

网络出版时间:2015-05-11 15:02

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.06.002

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150511.1502.002.html>

日粮钙水平对仔猪成骨细胞活性和 胫骨性能的影响

邹磊,冀红芹,刘禹含,孙会,秦贵信

(吉林农业大学 动物科技学院,动物生产及产品质量安全教育部重点实验室,
吉林省动物营养与饲料科学重点实验室,吉林 长春 130118)

【摘要】【目的】研究日粮钙水平对仔猪血清碱性磷酸酶活性、骨钙素质量浓度、血清钙浓度及胫骨钙含量和密度的影响,为钙调控仔猪成骨细胞活性提供依据。【方法】采用单因子完全随机分组设计,将 60 头杜长大仔猪(体重 21.8 ± 2.1 kg)分成 6 个处理,每处理设 10 个重复,每重复 1 头猪。各处理分别饲喂钙水平为 0.30%,0.45%,0.60%,0.75%,0.90% 和 1.05% 的玉米-豆粕型日粮。预饲期为 7 d,正式试验期 28 d,并在正式试验的 14 和 28 d 屠宰仔猪,测定其血清钙浓度、血清活性标志物碱性磷酸酶活性和骨钙素质量浓度及胫骨钙含量和密度,分析钙水平对仔猪成骨细胞活性和胫骨性能的影响。【结果】随着日粮钙水平的提高,血清碱性磷酸酶活性呈先减小后增大的趋势($P < 0.05$),且在日粮钙水平为 0.75% 时出现最小值;血清骨钙素质量浓度呈先增大后减小的趋势($P < 0.05$),且在钙水平为 0.75% 时达到最大($P < 0.05$);日粮钙水平对血清钙浓度无显著影响($P > 0.05$),但对胫骨钙含量、脱脂胫骨干质量、胫骨灰分含量、胫骨密度 4 项胫骨性能指标影响显著($P < 0.05$),且在日粮钙水平为 0.75% 时,各项胫骨性能指标均达到最大。【结论】日粮钙水平为 0.75% 时,仔猪胫骨中成骨细胞的矿化作用最大,增殖活性最小。

【关键词】 仔猪;日粮钙水平;成骨细胞活性;血清钙;胫骨性能

【中图分类号】 S828.4⁺¹

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2015)06-0021-07

Effects of dietary calcium level on osteoblast activity and tibia performance of piglets

ZOU Lei,JI Hong-qin,LIU Yu-han,SUN Hui,QIN Gui-xin

(College of Animal Science and Technology,Key Lab of Animal Production and Safety of Ministry of Education,
Jilin Key Lab of Animal Nutrition and Feed Science,Jilin Agricultural University,Changchun,Jilin 130118,China)

Abstract: 【Objective】The effects of different calcium levels on calcium content in bones,serum alkaline phosphatase concentration,serum osteocalcin concentration,serum calcium concentration,calcium content in tibia and BMD of tibia of piglets were investigated to provide theoretical basis for using calcium levels in dietary to adjust osteoblast activity of piglets. 【Method】The completely randomized design was adopted and a total of 60 experimental piglets with similar body weights (21.8 ± 2.1 kg) were randomly allotted into 6 treatments with 10 repetitions in each treatment and one pig was a repetition. Piglets were fed diets with six different calcium levels (0.30%,0.45%,0.60%,0.75%,0.90% and 1.05%) randomly in a single factorial arrangement. The preparation trial period was 7 d,and the trial period was 28 d. The serum alkaline phosphatase concentration,serum osteocalcin concentration,serum calcium concentration and tibia

【收稿日期】 2013-12-09

【基金项目】 国家公益性行业(农业)科研专项(200903006)

【作者简介】 邹磊(1986—),男,吉林长春人,硕士,主要从事肉猪营养与饲料研究。E-mail: zoulei2011@sina.com

【通信作者】 孙会(1962—),男,吉林省吉林市人,教授,博士,硕士生导师,主要从事肉猪营养与饲料研究。
E-mail: hui1688@163.com

performance were measured at d14 and d28 to investigate the effects of calcium level on ossification of osteoblasts and tibia performance. 【Result】 Alkaline phosphatase concentration in serum decreased at first and increased subsequently with the increase of dietary calcium level, and the lowest value was observed in 0.75% group ($P<0.05$). Osteocalcin concentration in serum was contrary to alkaline phosphatase, and it reached the peak in 0.75% group ($P<0.05$). Calcium content in serum of piglets had no significant difference with the increase of dietary calcium ($P>0.05$), but the effects on calcium content of tibia, dry weight of defatted tibia, ash content in defatted tibia and BMD of tibia were significant ($P<0.05$) with the highest values in 0.75% group ($P<0.05$). 【Conclusion】 When the calcium level was 0.75%, ossification of osteoblasts in tibia was the greatest and the activity was the minimum.

Key words: piglets; calcium level of diet; osteoblast activity; serum calcium concentration; tibia performance

钙是动物生长所必需的矿物质营养元素。在动物体内,钙能调节肌肉和神经的兴奋性,维持体液的酸碱平衡等,更重要的是其参与着动物骨骼的新陈代谢过程。大量研究表明,钙水平的不同会影响动物的骨骼性能和血液生化指标^[1-2],因此钙是配制猪日粮时应考虑的重要因素之一^[3]。作为动物骨形成作用及骨重建作用的主要功能性细胞,成骨细胞本身可合成、分泌多种生长因子,并以自分泌的方式调节自身的代谢、增殖和分化,其中成骨细胞自身分泌的碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)和骨钙素(Osteocalcin, OCN)是评价成骨细胞活性的重要指标。本试验研究了在日粮中添加不同剂量钙对仔猪血清 ALP 活性、OCN 质量浓度和血清钙浓度及胫骨性能的影响,旨在为钙调控仔猪成骨细胞的活性研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验采用单因子随机分组设计。将 60 只健康状况良好的杜长大仔猪按平均体质量(21.8 ± 2.1) kg 随机分为 6 个处理,每处理 10 个重复,单圈饲养。6 个处理分别饲喂钙水平为 0.30%, 0.45%, 0.60%, 0.75%, 0.90%, 1.05% 的试验日粮,各日粮的配方组成见表 1。试验时间 35 d,前 7 d 为预饲期,后 28 d 为正式试验期。试验在吉林农业大学养殖基地进行,试验期间仔猪自由采食,鸭嘴式饮水器自由饮水,按常规的免疫程序免疫。喂料量以仔猪吃饱后略有剩余为准,记录采食量。各组的试验条件均保持一致。

表 1 不同钙水平试验日粮的配方组成(风干基础)
Table 1 Composition of different calcium level diet (air-dry basis)

组成 Component	日粮钙水平/% Dietary calcium level					
	0.30	0.45	0.60	0.75	0.90	1.05
玉米/% Corn	65.008	65.008	65.008	65.008	65.008	65.000
麦麸/% Wheat bran	5.897	5.897	5.897	5.897	5.897	5.426
豆粕/% Soybean meal	15	15	15	15	15	15
鱼粉/% Fish meal	5	5	5	5	5	5.1
棉籽粕/% Cottonseed meal	3	3	3	3	3	3
DDGS(玉米)/% DDGS(Corn)	3	3	3	3	3	3
磷酸氢钙/% Calcium bicarbonate	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
石粉/% Mountain flour	—	0.418	0.830	1.268	1.688	2.12
食盐/% Salt	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
沸石/% Zeolum	1.817	1.399	0.987	0.549	0.129	0.089
赖氨酸/% Lysine(98%)	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.015
预混料/% Gunk	1	1	1	1	1	1
合计 Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

1.2 试验日粮

试验日粮以玉米和豆粕为主要原料,按照美国 NRC 猪营养需要(1998 版)配制。除钙含量不同

外,日粮中其他营养成分均满足仔猪的营养需要。不同钙水平试验日粮的营养指标如表 2 所示。

表 2 不同钙水平试验日粮的主要营养指标(风干基础)
Table 2 Nutrient level of the basal diet (air-dry basis)

营养指标 Nutrient index	日粮钙水平/% Dietary calcium level					
	0.30	0.45	0.60	0.75	0.90	1.05
干物质/% Dry matter	88.55	88.54	88.53	88.53	88.52	88.57
猪消化能/(MJ·kg ⁻¹) Digestible energy	3.21	3.21	3.21	3.21	3.21	3.20
粗蛋白质/% Crude protein	17.81	17.81	17.81	17.81	17.81	17.80
钙/% Calcium	0.30	0.45	0.60	0.75	0.90	1.05
总磷/% Total phosphorus	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54
有效磷/% Available phosphate	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31
食盐/% Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
赖氨酸/% Lysine	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.90
含硫氨基酸/% Sulfur-containing amino acid	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61
蛋氨酸/% Methionine	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32

注:1) 预混料为每千克日粮提供: V_A 5 000 IU, V_D 1 000 IU, V_E 10 mg, V_{K₃} 2 mg, V_{B₁} 1 mg, V_{B₂} 2 mg, V_{B₁₂} 0.01 mg, 叶酸 0.1 mg, CuSO₄·5H₂O 30.4 mg, FeSO₄·7H₂O 580 mg, ZnSO₄·7H₂O 512 mg, MnSO₄·H₂O 11.9 mg, KI 0.36 mg, Na₂SeO₃ 1.1 mg;
2) 营养水平均为计算值。
Note:1) The premix provides the following per kg diet: V_A 5 000 IU, V_D 1 000 IU, V_E 10 mg, V_{K₃} 2 mg, V_{B₁} 1 mg, V_{B₂} 2 mg, V_{B₁₂} 0.01 mg, Folic acid 0.1 mg, CuSO₄·5H₂O 30.4 mg, FeSO₄·7H₂O 580 mg, ZnSO₄·7H₂O 512 mg, MnSO₄·H₂O 11.9 mg, KI 0.36 mg, and Na₂SeO₃ 1.1 mg;
2) Nutrient levels are calculated values.

1.3 样品采集

分别于正式试验期的第 14 和 28 天, 每组随机选取 3 只猪, 静脉采血 20 mL 于非抗凝采血管中, 4 ℃下 3 000 r/min 离心 15 min 制备血清, -20 ℃冷冻保存备用。采血后, 按照标准屠宰工艺进行屠宰, 迅速摘取右侧胫骨, 剔除胫骨上附着的肌肉及筋膜等组织, 称质量后分装在提前准备好的自封袋中, 于 -20 ℃冰柜保存备用。屠宰结束后, 参照陈艳君^[4]的脱脂方法, 对胫骨样品进行脱脂, 制备成风干样于 4 ℃保存备用。

1.4 测定项目及方法

1.4.1 血清钙浓度 采用邻甲酚酞络合酮比色法测定血清钙浓度^[5], 使用罗氏 P800 全自动生化分析仪进行测定。

1.4.2 血清成骨细胞活性标志物 血清中的 ALP 的活性和骨钙素质量浓度, 分别采用碱性磷酸酶酶联免疫试剂盒和骨钙素酶联免疫试剂盒进行检测。

1.4.3 骨钙含量 骨钙含量采用原子吸收分光光度法测定^[5], 所用仪器为 AA-800 型原子吸收分光光度计(美国 PE), 测定结果为风干基础。

1.4.4 脱脂骨干质量 将所有骨样置于 70 ℃烘箱中烘 72 h, 然后将骨样从中间折为 2 截, 分别用脱脂纱布包扎, 贴签, 并置于无水乙醚中连续浸泡, 无水乙醚每天更换 1 次, 1 周后取出, 待乙醚挥发彻底后, 将脱脂骨样在 105 ℃烘箱中烘 6 h 后称质量, 即得脱脂骨干质量^[5]。

1.4.5 胫骨灰分含量 胫骨灰分参照张丽英等^[6]的方法进行测定, 在茂福炉中的灰化时间为 36 h。

1.4.6 胫骨密度(BMD) 在长春中日联谊医院采用双能 X 线骨密度仪(法国)进行测定。将自然解冻至室温(20 ℃左右)的胫骨置于探测器下, 选前端和 1/2 处为测定点, 启动装置, 测定仪自动测定并计算胫骨密度(BMD)。

1.5 试验数据处理

试验数据利用 SPSS 17.0 软件进行方差分析, 并进行 Duncan 氏多重比较, 统计显著性水平为 $P<0.05$ 。各组试验数据均以“平均值±标准差 (Means±SD)”表示。

2 结果与分析

2.1 日粮钙水平对仔猪血清钙浓度和成骨细胞活性标志物的影响

由表 3 可以看出, 日粮钙水平对 14 和 28 d 屠宰仔猪血清碱性磷酸酶 (ALP) 活性有显著影响 ($P<0.05$), 随日粮钙水平的提高, 14 和 28 d 仔猪血清 ALP 活性均呈现出先减小后增大的趋势, 且均以日粮钙水平为 0.75% 时的血清 ALP 活性显著低于 0.30% 和 1.05% 钙水平 ($P<0.05$), 14 与 28 d 屠宰仔猪血清中的 ALP 活性在钙水平为 0.45% 和 0.90% 时差异不显著 ($P>0.05$), 其余钙水平之间均有一定差异 ($P<0.05$)。当日粮钙水平由 0.30% 升高到 1.05% 时, 14 和 28 d 屠宰仔猪血清中的骨

钙素(OCN)质量浓度均呈先增高后降低的趋势,且均以日粮钙水平为 0.75%时的血清 OCN 质量浓度最高,并显著高于其他钙水平($P<0.05$);不同钙水平之间相比,14 d 屠宰仔猪血清 OCN 质量浓度的差异均达显著水平($P<0.05$),28 d 屠宰仔猪血清的 OCN 质量浓度除 0.45%与 0.60%及 0.30%与

0.90%钙水平间差异不显著($P>0.05$)外,其余钙水平间均有显著差异($P<0.05$);在钙水平为 0.30%时,14 与 28 d 屠宰仔猪血清中的 OCN 质量浓度差异不显著($P>0.05$),而在其余钙水平之间均差异显著($P<0.05$)。日粮钙水平及饲喂时间对仔猪血清钙浓度影响均不显著($P>0.05$)。

表 3 日粮钙水平对仔猪血清各指标的影响

Table 3 Effects of dietary calcium level on serum biochemical indices of piglets

日粮钙水平/% Dietary calcium level	14 d			28 d		
	ALP/ (U·L ⁻¹)	OCN/ (ng·mL ⁻¹)	血清钙/(mmol·L ⁻¹) Serum calcium concentration	ALP/ (U·L ⁻¹)	OCN/ (ng·mL ⁻¹)	血清钙/(mmol·L ⁻¹) Serum calcium concentration
0.30	312.75±26.15 aA	4.38±0.23 aA	2.71±0.31 aA	299.95±33.25 aB	4.31±0.37 aA	2.67±0.47 aA
0.45	228.32±8.31 abA	4.69±0.50 bA	2.68±0.10 aA	272.60±26.23 abA	5.07±0.18 bB	2.78±0.06 aA
0.60	212.61±10.41 abA	6.18±0.49 cA	2.83±0.18 aA	253.96±16.31 bB	5.46±0.16 bB	2.89±0.19 aA
0.75	148.01±20.35 bA	6.54±0.90 dA	2.87±0.05 aA	190.35±19.87 cB	6.04±0.65 cB	3.05±0.93 aA
0.90	235.81±28.88 abA	5.31±0.41 eA	2.74±0.09 aA	230.44±21.61 bA	5.88±0.35 aB	2.95±0.04 aA
1.05	322.18±39.57 aA	4.52±1.67 fA	2.78±0.15 aA	243.13±11.44 bB	5.72±0.76 dB	2.85±0.04 aA

注:同列数据后小写字母相同者表示差异不显著($P>0.05$),小写字母不同者表示差异显著($P<0.05$);同行数据后大写字母相同者表示差异不显著($P>0.05$),大写字母不同者表示差异显著($P<0.05$),下同。

Note: Same lowercase letters in each column indicate insignificant difference ($P>0.05$), while different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). Same uppercase letters in each row indicate insignificant difference ($P>0.05$), while different uppercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same below.

综合来看,随着日粮钙水平的增大,仔猪血清中的 ALP 活性呈先减小后增大趋势,且在日粮钙水平为 0.75%时最小,血清仔猪 OCN 质量浓度在日粮钙水平为 0.75%时达到最大。

2.2 日粮钙水平对仔猪胫骨性能的影响

由表 4 可以看出,本试验条件下,日粮钙水平对试验仔猪胫骨各项性能指标均有显著影响($P<0.05$)。14 和 28 d 仔猪胫骨钙含量均随着日粮钙水平的上升呈现出先升高后降低的趋势,均在日粮钙水平为 0.75%时出现最高值,且 28 d 仔猪的胫骨钙含量均高于 14 d ($P<0.05$)。脱脂胫骨干质量随着日粮钙水平的升高呈先升高后降低趋势,在钙水平为 0.75%达到最高,28 d 仔猪脱脂胫骨干质量的变化趋势与 14 d 时保持一致,但大于 14 d 的脱脂胫骨干质量($P>0.05$)。仔猪胫骨灰分以 0.60%~1.05% 4 个钙水平下的含量显著较 0.30%和 0.45%钙水平时高($P<0.05$),0.75%钙水平下的仔猪胫骨灰分含量最大($P<0.05$),0.60%,0.90%与 1.05%钙水平之间差异不显著($P>0.05$)。14 d 时,日粮钙水平对试验仔猪胫骨前端处密度影响不显著($P>0.05$),但试验仔猪胫骨前端处密度随日粮钙水平的升高呈先升高后降低的趋势,在日粮钙水平为 0.75%时出现最高值;0.75%钙水平时仔猪胫骨 1/2 处密度显著高于 0.30%钙水平($P<0.05$),

但各钙水平之间差异不显著($P>0.05$)。28 d 时,日粮钙水平对仔猪胫骨前端处密度和胫骨 1/2 处密度影响显著($P<0.05$),其变化趋势与 14 d 时一致。当日粮钙水平为 0.30%时,14 和 28 d 的胫骨钙含量和脱脂胫骨干质量差异显著($P<0.05$),其他胫骨性能指标差异不显著($P>0.05$);当日粮钙水平为 0.45%时,14 和 28 d 的胫骨钙含量、脱脂胫骨干质量和胫骨 1/2 处密度差异显著($P<0.05$),其他胫骨性能指标均差异不显著($P>0.05$);当日粮钙水平为 0.60%时,14 和 28 d 仔猪的所有胫骨性能指标均差异显著($P<0.05$);当日粮钙水平为 0.75%时,14 和 28 d 仔猪胫骨灰分含量的差异不显著($P>0.05$),其他胫骨性能指标均差异显著($P<0.05$);当日粮钙水平为 0.90%时,14 和 28 d 仔猪的胫骨钙含量和胫骨灰分含量差异不显著($P>0.05$),其他胫骨性能指标差异显著($P<0.05$);日粮钙水平为 1.05%时,14 和 28 d 仔猪胫骨性能指标的表现与日粮钙水平 0.90%时相同。

2.3 不同日粮钙水平下仔猪血清指标与胫骨性能的回归分析

在不同日粮钙水平条件下,以 28 d 时仔猪的胫骨钙含量、胫骨灰分含量、脱脂胫骨干质量和胫骨密度为因变量(Y),以血清中的碱性磷酸酶活性和骨钙素质量浓度及血清钙浓度为自变量(x)建立回归

方程,结果如表 5 所示。

表 4 日粮钙水平对仔猪胫骨性能的影响
Table 4 Effects of dietary calcium level on tibia quality of piglets

日粮钙水平/% Dietary calcium level	14 d				
	胫骨钙含量/% Calcium content in bones	脱脂胫骨干质量/g Dry weight of defatted tibia	胫骨灰分含量/% Ash content in defatted tibia	胫骨前端密度/(g·cm ⁻²) BMD of the front of tibia 1	胫骨 1/2 处密度/(g·cm ⁻²) BMD of 1/2 of tibia
0.30	11.96±2.17 aA	32.19±0.78 A	0.561±0.010 A	0.571±0.013 aA	0.600±0.012 aA
0.45	12.49±2.01 bA	35.58±0.84 aA	0.615±0.018 aA	0.573±0.006 aA	0.605±0.008 abA
0.60	12.99±2.11 cA	37.48±0.52 bA	0.641±0.009 bA	0.577±0.008 aA	0.614±0.008 abA
0.75	13.29±6.61 dA	39.31±0.79 cA	0.648±0.003 bcA	0.582±0.006 aA	0.617±0.008 bA
0.90	13.23±1.40 eA	38.41±0.47 bcA	0.634±0.004 bA	0.576±0.003 aA	0.610±0.004 abA
1.05	13.16±3.04 fA	37.42±0.38 bcA	0.628±0.003 abA	0.572±0.002 aA	0.606±0.004 abA

日粮钙水平/% Dietary calcium level	28 d				
	胫骨钙含量/% Calcium content in bones	脱脂胫骨干质量/g Dry weight of defatted tibia	胫骨灰分含量/% Ash content in defatted tibia	胫骨前端密度/(g·cm ⁻²) BMD of the front of tibia 1	胫骨 1/2 处密度/(g·cm ⁻²) BMD of 1/2 of tibia
0.30	12.75±2.07 B	39.89±1.82 B	0.568±0.009 A	0.565±0.001 A	0.596±0.005 A
0.45	13.06±4.12 aB	43.80±1.47 aB	0.615±0.012 aA	0.580±0.003 aA	0.626±0.002 aB
0.60	13.69±2.43 bB	46.64±0.98 bdB	0.643±0.007 bcB	0.587±0.002 bcB	0.634±0.003 bB
0.75	14.42±2.00 cB	48.18±0.90 cB	0.649±0.007 cA	0.589±0.002 cB	0.636±0.003 bcB
0.90	14.27±3.28 dA	47.49±1.00 bcB	0.639±0.007 bdA	0.586±0.002 bdB	0.631±0.004 bB
1.05	14.19±6.15 eA	45.34±1.07 dB	0.631±0.102 dA	0.585±0.008 dB	0.625±0.004 aB

表 5 不同日粮钙水平下仔猪血清指标(*x*)与胫骨性能(*Y*)的回归分析
Table 5 Regression analysis of indexes in serum and in marrow with tibia quality of piglets

项目 Item	ALP			OCN			血清钙 Serum calcium concentration		
	方程 Equation	<i>R</i> ²	<i>P</i>	方程 Equation	<i>R</i> ²	<i>P</i>	方程 Equation	<i>R</i> ²	<i>P</i>
胫骨钙含量/% Calcium content in bones	Y=17.96−0.017 <i>x</i>	0.85	0.009	Y=8.07+0.017 <i>x</i>	0.934	0.002	Y=0.19+4.23 <i>x</i>	0.820	0.013
胫骨灰分含量/% Ash content in defatted tibia	Y=0.79−0.000 7 <i>x</i>	0.72	0.032	Y=0.38+0.044 <i>x</i>	0.897	0.004	Y=0.04+0.205 <i>x</i>	0.823	0.013
脱脂胫骨干质量/g Dry weight of defatted tibia	Y=63.5−0.074 <i>x</i>	0.82	0.014	Y=20.34+4.6 <i>x</i>	0.930	0.002	Y=−20.3+22.00 <i>x</i>	0.922	0.002
胫骨前端密度/(g·cm ^{−2}) BMD of the front of tibia	Y=0.63−0.000 2 <i>x</i>	0.70	0.040	Y=0.511+0.013 <i>x</i>	0.901	0.004	Y=0.41+0.059 <i>x</i>	0.788	0.046
胫骨 1/2 处密度/(g·cm ^{−2}) BMD of 1/2 of tibia	Y=0.70−0.000 3 <i>x</i>	0.62	0.042	Y=0.514+0.025 <i>x</i>	0.792	0.018	Y=0.35+0.095 <i>x</i>	0.736	0.029

由表 5 可见,在日粮不同钙水平条件下,血清 ALP 活性与 5 项胫骨性能指标均呈负相关关系(自变量系数为负),且拟合程度较好,除血清 ALP 活性与胫骨 1/2 处密度的线性方程外,其他各方程的 *R*² 均大于或等于 0.70;血清 OCN 质量浓度与 5 项胫骨性能指标均呈正相关关系(自变量系数为正),且拟合程度非常好,其中血清 OCN 质量浓度与胫骨钙含量、胫骨灰分含量、脱脂胫骨干质量和胫骨前端密度线性方程的拟合程度均较好,*R*² 均接近或大于 0.90;血清钙浓度与 5 项胫骨性能指标均呈正相关关系(自变量系数为正),且拟合程度较好,其中血清钙浓度与脱脂胫骨干质量线性方程的拟合程度最好

(*R*²>0.90)。

3 讨 论

3.1 日粮钙水平对仔猪成骨细胞活性标志物的影响

ALP 是在碱性环境中能水解磷酸脂产生磷酸的几种同工酶的统称,在动物体内广泛存在,血清中的 ALP 有 50%来源于骨,其余 50%主要来自肝脏和小肠。通过肝脏和小肠进入血中的 ALP 活性表现稳定,因此血清 ALP 活性的变化主要是由骨代谢引起的,所以血清的 ALP 活性可以间接反映成骨细胞的活动状况。又由于 ALP 主要是由分化的成骨

细胞分泌,故常作为成骨细胞增殖分化的早期标志物,且当骨矿化、骨形成发生障碍时,ALP 的分泌量会有所升高^[7]。本试验结果表明,随着日粮钙水平的增加,仔猪血清中的 ALP 活性呈先减小后增大趋势,这与 Eklou-Kalonji 等^[8]的研究结果一致。在本试验中,日粮钙水平为 0.75% 时仔猪血清中的 ALP 活性最低,这是由于当日粮钙水平为 0.30%~0.75% 时,动物机体摄入的钙水平表现不足,为了维持血钙的平衡,破骨细胞活性增强,动员骨钙入血,并使骨骼钙化受阻,进而刺激了成骨细胞的增殖分化,使其大量分泌 ALP,这一过程符合生物学规律,而当日粮钙水平从 0.75% 提高到 1.05% 时,ALP 活性升高,说明在此范围内,成骨细胞的增殖活性随着日粮钙水平的升高而升高。

成骨细胞成熟后,在其基质矿物化时期会分泌 OCN。OCN 是一种骨非胶原蛋白,占骨非胶原蛋白的 10%~20%^[9],其生理功能是保持骨的正常矿化,抑制由于异常的羟磷灰石结晶沉积所致的软骨矿化,促进骨基质成熟^[10-11]。除分布在骨基质外,OCN 还可以分泌入血^[12],所以 OCN 是成骨细胞成熟分化的标志^[13],可以反映成骨细胞的成骨性能,是评估骨转换及骨形成的特异性标志物^[14]。本研究表明,随着日粮钙水平的升高,OCN 质量浓度呈现出先增大后减小的趋势,且在日粮钙水平为 0.75% 时血清中的 OCN 质量浓度最高,而且胫骨钙含量和胫骨密度最大,说明在此日粮钙水平下,仔猪胫骨骨髓中的成骨细胞多数处于成熟期,其矿化作用明显。

3.2 日粮钙水平对仔猪胫骨性能的影响

由于机体代谢钙会优先满足骨钙沉积的需要,所以胫骨钙含量反映了骨钙的沉积量,也可反映成骨细胞骨形成作用的强弱,而胫骨密度更能反映动物的骨质量及骨代谢情况,胫骨灰分含量和胫骨脱脂干质量也是评价胫骨性能的常用指标。在本试验条件下,日粮钙水平低于 0.75% 时,随着日粮钙水平的降低,仔猪各项胫骨性能指标皆随之降低,这说明缺钙可直接影响到仔猪骨骼的正常发育。大量试验结果表明,缺钙会严重影响动物骨骼的发育,使动物骨骼的钙含量、骨矿含量及密度降低,甚至使其空间结构发生改变^[15-17]。本研究表明,当日粮钙水平高于 0.75% 时,仔猪胫骨钙含量、胫骨灰分含量、脱脂胫骨干质量和胫骨密度均随着钙水平的升高而降低,这与王晓宇等^[5]、林映才等^[18]的研究结果一致;李文立等^[19]和王灿楠等^[20]的研究也表明,日粮钙水

平过高或过低均不利于仔猪骨钙的沉积。

3.3 日粮不同钙水平下各生化指标与胫骨性能指标的回归分析

线性回归方程可以反映日粮不同钙水平下各项血清指标与胫骨性能指标的关系,进而预测成骨细胞骨形成作用的强弱。本研究结果表明,作为一种可以使骨骼正常矿化和转换的蛋白质,血清中的 OCN 质量浓度与胫骨各项性能指标均呈显著正相关关系,说明在日粮不同钙水平下,胫骨性能随着 OCN 质量浓度的升高而增强。血清中的 ALP 活性与胫骨各项性能指标均呈负相关关系,表明在不同日粮钙水平下,随着 ALP 活性的升高,胫骨性能降低。有研究表明,血清钙浓度可以影响骨的形成^[21],新骨的形成需要血清钙的提高^[22]。本试验结果显示,日粮不同钙水平对血清钙浓度影响不显著,但血清钙浓度随着日粮钙水平的升高呈先升高后降低的趋势,并与胫骨各项性能指标($P<0.05$)呈显著的正相关关系。

4 结 论

仔猪血清中的 ALP 活性与胫骨各项性能指标呈显著负相关关系,OCN 质量浓度和血清钙浓度与胫骨各项性能指标呈显著正相关关系,且在日粮钙水平为 0.75% 时,仔猪血清中的 ALP 活性最低,OCN 质量浓度最高,胫骨各项性能最佳,说明此时成骨细胞增殖活性最小,矿化作用达到最大。

[参考文献]

- [1] Reinhart G A, Mahan D C. Effect of various calcium:Phosphorus ratios at low and high dietary phosphorus for starter, grower and finishing swine [J]. *Animal Science*, 1986, 63: 457-466.
- [2] Hall D D, Gromwell G L, Stahly T S. Effects of dietary calcium, phosphorus, calcium: Phosphorus ratio and vitamin K on performance, bone strength and blood clotting status of pigs [J]. *Animal Science*, 1991, 69: 646-665.
- [3] 欧秀琼, 郭宗义. 浅析猪的钙、磷营养 [J]. *畜牧兽医*, 2000(6): 30-31.
Ou X Q, Guo Z Y. Analysis of pig calcium and phosphorus nutrition [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2000(6): 30-31. (in Chinese)
- [4] 陈艳君. 维生素 A、E 对肉鸡生长、免疫、钙磷代谢的影响及其交互作用的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2007.
Chen Y J. Effects of vitamin A and vitamin E on growth performance, immune functions and metabolism of calcium and phosphorous in broilers and research of interaction between vitamin A and vitamin E [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2007. (in Chinese)

- [5] 王晓宇,孙会,苏月娟,等. 30~60 kg 生长猪钙需要量研究[J]. 动物营养学报,2012,24(7):16-23.
Wang X Y, Sun H, Su Y J, et al. Calcium requirement of growing pigs weighting 30 to 60 kg [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(7): 16-23. (in Chinese)
- [6] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.
Zhang L Y. Feed analysis and feed quality detection technology [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2003. (in Chinese)
- [7] 谢尔凡. 碱性磷酸酶同工酶研究进展 [J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 1994, 15(4): 171-173.
Xie E F. Research progress in alkaline phosphatases [J]. Foreign Medical Sciences Section of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, 1994, 15(4): 171-173. (in Chinese)
- [8] Eklou-Kalonji E, Zerath E, Colin C, et al. Calcium-regulating hormones, bone mineral content, breaking load and trabecular remodeling are altered in growing pigs fed calcium-deficient diets [J]. J Nutr, 1999, 129(1): 188-193.
- [9] Hauschka P V, Lian J B, Cole D E C, et al. Osteocalcin and matrix Gla protein: Vitamin K-dependent proteins in bone [J]. Physiol Rev, 1989, 69(3): 990-1041.
- [10] Glowacki J, Lian J B. Impaired recruitment of osteoclast progenitors by osteocalcin-deficient bone implants [J]. Cell Diff, 1987, 21: 247.
- [11] Frost A, Jonsson K B, Nissson O, et al. Inflammatory cytokines regulate proliferation of cultured human osteoblast [J]. Acta Orthop Scand, 1997, 68: 91.
- [12] Garrel D R, Delmas P D, Malaval L U C, et al. Serum bone Gla protein: A marker of bone turnover in hyperthyroidism [J]. Clin Endocrinol Metab, 1986, 62: 1052-1055.
- [13] Garnerio P. Biomarkers for osteoporosis management utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring [J]. Mol Diagn Ther, 2008, 12(3): 157-170.
- [14] 汤耿民, 沈霖, 涂意辉, 等. 补肾活血方对成骨细胞生长因子 TGF- β 1 mRNA 表达的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 1999(5): 7-9.
Tang G M, Shen L, Tu Y H, et al. Effects of prescription for invigorate the kidney and promote blood circulation on expression of growth factor TGF- β 1 in rat osteoblast [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Traumatology & Orthopedics, 1999(5): 7-9. (in Chinese)
- [15] Kaastad T S, Reiker O, Madsen J E, et al. Effects of clodronatenn cortical and trabecular bone in ovariectomized rats on a low calcium diet [J]. Calcif Tissue Int, 1997, 61: 158-164.
- [16] Kenny M A, McCoy H. Adding zinc reduced bone strength of fed a low-calcium diet [J]. Biol Trace Elem Res, 1997, 58(1/2): 35-41.
- [17] 洪燕, 程义勇, 张月红, 等. 钙缺乏对大鼠骨骼发育的影响及其机制探讨 [J]. 卫生研究, 2002(1): 43-45.
Hong Y, Cheng Y Y, Zhang Y H, et al. Effects of dietary calcium-deficiency on bone development in growing rats and the mechanism involved [J]. Journal of Hygiene Research, 2002(1): 43-45. (in Chinese)
- [18] 林映才, 蒋宗勇. 生长肥育猪有效磷需要量的研究 [J]. 养猪, 2002(4): 1-7.
Lin Y C, Jiang Z Y. Study on dietary available phosphorus requirement of growing-finishing pigs [J]. Swine Production, 2002(4): 1-7. (in Chinese)
- [19] 李文立, 王宝维, 刘光磊, 等. 饲料钙磷水平对五龙鹅血液及胫骨钙磷含量的影响 [J]. 中国家禽, 2004(6): 20-22.
Li W L, Wang B W, Liu G L, et al. Effects of different levels of calcium and phosphorus in diets on the calcium and phosphorus and contents of plasma and tibia in Wulong goose [J]. China Poultry, 2004(6): 20-22. (in Chinese)
- [20] 王灿楠, 刘德成. 钙吸收利用与钙摄入量关系的动物实验研究 [J]. 卫生研究, 2002(6): 36-38.
Wang C N, Liu D C. Effect of different doses of calcium in rats diet on absorption and utilization of calcium [J]. Journal of Hygiene Research, 2002(6): 36-38. (in Chinese)
- [21] 王红梅, 阎鹏, 王平, 等. 藏族女性青少年血清钙磷及骨代谢生化标志物水平检测结果分析 [J]. 中国学校卫生, 2008(10): 19-21.
Wang H M, Yan P, Wang P, et al. The levels of serum total calcium, phosphate and biochemical markers of bone turnover in Tibetan female adolescents [J]. Chinese Journal of School Health, 2008(10): 19-21. (in Chinese)
- [22] 卢敏, 戴致波, 谢进. 小针刀治疗对骨折愈合血管内皮细胞生长因子表达及血清无机盐和碱性磷酸酶影响的实验研究 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2007(6): 13-16.
Lu M, Dai Z B, Xie J. An experimental study of effect of small needle knife therapy on fracture healing about VEGF expression and the serum Ca, P, ALP influence [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Traumatology & Orthopedics, 2007(6): 13-16. (in Chinese)