

提升犊牛福利的有效按摩部位探究



资料图片

□方婷婷 孙福显 陈晓阳
李晨阳 顾宪红

材料与方法

1. 试验设计

通过模仿物种特有的行为来建立社会联系,可以有效改善人与动物之间的关系,进而有效提升动物福利。在奶牛的日常管理中,饲养员经常通过温和的触觉互动来模仿奶牛之间的社交梳理,这种互动已被证明可以用于日常处理,以改善奶牛的福利。按摩作为一种触觉互动方式,在奶牛饲养上已证实具有积极效果。研究指出,动物相互梳理的部位也是人类触摸动物时的首选部位。当饲养员的腹侧部分被抚摸时,奶牛更有可能表现出类似于社交梳理中观察到的行为反应(如颈部伸展),并且具有类似的生理反应(如心率降低)。然而,针对犊牛颈部最有效的按摩部位的研究相对较少。因此,本研究旨在探究犊牛最佳的按摩部位,以最大化地提升按摩对犊牛福利的积极效果。通过对不同部位按摩效果的科学评估,为深入理解人畜触觉交互的复杂关系提供理论依据。

试验选取36头14日龄荷斯坦母犊牛作为试验对象,随机分为3组,每组12个重复,每个重复1头牛,单独饲养于1个犊牛笼中。按照按摩或接触部位分为上颈部按摩组(UNM组)、下颈部按摩组(LNM组)、接触对照组(CON组)。上颈部按摩组:试验人员用手持续按摩犊牛上颈部,按摩频率为60次/分钟;下颈部按摩组:试验人员用手持续按摩犊牛下颈部,按摩频率为60次/分钟;接触对照组:试验人员靠近犊牛站立,不按仅接触颈部,接触频率为5次/分钟。本试验采用3×3拉丁方设计,共3期(I期、II期和III期),每期1天,每天14:00处理1次,每期每组每头牛处理2分钟。具体的试验设计见表1:在I期,第一组犊牛接受上颈部按摩处理,第二组接受下颈部按摩处理,第三组进行接触对照处理。在II期,第一组犊牛进行下颈部按摩处理,第二组进行接触对照处理,第三组接受上颈部按摩处理。在III期,第一组犊牛进行接触对照处理,第二组上颈部按摩处理,第三组下颈部按摩处理。试验过程中的按摩操作均由同一名试验人员

完成,以确保处理的一致性。

2. 饲养管理

试验犊牛出生后立刻离母牛,放置于暖房中。犊牛出生1小时内,通过奶瓶饲喂4升新鲜初乳,并用5%碘酊对犊牛脐带进行消毒。在犊牛颈部悬挂塑料耳标以便识别。随后犊牛被转移到专门的犊牛舍,单独饲养在尺寸为1.5米×2.0米的犊牛笼内,以保证个体之间的隔离,减少疾病传播风险,并便于监测每头犊牛的采食和健康状态。犊牛舍有4列犊牛笼,每列有25个犊牛笼,犊牛笼内铺设15厘米厚的稻草,以提供舒适的休息环境,保持良好的卫生条件,确保犊牛的福利。在犊牛的生长初期(2-7日龄),饲养人员使用奶桶在每日7:00和16:50准时饲喂2升常温牛乳,以满足犊牛在生命早期阶段的营养需求。随着犊牛日龄的增加(8-14日龄),每次喂食量增加至2.5升,以适应它们增长的营养需求。从犊牛5日龄开始,引入开食料,每天供应开食料和水,犊牛自由采食和饮水。试验期间,平均气温约为26.8℃,最高温为36.3℃,最低温为22.1℃。牛场指派的驻场兽医负责每天对所有试验犊牛进行健康检查,监测其生长发育情况,包括但不限于观察犊牛的活动水平、食欲、粪便状况以及疾病迹象,以及及时处理出现的任何健康问题,进行早期干预和治疗,维护试验犊牛的健康与福利。此外,为了促进犊牛的健康成长,试验还特别注重环境的舒适度和卫生条件的维护,包括定期清理和消毒犊牛笼,以及保持适宜的通风和温度条件。

3. 回避距离测试评分

在正式试验之前,先按照回避距离测试A程序对犊牛进行评分,发现三组未经处理的犊牛回避距离得分无显著差异($P > 0.05$)。正式试验中,按照回避距离测试B程序在每个处理期结束后的第二天下午13:30准时进行,共进行3次测试。

回避距离测试A程序:测试者初始位置在离犊牛3米远的地方,盯着被

犊牛头部,双手贴身缓慢前进(大约每秒前进一步)。测试者需要在犊牛注视其时再接近犊牛。当距离犊牛大约1米时,测试者停下并缓慢伸出一只手。大约10秒后,尝试触摸犊牛的上颈部。犊牛一旦回避,测试就会结束。在整个测试过程,试验者立于栏外。

回避距离测试B程序:测试开始前,测试人员站立在犊牛栏门前,缓慢伸手向犊牛头部,观察其初步反应。接着,测试人员缓慢打开栏门,继续观察犊牛的行为变化。随后,测试人员轻轻触摸犊牛颈部,记录犊牛对触摸的反应。最后,测试人员退后并观察犊牛是否有追随行为。

回避距离测试由一名测试人员和一名护理人员共同完成,二人未直接参与犊牛日常管理,以保证评分的一致性和公正性。为尽量减少对相邻犊牛的干扰,测试顺序按照犊牛的编号进行,先测试带有单数编号的犊牛,随后测试带有双数编号的犊牛。同时,两个测试程序进行时,评分人员应站在距离犊牛3米远的地方进行观察和记录,以避免对测试结果的任何潜在干扰。

4. 数据统计与分析

采用SPSS 26.0软件对回避距离测试得分进行统计分析,依次进行正态性检验和方差齐性检验,确认数据均符合正态分布且方差齐性。其中,回避距离测试A程序采用单因素方差分析(One-way ANOVA),回避距离测试B程序采用一般线性模型(GLM)的单变量方差分析(univariate ANOVA),并结合最小显著差异法(LSD)多重比较检验,以处理试验期以及动物组别作为固定因子分析主效应,结果以“平均值±标准误”表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

结果与分析

由图1可知,上颈部及下颈部按摩组得分均显著高于接触对照组($P < 0.05$),下颈部按摩组得分高于上颈部按摩组得分,但差异不显著($P > 0.05$)。

回避距离是养殖动物福利的指标,通过衡量人能够接近畜禽的最近距离

来评估人畜关系。回避距离测试在奶牛上多有应用。使用回避距离测试评估奶牛与人类的关系,被证明具有高度的可靠性和可重复性。对于单独饲养的犊牛,回避距离测试能有效评估它们对人类的恐惧程度。奶牛回避距离测试评分越高,回避距离越短,表现出的回避行为越少,说明奶牛对测试者的恐惧程度越低。研究表明,通过亲密的触觉互动,可以减少奶牛的回避距离,使它们与人类之间的关系更加亲近,从而改善人畜关系。Schmitz等也发现奶牛经历积极的人类互动后,会表现出更短的回避距离和更少的恐惧反应。本试验中,与接触对照组相比,上颈部和下颈部按摩组的犊牛在回避距离测试中得分显著提高,接受按摩的犊牛在测试人员接近时表现出更少的回避行为,表明按摩(无论是上颈部还是下颈部)可能增加了犊牛对人类的信任或舒适度,能够有效减少它们对人类的恐惧,并改善人畜关系。

此外,按摩的部位对人畜互动效果有显著影响。与很少被舔的部位相比,抚摸奶牛社交梳理时常被舔的身体部位,会引起更多的积极反应。通过触觉刺激犊牛的下颈部,可以减少犊牛的恐惧,进而改善人畜关系。抚摸犊牛的下颈部可以引发犊牛的积极性并增加它们的幸福感。本试验中,下颈部按摩组的得分高于上颈部按摩组,但二者得分无明显差异,这一结果可能表明犊牛颈部按摩效果与颈部具体位置没有显著关系。

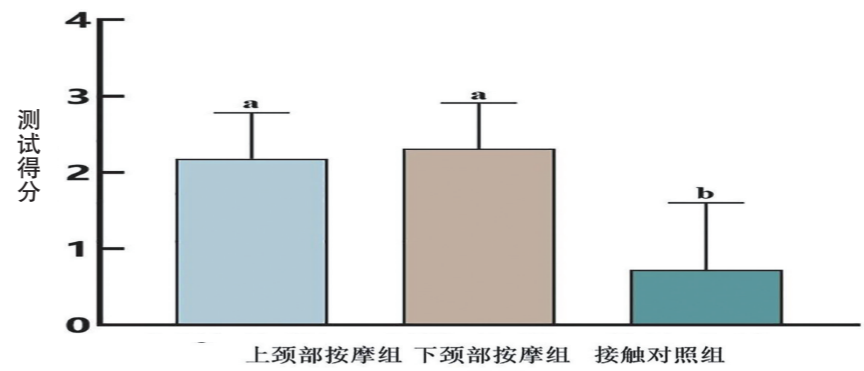
结论

1. 按摩减少了犊牛对接近人类的回避距离,能够增进犊牛对人的接受度,对犊牛是一种积极刺激。
2. 上颈部和下颈部均为犊牛有效的按摩部位。

(作者单位:中国农业科学院北京畜牧兽医研究所/畜禽营养与饲养全国重点实验室)

处理	I期	II期	III期
上颈部按摩	第一组	第三组	第二组
下颈部按摩	第二组	第一组	第三组
接触对照	第三组	第二组	第一组

▲表1 犊牛有效按摩部位试验拉丁方设计



▲图1 三组回避距离测试得分

奶牛生长性状关键候选基因研究进展

奶牛业是我国畜牧业的重要组成部分,研究奶牛性状的遗传基础可以提高奶牛的选育效率,为奶业以及畜牧业的可持续发展提供有力支撑。基因组选择技术作为新一代分子育种技术能够实现“精确育种”,能有效提高选育效率,缩短育种年限,被广泛应用于畜禽育种领域研究中。本文主要综述了潜在影响奶牛生长性状的6个功能基因,以期能为奶牛选种、选育提供一定的理论依据。

□付睿 李艳华 麻柱

奶牛生长性状主要是指由体格大小、体重增长和生长速度等组成的与奶牛生长、发育有关的性状。多年来在奶牛育种和生产管理中,生长性状多被视为奶牛生产中的非经济性性状,监测多以协助提高生产性状、提升牧场管理效率为目的。健康稳定的生长发育是保证奶牛健康养殖及高效繁殖的基础,因此奶牛选育在挑选生长速度较快的个体的同时,也需避免体型过大造成的健康问题。选择初生重适宜、发育速度快、成年体型适中的个体,直接影响着奶牛生产性能和经济效益。

随着第二代测序技术在奶牛育种中的研究越来越广泛,利用高通量测序数据在基因组选择水平对奶牛生长性状进行遗传评估,筛选出影响奶牛生长性状的重要候选基因已被提到日程。经大量研究结果证实,奶牛生长性状与产奶性能、繁殖性能等经济性性状关系密切,可直接影响奶牛的健康及牧场效益。

本文主要对FRZB(卷曲同源蛋白)、BHLHE40(E类基本螺旋环螺旋蛋白40)、MED13L(Mediator复合物亚基之一)、HMGA2(高迁移率核蛋白2)、DMP1(牙本质基质蛋白)、HNF4G(肝细胞核因子4γ)等6个奶牛生长性状候选基因进行综述,以期对奶牛生长性状研究和分子育种提供参考。

3. MED13L 基因

转录中介体复合物是由 Roger Kornberg 首次发现的一类由30个亚基组成的高度保守的大型蛋白质复合物,在真核生物转录过程中发挥着关键作用,进一步可控制生物体的发育和体内稳态。MED13L是组成中介体复合物(Mediator)的重要亚基之一。

研究发现,在小鼠合子基因组激活(ZGA)的过程中,中介体复合物亚基MED13在小鼠卵母细胞成熟过程中被翻译,早期从合子基因组转录。经敲除和条件敲除方法证实, MED13 对小鼠的 ZGA 起着至关重要的作用。作为 MED13 平行物的 MED13L 能有效补偿机体因 MED13 缺失而无法起到调控作用, MED13 对驱动小鼠“卵母细胞到胚胎的转变”也是至关重要的。在探究影响发育迟缓及面部畸形综合征的研究中发现, MED13 基因编码的蛋白质在胚胎发育和神经系统发育中发挥重要的调控作用,当 MED13L 突变或缺失时,通常会导致发育迟缓。

研究发现,通过敲低奶牛乳腺中 MED13L 的表达,乳腺上皮细胞增殖和分化能力明显下降,表明 MED13L 对维持乳腺正常发育至关重要。MED13L 也能与脂肪酰合成酶(FASN)基因特定转录因子结合,进一步促进脂肪合成。而在病原体感染的奶牛中 MED13L 的表达水平较高,表明 MED13L 可能与奶牛的抗病性有关。牛 MED13L 位于17号染色体,含有31个外显子,基因组全长282978bp,编码2209个氨基酸。作为重要的转录共激活因子, MED13L 在机体中的异常表达潜在影响牛的生长发育。

4. HMGA2 基因

高迁移率蛋白家族(HMG)是上世纪60年代由 Johns 最先发现,1973年由 Goodwin 等人首次在牛胸腺中提取后并鉴定,该类蛋白均存在于真核细胞内。HMGA2 可通过染色质结构间的重塑以及在启动子及增强子区域多蛋白复合物的形成来调节基因的表达。HMGA2 的过表达及低表达能明显影响机体生长发育。HMGA2 蛋白在胚胎细胞的发生过程中普遍表达,而在完全分化的成年组织中表达量很低或检测不到,这表明高迁移率蛋白A(HMGA)蛋白可调节正常细胞的生长和分化。

有研究发现, HMGA2 基因结构的重排会导致骨骼的过度生长和过度骨化。最早关于犬、猪、牛等的报道指出, HMGA2 可以影响生长、肥胖和骨骼系统。存在于 HMGA2 基因中的单核苷酸多态性与人群身高存在显著关联。HMGA2 蛋白可通过影响与软骨形成有关基因的表达,促进体外培养软骨细胞的增殖和生长。也有研究表明, HMGA2 基因与骨密度有密切联系,可以抑制骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。HMGA2 在胚胎发育过程表达量高,而在成年组织中表达量低,因此目前认为 HMGA2 可能调控心脏发育的早期阶段。成年人和小鼠组织中的 HMGA2 表达明显低于自身的胚胎组织, HMGA2 基因敲除后小鼠表现出明显侏儒症。存在于 HMGA2 序列下游的显著差异可进一步解释荷斯坦牛 BW12(12日龄体重)约1.3%的表型差异,其中在 Bauman 等的研究中确定了 HMGA2 的163个可调节牛体型的重要基因区域,其中包括一个错义突变。牛个体间基因组序列差异主要集中在启动子和编码区。牛 HMGA2 基因位于5号染色体,含5个外显子,4个内含子,基因组全长149656bp,编码109个氨基酸,是影响体型性状的重要候选基因。

5. DMP1 基因

牙本质基质蛋白(DMP1)是一类在牙齿矿化过程中发挥作用的蛋白质,也是一类存在于细胞外基质中富含天门冬氨酸、丝氨酸和谷氨酸的分泌酸性磷酸化蛋白,主要在牙本质和骨组织中表达。该蛋白属于组成型非胶原蛋白细胞外基质蛋白的小整合素结合配体N端连接糖蛋白家族(SIBLING)。多项研究证实,全长 DMP1 可能代表一种非活性前体,只有以全长形式存在,需经裂解才可发挥功能。

DMP1 对成牙细胞和成骨细胞的成熟以及通过局部和全身机制的矿化过程至关重要。最初研究普遍认为 DMP1 只在牙中表达,属于牙本质特异性蛋白。但随着对 DMP1 的进一步研究得出, DMP1 不单局限表达在牙齿发育过程中,在机体骨组织中也会发挥一定作用。在胚胎发育时期不仅有 DMP1 的表达,同时在骨骼重塑阶段 DMP1 也发挥着关键作用。牛 DMP1 基因位于6号染



资料图片

色体,含6个外显子,5个内含子,基因组全长16784bp,编码512个氨基酸。最近在牛 DMP1 的互补 DNA 中也发现了与小鼠 DMP1 片段相似的序列,其在胎牛脑中有短暂表达,伴随生长和发育过程。DMP1 在胎牛脑中的表达消失和降低。通过调控 DMP1 的表达,也可提高奶牛产奶率和胚胎发育质量,进一步提高奶牛的繁殖性能。DMP1 在骨组织形成的表达调控中发挥着重要作用,是潜在影响牛生长性状的功能候选基因。

6. HNF4G 基因

HNF4G 是肝细胞核因子4(HNF4)的同工型之一,属于肝细胞受体超家族成员,是一类在多种组织中调控表达的转录因子。研究表明主要在胰腺、肾脏、小肠等组织中表达,在 Ayari 等人研究中得出 HNF4G 在失效状态可以防止饮食引起的肥胖。HNF4G 的遗传变异与人类的身高和肥胖以及肉牛的肌肉脂肪沉积有关。高肌肉脂肪(IMF)给牛肉生产及售卖带来很大冲击,在研究影响 IMF 形成的基因互作途径可为基因组选择提供信息,提高育种价值预测的准确性。HNF4G 可参与包括胆固醇、脂肪酸和葡萄糖代谢等多个基因表达, HNF4G 是 IMF 关键的调控因子。在对 HNF4G 的靶基因预测时发现 15.6%与组织形态和发育有关,6.5%参与脂质和碳水化合物代谢。HNF4G 可通过激活相关靶基因促进奶牛乳腺发

育,通过调控脂肪酸酶基因的表达调节乳脂代谢。牛 HNF4G 基因位于14号染色体,含有12个外显子,编码408个氨基酸。已有研究证明 HNF4G 的表达会引起肌肉脂肪沉积、影响体长,是重要的功能候选基因。

小结

提高牛生长性状是构建高质量生产群体的关键途径之一,挖掘潜在影响牛生长性状的功能基因是快速构建优势群体的有效方法。全基因组选择技术通过整合个体基因组信息与表型数据可实现短期内改进物种遗传素质,提高生产性能,更进一步提高育种效率和准确性。本文综述的 FRZB、BHLHE40、MED13L、HMGA2、DMP1、HNF4G 等6个潜在影响生长性状(背膘厚、身高、体重、骨骼生长)的功能基因,在经大规模基因组测序筛选单核苷酸多态性位点后,经表型定位基因,筛选具有显著影响性状并具遗传效应的位点进行验证,为更精确选择及培育出优良性状个体的育种工作奠定了基础。

(作者单位:农业农村部奶牛遗传育种与繁殖重点实验室)

