

## 阿勒泰羊肌肉组织的免疫组化分析

彭新荣, 刘晨曦, 玛依拉, 刘明军 (新疆畜牧科学院生物技术研究所, 新疆乌鲁木齐 830000)

**摘要** [目的]比较阿勒泰羊肌肉组织肌球蛋白重链(Myosin heavy chain, MyHC) I型肌纤维含量。[方法]收集8月龄阿勒泰羊、Texel羊和F<sub>1</sub>代肉羊肌肉组织,应用免疫组化方法分析阿勒泰羊MyHC I型肌纤维含量,并与Texel和F<sub>1</sub>代肉羊进行了比较。[结果]阿勒泰羊MyHC I型肌纤维含量与Texel肉羊、F<sub>1</sub>代肉羊差异显著( $P < 0.05$ )。[结论]研究结果可为肉羊品种选育和肌肉品质鉴定提供理论依据。

**关键词** 阿勒泰羊;氧化型慢肌纤维;MyHC I型肌纤维;免疫组化

**中图分类号** S826.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)09-0088-03

## Immunohistochemistry Analysis of Muscles in Altay Mutton Sheep

PENG Xin-rong, LIU Chen-xi, MA Yi-la et al (Institute of Biotechnology, Xinjiang Academy of Animal Sciences, Urumqi, Xinjiang 830000)

**Abstract** [Objective] To compare the MyHC I content in the muscles of Altay mutton sheep. [Method] The muscle samples were collected from 8-month old Altay mutton sheep, Texel sheep and F<sub>1</sub> hybrid to analyze MyHC I content by using immunohistochemical method and compare it with Texel sheep and F<sub>1</sub> hybrid. [Result] MyHC I content in the muscles of Altay mutton sheep had significant differences with that in Texel sheep and F<sub>1</sub> hybrid ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] The research results could provide theoretical basis for mutton sheep breeding and the identification of muscle quality.

**Key words** Altay mutton sheep; Oxidative slow muscle fibers; MyHC I myofiber; Immunohistochemistry

阿勒泰羊俗称福海大尾羊,是新疆著名的肉脂兼用型地方品种,具有肉质细嫩、耐粗饲、抗病力强、适应高寒山区气候等优点,目前已经遍布新疆各地。但是,随着市场对低脂高蛋白羊肉需求的增加,阿勒泰羊屠宰率低,胴体脂肪含量高。Texel羊的原产地为荷兰,为短毛型肉用绵羊品种,其瘦肉率和屠宰率均显著高于阿勒泰羊。用Texel羊为父本,以阿勒泰羊为母本进行杂交改良后,获得的杂交F<sub>1</sub>后代不仅保留了阿勒泰羊肉质细嫩的特点,而且显著提高了屠宰率和瘦肉率,深受广大牧民的喜爱,具有较高的经济价值和推广价值。笔者所在实验室应用同期发情和人工受精技术分别获得了相同出生月龄的阿勒泰羊、Texel羊和F<sub>1</sub>后代群体,并在其8月龄时集中进行了屠宰试验,获得了不同品种肉羊肌肉品质差异的表型数据和样品组织。但是,目前还缺乏肉羊肌纤维类型的免疫学分析。依据肌纤维特有的4种肌球蛋白重链(Myosin heavy chain, MyHC)的异构体可以将肌纤维对应分为4种不同类型:I型、IIA型、IIB型和IIX型。MyHC I型为慢肌纤维,慢肌纤维含有更多的线粒体和肌球蛋白,因而外观呈红色,又称红肌纤维。MyHC IIB型为快肌纤维,主要以糖酵解代谢为主,又称白肌纤维。另外一类中间型IIX肌纤维,其特征介于快肌纤维和慢肌纤维中间。笔者对阿勒泰羊、Texel羊和F<sub>1</sub>后代不同肌肉组织的MyHC I型氧化纤维含量进行了免疫组化分析。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 8月龄Texel羊、阿勒泰羊和杂交F<sub>1</sub>代肉羊肌肉组织样品由新疆畜牧科学院生物技术研究所提供。每个品种随机选取3只肉羊的肌肉组织标本,样品采集部位分别为肉羊腿部的半腱肌和半膜肌。

**1.2 试验方法** 将新鲜采集的肌肉组织块放入4%中性多聚甲醛固定液内固定过夜,对固定好的组织块进行修块、清洗、酒精脱水和石蜡包埋。包埋好的肌肉组织块沿着肌纤维纹理横切,切片厚度5 μm。石蜡包埋和H. E.染色(苏木精-伊红染色)参照常规模石蜡包埋步骤进行。免疫组化试验参照福州迈新试剂盒(DAB Detection Kit, kit-0017)说明书进行,免疫组化染色完成后再用苏木素复染肌纤维细胞核。免疫组化抗体选用肉羊慢肌纤维MyHC I抗体(Anti-Slow Skeletal Myosin Heavy chain antibody, ab11083)。应用显微镜对染色的肌肉样本进行观察,每张切片以肌束为单位,选定100根肌纤维为一个视野,测定每个视野中的MyHC I阳性肌纤维数,计算百分比。每张切片随机选取3个视野,取平均值,即为每个样品MyHC I阳性肌纤维百分比。

**1.3 数据处理** 应用Excel软件进行数据整理,应用卡方分析分别比较阿勒泰羊半腱肌和半膜肌中MyHC I阳性肌纤维与Texel羊和F<sub>1</sub>代的差异显著性。

## 2 结果与分析

**2.1 半腱肌H. E.染色结果** 对每个样品的肌肉组织首先进行H. E.染色,以更好地观察不同肉羊品种的肌肉组织学形态。其中,图1a、b、c分别为阿勒泰羊、F<sub>1</sub>代和Texel羊H. E.染色结果。每种肉羊的肌纤维之间界限比较清楚,肌细胞核和肌卫星细胞均环绕在细胞膜周围。与F<sub>1</sub>代和Texel羊相比,阿勒泰羊肌间组织更丰富,肌纤维界限明显。

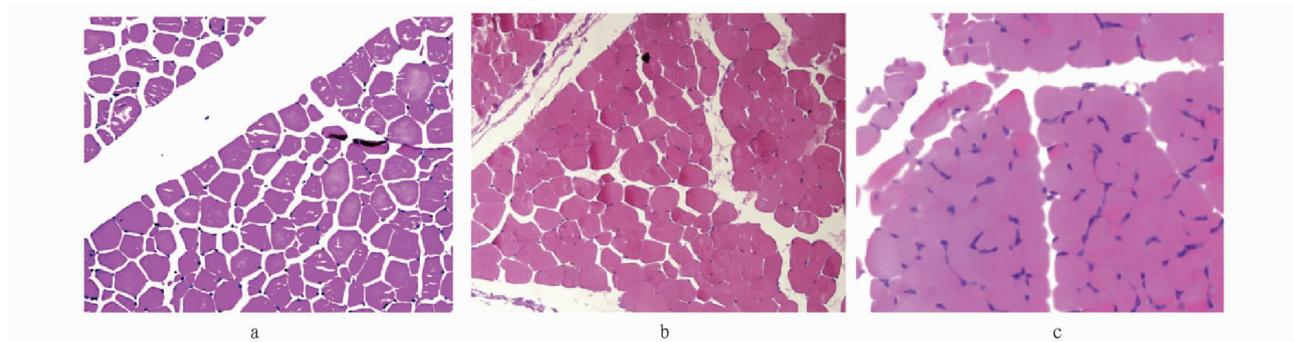
**2.2 MyHC I免疫组化染色结果** 进一步对阿勒泰羊、F<sub>1</sub>代和Texel羊的不同肌肉组织(半腱肌和半膜肌)进行MyHC I免疫组化染色,结果见图2和图3。从图2和图3可以看出,不同来源的肌肉组织中均含有一定比例的MyHC I阳性肌纤维,不同品种肉羊半膜肌中的MyHC I型肌纤维比半腱肌更丰富。

**2.3 半腱肌和半膜肌MyHC I含量比较** 对阿勒泰羊、F<sub>1</sub>代和Texel羊半腱肌和半膜肌中MyHC I含量进行了比较,结

**基金项目** 新疆维吾尔自治区地区基金项目(201511A045)。

**作者简介** 彭新荣(1977—),女,新疆伊宁人,副研究员,博士,从事动物繁殖育种研究。

**收稿日期** 2018-01-02

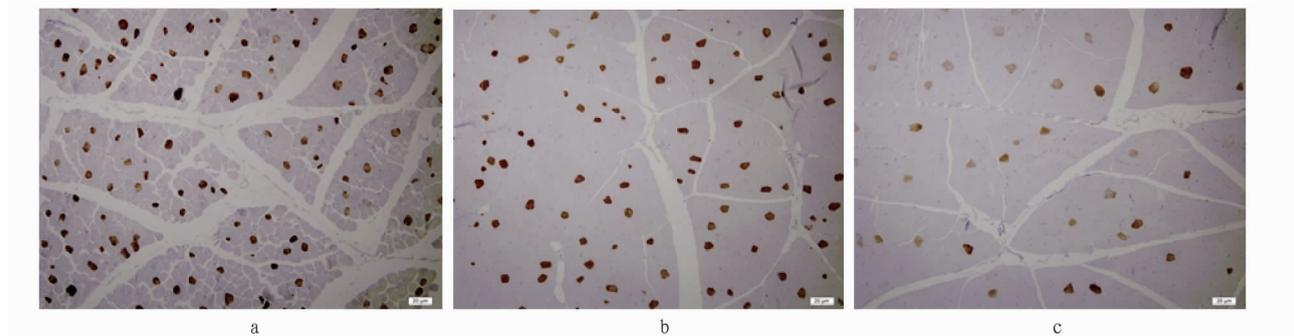


注:a.阿勒泰羊;b. F<sub>1</sub>代;c. Texel羊

Note:a. Altay mutton sheep;b. F<sub>1</sub> hybrid;c. Texel sheep

图1 不同品种肉羊半腱肌的 H. E. 染色结果(400 ×)

Fig. 1 H. E. staining results of semitendinosus in different varieties of mutton sheep(400 ×)

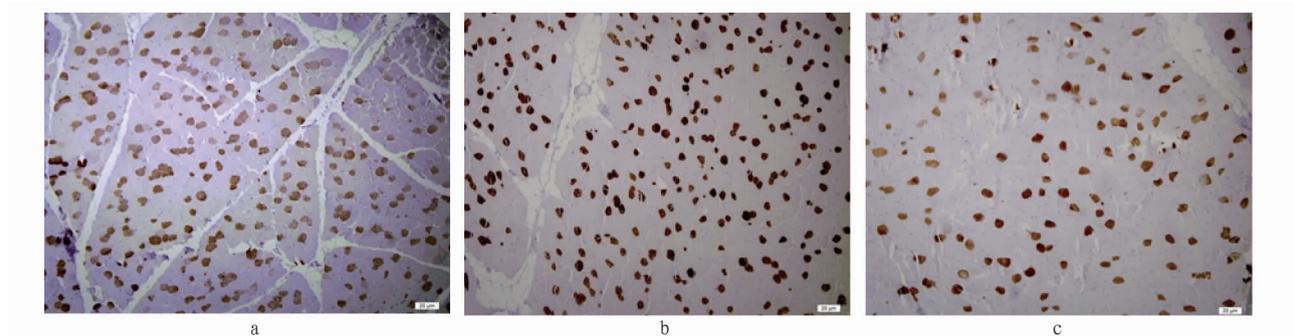


注:a.阿勒泰羊;b. F<sub>1</sub>代;c. Texel羊

Note:a. Altay mutton sheep;b. F<sub>1</sub> hybrid;c. Texel sheep

图2 不同品种肉羊半腱肌中 MyHC I 的免疫组化染色结果(100 ×)

Fig. 2 Immunohistochemistry staining results of MyHC I in semitendinosus in different varieties of mutton sheep(100 ×)



注:a.阿勒泰羊;b. F<sub>1</sub>代;c. Texel羊

Note:a. Altay mutton sheep;b. F<sub>1</sub> hybrid;c. Texel sheep

图3 不同品种肉羊半膜肌中 MyHC I 的免疫组化染色(100 ×)

Fig. 3 Immunohistochemistry staining results of MyHC I in the semi-membranous muscle in different varieties of mutton sheep(100 ×)

果见图4和图5。从图4可以看出,阿勒泰羊半腱肌中 MyHC I 含量为 10.5%,与 F<sub>1</sub> 代和 Texel 羊均存在显著差异( $P < 0.05$ )。从图5可以看出,阿勒泰羊半膜肌 MyHC I 型肌纤维含量为 26.0%,F<sub>1</sub> 代半膜肌中 MyHC I 含量为 17.3%,Texel 羊 MyHC I 含量为 11.2%,阿勒泰羊半膜肌 MyHC I 含量与 F<sub>1</sub> 代和 Texel 羊均存在显著差异。

### 3 结论与讨论

影响肌纤维形成的因素主要包括营养因素和年龄因素<sup>[1-3]</sup>。应用人工受精技术和统一屠宰就是为了获得同一

出生月龄的肉羊标本。另外,在饲养环境上采用统一标准的舍饲管理也避免了营养因素带来的偏差。该研究结果表明阿勒泰羊与 F<sub>1</sub> 代和 Texel 羊不同肌肉组织中 MyHC I 型含量均存在显著差异。Texel 肉羊瘦肉率和屠宰率均明显高于阿勒泰羊。研究表明,MyHC I 型和 II 型肌纤维在肌间脂肪含量上存在显著差异,MyHC I 型肌纤维脂肪含量要高于 II 型肌纤维,此外 MyHC I 型肌纤维中三酰甘油高于 II 型,磷脂比 II 型纤维高 30%<sup>[4]</sup>。改良后的 F<sub>1</sub> 代肉羊瘦肉率和屠宰率明显高于阿勒泰羊,但仍较好地保留了阿勒泰羊肉质细嫩的特

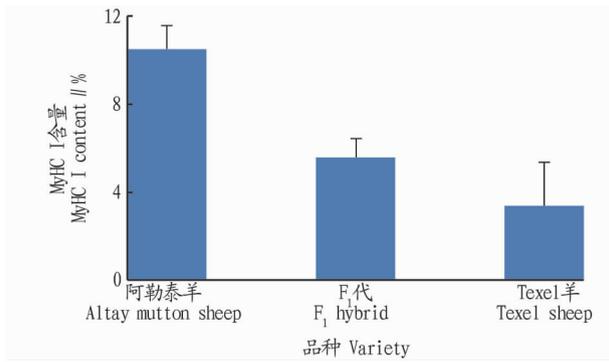


图4 不同品种肉羊半腱肌中 MyHC I 含量的比较

Fig. 4 MyHC I content in the semitendinosus in different varieties of mutton sheep

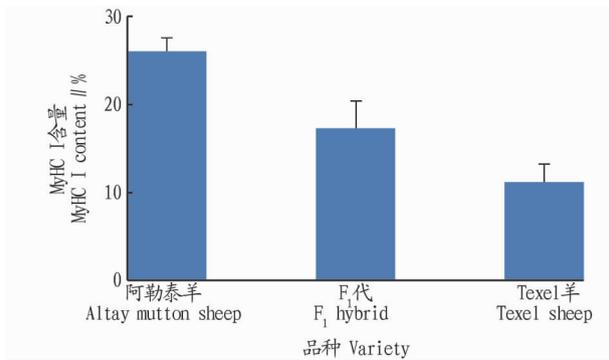


图5 不同品种肉羊半膜肌中 MyHC I 含量的比较

Fig. 5 MyHC I content in the semi-membranous muscle in different varieties of mutton sheep

点。免疫组化结果表明,改良后的 F<sub>1</sub> 代虽然 MyHC I 型氧化肌纤维含量降低,与阿勒泰羊差异显著,但明显高于 Texel 羊。

(上接第 87 页)

鱼属于海水鱼类,生活的水体环境要求偏碱性并且氨氮和亚硝酸盐浓度在正常范围内。微胶囊饲料的水中稳定性对水质的 pH、氨氮、亚硝酸盐浓度有着直接的关系,水中稳定性好、消化吸收率高的饲料,营养物质可以更好地被仔稚鱼消化吸收,排泄物少,参与到水体氨氮的转化过程中,对水体污染小。水中稳定性差、消化吸收率低的饲料,对养殖水体污染大,水体的氨氮和亚硝酸盐浓度高,对水产育苗造成不良影响。该试验中微胶囊饲料浸泡液偏酸性,但在生产性育苗池塘饲料投放密度较低,对水体中氨氮、亚硝酸盐浓度的影响不大。这说明微胶囊饲料的水中稳定性基本符合要求。

#### 4 结论

该试验所用的微胶囊饲料颗粒形态可以满足大黄鱼育苗开口时期的摄食要求,微胶囊饲料的悬浮性和溶解性较差,其加工工艺有待进一步改善。在大黄鱼育苗生产中,试验所用的微胶囊饲料可以部分替代生物饵料。

肌肉的产量主要由肌纤维数目和肌纤维横截面积决定,肌纤维体积适度的动物可生产出更多肉质好的肉产品<sup>[5]</sup>。大量研究表明,氧化型肌纤维有助于肌肉嫩度和多汁性的增加<sup>[6-8]</sup>,但是氧化型肌纤维横截面积小,肌间脂肪含量高,不利于瘦肉率和屠宰率的产出。因此,在肉羊品种选育上调整肌纤维中氧化肌纤维含量对增加肌肉产量和提高肌肉品质具有重要的参考价值。

#### 参考文献

- [1] 张崇志,刘迎春,高峰,等. 妊娠后期营养限饲蒙古绵羊对其胎儿生长发育及血液生理生化指标的影响[J]. 动物营养学报,2013,25(2):344-349.
- [2] CHELLY M S, CHAMARI K, VERNEY J, et al. Comparison of muscle mechanical and histochemical properties between young and elderly subjects [J]. Int J Sports Med, 2006, 27(11): 885-893.
- [3] FAHEY A J, BRAMELD J M, PARR T, et al. The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb [J]. J Anim Sci, 2005, 83(11): 2564-2571.
- [4] FIEDLER I, NÜRNBERG K, HARDGE T, et al. Phenotypic variations of muscle fibre and intramuscular fat traits in *Longissimus* muscle of F<sub>2</sub> population Duroc × Berlin Miniature Pig and relationships to meat quality [J]. Meat Sci, 2003, 63(1): 131-139.
- [5] HENCKEL P, OKSBJERG N, ERLANDSEN E, et al. Histo- and biochemical characteristics of the *Longissimus dorsi* muscle in pigs and their relationships to performance and meat quality [J]. Meat Sci, 1997, 47(3/4): 311-321.
- [6] ZHANG C, LUO J Q, YU B, et al. Dietary resveratrol supplementation improves meat quality of finishing pigs through changing muscle fiber characteristics and antioxidative status [J]. Meat Sci, 2015, 102: 15-21.
- [7] JOO S T, KIM G D, HWANG Y H, et al. Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics [J]. Meat Sci, 2013, 95(4): 828-836.
- [8] LEFAUCHEUR L, MILAN D, ECOLAN P, et al. Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and Meishan pigs [J]. Journal of animal science, 2004, 82(7): 1931-1941.

#### 参考文献

- [1] KANAZAWA A, KOSHIO S, TESHIMA S. Growth and survival of larval red sea bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed microbound diets [J]. Journal of the world aquaculture society, 1989, 20(2): 31-37.
- [2] 于海瑞, 麦康森, 段青源, 等. 人工育苗条件下大黄鱼仔、稚、幼鱼的摄食与生长 [J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 495-501.
- [3] 张玲, 杨丽. 微胶囊技术在饲料工业中的应用 [J]. 河南水产, 2011(1): 21-22.
- [4] 黄志强, 李保国. 水产养殖微胶囊开口饲料的耐浸泡性、悬浮性测试分析 [C] // 2007 中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会学术年会暨中国中部地区农产品加工产学研研讨会论文集. 北京: 中国农业工程学会, 2007: 107-110.
- [5] 丁立云, 曹虎. 水产微胶囊饲料生产工艺研究进展 [J]. 广东饲料, 2011, 20(11): 36-38.
- [6] 谢中国, 王芙蓉, 金煜华, 等. 湿法制粒与流化床工艺制备海水仔稚鱼微粒饲料研究 [J]. 中国粮油学报, 2013, 28(10): 66-70.
- [7] 于海瑞. 海水仔稚鱼营养生理与人工微颗粒饲料的研发进展 (I): 微颗粒饲料的开发 [J]. 潍坊学院学报, 2011, 11(6): 86-89.
- [8] 王有基, 胡梦红, 翟旭亮. 微粒饲料在水产动物苗种培育中的应用研究 [J]. 北京水产, 2007(3): 52-57.