品，将其进行混合均匀，采样前用干净温热的湿毛巾将乳房洗净，每头母猪采集 30 ml，初乳收集完成后于 -20 °C 进行保存待测。

在新生仔猪哺乳的第 1 d 和第 7 d，通过前腔静脉采血收集血液样品，用于免疫

球蛋白 A (IgA) 和免疫球蛋白 G (IgG) 的检测。收集到装有肝素钠的真空离心管中进行血液学计数, 静置 30 min 后 3500 r/min 离心 10 min, 分离血浆, 分装后于 -80 °C 保存待测。

取 10 ml 乳样根据 AOAC 分析方法测定初乳粗脂肪 (method 920.39A, AOAC)、粗蛋白 (method 984.13A, AOAC)、干物质 (method 930.15, AOAC) 的含量 (Horwitz 2010), 另取少量样品先后于烘箱和马弗炉干燥, 测定粗灰分含量。初乳及新生仔猪血浆中 IgA、IgG 含量用 ELISA 方法通过试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定。

2.4.4 脐带动静脉血酸碱指标、乳酸浓度及血清总胆汁酸水平

母猪分娩时, 按 Dennis (2014) 的研究方法采集脐带动静脉血 (Dennis et al 2014)。在脐带脱离胎盘后立即采集仔猪脐带血样本, 以避免干扰脐带血流。然后在断裂处的胎盘端夹住脐带, 在离仔猪约 7.5 cm 的仔猪端再次夹住脐带。从两个夹子之间采集血样。全血样本立即转移到 2 ml 的微量离心管中, 放入 -20 °C 的冰柜中 2-4 h, 直到转移到 -80 °C 的冰柜中。

利用自动血气分析仪 (CEM3500, 美国) 测定脐带动静脉血中 pH、Bref、 HCO_3^- 、 pCO_2 酸碱指标, 利用自动生化分析仪 (YLS9-BIOSEN, 北京中西远达科技有限公司) 测定脐带动静脉血中乳酸浓度及血清总胆汁酸水平。

2.5 数据处理与统计分析

运用 Excel2016 整理所有试验数据, 所有数据均采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。试验数据采用单因素方差分析, Duncan 氏法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P > 0.05$ 表示差异不显著。

3 结果与分析

3.1 山竹醇对母猪繁殖性能的影响

由表 2-2 可知, 与对照组相比, 在妊娠 90~110 d, 日粮添加山竹醇对母猪的体重、背膘厚 (back fat)、平均日采食量 (ADFI) 没有影响 ($P > 0.05$); 低剂量山竹醇组对新生仔猪出生窝重无显著影响 ($P > 0.05$), 而高剂量山竹醇组显著提高了新生仔猪的出生窝重 ($P < 0.05$); 日粮添加低高剂量山竹醇均对出生活仔数并无影响 ($P > 0.05$); 值得注意的是, 低高剂量山竹醇组相对于对照组均显著降低了仔猪的

死亡率 ($P<0.05$)，显著提高了仔猪的断奶窝重 ($P<0.05$)，但两组组间无显著差异 ($P>0.05$)。

表 2-2 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪繁殖性能的影响

Table 2-2 Effects of dietary garcinol supplementation on reproductive performance of sows during late gestation

项目 Item	对照组 control	山竹醇组 200mg/kg 600mg/kg		SEM	P-Value
母猪性能					
体重 (kg)					
妊娠 90 d	217.20	216.20	216.40	3.10	0.454
妊娠 110 d	230.20	228.70	230.20	4.90	0.573
背膘厚 Back Fat (mm)					
妊娠 90 d	13.90	13.60	13.30	0.50	0.213
妊娠 110 d	15.20	14.90	14.80	0.50	0.198
平均日采食量 ADFI	5.31	5.28	5.30	0.11	0.524
仔猪性能					
出生总产仔数	11.60	12.00	12.40	0.20	0.178
出生活仔数	10.20	11.30	11.90	0.30	0.562
断奶活仔数	9.40	10.00	10.60	0.10	0.407
出生窝重 (kg)	16.70 ^b	16.70 ^{ab}	17.20 ^a	0.60	0.041
断奶窝重 (kg)	56.90 ^b	61.20 ^a	64.10 ^a	1.40	0.021
仔猪出生体重 (kg)	1.59	1.56	1.520	0.21	0.778
仔猪断奶体重 (kg)	6.05	6.12	6.04	0.15	0.662
仔猪死亡率%	8.70 ^a	7.8 ^b	7.40 ^b	0.70	0.042

注：同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。SEM 为均值的标准误差，下表同。

Note: In the same row, values with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). SEM=Standard error of means. The same as below.

3.2 山竹醇对母猪血液参数的影响

由表 2-3 所示，在妊娠 110 d 时，日粮添加 200、600 mg/kg 低高剂量山竹醇与对照组的母猪血液参数中淋巴细胞、单核细胞、嗜酸、嗜碱性粒细胞、红细胞数量以及血红蛋白浓度均无显著差异 ($P>0.05$)。但与对照组相比，200、600 mg/kg 低

高山剂量竹醇组均能显著降低母猪血液的白细胞数和中性粒细胞数量 ($P<0.05$), 且两组间无显著差异 ($P>0.05$)。

表 2-3 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪血液参数的影响

Table 2-3 Effects of dietary garcinol supplementation on blood parameters of sows during late gestation

项目	对照组	山竹醇组		SEM	P-Value
Item	control	200mg/kg	600mg/kg		
妊娠 110 d					
白细胞, 10 ³ cells/μL	11.300 ^a	10.200 ^b	9.400 ^b	0.800	0.031
中性粒细胞, 10 ³ cells/μL	6.150 ^a	5.320 ^b	4.730 ^b	0.300	0.042
淋巴细胞, 10 ³ cells/μL	4.210	3.980	3.740	0.180	0.247
单核细胞, 10 ³ cells/μL	0.260	0.240	0.220	0.170	0.445
嗜酸性粒细胞,	0.590	0.550	0.520	0.110	0.114
嗜碱性粒细胞,	0.004	0.002	0.001	0.410	0.411
红细胞, 10 ⁶ cells/μL	6.070	6.010	5.770	0.480	0.797
血红蛋白, g/dL	15.400	14.300	13.600	0.510	0.177

3.3 山竹醇对母猪血液抗氧化功能的影响

由表 2-4 所示, 在妊娠 110 d 时, 低剂量山竹醇组与对照组的母猪血浆 SOD 活性无显著差异 ($P>0.05$), 而高剂量山竹醇组相对对照组显著增加了 SOD 的活性; 日粮添加低高剂量山竹醇均显著提高了母猪血浆中 CAT、GSH-Px、T-AOC 的活性 ($P<0.05$), 降低了 MDA 的含量 ($P<0.05$)。

表 2-4 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪血浆抗氧化功能的影响

Table2-4 Effects of dietary garcinol supplementation on plasma antioxidant capacity of sows during late gestation

项目	对照组	山竹醇组		SEM	P-Value
Item	Control	200 mg/kg	600 mg/kg		
妊娠 110 d					
MDA, nmol/L	2.42 ^a	1.88 ^b	1.62 ^b	0.13	0.0012
T-AOC, U/mL	1.68 ^b	1.72 ^a	1.79 ^a	0.44	0.026
SOD, U/mL	76.87 ^b	82.48 ^{ab}	87.31 ^a	4.51	0.034
CAT, U/mL	18.82 ^b	19.21 ^a	21.64 ^a	2.42	0.046
GSH-Px, U/mL	672.40 ^b	698.50 ^a	714.30 ^a	31.80	0.033

3.4 山竹醇对母猪初乳组成及含量的影响

由表 2-5 所示, 初乳乳成分中粗灰分、粗脂肪的含量在对照组和低高剂量山竹

醇组组间无显著差异 ($P>0.05$)，但低高剂量山竹醇组均显著提高了初乳中粗蛋白的含量 ($P<0.05$)；200、600 mg/kg 山竹醇的添加均显著增加了 IgA、IgG 的浓度 ($P<0.05$)，两组之间无显著差异 ($P>0.05$)。

表 2-5 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪初乳组成及含量的影响

Table 2-5 Effects of dietary garcinol supplementation on colostrum composition and content of sows during late gestation

项目	对照组	山竹醇组		SEM	P-Value
Item	Control	200mg/kg	600mg/kg		
泌乳第 1 d					
DM	18.90	17.50	16.50	0.35	0.105
Ash, %（DM basis）	9.62	8.87	7.52	0.41	0.226
CP, %（DM basis）	27.80 ^b	29.20 ^a	31.50 ^a	0.28	0.445
Ether extract, %（DM basis）	45.60	42.60	38.70	1.40	0.778
IgA, mg/mL	9.44 ^b	9.68 ^a	9.85 ^a	0.94	0.033
IgG, mg/mL	51.88 ^b	54.92 ^a	55.41 ^a	0.25	0.043

3.5 山竹醇对新生仔猪血浆 IgA、IgG 抗体含量的影响

由表 2-6 所示，在泌乳第 1 d，与对照组相比，日粮添加 200、600 mg/kg 山竹醇对新生仔猪体内免疫球蛋白 IgA、IgG 含量没有显著影响 ($P>0.05$)；在泌乳第 7 d，与对照组相比，日粮添加 200、600 mg/kg 山竹醇对新生仔猪体内免疫球蛋白 IgA、IgG 含量有一个上升的趋势 ($P>0.05$)。

表 2-6 妊娠后期日粮添加山竹醇对新生仔猪血浆 IgA、IgG 含量的影响

Table2-6 Effects of dietary garcinol supplementation on content of IgA and IgG in plasma of newborn piglets during late gestation

项目	对照组	山竹醇组		SEM	P-Value
Item	Control	200mg/kg	600mg/kg		
泌乳第 1 d					
IgA, mg/mL	31.47	30.61	32.42	0.21	0.378
IgG, mg/mL	4.84	4.77	5.01	0.44	0.525
泌乳第 7 d					
IgA, mg/mL	42.32	45.28	44.27	0.12	0.555
IgG, mg/mL	7.47	7.82	7.79	0.04	0.486

3.6 山竹醇对母猪脐带血酸碱平衡的影响

由表 2-7 所示, 与对照组相比, 200 mg/kg、600 mg/kg 山竹醇组均显著提高了母猪脐带动静脉血中 pH、碱过量值 (BE_{ecf})、HCO₃⁻浓度 ($P<0.05$), 显著降低了 pCO₂ ($P<0.05$)。

表 2-7 妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪脐带血酸碱平衡的影响

项目	对照组	山竹醇组		P-value	Range
Item	Control	200mg/kg	600mg/kg		(min-max)
UA pH	7.25 (0.05) ^b	7.35 (0.26) ^a	7.58 (0.14) ^a	0.048	6.72-7.63
UA, pCO ₂ %, mm Hg	67.20 (1.4) ^a	61.80 (2.3) ^b	58.30 (5.9) ^b	0.029	56.2-73.1
UA base excess, mEqL ⁻¹	-1 (4) ^b	2 (2) ^a	3 (2) ^a	0.012	(-21)-(16)
UA HCO ₃ ⁻ , mmol/L	30 (6) ^b	35 (4) ^a	40 (5) ^a	0.018	12-42
UV pH	7.36 (0.13) ^b	7.41 (0.29) ^a	7.67 (0.08) ^a	0.023	6.84-7.76
UV, pCO ₂ %, mm Hg	48.9 (4.2) ^a	45.4 (1.9) ^{ab}	37.1 (6.2) ^b	0.035	28.4-59.5
UV base excess, mEqL ⁻¹	2 (6) ^b	3 (1) ^a	3 (3) ^a	0.0144	(-18)-(9)
UV HCO ₃ ⁻ , mmol/L	15 (4) ^b	21 (6) ^{ab}	29 (2) ^a	0.036	9-35

Table2-7 Effects of dietary garcinol supplementation on acid-base balance of umbilical cord blood in sows during late gestation

3.7 山竹醇对母猪脐带血乳酸浓度的影响

由图 2-1 所示, 与对照组相比, 日粮添加 200、600 mg/kg 山竹醇均显著降低了母猪脐带动静脉血中的乳酸浓度 ($P<0.05$), 且在脐带动脉血中, 与 200 mg/kg 山竹醇组相比, 600 mg/kg 山竹醇进一步降低了乳酸浓度 ($P<0.05$), 而在脐带静脉血中两组之间无显著差异 ($P>0.05$)。

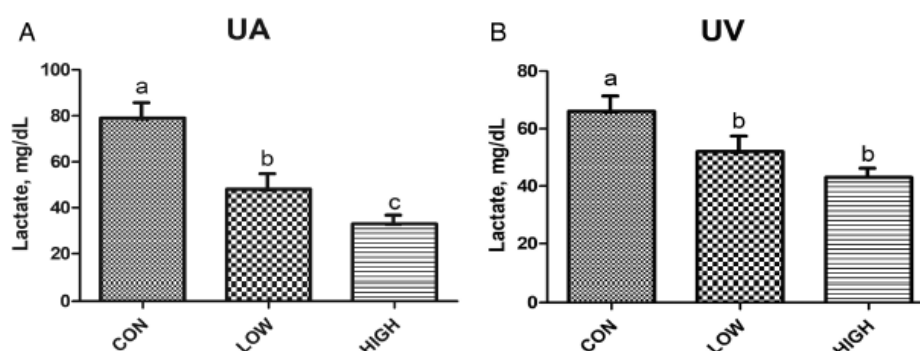


图 2-1 山竹醇对母猪脐带动静脉血乳酸浓度的影响

Fig. 2-1 Effects of garcinol supplementation on lactate concentration in umbilical cord blood of sows

注: UA=脐带动脉血, UV=脐带静脉血。n = 20, 数据以平均值 ± 标准误呈现, 同行数据无相同字母者表示差异显著 ($P<0.05$); 有相同字母者表示差异不显著 ($P>0.05$), 下图同。

Notes: UA=Umbilical artery, UV=Umbilical vein. n = 20, Values are means ± SEM. In the same row, values with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

3.8 山竹醇对母猪脐带血血清总胆汁酸水平的影响

由图 2-2 所示, 与对照组相比, 日粮添加 200、600 mg/kg 山竹醇均显著降低了母猪脐带动静脉血血清总胆汁酸水平 ($P<0.05$), 但两组组间无任何显著差异 ($P>0.05$)。

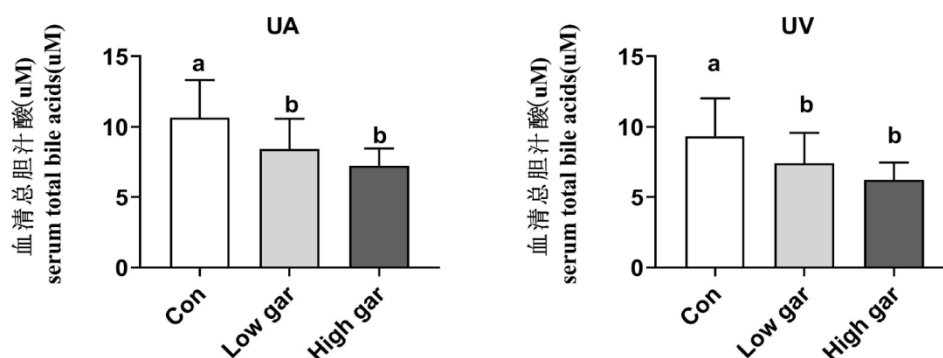


图 2-2 山竹醇对脐带动静脉血血清总胆汁酸水平的影响

Fig. 2-2 Effects of garcinol supplementation on serum total bile acid level in umbilical cord blood of sows

4 讨论

4.1 山竹醇对母猪繁殖性能的影响

研究表明,山竹醇具有抗炎、抗氧化,抗糖基化、抗肥胖的作用,并对母体妊娠后期常见的氧化应激、炎症等高发问题有一定的缓解作用(Liu et al 2015, Pei-Sheng et al 2018, Yao et al 2020)。目前已在啮齿动物上被证实它的剂量安全性。Muhammed (2018)等在雌性大鼠上添加山竹醇达到 2000 mg/kg 时,大鼠并没有观察到任何不良反应(Muhammed et al 2018)。这表明山竹醇在动物上添加是切实可行的。此外,根据 Yoshida (2005)等在小鼠上添加 100 mg/kg 和 500 mg/kg 的山竹醇剂量(Yoshida et al 2005),我们选择在母猪日粮添加 200 mg/kg 和 600 mg/kg 山竹醇,结果并未发现对母猪的生长有任何不利影响,这与前人在小鼠模型上的研究一致。本试验添加山竹醇至 110 d,研究结果发现山竹醇对母猪的背膘厚、体重及平均日采食量无显著影响,这与其它抗氧化剂对母猪采食量影响研究结果一致(Ariza-Nieto et al 2011)。因此我们推测山竹醇可能是通过改善母猪的健康和代谢来产生作用。Yao (2015)研究发现白藜芦醇改善了母猪的氧化应激状态,并显著提高了仔猪的活仔数(Yao et al 2015)。本试验结果表明低、高山竹醇添加量对母猪的产活仔数均没有影响,200 mg/kg 山竹醇对新生仔猪出生窝重没有影响,但添加量增加到 600 mg/kg 时,显著提高了出生窝重,Shen 等(2011)研究显示,营养物质对母猪特别是产仔性能的影响是需要一定时间才能产生效果(Shen et al 2011)。张琦琦(2019)研究显示,仔猪的出生窝重与健仔数紧密相关(张琦琦 2019)。这说明母猪山竹醇的添加需要一定时间才会对母猪的产仔性能产生作用,因此我们推测

母猪产活仔数不显著可能与山竹醇的添加时间较短有关,而 600 mg/kg 山竹醇相对 200 mg/kg 显著增加仔猪出生窝重可能是由于高剂量山竹醇通过胎盘屏障增强了母猪对胎儿的养分转运,增强了胎儿对养分的吸收,从而有利于胎儿的生长与存活,增加了仔猪出生窝重。此外,200、600 mg/kg 山竹醇均显著提高了断奶窝重,降低了新生仔猪死亡率。肖霞(2020)和钟铭(2011)等研究均表明抗氧化提取物对仔猪断奶窝重有显著提高(肖霞 2020,钟铭 2011),本试验结果与之一致,我们推测这可能与抗氧化提取物提高母猪的泌乳力和仔猪的免疫力,改善母猪乳品质有关。综上所述,妊娠后期日粮添加山竹醇可以通过改善母猪体况,增强仔猪健康,减少仔猪死亡,增加断奶窝重,且添加量为 600 mg/kg 时效果最佳。

4.2 山竹醇对母猪血液参数及血浆抗氧化功能的影响

在母猪妊娠后期,母体消化吸收和新陈代谢速率会过度提高,这种变化极易使母猪体内氧自由基增加,使母猪处于氧化应激状态(Al-Gubory et al 2010)。SOD、GSH-Px 是存在于细胞内的天然活性蛋白,在细胞内维持动态的氧化还原平衡状态。T-AOC 则反映动物自身整体氧化平衡调节能力。研究发现,母猪妊娠后期血浆中 SOD、GSH-Px、CAT 抗氧化酶活性显著降低,MDA 含量显著升高(Zhao et al 2013)。之前的研究还显示,氧化应激还可促进血液中炎症因子的释放,加剧机体组织的损伤(Haddad et al 2001)。贺琼玉等(2019)在断奶仔猪日粮中添加山竹醇显著增加了仔猪血清中 SOD、GSH-Px、CAT 的活性(贺琼玉等 2019)。本试验研究结果表明山竹醇显著降低了母猪血液中白细胞和中性粒细胞数量,并且显著增加了妊娠后期母猪血浆中抗氧化酶 SOD、GSH-Px、CAT 活性及降低丙二醛的含量,这与先前的研究结果一致。此外,山竹醇可作为一个免疫调节剂,具有明显的抗炎作用(Liao et al 2004, Shen et al 2011, Liu et al 2015)。这可能是母猪血液白细胞和中性粒细胞数量显著降低的原因。因此我们推测山竹醇对母猪健康的保护作用可能是通过降低母猪体内的炎症反应和提高母猪清除自由基的能力而实现的。

4.3 山竹醇对初乳组成及新生仔猪血浆 IgA 和 IgG 抗体含量的影响

乳汁是仔猪的主要营养来源,特别对新生仔猪来说,初生仔猪无法合成抗体,需要及时吮吸初乳,以此来获得抗体和提高免疫力。初乳营养价值极高,其包含的蛋白质不仅种类多,且含量占主要其中一些蛋白质可迅速被仔猪消化入血,促进仔猪体内免疫球蛋白的合成,利于提高免疫和抵抗力。本试验研究结果表明,山竹醇

对母猪初乳中干物质、粗脂肪、粗灰分没有显著影响，显著提高了初乳中粗蛋白的含量。这与 Lauridsen（2004）研究结果一致，给母猪日粮添加皂树皮提取物，对乳汁中粗灰分、粗脂肪没有影响（Lauridsen and Danielsen 2004）。此外试验结果还表明，山竹醇添加可显著提高初乳中 IgA 和 IgG 抗体浓度。且山竹醇添加对仔猪体内 IgA、IgG 浓度有上升趋势。有研究报道显示，初乳中 IgA 和 IgG 抗体被广泛认为主要参与机体免疫反应，而先前的一项研究报道，日粮添加山竹醇可促进免疫反应（Sailhamer et al 2008）。这也许是山竹醇处理后，初乳中 IgA、IgG 浓度升高的原因。此外，一些研究显示，氧化状态与牛奶成分的合成和氮的利用有关（Castillo et al 2005, Albera and Kankofer 2010, Boyd et al 1995）。在这种情况下，母猪体内氧化状态的改变可能是母猪在泌乳早期合成乳蛋白的原因之一。结合以上母猪血液抗氧化功能等相关指标，由此我们推测日粮添加山竹醇极大改善母猪氧化应激状态，增加了初乳中蛋白质的浓度，这可能有利于提高新生仔猪蛋白质摄入浓度，促进了仔猪体内 IgA 和 IgG 抗体浓度的升高。同时这也可能与仔猪的断奶窝重增加有关。

4.4 山竹醇对母猪脐带血酸碱平衡及乳酸浓度的影响

在许多研究中，酸碱平衡紊乱通常是由代谢和呼吸系统疾病混合引起的，而代谢性酸中毒主要是由于乳酸增加（Gjerris et al 2008）。脐带血的酸碱状态和新生仔猪出生时的乳酸积累水平被认为是评估日后新生仔猪发生运动和认知缺陷风险的重要指标（Low et al 1994, Dijk et al 2006）。

本试验中，母猪妊娠后期日粮添加 200 mg/kg、600 mg/kg 山竹醇均显著提高了脐带血中酸碱指标 pH、BE_{ecf}、HCO₃⁻，显著降低 pCO₂。同时，脐带血中乳酸浓度也被显著降低，这与我们的预期结果一致，这也可能是母猪妊娠后期日粮添加山竹醇后脐带动静脉血 pH 升高和母猪酸中毒减轻的原因。研究显示，母猪妊娠后期通常伴随着氧化应激的发生，而氧化应激会加剧糖酵解过程和进一步促进乳酸的积累（Pere 1995, Berchieri-Ronchi et al 2011）。由此可见，在妊娠后期日粮添加山竹醇可减轻母猪自身氧化损伤的程度，改善母猪健康，从而减少氧化应激带来的乳酸的产生，改善母猪的酸碱平衡。此外，本试验结果表明 600 mg/kg 山竹醇组相对 200 mg/kg 山竹醇组进一步降低了脐带动脉血中的乳酸浓度。研究显示，脐带血是胎儿与母体营养代谢物输送的纽带，而胎儿主要借助脐带动脉血输送自身的代谢废物和二氧化碳，将其经过胎盘运输到母体进行排泄（罗嘉 2016）。这说明 600 mg/kg 山

竹醇组相对 200 mg/kg 山竹醇组进一步缓解了母猪的氧化应激，减少了母猪乳酸的产生，显著改善了胎儿酸中毒的程度。

4.5 山竹醇对脐带血血清总胆汁酸水平的影响

在妊娠后期，母猪通常会由于胎儿生长加快和乳腺发育而发生一系列生理代谢的改变，其中就包括胆汁酸代谢的变化。研究显示，在妊娠后期，母猪胆汁酸代谢极易受到内外因素的影响发生异常，这种异常可通过母体-胎盘-胎儿系统作用于胎儿，造成胎儿不良结局的发生（王朋 2016）。本试验研究结果表明，母猪妊娠后期日粮添加 200 mg/kg、600 mg/kg 山竹醇均显著降低了脐带动静脉血中胆汁酸水平，结合母猪繁殖性能指标，说明山竹醇可能通过维持母体胆汁酸代谢稳态，减少了胆汁酸对新生仔猪的毒害作用，从而提高了新生仔猪的存活率，进一步增加了断奶窝重。

5 小结

妊娠后期日粮添加山竹醇对母猪生长性能没有影响，可提高母猪的抗氧化能力，减轻氧化应激程度，并显著提高初乳中和仔猪血浆中 IgA 和 IgG 抗体浓度，降低仔猪死亡率，增加仔猪断奶窝重，且这可能与山竹醇对母猪酸碱平衡与胆汁酸代谢改善有关。

第三章 山竹醇影响妊娠后期母体胆汁酸代谢的分子机制

1 前言

在母体酸碱代谢中，过高的乳酸浓度已被证明是导致酸碱失衡的重要原因（Gjerris et al 2008）。Champigny（1980）等也报道了母体乳酸的产生来源，在母体妊娠后期这样一个氧化应激状态下，其肝脏糖酵解相关酶活性升高，加剧了糖酵解过程，进一步促进了肝细胞乳酸的积累和血液中乳酸浓度的升高（Champigny et al 1980）。另一方面，在母体胆汁酸代谢中，研究已表明母体妊娠后期胆汁酸转运功能受损，而 Nrf2 信号不仅参与机体抗氧化防御系统的调节，而且可促进肝脏胆汁流动，增加肝脏胆汁酸的转运能力，在肝脏胆汁酸代谢转运中扮演重要作用（Ma 2010）。此前又有研究报道，在氧化应激状态下，Nrf2 信号功能受损（Zou et al 2013）。因此我们推测 Nrf2 信号通路在母体妊娠后期胆汁酸代谢异常中扮演重要作用。基于试验一的结果，我们得到日粮添加山竹醇可能通过改善酸碱平衡，降低乳酸浓度和维持胆汁酸代谢稳态进而改善母猪繁殖性能。为了进一步探索山竹醇影响母体繁殖性能的分子机制，实验室前期在妊娠母鼠上已证明山竹醇通过抑制了乙酰化酶 PCAF 的乙酰化，降低了糖酵解相关酶的活性，进一步缓解了母鼠妊娠后期肝脏的乳酸积累和降低了血液中乳酸的浓度（Yao 2020）。本试验在试验一的基础上，通过建立妊娠母鼠模型，在母鼠妊娠后期进行 100 mg/kg、500 mg/kg 山竹醇灌喂处理，旨在初步阐明山竹醇是否通过 Nrf2 信号对妊娠后期母体胆汁酸代谢产生影响。

2 材料与方法

2.1 试验设计与试验动物

选取 8 周龄 C57BL/6 雌鼠 40 只，雄鼠 20 只，在将其以雌：雄=2:1 合笼，交配过夜，第 2 d 清晨阴道涂片镜检，发现精子记为 0.5 d。交配后公母鼠分开单笼饲养。选取妊娠小鼠 30 只，将其按体重随机分为 3 组，每组 10 个重复，每个重复 1 只。试验组从妊娠第 10 d 开始，处理组分别灌服 100 mg/kg、500 mg/kg 山竹醇（溶于橄榄油），对照组灌服等量橄榄油，每天灌服 1 次，一直持续到分娩结束。

2.2 试验材料

同试验一

2.3 试验日粮与饲养管理

本试验小鼠均饲养在华中农业大学实验动物中心，室温保持在 24 ℃，相对湿度 55% 左右，小鼠单笼饲养自由采食和饮水，每天保持 12 h 的昼夜循环，每天上午 8:30 记录小鼠体重。基础日粮由实验动物中心提供，其组成及营养水平见表 3-1。

表 3-1 基础日粮组成及营养水平

Table3-1 Composition and nutrient levels of basal diet

项目 Item	含量 Content	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
原料 ingredients		总能 GE/ (MJ/kg)	15.2
玉米粉 Corn meal	52%	粗脂肪 EE%	4.2
大豆粉 Soybean meal	20%	粗纤维 CF%	4.4
麦麸 Wheat bran	11%	粗灰分 Ash%	6.3
小麦粉 Wheat flour	9%	粗蛋白 CP%	21.9
鱼油 Fish meal	3%	淀粉 Starch%	50.1
氯化钠 NaCl	0.2%	钙 Ca%	1.07
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1%	磷 P%	0.69
碳酸钙 CaCO ₃	1.2%		
猪油 Lard	2%		
赖氨酸 L-Lysine	0.25%		
蛋氨酸 L-Methionine	0.27%		
矿物质 Mineral mix	0.06%		
维生素 Vitamin mix	0.02%		

注：矿物质提供以下量 (mg / kg 饮食)：钴 (氰钴胺)，0.6 mg；铜 (CuSO₄ · 5H₂O)，5.0 mg；碘 (CaI₂)，0.48 mg；铁 (FeSO₄)，75.0 mg；锰 (MnSO₄)，20.0 mg；硒 (Na₂SeO₃)，0.40 mg；锌 (ZnO)，10.0 mg。

维生素提供以下量 (mg / kg 饮食)：全外消旋 α-邻苯二甲酰乙酸，64.0 mg；D-生物素，0.2 mg；d-泛酸钙，24.0 mg；胆钙化固醇，5.5 mg；叶酸，6.0 mg；甲萘醌亚硫酸氢钠，2.2 mg；烟酸，30.3 mg；吡哆醇盐酸盐，12.0 mg；乙酸视黄酯，1.9 mg；核黄素，5.5 mg；硫胺盐酸盐，13.0 mg；维生素 B-12，0.022 mg。

Note: Minerals are provided in the following amounts (mg/kg diet): Cobalt (cyanocobalamin), 0.6 mg; copper (such as CuSO₄ · 5H₂O), 5.0 mg; iodine (CaI₂), 0.48 mg; iron (FeSO₄), 75.0 mg; Manganese sulfate (MnSO₄), 20.0 mg; selenium (Na₂SeO₃), 0.40 mg; Zinc (ZnO), 10.0 mg.

Vitamins are provided in the following amounts (mg/kg diet): full racemic α-phthaloylacetic acid, 64.0 mg; D-biotin, 0.2 mg; d-calcium pantothenate, 24.0 mg; cholecalciferol, 5.5 mg; Folic acid, 6.0 mg; Menadione sodium bisulfite, 2.2 mg; Niacin, 30.3 mg; Pyridoxol hydrochloride, 12.0 mg; Retinyl acetate, 1.9 mg; Riboflavin, 5.5 mg; Thiamine Hydrochloride, 13.0 mg; Vitamin B-12, 0.022 mg.

2.4 样品采集与指标测定

2.4.1 母鼠血清总胆汁酸水平

母鼠分娩结束后，眼球静脉采血，置于 1.5 ml 离心管中，静置 2 h 后，3000 r/min 离心分离血清，-80 °C 冰箱保存待测。

利用自动生化分析仪测定血清总胆汁酸水平。

2.4.2 母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达测定

母鼠眼球静脉采血后处死，迅速分离肝脏组织，用生理盐水冲洗，迅速取样，放入液氮速冻，于-80 °C 保存待测。

（1）总 RNA 提取

取匀浆管，加入 1 ml 的 Trizol Reagent，置于冰上预冷，取 0.1 g 组织，加入到匀浆管中，使用匀浆仪充分研磨直至无可见组织块，12000 r/min 离心 10 min，转移上清液至新的离心管中。加入 200 μ L 氯仿，剧烈震荡 15 s，静置 5 min。4 °C 12000r/min 离心 15 min，小心吸取上清 500 或 600 μ L 转到离心管，加入等体积异丙醇，上下颠倒混匀，室温静置 10 min。4 °C 12000 r/min 离心 10 min，含有 RNA 的白色沉淀在离心管底部。弃上清，每管加入 1 ml DEPC 水配置的 75% 乙醇，涡旋混匀。4 °C 12000 r/min 离心 5 min，弃上清，用 100 μ L 移液枪将剩余的 75% 的乙醇弃掉。在超净台将 RNA 沉淀吹 5~10 min 至半透明胶状。加 30~40 μ L DEPC 处理水或 TE 缓冲液溶解 RNA 沉淀。60 °C 孵育 10 min，小心混匀样品，使用核酸蛋白测定仪检测 RNA 的浓度与纯度，吸光度（OD）260 / 280 在 1.8~2.0 之间较为理想。测定浓度后保存于-80 °C 冰箱备用。

（2）反转录

按照下表配制逆转录反应体系，配制完成后放入 PCR 仪，42 °C 反应 60 min，99 °C 反应 5 min，25 °C 反应 20 min。

表 3-2 逆转录反应体系

Table 3-2 Formula of reverse transcription

试剂	使用量
总 RNA	2.5 μg
Oligo(dT) ₂₀	3 μL
5 \times buffer	5 μL
dNTPs (10 mmol/L)	2.5 μL
RNAse 抑制剂 (40 U/ μL)	0.5 μL
ReverTra Ace (100 U/ μL)	1.25 μL
ddH ₂ O	补足到 25 μL

(3) 荧光定量 PCR

PCR 反应体系为 10 μL : 5 μL SYBR premix Ex Taq, 0.4 μL 上游引物, 0.4 μL 下游引物, 1 μL cDNA, 3.2 μL ddH₂O。采用 Primer 5.0 软件设计引物, PCR 引物序列见表 2-3。PCR 扩增条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 在各基因最佳退火温度下退火 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 共 40 个循环; PCR 反应后绘制熔解曲线以判断扩增产物的正确性, 温度以 0.5 $^{\circ}\text{C}/5\text{ s}$ 的速度从 60 $^{\circ}\text{C}$ 上升到 95 $^{\circ}\text{C}$ 。以 β -肌动蛋白为内参, 对得到的各样品 CT 值进行均一化处理, 在各靶基因与 β -肌动蛋白的扩增效率基本一致条件下, 以对照组基因的表达量为基准, 通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法对相关基因的表达量进行比较分析。根据 GenBank 提供的基因序列, 使用 Primer 5.0 软件设计引物序列, 引物由上海生物工程有限公司合成, 具体序列见表 3-3。

表 3-3 基因引物序列

Table 3-3 Primer sequences of genes

基因名称	引物序列
Gene names	Primer sequences ³⁾ (5'—3')
多药耐药相关蛋白 2	F: CAGTCACGGCTTCCTTTCTG
Mrp2	R: AGGTTTCCGCTGGGACTTCT
胆盐输出泵	F: TGGAAAGGAATGGTGATGGG
Bsep	R: CAGAAGGCCAGTGCATAACACA
多药耐药相关蛋白 3	F: ACACCGAGCCAGCCATATAC
Mrp3	R: TCAGCTTCACATTGCCTGTC
钠/牛磺胆酸盐共转运多肽	F: ATGGAGAAGGCTGGGGCTCACCT
Ntcp	R: AGCCCTTCCACGATGCCAAAGTTGT
β -actin	F: CGTTGGCTGGTTGAGAATC
	R: CGGCAAGACAGAAATGACAA

注：F=上游引物；R=下游引物

Note: F=Forward primer; R=Reverse primer

2.4.3 肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达量检测

取适量肝脏组织经匀浆器研磨后，加入细胞裂解液，取组织裂解液分装。Nrf2、Keap1 基因表达量测定方法同上。根据 GenBank 提供的基因序列，使用 Primer 5.0 软件设计引物序列，引物由上海生物工程有限公司合成，具体序列见表 3-4。

表 3-4 基因引物序列

Table 3-4 Primer sequences of genes

基因名称	引物序列
Gene names	Primer sequences ³⁾ (5'—3')
核因子 E2 相关因子 2	F:CCCATTGAGGGCTGTGAT
Nrf2	R:TTGGCTGTGCTTTAGGTC
Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1	F:GTGGAGACAGAGACCTGGACTTTC
Keap1	R:TGTCAAGCGGGTCACTTCACTC
β -actin	F:CGTTGGCTGGTTGAGAATC
	R:CGGCAAGACAGAAATGACAA

注：F=上游引物；R=下游引物

Note: F=Forward primer; R=Reverse primer

2.5 数据处理与统计分析

运用 Excel2016 整理所有试验数据,所有数据均采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。试验数据采用单因素方差分析, Duncan 氏法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P > 0.05$ 表示差异不显著。

3 结果与分析

3.1 山竹醇对妊娠母鼠血清总胆汁酸水平的影响

为进一步探究山竹醇对母体胆汁酸代谢的影响机制，我们利用公母鼠交配获得妊娠小鼠，并在妊娠后期灌服山竹醇处理。如图 3-1 所示，我们发现，与对照组相比，100 mg/kg、500 mg/kg 山竹醇组均显著降低了母鼠血清总胆汁酸水平（ $P<0.05$ ）。

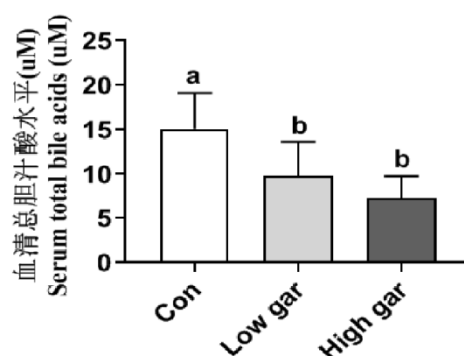


图 3-1 山竹醇对妊娠后期母鼠血清总胆汁酸水平的影响

Fig. 3-1 Effects of garcinol supplementation on serum total bile acids level of mouse in late pregnancy

数据以平均值 \pm 标准误呈现， $n = 10$ ，同行数据无相同字母者表示差异显著（ $P<0.05$ ）；有相同字母者表示差异不显著（ $P<0.05$ ），下图同。

Values are means \pm SEM, $n = 10$. In the same row, values with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$) The same as below.

3.2 山竹醇对妊娠母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达的影响

如图 3-2 所示,与对照组相比,进一步在肝脏胆汁酸转运相关基因表达结果中发现,100 mg/kg、500 mg/kg 山竹醇组均可以显著提高胆汁酸转运相关基因 *Bsep*、*Mrp2*、*Mrp3*、*Ntcp* 的 mRNA 表达量 ($P<0.05$)。日粮添加 100、500 mg/kg 山竹醇组两组间对 *Mrp2*、*Mrp3*、*Bsep*、*Ntcp* 的表达量无显著差异 ($P>0.05$)。

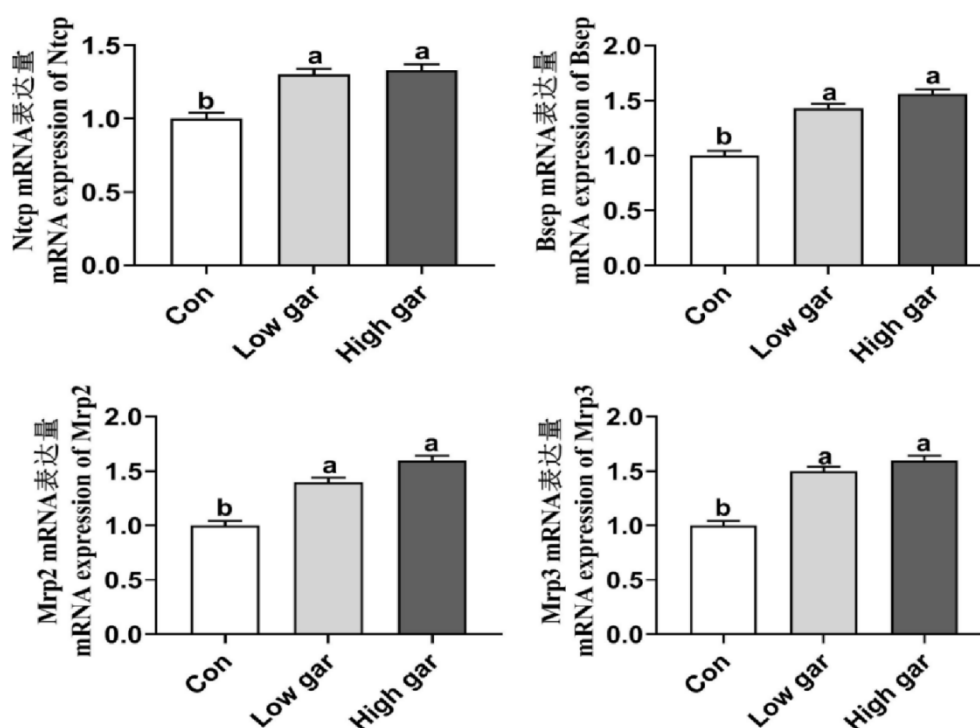


图 3-2 山竹醇对妊娠后期母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达的影响

Fig. 3-2 Effects of garcinol supplementation on bile acids transport related genes expression in liver of mouse in late pregnancy

3.3 山竹醇对肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达的影响

如图 3-2 所示,与对照组相比,100、500 mg/kg 山竹醇组均显著降低了肝脏 *Keap1* 的 mRNA 表达量 ($P<0.05$),增加了肝脏 *Nrf2* 的 mRNA 表达量 ($P<0.05$),且 100、500 mg/kg 山竹醇组无显著差异 ($P>0.05$)。

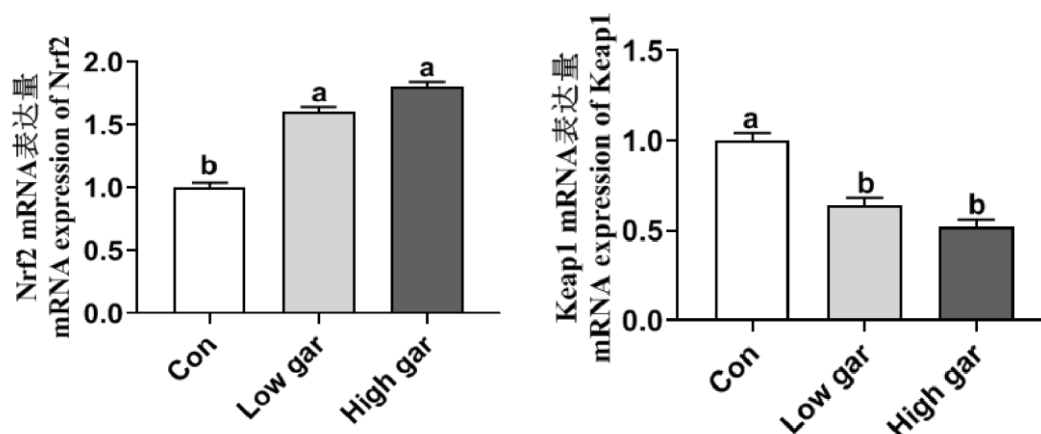


图 3-2 山竹醇对妊娠后期母鼠肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达的影响

Fig. 3-2 Effects of garcinol supplementation on gene expression of Nrf2 and Keap1 in liver of mouse in late pregnancy

4 讨论

4.1 山竹醇对妊娠母鼠血清总胆汁酸水平的影响

大量的临床研究已表明妊娠本就是一种胆汁酸代谢失衡的状态 (Kern et al 1981; Castaño et al 2006)。Lauren (2012) 等在妊娠母鼠上也证实了这一现象, 且表明母鼠血清总胆汁酸水平在妊娠后期达到峰值 (Aleksunes 2012)。本试验结果发现, 与对照组相比, 在妊娠后期用山竹醇处理后, 母鼠血清总胆汁酸水平均显著降低, 这与母猪上的研究结果一致。这说明山竹醇处理可维持妊娠后期母鼠胆汁酸代谢稳态。

4.2 山竹醇对母鼠肝脏胆汁酸转运相关基因表达的影响

肝脏中含有丰富的胆汁酸转运代谢相关蛋白, 包括 *Mrp2*、*Mrp3*、*Bsep* 等, 它们在胆汁酸转运、排泄分泌中扮演重要作用。研究表明, 肝脏胆汁酸转运功能受损是导致妊娠后期母体胆汁酸代谢失衡的重要原因 (Zhang et al 2015, Arrese and Trauner 2003, Milona et al 2010)。Chow (2010) 研究证实, 母体妊娠后期肝脏胆汁酸转运基因 *Mrp3*、*Bsep*、*Ntcp* 表达降低 (Chow et al 2010, Milona et al 2010)。本试验结果发现, 与对照组相比, 100 mg/kg、500 mg/kg 山竹醇处理组均显著增加了肝脏胆汁酸转运相关基因 *Mrp2*、*Mrp3*、*Bsep*、*Ntcp* 的 mRNA 表达量。由此可见, 山竹醇处理可能通过激活肝脏胆汁酸转运相关基因的表达, 提高了肝脏胆汁酸转运, 进而降低了母鼠血清总胆汁酸水平, 维持了母鼠胆汁酸代谢稳态。

4.3 山竹醇对母鼠肝脏 Nrf2、Keap1 基因表达的影响

相关研究表明, Nrf2 信号可靶向调节 *Mrp2*、*Mrp3* 基因的表达 (Ma 2010)。Weerachayaphorn 在人肝细胞上研究报道, Nrf2 信号激活可正向调节肝细胞中 *Bsep* 的表达 (Weerachayaphorn et al 2009)。Zhang 等 (2020) 在小鼠模型上研究报道, Nrf2 信号激活可提高小鼠肝脏的胆汁流动, 并显著增加肝脏 *Ntcp*、*Mrp2*、*Mrp3* 基因的表达 (Zhang et al 2020)。这些研究结果无疑都表明 Nrf2 信号在肝脏胆汁酸转运代谢稳态中扮演重要作用。之前的研究报道, 在母体妊娠后期时 Nrf2 活性是降低的 (Zou et al 2013)。本试验结果表明, 100 mg/kg、500 mg/kg 山竹醇处理组均显著抑制了肝脏 *Keap1* 的 mRNA 表达量, 显著增加了 Nrf2 的 mRNA 表达量。Meng (2018) 等研究报道, 日粮添加白藜芦醇改善了母猪和仔猪的氧化应激状态, 并表明这是通过激活 Nrf2 信号通路实现的 (Meng et al 2018)。由此可见, 山竹醇对母鼠妊娠后期胆汁酸代谢得到一定程度的改善, 这可能是通过缓解母体的氧化应激, 激活了 Nrf2 信号, 结合母鼠胆汁酸转运相关基因表达结果, 表明这可能是通过 Nrf2 介导的下游肝脏胆汁酸转运蛋白 *Bsep*、*Mrp2*、*Mrp3*、*Ntcp* 的表达进而提高了肝脏胆汁酸的流动, 改善肝脏胆汁酸转运代谢的能力, 在一定程度上维持了母鼠胆汁酸代谢稳态。综上所述, 本试验利用模式小鼠首次证实了山竹醇可以提高母体肝脏胆汁酸的转运能力, 促进了胆汁流动, 从而维持母体妊娠后期胆汁酸代谢稳态, 为山竹醇作为母体妊娠后期的营养调控物提供试验数据支持和理论支撑。因此我们推测母猪妊娠后期日粮添加山竹醇可能通过激活 Nrf2 信号通路的机制, 维持母体胆汁酸代谢稳态, 降低胆汁酸对仔猪的毒害作用, 进而提高母猪繁殖性能。

5 小结

妊娠后期母鼠进行山竹醇处理可能是通过激活 Nrf2 信号通路, 激活了 Nrf2 介导的下游胆汁酸转运相关基因 *Mrp2*、*Mrp3*、*Bsep*、*Ntcp* 的表达, 提高了肝脏胆汁酸转运能力, 进而维持母体胆汁酸代谢稳态。

本研究小结、创新点和不足

1 小结

妊娠后期日粮添加山竹醇可提高母猪的抗氧化能力，缓解氧化应激，这一方面可能通过降低脐带血乳酸浓度，改善母猪酸碱平衡，降低乳酸对胎儿的毒害作用，另一方面可能通过激活肝脏 Nrf2 的信号通路，提高肝脏胆汁酸的转运能力，维持母体胆汁酸代谢稳态，降低胆汁酸对胎儿的毒害作用，从而提高仔猪存活率，增加断奶窝重，改善了母猪繁殖性能。

2 创新点

本试验首次发现植物提取物活性成分山竹醇可能通过降低母猪脐带血乳酸浓度和促进母体肝脏胆汁酸转运能力，改善母猪酸碱平衡和维持母猪胆汁酸代谢稳态，进而降低乳酸和胆汁酸对胎儿的毒害作用，从而降低了仔猪的死亡率，增加了断奶窝重，改善了母猪的繁殖性能。

3 不足与展望

（1）本试验研究了妊娠后期日粮添加山竹醇处理对母猪生长性能、产仔性能、初乳组成等方面的影响，而日粮山竹醇对母猪的时间和剂量效应还需要进一步试验，若能补充相关的时间和剂量梯度动物试验，会让试验更加科学严谨。

（2）本研究未能进一步在妊娠母猪上进行验证，妊娠后期添加山竹醇是否通过激活 Nrf2 信号通路来对母猪胆汁酸代谢产生影响，从而提高母猪繁殖性能，且并未能进一步检测母猪血液生理激素浓度，并证实其对母猪繁殖性能的潜在作用。

参考文献

1. 陈嘉铭, 张志东, 战晓燕, 夏旻灏, 刘志国, 董涛, 田建兴, 叶慧, 冯定远, 左建军. 母猪饲料中添加过氧化氢酶对母猪及仔猪生长性能和抗氧化能力的影响. 动物营养学报, 2019, 31(7): 3268-3275.
2. 贺琼玉, 邵亚飞, 姚卫磊, 王同心, 夏军, 黄飞若. 饲料添加山竹醇对氧化应激仔猪生长性能、抗氧化功能及肝脏脂质合成的影响. 动物营养学报, 2019, 31(12): 5834-5845.
3. 罗嘉. 宫内发育迟缓(IUGR)猪脐带动静脉血 Exosome 中 microRNA 转录组的鉴定和表达谱分析. [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学, 2016.
4. 邵亚飞, 贺琼玉, 姚卫磊, 王同心, 夏军, 黄飞若. 山竹醇对生长育肥猪生长性能、肌肉抗氧化功能和肌纤维类型组成的影响. 动物营养学报, 2020, 32(3): 1151-1160.
5. 陶磊, 傅淑霞. 花生四烯酸与氧化应激的研究进展. 中国病理生理杂志, 2011, 27(11): 2233-2236.
6. 王岚, 尤琳浩, 常彦忠. 人体维持酸碱平衡的机制. 生物学通报, 2013, 048(002): 1-2.
7. 王朋. 母猪妊娠中后期胆汁酸代谢及其对繁殖性能的影响. [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学, 2016.
8. 吴金原, 冯长福, 黄生强. 日粮中添加过氧化氢酶对怀孕母猪繁殖性能的影响. 湖南畜牧兽医, 2017, 04(488): 23-25.
9. 肖霞. 山银花、黄芩提取物对母猪繁殖性能和后代仔猪生长性能影响及作用机制研究. [硕士学位论文]. 绵阳: 西南科技大学, 2020.
10. 袁静, 单若冰. 母亲水、电解质及酸碱平衡对胎儿及新生儿的影响. 发育医学电子杂志, 2019, 7: 105-108.
11. 周琴, 吴德, 周安国. 饲料不同能量来源及比例对妊娠后期经产母猪氮平衡的影响. 养猪, 2005(05): 9-11.
12. 张琦琦. 大豆黄酮对妊娠母猪和大鼠繁殖性能的影响及其调控机理. [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学, 2019.

13. 钟铭. 饲粮添加植物提取物对初产母猪繁殖性能的影响. [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学, 2011.
14. Abu-Hayyeh S, Papacleovoulou G, Lövgren-Sandblom A, Tahir M, Oduwale O, Jamaludin NA, Ravat S, Nikolova V, Chambers J, Selden C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy levels of sulfated progesterone metabolites inhibit farnesoid X receptor resulting in a cholestatic phenotype. *Hepatology*, 2013, 57: 716-726.
15. Al-Gubory KSH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42: 1634-1650.
16. Albera E, Kankofer M. Antioxidants in Colostrum and Milk of Sows and Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 2010, 44: 606-611.
17. Aleksunes LM. Repression of Hepatobiliary Transporters and Differential Regulation of Classic and Alternative Bile Acid Pathways in Mice During Pregnancy. *Toxicological Sciences An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2012, 130: 257.
18. Arif M, Kumar GVP, Narayana C, Kundu TK. Autoacetylation induced specific structural changes in histone acetyltransferase domain of p300: probed by surface enhanced Raman spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry B*, 2007, 111: 11877-11879.
19. Ariza-Nieto C, Bandrick M, Baidoo SK, Anil L, Molitor TW, Hathaway MR. Effect of dietary supplementation of oregano essential oils to sows on colostrum and milk composition, growth pattern and immune status of suckling pigs. *Journal of Animal Science*, 2011, 89: 1079.
20. Arrese M, Trauner M. Molecular aspects of bile formation and cholestasis. *Trends in Molecular Medicine*, 2003, 9(12): 558-564.
21. Baiceanu A, Mesdom P, Lagouge M, Foufelle F. Endoplasmic reticulum proteostasis in hepatic steatosis. *Nature Reviews Endocrinology*, 2016, 12(12): 710.
22. Bakana P, Claeys M, Totté J, Pieters L, Hoof LV, Vemba T, Van Den Berghe D, Vlietinck AJ. Structure and chemotherapeutical activity of a polyisoprenylated

- benzophenone from the stem bark of *Garcinia huillensis*. *J Ethnopharmacol*, 1987, 21(1): 75-84.
23. Balasubramanyam K, Altaf M, Varier RA, Swaminathan V, Ravindran A, Sadhale PP, Kundu TK. Polyisoprenylated Benzophenone, Garcinol, a Natural Histone Acetyltransferase Inhibitor, Represses Chromatin Transcription and Alters Global Gene Expression. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279: 33716-33726.
24. Behera AK, Swamy MM, Natesh N, Kundu TK. Garcinol and Its Role in Chronic Diseases. *Oxygen Transport to Tissue*, 2016, 928: 435-452.
25. Berchieri-Ronchi CB, Kim SW, Zhao Y, Correa CR, Yeum KJ, Ferreira ALA. Oxidative stress status of highly prolific sows during gestation and lactation. *Animal An International Journal of Animal Bioscience*, 2011, 5: 1774-1779.
26. Boyd DR, Kensinger RS, Harrell RJ, Bauman DE. Nutrient uptake and endocrine regulation of milk synthesis by mammary tissue of lactating sows. *Journal of Animal Science*, 1995, 73: 36-56.
27. Carino A, Biagioli M, Marchianò S, Fiorucci C, Bordoni M, Roselli R, Giorgio C, Baldoni M, Ricci P, Monti MC. Opposite effects of the FXR agonist obeticholic acid on Mafg and Nrf2 mediate the development of acute liver injury in rodent models of cholestasis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2020, 1865: 158733.
28. Carter J. Serum bile acids in normal pregnancy. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 1991, 98: 540-543.
29. Castañó G, Lucangioli S, Sookoian S, Mesquida M, Lemberg A, Di Scala M, Franchi P, Carducci C, Tripodi V. Bile acid profiles by capillary electrophoresis in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Clinical science*, 2006, 110: 459-465.
30. Castillo C, Hernandez J, Bravo A, Lopez-Alonso M, Pereira V, Benedito J. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 2005, 169: 286-292.
31. Champigny O, Hitier Y, Bourdel G. Possible metabolic implications of pyruvate and lactate accumulation in the liver of pregnant rats. *The Journal of nutrition*, 1980, 110: 610-617.

32. Cheng AC, Tsai ML, Liu CM, Lee MF, Nagabhushanam K, Ho CT, Pan MH. Garcinol inhibits cell growth in hepatocellular carcinoma Hep3B cells through induction of ROS-dependent apoptosis. *Food & Function*, 2010, 1: 301-307.
33. Chiang FE, Rodway RG. Determinations of umbilical cord β -endorphin concentration and blood gas parameters in newborn piglets. *Research in veterinary science*, 1997, 63: 0-111.
34. Chow EC, Maeng HJ, Liu S, Khan AA, Groothuis GM, Pang KS. 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D(3) triggered vitamin D receptor and farnesoid X receptor-like effects in rat intestine and liver in vivo. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 2010, 30: 457-475.
35. Collins HM, Abdelghany MK, Messmer M, Yue B, Heery DM. Differential effects of garcinol and curcumin on histone and p53 modifications in tumour cells. *Bmc Cancer*, 2013, 13: 37-37.
36. De RL, Downie HG. Evaluation of viability of neonatal swine. *Canadian Veterinary Journal La Revue Vétérinaire Canadienne*, 1976, 17: 275.
37. Dennis R, Mcmunn KA, Cheng HW, Marchant-Forde JN, Jr DCL. Serotonin's role in piglet mortality and thriftiness. *Journal of Animal Science*, 2014, 92: 4888-4896.
38. Dijk AJv, Lende Tvd, Taverne MAM. Acid-base balance of umbilical artery blood of liveborn piglets at birth and its relation with factors affecting delivery of individual piglets. *Theriogenology*, 2006, 66(8): 1824-1833.
39. Du T, Nagai Y, Xiao Y, Greene MI, Zhang H. Lysosome-dependent p300/FOXP3 degradation and limits Treg cell functions and enhances targeted therapy against cancers. *Experimental and molecular pathology*, 2013, 95(1): 38-45.
40. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *Journal of Cell Biology*, 2011, 194: 7-15.
41. Gjerris AC, Stær-Jensen J, Jørgensen JS, Bergholt T, Nickelsen C. Umbilical cord blood lactate: A valuable tool in the assessment of fetal metabolic acidosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2008, 139: 16-20.
42. Haddad JJE, Safieh-Garabedian B, Saadé NE, Kanaan SA, Land SC. Chemioxyexcitation (Δ pO₂/ROS)-dependent release of IL-1 β , IL-6 and

- TNF- α : evidence of cytokines as oxygen-sensitive mediators in the alveolar epithelium. *Cytokine*, 2001, 13: 138-147.
43. Henrichs J, Schenk JJ, Barendregt CS, Schmidt HG, Steegers EA, Hofman A, Jaddoe VW, Moll HA, Verhulst FC, Tiemeier H. Fetal growth from mid- to late pregnancy is associated with infant development: the Generation R Study. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 2010, 52: 644-651.
 44. Herpin P, Dividich JL, Hulin JC, Fillaut M, Bertin R. Effects of the Level of Asphyxia During Delivery on Viability at Birth and Early Postnatal Vitality of Newborn Pigs¹. *Journal of Animal Science*, 1996, 74.
 45. Hong J, Sang S, Park HJ, Kwon SJ, Su hN, Huang MT, Ho CT, Yang CS: Modulation of arachidonic acid metabolism and nitric oxide synthesis by garcinol and its derivatives. *Carcinogenesis* 2006, 27: 278-286.
 46. Horwitz William. *Official methods of analysis of AOAC International. Volume I, agricultural chemicals, contaminants, drugs/edited by William Horwitz*. Gaithersburg (Maryland): AOAC International, 2010.
 47. Hokaiwado N, Asamoto M, Tsujimura K, Hirota T, Ichihara T, Satoh T, Shirai T. Rapid analysis of gene expression changes caused by liver carcinogens and chemopreventive agents using a newly developed three-dimensional microarray system. *Cancer Science*, 2010, 95: 123-130.
 48. Holm R, Müllertz A, Mu H. Bile salts and their importance for drug absorption. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 453: 44-55.
 49. Hood VL, Tannen RL. Protection of acid–base balance by pH regulation of acid production. *New England Journal of Medicine*, 1998, 339: 819-826.
 50. Hybertson BM, Gao B, Bose SK, Mccord JM. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular Aspects of Medicine*, 2011, 32: 234-246.
 51. Ichikawa T, Li J, Nagarkatti P, Nagarkatti M, Hofseth LJ, Windust A, Cui T. American ginseng preferentially suppresses STAT/iNOS signaling in activated macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 125: 145-150.

52. Islas-Fabila P, Mota-Rojas D, Martinez-Bumes J, Mora-Medina P, M. González-Lozano, Roldan-Santiago P, Greenwell-Beare V, González-Hernández M, Vega-Manríquez X, Orozco-Gregorio H. Physiological and metabolic responses in newborn piglets associated with the birth order. *Animal Reproduction Science*, 2018, 197: 247-256.
53. Jayaprakasha GK, Sakariah KK. Determination of organic acids in leaves and rinds of *Garcinia indica* (Desr.) by LC. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 28: 379-384.
54. Jia W, Xie G, Jia W. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2018, 15(2): 111.
55. Jin SK, Xiao JY, Samuel KB. Relationship between Body Weight of Primiparous Sows during Late Gestation and Subsequent Reproductive Efficiency over Six Parities. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2016, 29(6): 768.
56. Jing Y, Ai Q, Lin L, Dai J, Jia M, Zhou D, Che Q, Wan J, Jiang R, Zhang L. Protective effects of garcinol in mice with lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced apoptotic liver injury. *International immunopharmacology*, 2014, 19: 373-380.
57. Kang Y, Sun Y, Li T. Garcinol protects against cerebral ischemia-reperfusion injury in vivo and in vitro by inhibiting inflammation and oxidative stress. *Molecular and Cellular Probes*, 2020, 54: 101672.
58. Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research & Practice*, 2014, 2014: 943162.
59. Kern FJ, Everson GT, Demark B, McKinley C, Klein PD. Biliary lipids, bile acids, and gallbladder function in the human female. Effects of pregnancy and the ovulatory cycle. *Journal of Clinical Investigation*, 1981, 68: 1229-1242.
60. Kim JY, Jo J, Leem J. Inhibition of p300 by Garcinol Protects against Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury through Suppression of Oxidative Stress, Inflammation, and Tubular Cell Death in Mice. *Antioxidants*, 2020, 9(12): 1271.

61. Kirana H, Srinivasan BP. Aqueous Extract of Garcinia Indica Choisy Restores Glutathione in Type 2 Diabetic Rats. *Journal of Young Pharmacists*, 2010, 2: 265-268.
62. Koeberle A, Northoff H, Werz O. Identification of 5-lipoxygenase and microsomal prostaglandin E2 synthase-1 as functional targets of the anti-inflammatory and anti-carcinogenic garcinol. *Biochemical Pharmacology*, 2009, 77: 1513-1521.
63. Kohen, Ron, Nyska, Abraham. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. 2002, 30(6): 620-650.
64. Lakshmi C, Kumar KA, Dennis TJ, Kumar TSSPNSS. Antibacterial Activity of Polyphenols of Garcinia Indica. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012, 73(4): 470-473.
65. Lauridsen C, Danielsen V. Lactational dietary fat levels and sources influence milk composition and performance of sows and their progeny. *Livestock Production Science*, 2004, 91: 95-105.
66. Lemoy MJM, Westworth DR, Ardesir A, Tarara RP. Reference Intervals for Preprandial and Postprandial Serum Bile Acid in Adult Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science Jaalas*, 2013, 52(4): 444-447.
67. Lennart Nordström, Siva Achanna, Keiichi Naka, Sabaratnam Arulkumaran. Fetal and maternal lactate increase during active second stage of labour. *Bjog An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 2001, 108(3): 263-268.
68. Liao CH, Ho CT, Lin JK. Effects of garcinol on free radical generation and NO production in embryonic rat cortical neurons and astrocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 2005, 329(4): 1306-1314.
69. Liu C, Ho CL, Wong FC, Sethi G, Wang LZ, Goh BC. Garcinol: Current status of its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-cancer effects. *Cancer Letters*, 2015, 362: 8-14.

70. Low JA, Panagiotopoulos C, Derrick EJ. Newborn complications after intrapartum asphyxia with metabolic acidosis in the preterm fetus. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1994, 170: 1081-1087.
71. Ma Q. Transcriptional responses to oxidative stress: Pathological and toxicological implications. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 125: 376-393.
72. Mantelingu K, Reddy BA, Swaminathan V, Kishore AH, Siddappa NB, Kumar GP, Nagashankar G, Natesh N, Roy S, Sadhale PP. Specific inhibition of p300-HAT alters global gene expression and represses HIV replication. *Chemistry & biology*, 2007, 14: 645-657.
73. Meng Q, Guo T, Li G, Sun S, He S, Cheng B, Shi B, Shan A. Dietary resveratrol improves antioxidant status of sows and piglets and regulates antioxidant gene expression in placenta by Keap1-Nrf2 pathway and Sirt1. *Journal of animal science and biotechnology*, 2018, 9: 34.
74. Moi P, Chan K, Asunis I. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91(21): 9926-9930.
75. Mosnier E, Le Floc'h, Etienne M, Ramaekers P. Reduced feed intake of lactating primiparous sows is associated with increased insulin resistance during the peripartum period and is not modified through supplementation with dietary tryptophan. *Journal of Animal Science*, 2010, 88(2): 612-625.
76. Milona A, Owen BM, Cobbald JF, Willemsen EC, Cox IJ, Boudjelal M, Cairns W, Schoonjans K, Taylor-Robinson SD, Klomp LW. Raised hepatic bile acid concentrations during pregnancy in mice are associated with reduced farnesoid X receptor function. *Hepatology*, 2010, 52: 1341-1349.
77. Muhammed M, Sarang B, Beena B, Anjali P, Lakshmi M, Prakriti N. Safety profile of 40% Garcinol from *Garcinia indicain* experimental rodents. *Toxicology Reports*, 2018, 5: 750-758.

78. Negi PS, Jayaprakasha GK. Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria by Garcinol and Garcinia indica extracts, and their Antioxidant Activity. *Journal of Food Science*, 2010, 69: FMS61-FMS65.
79. Nickelsen C, Weber T. Acid-base evaluation of umbilical cord blood: relation to delivery mode and Apgar scores. *European Journal of Obstetrics Gynecology & Reproductive Biology*, 1987, 24: 153-165.
80. Okada K, Shoda J, Taguchi K, Maher JM, Yamamoto M. Ursodeoxycholic acid stimulates Nrf2-mediated hepatocellular transport, detoxification, and antioxidative stress systems in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008, 295: 735-747.
81. Orozco-Gregorio H, Mota-Rojas D, Alonso-Spilsbury M, González-Lozano M, Trujillo-Ortega M, Olmos-Hernández SA, Sánchez-Aparicio P, Ramírez-Necoechea R, Hernández-González R, Uribe-Escamilla R. Importance of blood gas measurements in perinatal asphyxia and alternatives to restore the acid base balance status to improve the newborn performance. *American Journal of Biochemistry & Biotechnology*, 2007, 3: 131-140.
82. Padhye S, Ahmad A, Oswal N, Sarkar FH. Emerging role of Garcinol, the antioxidant chalcone from *Garcinia indica* Choisy and its synthetic analogs. *Journal of Hematology & Oncology*, 2009, 2: 38.
83. Panda V, Ashar H, Srinath S. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Garcinia indica* fruit rind in ethanol-induced hepatic damage in rodents. *Interdisciplinary toxicology*, 2012, 5: 207-213.
84. Pei-Sheng Lee, Chia-Yi Teng, Nagabhushanam Kalyanam, Chi-Tang Ho, Min-Hsiung Pan. Garcinol Reduces Obesity in High-Fat-Diet-Fed Mice by Modulating Gut Microbiota Composition. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(2): 1800390.
85. Pere MC. Maternal and fetal blood levels of glucose, lactate, fructose, and insulin in the conscious pig. *Journal of Animal Science*, 1995, 73: 2994-2999.
86. Père MC, Etienne M, Dourmad JY. Adaptations of glucose metabolism in multiparous sows: effects of pregnancy and feeding level. *Journal of Animal Science*, 2000, 78: 2933.

87. Rempel LA, Vallet JL, Nonneman DJ. Characterization of plasma metabolites at late gestation and lactation in early parity sows on production and post-weaning reproductive performance. *Journal of animal science*, 2018, 96: 521-531.
88. Rogne T, Jacobsen GW. Association between low blood glucose increase during glucose tolerance tests in pregnancy and impaired fetal growth. *Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica*, 2015, 93: 1160-1169.
89. Rooth G. Early detection and prevention of foetal acidosis. *The Lancet*, 1964, 283: 290-293.
90. Ross MG, Gala R. Use of umbilical artery base excess: Algorithm for the timing of hypoxic injury. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2002, 187: 1-9.
91. Sahu A, Das B, Chatterjee A. Polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia pedunculata*. *Phytochemistry*, 1989, 28(4): 1233-1235.
92. Sailhamer EAY, Smith EJ, Shuja F, Shults C, Liu B. Acetylation: a novel method for modulation of the immune response following trauma/hemorrhage and inflammatory second hit in animals and humans. *Surgery*, 2008, 144(2): 204-216.
93. Shen Y, Carroll J, Yoon I, Mateo R, Kim S. Effects of supplementing *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in sow diets on performance of sows and nursing piglets. *Journal of animal science*, 2011, 89: 2462-2471.
94. Song X, Vasilenko A, Chen Y, Valanejad L, Verma R, Yan B, Deng R. Transcriptional dynamics of bile salt export pump during pregnancy: mechanisms and implications in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Hepatology*, 2014, 60: 1993-2007.
95. Stanton HC, Brown LJ, Mueller RL. Interrelationships between maternal and neonatal factors and thermoregulation in fasted neonatal swine (*Sus domesticus*). *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, 1973, 44: 97-105.
96. Szklarz G. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2013, 53: 401.
97. Van AFA, Dallequin MC, Holemans K. Glucose and insulin concentration in amniotic fluid and in maternal blood in early and in late pregnancy. *Diabetes Research & Clinical Practice*, 1990, 10: 133-135.

98. Vendemiale G, Grattagliano I, Caraceni P, Caraccio G, Altomare E. Mitochondrial oxidative injury and energy metabolism alteration in rat fatty liver: effect of the nutritional status. *Hepatology*, 2010, 33: 808-815.
99. Geenes V, Chappell LC, Paul T, Seeds PJ. Association of severe intrahepatic cholestasis of pregnancy with adverse pregnancy outcomes: A prospective population-based case-control study. *Hepatology*, 2014, 59(4): 1482-1491.
100. Weerachayaphorn J, Cai SY, Soroka CJ, Boyer JL. NF-E2- related factor 2 (Nrf2) is a positive regulator of human bile salt export pump (BSEP) expression. *Hepatology*, 2009, 50: 1588.
101. Weissgerber, Tracey L, Wolfe, Larry A, Davies, Gregory A L. Serial Physiological Changes During Pregnancy: Time Course of Changes in Plasma Proteins and Electrolytes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2004, 36: 488.
102. Yamaguchi LF, Yoshimura Y, Ariga T, Saito PTM, Nakazawa H. Free radical scavenging activity and antiulcer activity of garcinol from *Garcinia indica* fruit rind. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2000, 48: 2320.
103. Yao L, Wan J, Li H, Ding J, Wang Y, Wang X, Li M. Resveratrol relieves gestational diabetes mellitus in mice through activating AMPK. *Reproductive Biology & Endocrinology Rb & E*, 2015, 13: 118.
104. Yao WL, Wang TX, Xia J, Li J, Yu XH, Huang F. Dietary Garcinol Attenuates Hepatic Pyruvate and Triglyceride Accumulation by Inhibiting P300/CBP-Associated Factor in Mid-to-Late Pregnant Rats. *The Journal of Nutrition*, 2020, 150: 231-239.
105. Yoshida K, Tanaka T, Hirose Y, Yamaguchi F, Kohno H, Toida M, Hara A, Sugie S, Shibata T, Mori H. Dietary garcinol inhibits 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue carcinogenesis in rats. *Cancer Letters*, 2005, 221: 29-39.
106. Zhang Y, Lickteig AJ, Liu J, Csanaky IL, Klaassen CD. Effects of ablation and activation of Nrf2 on bile acid homeostasis in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2020, 403: 115170.
107. Zhang Y, Li F, Wang Y. Maternal bile acid transporter deficiency promotes neonatal demise. *Nature communications*, 2015, 6(1): 1-10.

- 108.Zhao Y, Flowers WL, Saraiva A, Yeum KJ, Kim SW. Effect of social ranks and gestation housing systems on oxidative stress status, reproductive performance, and immune status of sows. *Journal of Animal Science*, 2013, 91: 5848-5858.
- 109.Zou Y, Hu M, Bao Q, Chan JY, Dai G. Nrf2 participates in regulating maternal hepatic adaptations to pregnancy. *Journal of Cell Science*, 2013, 126(7): 1618-1625.

附录 研究生在读期间发表的主要论文

1. Yao W L, Xia J , Wang T X, Li J, Huang L and Huang F(*). Garcinol promotes hepatic gluconeogenesis by inhibiting p300/CBp-associated factor in late-pregnant sows. The British Journal of nutrition, 2020.
2. Wang T X, Yao W, Xia J, Li J, Shao Y, Huang F(*). Dietary supplementation with garcinol during late gestation and lactation facilitates acid-base balance and improves the performance of sows and newborn piglets. Journal of Animal Science, 2019.
3. Zhang L, Yao W L, Xia J, Wang T, Huang F(*). Glucagon-Induced Acetylation of Energy-Sensing factors in Control of Hepatic Metabolism. Int. J. Mol. Sci. 2019, 20(8), 1885.
4. Li J, Wang T, Xia J, Yao W, Huang F(*). Enzymatic and nonenzymatic protein acetylations control glycolysis process in liver diseases. The FASEB Journal, 2019.fj-201901175R.
5. 李娟, 夏军, 王同心, 等. 不同饲料原料加工工艺对猪肠道健康的影响[J]. 猪业科学, 2020, v.37;No.299(05):67-70.
6. 贺琼玉, 邵亚飞, 姚卫磊, 夏军, 黄飞若. 山竹醇对氧化应激仔猪生长性能、抗氧化功能及肝脏脂质合成的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(12).
7. 邵亚飞, 贺琼玉, 姚卫磊, 夏军, 黄飞若. 山竹醇对生长育肥猪生长性能、肌肉抗氧化能力和 肌纤维类型组成的影响[J]. 动物营养学报, 2019.

致 谢

感谢黄飞若教授对我的传道受业解惑之恩。黄老师严谨的科研态度，力求完美的工作作风深深地影响着我，最重要的是老师积极乐观的生活态度，灵活多变的思维方式给了我很大启发。在本论文的选题、试验方案的确定、试验的开展、数据统计与分析到毕业论文的撰写、修改、定稿整个过程中，黄老师给予了大量的指导和建议。在此谨向黄老师致以诚挚的谢意和崇高的敬意。感谢您在这三年的学习和生活中给予的关心和帮助！

本论文的试验离不开湖北十堰房县武当农夫牧业有限公司对我的支持，在试验过程中秦龙山师兄给予了我很大帮助，帮助我采集数据和样品，助我顺利完成试验；感谢武当农夫牧业有限公司母猪场场长付宝、饲养员甘春雷、况力在试验过程中提供的支持和帮助。

衷心感谢动物营养与饲料科学系的彭健教授、齐德生教授、晏向华教授、马立保副教授、齐智利副教授、王艳青副教授、魏宏逵副教授、孙铝辉副教授、周忠新副教授和张妮娅副教授在我研究生期间的教导和帮助！

实验室的师兄师姐是学习路上的引路人，他们的一句提醒和点拨都会让我茅塞顿开。感谢王同心师兄、姚卫磊师兄、邵亚飞师兄、秦龙山师兄、贺琼玉师姐、张轶凤师姐在我学习过程中提出的宝贵意见和建议，以及对我生活和学习上的鼓励和帮助！感谢李娟、李晗、张黎、徐明明、张政、黄璐、张定然、徐鸿润、邢小光、吴燕等同窗和师弟师妹在三年的研究生学习中带来的感动和欢声笑语。

感谢我的家人、朋友在这三年的学习生活中给予的支持、鼓励和信任！你们的支持和鼓励是我最大的动力。

最后，再次感谢所有关心、支持和帮助我的老师、亲人、朋友！感谢华中农业大学对我的培养！愿华中农业大学的明天更加辉煌，动物营养与科学系的明天更加美好！