

刘俊栋, 刘海霞, 赵佳, 等. 挥发性脂肪酸对奶牛离体真胃平滑肌收缩的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 166-168.

挥发性脂肪酸对奶牛离体真胃平滑肌收缩的影响

刘俊栋¹, 刘海霞¹, 赵佳², 邵春艳², 李建基²

(1. 江苏畜牧兽医职业技术学院, 江苏泰州 225300; 2. 扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009)

摘要:通过手术制备离体真胃平滑肌, 利用 MedLab 生物信号采集处理系统记录平滑肌肌肉条收缩强度, 研究不同浓度挥发性脂肪酸(VFA)对奶牛真胃平滑肌收缩的影响。结果表明, 10~40 mmol/L 的乙酸能显著抑制真胃平滑肌的收缩强度($P<0.01$), 43~55 mmol/L 的乙酸能增强真胃平滑肌的收缩强度($P<0.05$), 60~75 mmol/L 的乙酸对其收缩无显著影响($P>0.05$); 9.5~30.0 mmol/L 的丙酸和 11~18 mmol/L 的丁酸能显著或极显著抑制真胃平滑肌的收缩; 0~8.5 mmol/L 的丙酸以及 0~11 mmol/L 的丁酸对其收缩无显著影响($P>0.05$)。说明 VFA 浓度对奶牛真胃平滑肌的收缩强度有显著影响。

关键词:奶牛; 真胃平滑肌; 挥发性脂肪酸; 收缩

中图分类号:S823.9⁺11 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)06-0166-02

随着奶牛集约化饲养规模的扩大和产奶量的提高, 奶牛真胃变位(Displaced of abomasums, DA)的发病率逐渐增加, 主要发生在饲喂高精料的围产期奶牛。过食精料后, 瘤胃内可产生大量的挥发性脂肪酸(Volatile fatty acid, VFA)^[1-2]。真胃中 VFA 能明显抑制真胃平滑肌的收缩, 是导致真胃迟缓的主要原因, VFA 中对动物体代谢作用最为重要的有直链乙酸、丙酸和丁酸^[3]。本试验采用生物信号采集系统来观察不同浓度的 VFA 对真胃平滑肌收缩的影响, 探讨真胃弛缓与 VFA 的关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

健康成年荷斯坦奶牛 10 头(由扬州大学农牧场提供), 体重 500~550 kg; 台氏液^[4]; U/4C501H 型 MedLab 生物信号采集处理系统; JZ101 型张力换能器; ZC-10 型智能型超级恒温水槽; 氧气袋, 乙酸, 丙酸, 正丁酸等。

1.2 试验方法

1.2.1 Medlab 生物信号采集处理系统的准备 开启 MedLab 生物信号采集处理系统, 零点设置。打开 ZC-10 型智能型超级恒温水槽, 温度设为 38℃, 使浴槽内温度保持为(38±0.5)℃。在浴槽内加入台氏液, 通入含 95% 氧气和 5% 二氧化碳的混合气体, 并维持 1 s 1~2 个气泡。

1.2.2 离体真胃平滑肌的制备 麻醉成年健康母牛, 实施手术制备离体真胃平滑肌, 将所取的离体平滑肌条在盛有台氏液的培养皿中漂洗干净, 按平滑肌纤维长度方向修剪成 1.0 cm×0.2 cm 的纵行肌条, 与张力换能器相连, 将肌条固定在含台氏液(38℃±0.5℃)的浴槽中, 并持续供给含 95%

氧气和 5% 二氧化碳的混合气体。

1.2.3 试验过程 肌条温浴(38℃±0.5℃)1 h, 记录正常真胃平滑肌自发收缩强度(g), 然后采用分离加药和累计加药的方法^[4], 向浴槽内加入试验药品, 记录肌条收缩强度, 分别观察 0~75 mmol/L 乙酸、0~30 mmol/L 的丙酸和 0~18.0 mmol/L 的丁酸对离体真胃平滑肌收缩强度的影响, 重复 10 次。

1.2.4 数据处理 以加药前 5 min 真胃平滑肌的收缩强度作为对照值, 以给药后第 2、3、4 min 的平均值作为效应值, 收缩强度的改变用变化率来表示[变化率=(效应值-对照值)/对照值×100%]; 数据以平均数±标准差表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行数据处理。

2 结果

2.1 乙酸对奶牛离体真胃平滑肌的作用

与对照(0 mmol/L 乙酸)相比, 10~40 mmol/L 的乙酸能使真胃平滑肌条的收缩强度被明显抑制, 随着浴槽中乙酸浓度的上升, 真胃平滑肌收缩强度显著降低($P<0.01$); 在 43~55 mmol/L 乙酸浓度范围内, 随着浴槽中乙酸浓度升高, 真胃平滑肌的收缩活动兴奋($P<0.05$)。60~75 mmol/L 乙酸对离体真胃平滑肌作用不明显($P>0.05$)。随着浴槽中乙酸浓度的不断升高, 真胃平滑肌的收缩平稳, 没有明显变化(表 1、表 2、表 3、表 4)。

表 1 8~20 mmol/L 乙酸对真胃平滑肌的影响($n=10$)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	0.10±0.02	14	-49.77±1.10**
8	-4.77±1.40	16	-50.23±0.90**
10	-31.36±0.90**	18	-50.91±0.70**
12	-35.00±1.40**	20	-51.14±0.70**

注: *、** 分别表示与对照组相比差异达显著($P<0.05$)、极显著水平($P<0.01$), 下同。

2.2 丙酸对奶牛离体真胃平滑肌的作用

3.0~8.5 mmol/L 的丙酸对真胃平滑肌并没有显著作用

收稿日期: 2012-12-29

基金项目: 教育部国内访问学者资助项目(编号: 200809001); 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人资助项目[编号: 苏教师(2010)27 号]。

作者简介: 刘俊栋(1973—), 男, 山东兖州人, 博士, 副教授, 主要从事动物外科及营养代谢病的研究。Tel: (0523) 86669412; E-mail: 461193245@qq.com。

表 2 21 ~ 35 mmol/L 乙酸对真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	1.00 ± 0.30	29	-34.94 ± 1.90 **
21	-21.56 ± 2.90 **	31	-36.06 ± 2.60 **
23	-22.68 ± 2.60 **	33	-33.83 ± 1.90 **
26	-30.86 ± 2.20 **	35	-36.06 ± 3.00 **

表 3 40 ~ 55 mmol/L 乙酸对离体真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	0.50 ± 0.02	49	116.15 ± 7.90 **
40	-6.19 ± 5.20 *	52	145.36 ± 6.20 *
43	17.87 ± 6.50 **	55	160.14 ± 7.20 **
46	54.98 ± 6.90 **		

表 4 60 ~ 75 mmol/L 乙酸对离体真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	0.42 ± 0.010	67	-1.47 ± 0.20
60	-0.37 ± 0.10	70	-1.83 ± 0.50
62	-0.19 ± 0.10	72	-0.18 ± 0.10
65	0 ± 0.02	75	-0.37 ± 0.03

($P > 0.05$),随着浴槽中丙酸浓度的不断升高,真胃平滑肌的收缩强度呈减弱趋势。9.5 ~ 30.0 mmol/L 的丙酸使真胃平滑肌收缩强度显著或极显著降低($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$) (表 5、表 6、表 7)。

表 5 3.0 ~ 6.0 mmol/L 丙酸对真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	-0.10 ± 0.10	4.5	-1.64 ± 0.20
3.0	-0.93 ± 0.10	5.0	-2.80 ± 0.20
3.5	-1.40 ± 0.10	5.5	-2.57 ± 0.20
4.0	-1.64 ± 0.30	6.0	-3.04 ± 0.10

表 6 7.0 ~ 12.0 mmol/L 丙酸对真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	-0.50 ± 0.04	9.5	-1.39 ± 2.90 *
7.0	1.67 ± 1.70	10.0	-17.28 ± 3.30 **
8.0	2.49 ± 2.50	11.0	-13.46 ± 3.30 **
8.5	0 ± 0.02	12.0	-14.78 ± 2.50 **

表 7 15.0 ~ 30.0 mmol/L 丙酸对真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	1.01 ± 0.02	23	-76.23 ± 1.50 **
15	2.52 ± 4.20	25	-73.84 ± 1.10 **
18	-20.00 ± 3.60 **	27	-61.26 ± 1.40 **
20	-78.24 ± 1.00 **	30	-52.83 ± 1.50 **

2.3 丁酸对奶牛离体真胃平滑肌的作用

0 ~ 10.0 mmol/L 丁酸对真胃平滑肌收缩没有明显作用($P > 0.05$),11 ~ 18 mmol/L 丁酸能使真胃平滑肌收缩强度显著降低($P < 0.01$) (表 8、表 9、表 10)。

表 8 0.5 ~ 3.5mmol/L 丁酸对真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	0.10 ± 0.02	2.0	0.97 ± 0.30
0.5	2.42 ± 0.30	2.5	2.18 ± 0.40
1.0	0.97 ± 0.40	3.0	2.18 ± 0.60
1.5	0.97 ± 0.30	3.5	0.73 ± 0.40

表 9 4.0 ~ 8.0 mmol/L 丁酸对离体真胃平滑肌的影响

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	0.30 ± 0.02	6.0	-0.78 ± 0.23
4.0	0 ± 0.02	7.0	0.26 ± 0.23
4.5	-0.26 ± 0.13	7.5	-0.26 ± 0.23
5.0	0 ± 0.18	8.0	-0.26 ± 0.21

表 10 10 ~ 18 mmol/L 丁酸对离体真胃平滑肌的影响 (n = 10)

药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)	药物浓度 (mmol/L)	收缩强度变化率 (%)
0(对照)	0.10 ± 0.38	15.0	-71.30 ± 0.80 **
10.0	0.76 ± 0.20	16.0	-77.86 ± 0.90 **
11.0	-29.92 ± 2.60 **	17.0	-84.43 ± 0.50 **
13.0	-64.12 ± 1.10 **	18.0	-86.26 ± 0.50 **

3 讨论

真胃平滑肌具有兴奋性、传导性、收缩性、自动节律性、紧张性和伸展性,并具有对化学温度和刺激敏感等特点。离体真胃平滑肌置于适宜的温度环境,仍能在一段时间内进行节律性收缩,环境中各种理化因素,如酸碱度、渗透压、一些特殊的无机盐离子、甚至生物活性物质以及供氧和牵拉等刺激,都可以改变真胃平滑肌的收缩活动,表现为收缩的节律、强度等方面的改变。本试验利用这些特性,将离体真胃平滑肌肌条置于特定环境中,单一改变某一种因素,以研究该因子对真胃平滑肌的影响。兽医学上关于 VFA 对真胃肌条的影响的研究,通常是观察乙酸、丙酸、丁酸 3 种酸混合物的影响,Gregory 等^[5]向绵羊真胃内灌注 100 mmol 的 VFA,发现其对绵羊的真胃的运动有抑制作用。Forbes 等^[6]认为这是由于大量的 VFA 形成的高渗透压对真胃的运动产生了抑制作用并进而影响动物的采食。

本试验观察到不同浓度的 VFA 对真胃平滑肌的收缩活动影响不同。10 ~ 40 mmol/L 的乙酸能抑制真胃平滑肌的收缩($P < 0.01$);43 ~ 55 mmol/L 的乙酸能增大真胃平滑肌的收缩强度($P < 0.05$);60 ~ 75 mmol/L 的乙酸对真胃平滑肌的收缩无显著影响($P > 0.05$)。试验中所取乙酸浓度跨度较大,几乎囊括了乙酸在机体内的所有生理值,这样可以观察到各种浓度乙酸对真胃平滑肌的作用。正常活体奶牛真胃液中乙酸含量为 44 mmol/L 左右,与本试验中 43 ~ 55 mmol/L 的乙酸浓度对真胃平滑肌有兴奋作用这一结果相同。3.0 ~ 8.5 mmol/L 的丙酸对真胃平滑肌的收缩并没有显著作用($P > 0.05$),9.5 ~ 30.0 mmol/L 的丙酸能显著抑制真胃平滑肌的收缩强度($P < 0.01$)。0 ~ 10.0 mmol/L 的丁酸对真胃平滑肌收缩没有明显作用($P > 0.05$),11.0 ~ 18.0 mmol/L 的丁酸能使真胃平滑肌收缩强度显著降低($P < 0.01$)。结果表明

李伟豪,王帅涛,常洪涛,等. 鸡传染性支气管炎病毒 ck/CH/HN/1205 株的分离鉴定及 *SI* 基因的分子特征[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):168-171.

鸡传染性支气管炎病毒 ck/CH/HN/1205 株的分离鉴定及 *SI* 基因的分子特征

李伟豪,王帅涛,常洪涛,刘红英,王川庆,赵 军,王新卫

(河南农业大学牧医工程学院,河南郑州 450002)

摘要:2012 年 3 月从河南省某疑似患鸡传染性支气管炎鸡场中分离到 1 株鸡传染性支气管炎病毒,通过鸡胚矮小化试验、鸡红细胞凝集试验、干扰新城疫病毒增殖试验、动物回归试验和 RT-PCR 试验对该毒株进行了鉴定,并对分离株的 *SI* 基因进行序列分析。结果显示:该毒株能使鸡胚形成典型的“侏儒胚”;病毒尿囊液经胰酶处理后可凝集鸡红细胞,效价达 2^8 ;病毒能够显著干扰鸡新城疫病毒 LaSota 株在鸡胚中的增殖;病毒可致使 15 日龄 SPF 雏鸡出现典型的鸡传染性支气管炎病变。其 *SI* 基因全长为 1 620 bp,与 GenBank 中已经发表的部分国内外毒株 *SI* 基因的核苷酸同源性在 75.6%~99.1% 之间;系统进化分析显示,分离株属于 QX-like 基因型,与疫苗株 H120、W93 的核苷酸序列同源性仅为 78.5% 和 78.3%,亲缘关系较远。

关键词:鸡传染性支气管炎病毒;分离鉴定;*SI* 基因;遗传进化分析

中图分类号: S852.65⁺7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0168-04

鸡传染性支气管炎(avain infectious bronchitis, IB)是由鸡传染性支气管炎病毒(avain infectious bronchitis virus, IBV)引起的鸡的一种急性、高度接触性传染病^[1],常给鸡养殖企业带来巨大经济损失。目前主要采用疫苗接种的方法来预防该病,但 IBV 的 RNA 聚合酶缺乏校正能力,使得 IBV 极易发生点突变,基因缺失、插入和重组等,进而导致 IBV 的变异,血清型众多^[2-3]。据报道,全世界已有 30 多个血清型,不同血清型或变异株之间交叉免疫性很低^[4]。目前,我国多个血清型/基因型的 IBV 毒株流行,但是国内广泛使用的疫苗属于马赛诸塞型(简称 Mass-type)毒株,包括 H120、H52、W93、D41 等,这就导致即使在免疫良好的情况下,鸡群依然会受 IBV 变异株的威胁。显然,在实际生产中加强 IB 的监测,以及进行 IBV 的分子流行病学等研究对于防控该病具有实际指导意义。IBV 的基因组为线状不分节段的单股正链 RNA,

其核酸有感染性,基因组大小约为 27.6 kb,该病毒含有 4 种结构蛋白,即膜蛋白(membrane, M)、小膜蛋白(small envelope, E)、核蛋白(nucleocapsid, N)和纤突蛋白(spike, S)。IBV 表面的纤突结构由 S 蛋白构成,翻译后的 S 蛋白前体蛋白在跨膜时变为 2 个蛋白亚单位,分别是 N 端的 S1 蛋白和 C 端的 S2 蛋白。S1 蛋白是 IBV 的主要免疫原蛋白,激发机体产生病毒中和(virus neutralization, VN)抗体和血凝抑制(haemagglutination inhibition, HI)抗体,病毒的组织嗜性和毒力与 S1 蛋白 N 端相关^[5-6]。S1 蛋白也是 IBV 抗原性发生变更的主要部位,因此, *SI* 基因及其编码蛋白是 IBV 研究的热点。本研究对采自河南南阳某鸡场疑似感染 IBV 鸡群的病料进行病毒分离鉴定,并对其 *SI* 基因进行测序及遗传进化分析,以了解 IBV 河南流行株的病原生物学特性、分子流行病学特征,为该病的防控奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

病料采自河南南阳某鸡场疑似感染 IBV 鸡群具有特征病变的病死鸡肾脏, -70℃ 保存;10 日龄健康鸡胚和雏鸡均购自郑州市瑞祥孵化厂;新城疫病毒(NDV) LaSota 疫苗株为笔者所在实验室保存毒株; *Taq* DNA 聚合酶、pMD18-T 载

营养学报,2005(1):1-3.

[4] 瞿颂义,郑天珍,李 伟. 缩胆囊素和促胰液素对豚鼠离体胃平滑肌运动的作用[J]. 生理学报,1995,47(3):305-309.

[5] Gregory P C, Miller S J. Influence of duodenal digesta composition on abomasal outflow, motility and small intestinal transit time in sheep [J]. J Physiol, 1989, 413:415-431.

[6] Forbes J M, Barrio J P. Abdominal chemo- and mechanosensitivity in ruminants and its role in the control of food intake[J]. Exp Physiol, 1992, 77(1):27-50.

收稿日期:2012-11-05

基金项目:国家农业科技成果转化资金(编号:2011GB2D000007)。

作者简介:李伟豪(1985—),男,河南襄城人,硕士,主要从事动物传染防治研究。E-mail:liweihao918@163.com。

通信作者:王新卫,副教授,主要从事动物传染病学与免疫学研究。E-mail:xinweicli@126.com。

奶牛真胃中不同 VFA 种类和浓度对抑制真胃平滑肌的收缩强度影响不同。

参考文献:

- [1] 徐占云,秦睿玲,李继连. 奶牛皱胃异位发病因素的调查[J]. 中国兽医杂志,2008,44(3):68-70.
- [2] Geishauser T, Duffield L. Prevention and prediction of displaced abomasums in dairy cows[J]. Bovine Pract, 2000, 34:51-55.
- [3] 郭冬生,彭小兰. 反刍动物挥发性脂肪酸消化代谢规律刍议[J].