

鸡肌内脂肪双向选择对脂肪性状及相关基因 mRNA 表达的影响

李冬立, 文 杰, 赵桂苹, 郑麦青, 陈继兰*

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100094)

摘要: 本试验旨在研究鸡肌内脂肪(IMF)双向选择对脂肪性状及相关基因 mRNA 表达的影响。试验采用北京油鸡肌内脂肪双向选育系和对照系雏鸡, 饲养至 56 和 120 d 时, 每个系分别屠宰 30 只母鸡, 测定胸肌和腿肌 IMF 含量、腹脂重、腹脂率及 *LPL*、*H-FABP* 和 *A-FABP* 基因 mRNA 表达量, 比较双选系各性状差异, 分析 IMF 遗传选择效果。结果表明, 上选系肌肉 IMF 含量和肉色亮度值(L*)显著大于下选系($P < 0.05$), 胸肉终 pH(pHu)显著低于下选系($P < 0.05$)。LPL 基因在 120 日龄上选系腹脂中的 mRNA 表达量显著高于下选系($P < 0.05$), 下选系胸肌中 *H-FABP* 基因 mRNA 的表达显著高于上选系($P < 0.05$)。结果表明 IMF 的双向选择是有效的, 该双选系可以作为未来基因定位和基因互作效应研究的宝贵资源群体。

关键词: 鸡; IMF 双向选育系; IMF; mRNA 表达

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)01-0024-05

Studies on the Differences of Phenotypic Values and mRNA Expression of Genes Associated with Fat Deposition in the Divergent-selected Chicken Lines

LI Dong-li, WEN Jie, ZHAO Gui-ping, ZHENG Mai-qing, CHEN Ji-lan*

(Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: Three groups of chickens were fed to study the differences of phenotypic values and mRNA expression of genes associated with fat deposition in the divergent-selected chicken lines. The IMF divergent-selected lines and unselected Beijing You chicken were fed and slaughtered at day 56 and 120. The phenotypic values of IMF content, abdominal fat weight, abdominal fat proportion and mRNA expression of *LPL*, *H-FABP* and *A-FABP* genes were measured and compared among groups. The results showed that IMF content and L* value of chicken muscle in up-selected line (UL) was higher than the down-selected line (DL) at both day of 56 and 120, but the ultimate pH of breast muscle was lower. The differences were significant ($P < 0.05$). At day of 120, the *LPL* in abdominal fat of UL expressed more than DL significantly ($P < 0.05$), but the *H-FABP* in breast muscle expressed less significantly ($P < 0.05$).

Key words: chicken; IMF divergent-selected line; IMF; mRNA expression

研究认为, 肌内脂肪(Intramuscular fat, IMF)含量对肌肉品质有重要影响, 一方面通过氧化时对肌纤维束的溶解作用而提高肌肉嫩度和多汁性^[1-3], 同时由于 IMF 富含磷脂, 磷脂通过 Mailard 反应而

产生香味^[4]。Hovenier 等研究表明, IMF 含量是影响猪肉和牛肉品质的重要因素, 并可稳定遗传^[5]。陈继兰在北京油鸡保种群中建立了全同胞家系, 并在 90 日龄进行屠宰和性状测定, 遗传参数估计结果

收稿日期: 2007-06-04

基金项目: 国家自然科学基金(30771546); 国家科技支撑计划(2006BAD01A00); “863”计划(2006AA10Z1D8)

作者简介: 李冬立(1981-), 女, 河北保定人, 硕士, 主要从事家禽遗传育种研究

* 通讯作者: 陈继兰, 博士, 副研, 硕士生导师, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: cj1@iascaas.net.cn

表明,鸡胸肌 IMF 含量属中等偏低遗传力性状($h^2 = 0.11$);IMF 正向选择反应为 0.041%,反向选择反应为 0.057%,实现遗传力分别为 0.22 和 0.29,表明同胞法选择 IMF 是有效和可行的^[6]。迄今为止,北京油鸡 IMF 双向选育系已经过 4 个世代选择,本试验旨在研究 IMF 双向选择对 IMF 含量等肉质性状及 IMF 候选基因 mRNA 表达差异,以评价 IMF 遗传选择效果,为利用双向选择系进一步开展主效基因 QTL 定位等研究工作奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验动物与测定指标

以北京油鸡 IMF 双向选择系第 5 世代繁育群和同批同条件饲养的保种群为试验群,分别于 56 和 120 日龄各组分别屠宰母鸡 30 只,取胸肌、腿肌及

腹脂并称量,计算胸肌率、腿肌率和腹脂率,测定肌肉中 IMF 含量。

1.2 荧光定量法测定 mRNA 表达量

采用 ABI7000 型荧光定量 PCR 仪(ABI 公司生产)对 *LPL*、*A-FABP*、*H-FABP* 基因进行 mRNA 表达定量。从组织样品中提取总 RNA;使用随机引物及 M-MLV 反转录酶对总 RNA 进行反转录,合成 cDNA 第一链;以 cDNA 为模板进行荧光定量 PCR。荧光定量 PCR 反应体系为:模板 cDNA 1.0 μL , Primer-F (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.2 μL , Primer-R (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.2 μL , $2\times$ SYBR Green master Mix 12.5 μL , 补 ddH₂O 至 25 μL 。荧光定量 PCR 反应程序为:50 $^{\circ}\text{C}$ 2 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min,40 \times (95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s; 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min)。所用引物序列见表 1。

表 1 引物序列及产物大小

Table 1 The sequences and product size of primers

目的基因 Genes	引物序列 Primer sequence	GenBank 登录号 Accession of GenBank No.	产物大小/bp Product size
18S rRNA	F:5'-TAGATAACCTCGAGCCGATCGCA-3' R:5'-GACTTGCCCTCCAATGGATCCTC-3'	AF173612	275
<i>H-FABP</i>	F:5'-ACGGCCAATTTTCGATGAGTACA-3' R:5'-TCTCTGTGTTCTTGAAGGTGCTAT-3'	AY648562	148
<i>A-FABP</i>	F:5'-GAGTTTGATGAGACCACAGCAGA-3' R:5'-ATAACAGTCTCTTTGCCATCCCA-3'	AF432507	120
<i>LPL</i>	F:5'-AGGAGAAGAGGCAGCAAT-3' R:5'-AAAGCCAGCAGCAGATAA-3'	AB016987	222

1.3 数据统计方法

采用 SAS 软件中单因素方差分析进行数据统计,采用邓肯氏法进行多个均数之间的比较,采用 *t* 检验进行两两均数之间的比较。

2 结果与分析

2.1 不同选育系脂肪相关性状比较

由表 2 可知,在不同品系之间,56 日龄胸肌 IMF 差异不显著($P > 0.05$),而腿肌 IMF 则为上选系和对照系显著高于下选系($P < 0.05$);对于 120 日龄胸肌 IMF,上选系显著高于下选系和对照系($P < 0.05$),腿肌 IMF 则为上选系极显著高于下选系($P < 0.01$),显著高于对照系($P < 0.05$),且下选系显著低于对照系($P < 0.05$);对于 120 日龄腹脂重

和腹脂率,上选系和对照系近似,二者有高于下选系的趋势,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 IMF 双选系肉质性状比较

表 3 表明,56 和 120 日龄,无论胸肌还是腿肌,上、下选系之间终 pH(pHu)差异显著,下选系显著高于上选系($P < 0.05$);上、下选系之间滴水损失和肉色红度值(a^*)没有一致的变化;上选系肉色亮度值(L^*)均高于下选系($P < 0.05$),上选系肉色黄度值(b^*)有大于下选系的趋势。

2.3 双选系脂肪性状相关基因 mRNA 表达差异分析

双选系 56 和 120 日龄 *LPL*、*H-FABP* 和 *A-FABP* 基因 mRNA 表达结果见表 4。脂肪性状与相关候选基因 mRNA 表达量之间的相关见表 5。

表 2 各选育系不同日龄肌内脂肪和腹脂
Table 2 IMF content and abdominal fat of three lines on different day-ages

%

选育系 Lines	56 d		120 d			
	胸肌 IMF	腿肌 IMF	胸肌 IMF	腿肌 IMF	腹脂重/g	腹脂率
	B-IMF	L-IMF	B-IMF	L-IMF	AFW	AFP
上选系 UL	0.092±0.025 ^a	0.482±0.095 ^a	0.163±0.035 ^a	0.678±0.077 ^a	28.3±21.9 ^a	2.1±1.5 ^a
下选系 DL	0.089±0.021 ^a	0.365±0.084 ^b	0.122±0.037 ^b	0.570±0.083 ^c	18.9±13.6 ^a	1.4±1.0 ^a
对照系 CL	0.084±0.030 ^a	0.489±0.099 ^a	0.136±0.040 ^b	0.628±0.065 ^b	27.0±15.3 ^a	2.0±1.1 ^a

B 代表胸肌, L 代表腿肌, AFW 代表腹脂重, AFP 代表腹脂率。UL 代表上选系, DL 代表下选系, CL 代表对照系。表中数据为平均值±标准差。同列数据肩注字母相邻表示差异显著($P<0.05$), 相同表示差异极显著($P<0.01$)

B means breast muscle, L means leg muscle, AFW means abdominal fat, AFP means abdominal fat proportion. UL means up-selected line, DL means down-selected line and CL means control line. Value in table in mean±SE; Values with different with a line differ significantly ($P<0.05$) with near letter or $P<0.01$ with interval

表 3 双选系不同日龄肉质性状比较
Table 3 Comparison of meat quality traits between IMF divergent-selected lines on different day-ages

日龄/d Days	组织 Tissues	选育系 Lines	终 pH Ultimate pH	滴水损失 Drip loss	肉色 L*	肉色 a*	肉色 b*
56	胸肌 B	上选系 UL	6.19±0.18 ^a	2.43±0.74 ^a	39.67±1.62 ^a	8.16±1.04 ^a	7.74±1.11 ^a
		下选系 DL	6.54±0.26 ^a	1.34±0.58 ^a	37.00±2.91 ^b	8.93±1.31 ^a	7.46±1.64 ^a
	腿肌 L	上选系 UL	6.67±0.14 ^b	1.53±0.18 ^a	37.33±1.77 ^a	12.34±0.90 ^b	6.15±0.95 ^a
		下选系 DL	6.93±0.20 ^a	0.88±0.23 ^b	33.45±2.00 ^b	14.10±0.96 ^a	3.95±1.29 ^b
120	胸肌 B	上选系 UL	6.15±0.17 ^b	3.90±0.81 ^a	45.60±6.01 ^a	5.84±0.88 ^a	9.25±1.87 ^a
		下选系 DL	6.36±0.17 ^a	5.15±2.69 ^a	40.83±2.72 ^b	5.71±1.15 ^a	7.67±1.22 ^b
	腿肌 L	上选系 UL	6.63±0.17 ^b	4.06±1.53 ^a	34.79±2.20 ^a	10.54±0.72 ^a	5.51±1.22 ^a
		下选系 DL	6.74±0.16 ^a	4.27±0.83 ^a	31.98±2.79 ^b	10.92±1.28 ^a	5.29±1.18 ^a

L* 代表亮度, a* 代表红度, b* 代表黄度; 系间数据上标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)

L* means brightness, a* means redness and b* means yellowness; Significant differences ($P<0.05$) between lines are indicated by different letter

表 4 不同日龄双选系脂肪相关基因 mRNA 表达
Table 4 The mRNA expression of IMF candidate genes between IMF divergent-selected lines on different day-ages

基因 Genes	项目 Items	上选系 UL	下选系 DL
LPL	56 d 胸肌	0.000 1±0.000 1 ^{Ab}	0.002 5±0.002 2 ^{Aa}
	120 d 胸肌	0.001 1±0.001 4 ^{Aa}	0.002 8±0.003 4 ^{Aa}
	120 d 腹脂	0.157 2±0.227 1 ^A	0.005 2±0.007 3 ^B
H-FABP	56 d 胸肌	0.015 0±0.015 0 ^{Ab}	0.191 0±0.179 0 ^{Aa}
	120 d 胸肌	0.090 2±0.094 6 ^{Ba}	1.433 0±1.331 8 ^{Aa}
A-FABP	120 d 腹脂	8.810 0±9.350 0 ^A	15.670 0±26.800 0 ^A

数据上方大写字母不同表示不同选育系间差异显著($P<0.05$), 字母不同表示系内不同日龄相同基因差异显著($P<0.05$)

Significant differences between two selected lines are indicated by different capitals ($P<0.05$). Significant differences between two days of age in one selected line are indicated by different small letters ($P<0.05$)

表 4 表明,上、下选系之间比较,120 日龄腹脂中 *LPL* 基因的 mRNA 表达量为上选系显著高于下选系 ($P < 0.05$),胸肌中 *H-FABP* 基因 mRNA 表达为下选系显著高于上选系 ($P < 0.05$);日龄之间

比较,*H-FABP* 基因 120 日龄表达量高于 56 日龄,其中上选系差异显著 ($P < 0.05$);120 日龄时,*LPL* 基因在腹脂中的 mRNA 表达显著高于胸肌 ($P < 0.05$)。

表 5 北京油鸡 120 日龄脂肪性状相关基因 mRNA 表达与 IMF 含量及腹脂的相关分析

Table 5 Correlation analysis of IMF content and IMF candidate gene mRNA expression at 120 days

性状 Traits		胸肌 <i>LPL</i>	胸肌 <i>H-FABP</i>	腹脂 <i>LPL</i>	腹脂 <i>A-FABP</i>
		B- <i>LPL</i>	B- <i>H-FABP</i>	A- <i>LPL</i>	A- <i>A-FABP</i>
胸肌 IMF, B-IMF, %	<i>r</i>	-0.03	-0.25	0.14	-0.26
	<i>P</i>	0.86	0.16	0.43	0.14
腿肌 IMF, L-IMF, %	<i>r</i>	-0.14	-0.27	0.32	-0.20
	<i>P</i>	0.42	0.12	0.07	0.26
腹脂重, AFW, g	<i>r</i>	-0.31	-0.30	0.23	-0.27
	<i>P</i>	0.14	0.15	0.25	0.19

r, Correlation coefficient; *P*, *P* values

由表 5 可知,胸肌中 *LPL* 和 *H-FABP* 基因、腹脂中 *A-FABP* 基因 mRNA 表达量与各脂肪性状均呈负相关,但差异未达到显著水平 ($P > 0.05$);腹脂中 *LPL* 基因 mRNA 的表达量与各性状呈均呈正相关,但差异不显著 ($P > 0.05$),表明 *LPL* 基因 mRNA 表达存在组织差异。

3 讨论

3.1 IMF 双向选择效果分析

白羽肉鸡腹脂过多造成一定程度的资源浪费。为了减少肉仔鸡的腹脂,育种公司将腹脂的降低列为重要遗传选择目标。中国地方鸡种生长慢,肥度不足。本研究前期以北京油鸡为资源群,对 IMF 等性状进行了遗传参数估计,发现 IMF 含量可以通过同胞选择得以提高。据此建立了 IMF 双向选择系。经过 5 个世代的选择,鸡肉 IMF 含量发生了明显分化,选育群上选系 IMF 比下选系高 6.34% ($P < 0.01$),上选系腹脂重是下选系的 1.13 倍,腹脂率是下选系的 1.71 倍 ($P < 0.01$)^[7],由于育种群测定样本数较大,双选系之间的差异比本研究试验群的双选系之间的差异更为明显。

IMF 是鸡肉风味物的重要前体物,鸡肉 IMF 的提高有利于增加鸡肉烹调的香味,但由于 IMF 与腹脂率之间呈正遗传相关^[7],使得 IMF 提高的同时腹脂也明显增加,这一点与育种目标相悖。此时需要将遗传选择和营养调控相结合,根据先肌肉后腹脂

的脂肪沉积顺序,通过调节日粮能量蛋白比,将腹脂率控制在较低水平。

3.2 IMF 含量的选择对常规肉质性状的影响

本研究结果表明,上选系 IMF 含量高于下选系,相应的 pHu 和滴水损失低于下选系,而肉色亮度值高于下选系,黄色度也趋向高于下选系。Farmer 等报道,鸡肉中一定量 IMF 的沉积,可以提高肌肉的感官满意程度,同时增强肉的风味、嫩度以及多汁性^[8]。这里的感官与肉色和亮度有关;风味的增强可能与作为香味前体物的 IMF 的提高有关;IMF 含量提高,肌肉大理石样花纹增加,滴水损失减少,嫩度和多汁性提高。经过 5 个世代选育后,双选系在肌肉品质性状上的差异结果表明,通过上选 IMF 改善肌肉品质是有效的。

3.3 IMF 双向选择对脂肪性状相关基因表达的影响

本试验结果表明,*LPL* 在上选系腹脂中的表达高于下选系,且在腹脂中的表达显著高于胸肌组织;*H-FABP* 在下选系肌肉中的表达高于上选系,120 日龄的表达高于 56 日龄。*LPL* 促进脂肪分解,*H-FABP* 则促进脂肪合成,前者在脂肪充分沉积的上选系高表达,后者则在脂肪沉积相对不足的下选系中高表达,这与机体组织生化代谢的自动平衡调节相吻合。

H-FABP 基因 mRNA 表达与 IMF 含量关系的研究结果不尽一致,有关猪^[9]和羊^[10]的研究报告表明,*H-FABP* 基因 mRNA 表达与 IMF 含量呈正

相关,Gerbens 等则发现二者呈负相关^[11];Gerbens 同时发现猪 *A-FABP* 基因的 mRNA 表达与猪背最长肌 IMF 含量呈正相关^[11]。本研究发现 *H-FABP* 基因下调 IMF 含量,*A-FABP* 基因也有下调 IMF 的趋势,这与本研究组前期在不同品种中的研究结果一致^[12]。

3.4 双选系之间其它重要性状的分化

经过 5 个世代的选育,发现上、下选系之间繁殖率产生了显著差异,上选系 45 周龄产蛋量比下选系少 6.7 枚($P < 0.01$),但受精率和孵化率分别比下选系高 2.3($P < 0.05$)和 6.6($P < 0.01$)百分点。结果表明肉品性状和繁殖性状之间存在复杂的遗传关系。

4 结 论

北京油鸡 IMF 双向选育系经过 5 个世代的选育,IMF 和腹脂性状发生了明显的分化,肌肉常规品质性状也产生了差异,繁殖性状发生了改变,部分基因在上、下选系中的 mRNA 表达也不一致,这一方面表明对 IMF 的选择是有效的,同时表明该 IMF 双向选择系群体可作为相关性状基因座定位及数量性状之间的遗传互作研究的资源群体。

参考文献:

- [1] BEJERHOLM C, BARTON-GADE P A. Effect of intramuscular fat level on eating quality of pig meat [C]//Proceedings of 32nd European Meeting. Meat Research Workers Ghent,1986:389-391.
- [2] DEVOL D L, MEKEITH F K, BECHTEL P J. Variations in composition and palatability traits and relationship between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcass[J]. J Anim Sci, 1988, 66:385-395.
- [3] EIKELENBOOM G, HOVING-BOLINK A H, VAN DER WAL P G. The eating quality of pork2. The effect of intramuscular fat [J]. Fleischwirtschaft, 1996,76:559-560.
- [4] OLEAGINEUX CORPS G. Muscle lipid and meat quality: phospholipids and flavor[J]. Lipids, 1997, 4(1):19-25.
- [5] HOVENIER R, KANIS E, VAN ASSELDONK T, et al. Breeding for pig meat quality in halothane negative populations-a review[J]. Pig News Info, 1993, 14:17N-25N.
- [6] 陈继兰. 肌肉肌苷酸和肌内脂肪含量遗传规律及相关候选基因的研究[D]. 北京:中国农业大学, 2004.
- [7] 陈继兰, 文 杰, 赵桂苹, 等. 肌肉肌苷酸和肌内脂肪等肉品风味性状遗传参数的估计[J]. 遗传, 2005, 27(6):898-902.
- [8] FARMER L J. Poultry meat flavor[C]//Richardson R I, Mead G C. Poultry Meat Science. New York: CAB International, US, 1997:127-158.
- [9] DAMON M, LOUVEAU I, LEFAUCHEUR L, et al. Number of intramuscular adipocytes and fatty acid binding protein-4 content are significant indicators of intramuscular fat level in crossbred Large White Duroc pigs[J]. J Anim Sci, 2006, 84:1 083-1 092.
- [10] HANG Z G, LI X, LIU Z S, et al. The developmental changes and effect on IMF content of H-FABP and PPAR γ mRNA expression in sheep muscle[J]. Acta Genetics Sinica, 2006, 33:507-514.
- [11] GERBENS F, VERBURG F J, VAN MOERKERK H T, et al. Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs[J]. Anim Sci, 2001, 79(2): 347-354.
- [12] 李文娟, 李宏宾, 文 杰, 等. 鸡 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达与肌内脂肪含量相关研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37:417-423.