

# 不同油脂对瘤胃原虫、 细菌蛋白质及 DNA 影响的研究

拟豪杰, 钱金花, 李丹枫, 王梦芝\*

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

**摘要:** 试验旨在研究饱和程度不同的油脂对瘤胃原虫、细菌蛋白质及 DNA 的影响。试验以 3 头瘦管山羊提供瘤胃液, 设置对照组、花生油、菜油、玉米油和豆油等进行体外培养 0、4、8、16、24 h 取样, TCA 法测定原虫与细菌的蛋白质, 二苯胺显色法测定其 DNA。结果表明: 除细菌蛋白外, 细菌 DNA、原虫蛋白和 DNA、微生物蛋白和 DNA、原虫/细菌区系等指标的均值在组间差异都不显著 ( $P>0.05$ ), 但各项指标随培养时间延长在取样时点间都有显著或极显著的纵向差异 ( $P<0.05$ 、 $P<0.01$ )。各组微生物蛋白或 DNA 在数值上的高低顺序基本一致, 皆为豆油>玉米油>花生油>对照组>菜籽油; 而原虫/细菌则以对照组最高, 菜籽油组次之, 玉米油、豆油组较低。相关分析表明, 细菌蛋白与 DNA 间、微生物蛋白与 DNA 间皆相关显著 ( $2\text{-tail}<0.05$ )。

**关键词:** 油脂; 原虫; 细菌; DNA; 蛋白质; 山羊

中图分类号: S827.5

文献标识码: A

文章编号: 0258-7033(2011)11-0033-05

瘤胃微生物的种类繁多、代谢方式多样, 其类群结构的变化往往导致瘤胃发酵模式的变化, 可能导致饲料利用与转化效率改变。瘤胃调控的目的实质上是提高纤维类物质的降解率、增加 VFA 产量并优化其比例、提高微生物蛋白的合成量与效率, 以减少饲料能量和氮源的发酵的损失, 而最终提高宿主动物的生产力和饲料利用效率。油脂是反刍动物生产中的能量饲料, 同时由于细菌、原虫、真菌和甲烷菌等各区系对油脂的响应不一, 如无体壁的原虫对油脂较其他微生物更为敏感<sup>[1]</sup>, 因此油脂能够在一定程度上调控瘤胃微生物区系结构和饲料发酵模

式。以往的研究与生产中瘤胃微生物生物量常用微生物粗蛋白来表征, 但近年研究表明, 微生物蛋白含量常常由于其自身生长阶段、外界理化与营养环境等多因素的影响<sup>[2]</sup>而有所变动, 进而影响了微生物生物量测定的客观性。而微生物 DNA 含量则相对稳定, 并且容易测定, 可作为较好的微生物生物量表征指标。关于油脂对微生物影响的研究多以发酵模式、纤维素降解率、甲烷产量等为主<sup>[3-4]</sup>, 而关于油脂影响微生物 DNA 方面的研究报道较为鲜见, 又鉴于油脂对瘤胃微生物的影响与其饱和程度密切相关, 因此, 本试验拟选择添加 4 种饱和程度不同的植物油脂, 测定培养过程中原虫和细菌蛋白质、DNA 等的动态变化, 以研究饱和程度不同油脂对原虫、细菌区系影响的规律和机制, 为油脂作为瘤胃调控剂调节区系结构、促进发酵、提高饲料利用效率提供参考, 同时也为反刍动物瘤胃微生态调控技术的研

收稿日期: 2010-02-05; 修回日期: 2010-11-24

资助项目: 国家自然科学基金(37072051); 扬州大学青年教师培育基金(2010CXJ054); 扬州大学 2010 大学生科技创新基金;

作者简介: 拟豪杰(1989-), 女, 江苏启东人, 学士

\* 通讯作者

goats. The five groups of cashmere goats were fed with three levels of protein(7.7%, 9.4% and 11.2%) and three levels of energy(7.6, 8.6 and 9.6 MJ/kgDM). The results showed that different dietary energy levels had significant ( $P<0.05$ ) effect on cashmere diameter, but no significant ( $P>0.05$ ) effect on cashmere length and intensity; Different dietary protein levels had no significant ( $P>0.05$ ) on cashmere quality; A significant ( $P<0.05$ ) positive correlation was found between dietary energy level and energy metabolic rate. And the protein metabolic rate increased with the increasing in energy levels ( $P<0.05$ ); A significant ( $P<0.05$ ) positive correlation was found between dietary protein level and protein metabolic rate, but different dietary protein levels had no significant ( $P>0.05$ ) effect on energy metabolic rate. Therefore, the appropriate levels of energy and protein for Liaoning cashmere goats are 17.1 MJ/kgDM(DM basis) and 81.0 g/kgDM(DM basis)。

**Key words:** protein; energy; metabolic rate; cashmere performance; Liaoning cashmere goats

究提供基础资料。

## 1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养管理 在扬州大学农牧场选择3只装有瘤胃瘘管、年龄(1.5岁)、体重(29.7 ± 01.4)kg基本一致的徐淮白山羊,用于采集瘤胃液。试验羊分单舍、以玉米+豆粕+羊草为日粮常规饲养,07:00、19:00分2次饲喂,自由清洁饮水。

1.2 试验设计与培养底物 试验分不加油脂的对照组、A(菜籽油)、B(豆油)、C(玉米油)、D(花生油)5组,采用单因子的设计进行试验,各3重复,另外设一空白对照。底物组成为淀粉19%、酪蛋白10%、纤维素67%,另外A~D分别添加4%不同油脂,菜籽油、豆油、玉米油、花生油实测碘价分别为94.1、114.5、131.3、143.7。

1.3 体外培养与取样设计 参考Menke等<sup>[5]</sup>的方法。配制好培养液(人工唾液盐:瘤胃液=2:1),充CO<sub>2</sub>、39℃水浴预热。按照试验设计准确称取2.0 g底物置于培养瓶中,加入150 mL培养液。通CO<sub>2</sub>、39℃恒温水浴震荡培养。分别在培养后0、4、8、16、24 h取样,每次取约20 mL,分装于2只离心管,立即采用差速离心法分离瘤胃混合微生物得到细菌和原虫。其中1只离心管得到的细菌与原虫进行细菌与原虫的蛋白质测定;另1只离心管得到的细菌与原虫用于细菌与原虫的DNA测定。

### 1.4 测定指标及方法

1.4.1 微生物分离 采用差速离心法分离细菌与原虫,参照本实验室的具体步骤<sup>[9]</sup>进行操作。

1.4.2 原虫和细菌蛋白质测定 参照本实验室的TCA法<sup>[6]</sup>测定分离后原虫和细菌蛋白。

1.4.3 原虫和细菌DNA的测定 微生物体内DNA所

占比例较RNA或蛋白质等成分更为恒定,利用微生物的DNA量来代表微生物的总量更科学。DNA二苯胺显色后在40~400 μg/mL间其595 nm处的吸光度呈线性关系,据此将待测样品稀释至线性范围内测定其光密度值,再据标准品测定得到的标准曲线即可查得样品浓度。微生物DNA测定采用二苯胺显色法,参照赵亚华<sup>[7]</sup>的步骤。制备小牛胸腺DNA钠盐(生工)标准溶液,设置至少6个梯度,绘制以DNA量为横坐标,吸光度值为纵坐标的标准曲线。以样品的光密度值从标准曲线上查出相对应DNA含量。

1.5 统计分析 Excel整理数据,用SPSS v16.0软件中compare mean的One-Way-ANOVA过程进行方差分析和Tukey多重比较;Correlate过程的bivariate进行变量相关性分析。

## 2 结果与分析

2.1 对微生物蛋白与DNA的影响 从表1可知,4个油脂组原虫蛋白均略低于对照组( $P>0.05$ )。细菌蛋白以D组显著高于对照组( $P<0.05$ ),豆油>玉米油>花生油>对照组>菜籽油;各组细菌DNA顺序同蛋白质。总的微生物蛋白以D组最高、B组最低( $P>0.05$ ),顺序与细菌蛋白一致。原虫蛋白质与细菌蛋白质区系的比例在组间差异皆不显著( $P>0.05$ ),对照组>菜籽油>花生油>玉米油>豆油。原虫DNA/细菌DNA表征的微生物区系比例以对照组最高,C组较低( $P>0.05$ )。各类微生物的DNA浓度绝对值都较蛋白质低;但原虫与细菌却以DNA表征的区系为高,高出以蛋白质表征的区系比约15%左右。

2.2 原虫DNA、细菌DNA的动态变化 如表2所示,各组原虫DNA、细菌DNA在培养开始后随时间延长呈上升趋势,至16 h后保持平稳或有所下降,原虫在

表1 油脂对培养液微生物区系的影响

项 目	对照组	A 花生油	B 菜籽油	C 玉米油	D 豆油	标准误	概率
原虫蛋白/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0.295±0.007	0.280±0.014	0.280±0.014	0.280±0.014	0.285±0.021	0.015	0.811
原虫 DNA/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0.010±0.003	0.009±0.003	0.008±0.002	0.010±0.003	0.010±0.003	0.001	0.411
细菌蛋白/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0.475±0.007 <sup>b</sup>	0.490±0.000 <sup>ab</sup>	0.465±0.021 <sup>b</sup>	0.495±0.014 <sup>ab</sup>	0.520±0.014 <sup>a</sup>	0.012	0.039
细菌 DNA/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0.025±0.008	0.026±0.008	0.023±0.008	0.027±0.009	0.028±0.010	0.003	0.541
微生物蛋白/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0.770±0.014	0.770±0.014	0.745±0.035	0.775±0.021	0.810±0.028	0.024	0.254
微生物 DNA/(mg·mL <sup>-1</sup> )	0.034±0.010	0.034±0.011	0.031±0.010	0.037±0.012	0.038±0.013	0.004	0.518
原虫 Pr /细菌 Pr	0.621±0.006	0.571±0.029	0.602±0.003	0.566±0.02	0.548±0.026	1.982	0.067
原虫 DNA/细菌 DNA	0.782±0.090	0.733±0.082	0.742±0.121	0.727±0.065	0.736±0.083	0.033	0.485

注:同行数据肩标相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ ),相邻字母表示差异显著( $P<0.05$ ),相隔字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。下表同

表2 培养液原虫DNA、细菌DNA的动态变化

项目	0 h	4 h	8 h	16 h	24 h	标准误	概率
<b>原虫 DNA</b>							
对照	0.005±0.000 <sup>d</sup>	0.009±0.000 <sup>e</sup>	0.011±0.001 <sup>b</sup>	0.012±0.00 <sup>a</sup>	0.010±0.000 <sup>bc</sup>	0.00032	0
A 花生油	0.005±0.000 <sup>d</sup>	0.009±0.000 <sup>e</sup>	0.011±0.001 <sup>bc</sup>	0.012±0.001 <sup>a</sup>	0.010±0.000 <sup>c</sup>	0.00032	0
B 菜籽油	0.005±0.000 <sup>b</sup>	0.009±0.000 <sup>a</sup>	0.009±0.001 <sup>a</sup>	0.010±0.001 <sup>a</sup>	0.009±0.001 <sup>a</sup>	0.00042	0
C 玉米油	0.005±0.000 <sup>e</sup>	0.009±0.000 <sup>b</sup>	0.011±0.001 <sup>b</sup>	0.013±0.001 <sup>a</sup>	0.011±0.001 <sup>ab</sup>	0.0006	0
D 豆油	0.005±0.000 <sup>e</sup>	0.009±0.000 <sup>b</sup>	0.012±0.001 <sup>a</sup>	0.013±0.001 <sup>a</sup>	0.012±0.001 <sup>a</sup>	0.00037	0
<b>细菌 DNA</b>							
对照	0.011±0.001 <sup>c</sup>	0.022±0.001 <sup>b</sup>	0.031±0.002 <sup>a</sup>	0.031±0.001 <sup>a</sup>	0.029±0.001 <sup>a</sup>	0.00076	0
A 花生油	0.011±0.001 <sup>c</sup>	0.022±0.001 <sup>b</sup>	0.031±0.002 <sup>a</sup>	0.031±0.001 <sup>a</sup>	0.029±0.001 <sup>a</sup>	0.00076	0
B 菜籽油	0.010±0.001 <sup>c</sup>	0.020±0.002 <sup>b</sup>	0.029±0.001 <sup>a</sup>	0.029±0.001 <sup>a</sup>	0.027±0.001 <sup>a</sup>	0.00092	0
C 玉米油	0.011±0.001 <sup>d</sup>	0.025±0.001 <sup>c</sup>	0.032±0.001 <sup>b</sup>	0.035±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>b</sup>	0.00063	0
D 豆油	0.011±0.001 <sup>c</sup>	0.025±0.001 <sup>b</sup>	0.034±0.001 <sup>a</sup>	0.036±0.001 <sup>a</sup>	0.035±0.001 <sup>a</sup>	0.00073	0
<b>微生物 DNA</b>							
对照	0.016±0.001 <sup>d</sup>	0.031±0.001 <sup>c</sup>	0.042±0.002 <sup>ab</sup>	0.043±0.001 <sup>a</sup>	0.039±0.001 <sup>b</sup>	0.00097	0
A 花生油	0.016±0.001 <sup>d</sup>	0.031±0.001 <sup>c</sup>	0.042±0.002 <sup>ab</sup>	0.043±0.001 <sup>a</sup>	0.039±0.001 <sup>b</sup>	0.00097	0
B 菜籽油	0.015±0.001 <sup>c</sup>	0.028±0.002 <sup>b</sup>	0.038±0.002 <sup>a</sup>	0.039±0.002 <sup>a</sup>	0.036±0.002 <sup>a</sup>	0.00132	0
C 玉米油	0.016±0.001 <sup>d</sup>	0.034±0.001 <sup>c</sup>	0.043±0.002 <sup>b</sup>	0.047±0.002 <sup>a</sup>	0.043±0.001 <sup>b</sup>	0.00105	0
D 豆油	0.015±0.001 <sup>c</sup>	0.034±0.001 <sup>b</sup>	0.045±0.002 <sup>a</sup>	0.049±0.000 <sup>a</sup>	0.047±0.001 <sup>a</sup>	0.00091	0
<b>原虫/细菌</b>							
对照	0.865±0.039 <sup>a</sup>	0.871±0.030 <sup>b</sup>	0.681±0.025 <sup>a</sup>	0.804±0.032 <sup>a</sup>	0.686±0.020 <sup>b</sup>	0.0245	0
A 花生油	0.814±0.089 <sup>ab</sup>	0.821±0.014 <sup>a</sup>	0.679±0.011 <sup>c</sup>	0.700±0.031 <sup>b</sup>	0.653±0.030 <sup>c</sup>	0.0365	0.002
B 菜籽油	0.875±0.034 <sup>a</sup>	0.890±0.029 <sup>a</sup>	0.643±0.023 <sup>b</sup>	0.659±0.014 <sup>b</sup>	0.641±0.025 <sup>b</sup>	0.0209	0
C 玉米油	0.807±0.020 <sup>a</sup>	0.755±0.026 <sup>ab</sup>	0.687±0.041 <sup>b</sup>	0.731±0.061 <sup>ab</sup>	0.653±0.042 <sup>b</sup>	0.0332	0.008
D 豆油	0.876±0.038 <sup>a</sup>	0.747±0.026 <sup>b</sup>	0.693±0.031 <sup>b</sup>	0.704±0.038 <sup>b</sup>	0.660±0.029 <sup>b</sup>	0.0268	0

注:微生物DNA为原虫DNA和细菌DNA之和

16 h时最高、细菌则在8或16 h时最高,显著高于0 h或4 h( $P<0.05$ 、 $P<0.01$ )。处理间比较,原虫DNA、细菌DNA在培养前期处理间的差异都不大,但在16 h后玉米油、豆油组较高。随时间的延长微生物DNA呈上升趋势,至16 h后又有所下降,16 h时显著高于0 h或4 h( $P<0.05$ 、 $P<0.01$ )。处理间比较,微生物DNA在4 h后都以玉米油、豆油组较高,有利于微生物总量的提高。原虫/细菌区系的动态变化较为复杂,各组基本都在培养开始后下降,至8 h为最低( $P>0.05$ ),8~16 h间呈现上升趋势,但在16 h后又出现下降趋势。另外,各组的变化幅度也不尽一致,其中以对照组原虫/细菌区系最高,并持续在比油脂试验组高的水平上波动;其次以玉米油、花生油等组的原虫/细菌区系较高,而豆油与菜籽油组的该指标较低。

2.3 蛋白质指标与DNA指标的相关性分析 由表3可知,细菌蛋白质与细菌DNA、微生物蛋白质与微生物DNA的皮尔逊(Pearson)相关系数为0.9515、0.9051,相关皆极显著(2-tail $<0.05$ );而原虫蛋白质与原虫DNA的相关性不显著(2-tail $>0.05$ )。原虫蛋白质/细菌蛋白质与原虫DNA/细菌DNA的Pearson相关系数为0.8506,有一定相关性,但未达显著水平(2-tail=0.0678)。

表3 蛋白质指标与DNA指标的相关性分析 (n=15)

项目	蛋白质 & DNA			
	原虫	细菌	微生物	原虫/细菌
皮尔逊相关系数	0.5145	0.9515*	0.9051*	0.8506
两尾显著性	0.3751	0.0127	0.0346	0.0678

注:\*为相关显著(2-tail $<0.05$ )

### 3 讨论

3.1 油脂对微生物区系及其动态变化的影响 油脂在瘤胃中酯解后游离脂肪酸的不饱和键会抑制原虫和部分细菌<sup>[8-9]</sup>,从而调控微生物的生物量、区系结构和发酵模式。本研究中各组原虫DNA、细菌DNA及其比例等在组间均无显著差异;但不同培养时间点各组都表现出显著或极显著的纵向差异。这是由于细菌与原虫适应性的不同而导致其复杂的区系动态变化。如在培养开始后,原虫/细菌区系比例基本都下降,这可能是由于培养之初,游离的饱和或不饱和脂肪酸对体壁较薄的原虫的影响大于细菌所致<sup>[1]</sup>;培养至8 h后呈现上升趋势,可能是由于原虫的适应性增强或者是细菌(食物)的增加使得原虫繁殖相对迅速而导致群体增加<sup>[10]</sup>;但在16 h后由于原虫的自溶现象较细菌严重而又出现了区系比例下降的趋势<sup>[11]</sup>。

而且,不同油脂组其变化幅度不同,以对照组最高,并持续在比油脂组高的水平上波动,表明油脂降低了原虫/细菌的区系比例。油脂组以玉米油、花生油等组的原虫/细菌区系比例较高,而豆油与菜籽油组的较低,表明不同油脂对微生物区系的调节效应不同,并以不饱和程度高的豆油效果较好。同时豆油组各时间点总微生物DNA都较高,其原因可能是该组对原虫量与活性抑制适度,降低其对细菌的吞噬量,而有利于微生物总量的提高。

由本研究微生物DNA及其区系比例组间差异不显著,但时间点间有显著或极显著变化的结果可知,培养过程中微生物区系及活力等都发生了复杂的变化。提示要研究体系中微生物真实、客观情况不仅要考察其均值或终点值,还要监控其动态变化;同时也表明,可能在不影响微生物产量的情况下,通过改变微生物区系而调控其发酵模式。

**3.2 微生物DNA指标与蛋白质指标比较** 生物量的表示常用总计数或生物的某成分,但要求该成分易测且含量相对稳定。瘤胃微生物生物量常用微生物细胞数、干重、粗蛋白、DNA、RNA等表示。由于微生物蛋白质是宿主小肠重要的蛋白源,且在以往的研究与生产中认为微生物的AA-N在N中是恒定的,研究中常以粗蛋白的方式来表示。但近年来发现,由于微生物本身、瘤胃理化环境、营养储存与代谢方式等多因素的影响<sup>[2]</sup>,微生物体N含量、AA-N含量乃至AA的组成比例并非恒定<sup>[12]</sup>。如Bach等<sup>[13]</sup>综合多项研究指出AA-N比例是可变的。因此采用微生物蛋白表征微生物量,可能不能反映出其真实生物量,而将影响相关研究结果的客观性。相对来讲,微生物DNA含量较为稳定,如研究认为在微生物的快速生长期RNA的增长最快,蛋白质次之,DNA最慢<sup>[14]</sup>。结合微生物DNA的含量相对稳定、容易测定,并且测定需样品量少等特点,可作为较好的微生物表征指标。

在本研究中,各个指标的DNA与蛋白质在组间的顺序基本一致,蛋白质指标与DNA指标的相关性分析也表明,细菌和微生物蛋白质与它们的DNA间相关皆极显著,证实了上述分析,表明DNA表征微生物量的可行性与可靠性。但也发现原虫蛋白与DNA间相关性较弱,这可能由于瘤胃内繁多种类的原虫其进化程度、体型大小相差都较大,而可能导致其体N、AA含量有种属、个体、体型等的特异性,而其DNA含量则较为恒定所致。相关研究已表明,原虫体氮

约占干物质的3.8%~7.8%(AA-N 70%~80%,DNA-N 2.5%,RNA-N 8.7%,无机N 5%~10%)<sup>[15]</sup>,其中AA-N的变化幅度较大。另外,从数值上来看,各类微生物DNA浓度绝对值都较蛋白浓度绝对值为低,这是由于微生物N中的DNA-N较AA-N为低所致。但原虫与细菌比却以DNA表征的高,推测可能是由于原虫、细菌等其体AA-N、DNA-N的相对含量不同所致,其具体原因有待进一步试验研究与阐明。

## 4 结 论

4.1 不同的油脂虽没有显著改变细菌、原虫、微生物等生物量的均值,但对培养过程中原虫、细菌区系的生物量及其比例都有显著影响,以豆油组微生物蛋白或DNA较高。

4.2 细菌蛋白与DNA间、微生物蛋白与DNA间皆相关显著,微生物DNA是易测、检测需样量少的较好的表征微生物生物量的指标。

### 参考文献:

- [1] Dijkstra J, Gerrits W J J, Bannink A, *et al.* Modelling Lipid Metabolism in the Rumen [M]. In: Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals. McNamara J P, France J, Beever D E. (eds). Publisher: CABI Publishing, 2000.
- [2] Shahab N, Flett F, Oliver S G, *et al.* Growth rate control of protein and nucleic acid content in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Escherichia coli* B/r [J]. *Microbiology*, 2004, 142:1927-1935.
- [3] Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, *et al.* Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation [J]. *J Dairy Sci*, 2005, 88:4393-4404.
- [4] Jac D, Certik M, Kundrikova K, *et al.* Effect of microbial oil and fish oil on rumen fermentation and metabolism of fatty acids in artificial rumen[J]. *Czech J Anim Sci*, 2009, 54(5):229-237.
- [5] Menke K H, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid[J]. *Anim Res Dev*, 1988, 28:7-55.
- [6] Wang M Z, Wang H R, Li G X, *et al.* Effects of limiting amino acids on the rumen fermentation and microbial community in vitro[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 7(12):1524-1531.
- [7] 赵亚华. 生物化学与分子生物学实验技术教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005.
- [8] Kucuk O, Hess B W, Rule D C. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs[J]. *J Anim Sci*, 2004, 82:2985-2994.

- [9] Sallam S M A, Bueno I C S, Brigide P, *et al.* Efficacy of eucalyptus oil on in vitro ruminal fermentation and methane production. *Options Méditerranéennes [J]. Nutr Foraging Ecol Sheep Goats*, 2009, Series A (85):267-272.
- [10] Nhan N T H, Ngu N T, Thiet N, *et al.* Determination of the optimum level of a soybean oil drench with respect to the rumen ecosystem, feed intake and digestibility in cattle [J]. *Livest Res Rural Dev*, 2007, 19(8).
- [11] Erten H, Tanguler H, Cakiroz H. The effect of pitching rate on fermentation and flavour compounds in high gravity brewing[J]. *J InstBrew*, 2007, 113(1):75-79.
- [12] Boguhn J, Kluth H, Rodehutsord M. Effect of total mixed ration composition on amino acid profiles of different fractions of ruminal microbes in vitro[J]. *J Dairy Sci*, 2006, 89:1592-1603.
- [13] Bach A, Calsamiglia S, Stern M D. Nitrogen metabolism in the rumen[J]. *J Dairy Sci*, 2005, 88:E9-E21.
- [14] Bremer H, Dennis P P. Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate [M]. In: *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology*. Neidhardt F C, Ingraham J, Low K B, Magasanik B, Schaechter M, Umberger H E (eds), Washington D C: Microbiology, 1987: 1527-1542.
- [15] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2004.

### Effects of Different Oils on the Protein and DNA of Ruminal Protozoa and Bacteria *in Vitro*

NI Hao-jie, QIAN Jin-hua, LI Dan-feng, SHAO Lian-qing, WANG Meng-zhi\*

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Jiangsu Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** The objectives of this study were to investigate the effects of different oils on the protein and DNA of ruminal protozoa and bacteria *in vitro*. 3 Xuhuai White Goats with permanent cannulas were used to provide rumen liquor, *in vitro* culture were carried out by adding peanut oil, rapeseed oil, corn oil, and soybean oil respectively, with a set of control group (no oil). The results showed that, except for bacterial protein, no significant differences were found in the mean value of bacterial DNA, protozoal protein, protozoal DNA, microbial protein, microbial DNA, and protozoa to bacteria ratio ( $P>0.05$ ), while significant differences were detected in all above indexes between sampling points according to culture time ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Additionally, the levels in turn of microbial protein and DNA were similar, there were, soybean oil > corn oil > peanut oil > control group > rapeseed oil; Whereas, protozoa to bacteria ratio of control group was the highest, followed by that of rapeseed oil, and protozoa to bacteria ratio in corn oil, or soybean oil, were relatively lower. Furthermore, correlation analysis showed that, good correlations existed between bacterial protein and DNA, also between microbial protein and DNA (2-tail<0.05).

**Key words:** oil; protozoa; bacteria; DNA; protein; goat

(上接第 17 页)

**Abstract:** The  $\beta_3$ -adrenergic receptor (ADRB3) is a G-protein coupled receptor involved in regulating lipolysis and homeostasis. Based on the amino acids (AA) and nucleic acid sequences released by NCBI, the protein structure of ADRB3 in sheep and molecular evolution of its gene in 14 vertebrate animals were analyzed with bioinformatic software and internet resource aiming at analyzing expression and regulation of ADRB3 gene. Results showed that ADRB3 protein contained a 50-AA signal peptide. It was an unstable hydrophobicity membrane protein and had a structure with seven transmembrane domains. The secondary structure was composed of alpha helix (23.95%), extended strand (20.49%) and random coil (55.56%). The molecular evolution analysis revealed that the 14 vertebrates were divided into two major branches, in which, rainbow trout formed one branch alone, and the remaining 13 mammals formed another branch. This phylogenetic tree was consistent well with recognized evolutionary relationship among these species. As revealed by the positive selection results, natural selection may have much influence on ADRB3 gene.

**Key words:** ADRB3 gene; protein; molecular evolution; selection; sheep