

母代鸡日粮不同蛋白水平对后代肌纤维发育及肌肉生成抑制因子基因(MSTN)mRNA 表达的影响

闫俊书,单安山*,时本利,王安祺,胡景威

(东北农业大学 动物营养研究所,哈尔滨 150030)

摘要:旨在研究 2 个品系母鸡饲喂不同蛋白水平日粮对后代肌纤维发育及肌肉生成抑制因子基因(MSTN)mRNA 表达的影响。试验通过对高、低脂系肉种鸡饲喂 3 个蛋白水平(分别是 NRC 肉种鸡饲养标准蛋白水平的 80%、100%、120%)的日粮,子代饲喂正常蛋白水平日粮,研究母体效应对后代肌纤维发育的影响。结果表明:①母代高蛋白日粮可显著提高子代 1 日龄肉仔鸡初生体质量($P < 0.05$),但屠宰日龄肉仔鸡体质量各组间差异不显著($P > 0.05$)。②随着母代日粮蛋白水平的降低,子代胸肌肌纤维直径逐渐减小,且低蛋白组显著低于正常蛋白和高蛋白组($P < 0.05$),2 个品系间差异不显著($P > 0.05$)。③随着母代日粮蛋白水平的降低,胸肌肌纤维密度逐渐增加,且低蛋白组显著高于正常蛋白组和高蛋白组($P < 0.05$),2 个品系间差异不显著($P > 0.05$)。④母代高蛋白日粮有降低 MSTN mRNA 表达量的趋势,但未达显著水平($P > 0.05$),低脂系肉仔鸡高蛋白组 21 日龄胸肌 MSTN mRNA 表达量显著低于正常蛋白组和低蛋白组($P < 0.05$)。结果表明,母代高蛋白日粮可提高后代初生体质量,且高蛋白日粮有降低胸肌中 MSTN mRNA 表达量的趋势;母代低蛋白日粮可显著降低后代肌纤维直径提高肌纤维密度,从而改善肌肉品质。品系对肌纤维无显著影响。

关键词:肉种鸡;蛋白水平;肌纤维;肌肉生成抑制因子基因

中图分类号:S831.4

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2009)09-1341-09

Influence of Different Protein Level of Maternal Diets on Muscle Fiber and Expression of *Myostatin* Gene of Offspring in Broiler

YAN Jun-shu, SHAN An-shan*, SHI Ben-li, WANG An-qi, HU Jing-wei

(Institute of Animal Nutrition, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The influence of maternal different dietary protein levels on muscle fiber and expression of *Myostatin* gene of offspring of two broiler lines was investigated. The maternal different dietary protein levels were 80%, 100% and 120% NRC level for maternal broiler breeder. The offspring was feed normal protein level diet. The results showed that: (1) The maternal high protein diets increased the body weight of 1 day broilers significantly ($P < 0.05$), but the body weight of 56 day broilers had no difference among treatments ($P > 0.05$). (2) With the maternal protein levels decreased, muscle fiber diameter of breast of offspring was decreased, low protein group was significant lower than the normal and high protein groups ($P < 0.05$), but there was no significant difference between the two lines. (3) With maternal protein levels decreased, muscle fiber density of breast of offspring was increased, low protein group was higher than the normal and high protein groups significantly ($P < 0.05$), but there was no significant difference between the two

收稿日期:2008-10-29

基金项目:国家重点基础研究发展计划项目(2004CB117505);东北农业大学创新团队发展计划(IRTNEAU)

作者简介:闫俊书(1981-),女,黑龙江哈尔滨人,博士,主要从事动物营养与饲料科学的研究,E-mail: yanjunshu88@yahoo.com.cn

* 通讯作者:单安山,E-mail: asshan@mail.neau.edu.cn

lines. (4)The high protein diets of maternal broiler has a trend to decrease the expression level of offspring *Myostatin* gene($P>0.05$), compared to the normal and low protein groups, the expression level of *Myostatin* gene of lean line broilers breast of high protein group in 21 day was decreased significantly($P<0.05$). The results demonstrated that the maternal high protein diet increased the body weight of 1 day broilers significantly, and there are a trend that expression level of *Myostatin* gene was decreased in high protein group, the maternal low protein diet declined the muscle fiber diameter and increased the muscle fiber density, but there are no significant difference between the two lines($P>0.05$).

Key words: broiler breeder; protein level; muscle fiber; *Myostatin*

生命早期的营养状况对于机体的生长发育和健康状况都具有至关重要的影响^[1]。通过优化胚胎和新生期营养,或调控信号传导途径中的关键因子,来改善胴体组成和肉品质被认为是一条安全有效的途径。研究表明,种母鸡在营养和环境的调控下通过调节基因的表达来决定种蛋品质和营养组成,进而对种蛋孵化后雏鸡的生长发育、后代肉质性状产生一定的影响。妊娠中期(20~80日龄)的营养水平对初生仔猪肌纤维的生长及出生后的生长发育十分重要^[2-3]。Fahey等^[4]研究表明在肌纤维形成前减少母体日粮蛋白水平可改变胎儿的肌纤维发育。Bee等^[5]研究了妊娠母猪饲养状况、仔猪出生体质量和性别对肌纤维性状的影响,结果低能量组所产仔猪半腱肌中快速酵解型(FG)肌纤维含量较低,在白肌中被快速氧化型(FOG)肌纤维所代替,而在红肌中被慢速氧化型(SO)肌纤维所代替,而且这种差异在出生体质量最低组中更显著。这些研究都证实了母体营养可能对后代肌纤维的生长和发育产生一定的影响。肌纤维的生长和发育受到营养因素、非营养因素以及一些调控因子的调控,其中营养水平对肌纤维生长发育有较大影响。

目前的研究仅限于当代营养水平的调控对肌纤维发育的影响,母体营养调控对后代肌纤维发育影响的研究还比较少,本试验旨在研究母代日粮不同蛋白水平对后代肌纤维发育的影响,并采用 SYBR Green I 实时定量 RT-PCR 技术,研究母代日粮不同蛋白水平对后代 *MSTN* mRNA 表达水平的影响,为母体营养对后代肉质的调控研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及饲养管理

母代选用东北农业大学选育的高、低脂系肉种

鸡 180 只,随机分配到低脂系和高脂系下的 3 个蛋白处理组,共 6 组,每组 3 个重复,每个重复 10 只鸡,试验舍温度为 20℃左右,湿度控制在 65%左右,光照是 20 周龄控制在 14 h,21 周龄增加 1 h,以后每周增加 0.5 h,直至 17 h 为止。当母鸡产蛋率达到 5%时进行试验处理,母鸡产蛋率达到 50%时进行人工授精,母鸡产蛋率达到高峰时开始收集种蛋,种蛋保存室的温度控制在 10℃,相对湿度控制在 75%~80%。

子代选用孵化后的肉仔鸡 240 只,试验分组与母代相同,随机分配到低脂系和高脂系下的 3 个蛋白处理组,共 6 组,每组设 4 个重复,每个重复 10 只。试验舍初始温度控制在 34~36℃,第 2 周龄开始每周下降 2℃,至第 5 周龄降至 21~23℃为止,以后保持这一温度。湿度控制在 65%左右。试验期为 56 d,对试验鸡雏称初始体质量,每天观察鸡群采食以及健康情况,记录耗料量、死亡鸡数目及其体质量。饲养试验结束时,对全群分组重复称体质量、计算日增体质量、耗料量及料重比。

1.2 试验设计及试验饲料

试验饲料为玉米-豆粕型日粮,其中养分含量参照 NRC(1994)饲养标准。母代采用 2×3 因子重复设计,日粮蛋白水平分别为:低蛋白组 13.68%;正常蛋白组 17.09%;高蛋白组 20.51%。试验分为 6 个处理组:低脂低蛋白组(I)、低脂正常蛋白组(II)、低脂高蛋白组(III)、高脂低蛋白组(IV)、高脂正常蛋白组(V)、高脂高蛋白组(VI)。饲料组成及营养水平见表 1,子代饲喂正常蛋白水平日粮(表 2)。

1.3 样品采集及指标测定

1.3.1 肌肉组织学参数的测定 分别于 1、21、42、56 日龄每个重复取 1 只健康鸡,宰后迅速采集胸肌组织样,组织块大小:2 cm×0.5 cm×0.5 cm,经福尔马林:蒸馏水=1:9 混合液(10%)固定,用

石蜡包埋,垂直肌纤维方向和平行肌纤维方向作切片,进行 HE 染色。

肌纤维密度的测定:将石蜡切片置于 10×10 摄

像显微镜,随机选取 3 个视野,在计算机中保存图像,用图像分析软件(Image)测量单个图像总面积(S),统计肌纤维数目(N),计算肌纤维密度。

表 1 母鸡产蛋期日粮组成及营养水平

Table 1 Ingredients and composition of the experimental diets during the laying period

项目 Item	低蛋白	正常蛋白	高蛋白
	Low protein	Normal protein	High protein
日粮组成 Ingredient			
玉米 Corn	69.98	62.88	50
豆粕 Soybean meal	18.80	23.50	35.38
鱼粉 Fish meal	0	3	2
油脂 Soybean oil	0	0	2
盐 Salt	0.30	0.30	0.30
磷酸氢钙 CaHPO_4	2.20	1.60	1.7
石粉 Limestone	8.20	8.20	8.1
赖氨酸 L-Lysine	0.08	0.08	0.08
蛋氨酸 DL-Methionine	0.02	0.02	0.02
氯化胆碱 50% Choline chloride	0.10	0.10	0.10
复合多维 Vitamin premix	0.02	0.02	0.02
微量元素 Mineral premix	0.30	0.30	0.30
合计 Total	100	100	100
营养水平 Nutrition level			
代谢能 ME ($\text{MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$)	11.8	11.8	11.8
粗蛋白 CP	13.68	17.09	20.51
赖氨酸 Lysine	0.66	0.92	1.17
蛋氨酸 Methionine	0.34	0.41	0.45
钙 Ca	3.49	3.49	3.47
有效磷 Available P	0.49	0.49	0.50

每千克全价饲料中含:VA 12 000 IU; VD 2 400 IU; VE 30 IU; VK 1.5 mg; VB₁₂ 0.012 mg; 生物素 0.2 mg; 叶酸 1.2 mg; 尼克酸 35 mg; 泛酸 12 mg; VB₆ 4.5 mg; VB₂ 9 mg; VB₁ 2.0 mg; 铜 8 mg; 碘 1.0 mg; 铁 80 mg; 锰 100 mg; 硒 0.30 mg; 锌 80 mg
 Provided per kg diets:VA 12 000 IU; VD 2 400 IU; VE 30 IU; VK 1.5 mg; VB₁₂ 0.012 mg; biotin 0.2 mg; folic acid 1.2 mg; niacin 35 mg; pantothenic acid 12 mg; VB₆ 4.5 mg; VB₂ 9 mg; VB₁ 2.0 mg; Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 8 mg; I (KI) 1.0 mg; Fe ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 80 mg; Mn ($\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 100 mg; Se (Na_2SeO_3) 0.30 mg; Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 80 mg

肌纤维直径的测定:将 1 张石蜡切片置于 10×10 摄像显微镜下,随机选取 3 个视野,在计算机中保存图像,用图像分析软件(Image)分析,随机分别测量 50 根肌纤维横截面积,即可利用公式计算单根肌纤维的直径 D_i ,然后可计算每个样品的胸肌、腿肌的平均肌纤维直径。

$$D_i = 2(S_i/N)^{0.5}$$

$$\text{平均肌纤维直径 } D = \sum D_i / 50$$

1.3.2 MSTN 表达量的测定 分别于 21、42、56 日龄每个重复取 1 只健康鸡,宰后取胸肌组织样,液氮速冻, -80°C 冰箱保存,取 50~100 mg 肌肉样品按照 Trizol 试剂盒说明书(Invitrogen) 抽提

总 RNA,利用紫外分光光度计和甲醛琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量和浓度。检测后的总 RNA 立即进行反转录。

根据 GenBank 所查鸡 GAPDH(NM-204305)、MSTN(NM-001001461) 基因序列,采用 Premier 5.0 和 Oligo4.0 软件各设计 2 对引物。内参基因(GAPDH)上游引物:5'-GCCATCACAGCCACACAGA-3',下游引物:5'-TTTCCCCACAGCCTTAGCA-3',预期扩增片段长度 120 bp。MSTN 上游引物:5'-TTTTGGATGGGACTGGATTATAGCACCT-3',下游引物:5'-GCCTCTGGGATTTGCTTGGTGTACC-3',预期扩增片段长度 127 bp。

表 2 子代日粮组成及营养水平

Table 2 Ingredients and composition of diets for offspring

项目 Item	1~3 周	4~6 周	7~8 周
	1-3 weeks	4-6 weeks	7-8 weeks
日粮组成 Ingredient			
玉米 Corn	57	61.26	65.88
豆粕 Soybean meal	32.6	30	27
鱼粉 Fish meal	4	3	1.5
油脂 Soybean oil	3	2.5	2.5
盐 Salt	0.2	0.1	0.08
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.08	0.02	0.02
石粉 Limestone	1.4	1.4	1.2
赖氨酸 L-Lysine	1.1	1.1	1.2
蛋氨酸 DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
氯化胆碱 50% Choline chloride	0.1	0.1	0.1
复合多维 Vitamin premix	0.02	0.02	0.02
微量元素 Mineral premix	0.2	0.2	0.2
合计 Total	100	100	100
营养水平 Nurtition level			
代谢能 ME (MJ · kg ⁻¹)	13.0	13.03	13.19
粗蛋白 CP	21.50	20.05	18.12
赖氨酸 Lysine	1.25	1.10	0.95
蛋氨酸 Methionine	0.6	0.47	0.41
钙 Ca	1.0	0.96	0.84
有效磷 Available P	0.46	0.43	0.40

每千克全价饲料中含:VA 1 500 IU; VD 3 200 IU; VE 10 IU; VK 0.5 mg; VB₁₂ 0.01 mg; 生物素 0.15 mg; 叶酸 0.55 mg; 尼克酸 30 mg; 泛酸 10 mg; VB₆ 3.5 mg; VB₂ 3.6 mg; VB₁ 1.8 mg; 铜 8 mg; 碘 0.35 mg; 铁 80 mg; 锰 60 mg; 硒 0.15 mg; 锌 40 mg

Provided per kg of diets:VA 1 500 IU; VD 3 200 IU; VE 10 IU; VK 0.5 mg; VB₁₂ 0.01 mg; biotin 0.15 mg; folic acid 0.55 mg; niacin 30 mg; pantothenic acid 10 mg; VB₆ 3.5 mg; VB₂ 3.6 mg; VB₁ 1.8 mg; Cu (CuSO₄ · 5H₂O) 8 mg; I (KI) 0.35 mg; Fe (FeSO₄ · 7H₂O) 80 mg; Mn (MnSO₄ · 5H₂O) 60 mg; Se (Na₂SeO₃) 0.15 mg; Zn (ZnSO₄ · 7H₂O) 40 mg

反转录过程按照 TaKaRa 荧光定量试剂盒中反转录试剂使用说明进行,反转录总体积为 10 μL。RT 产物直接用于定量 PCR。定量 PCR 过程按照 TaKaRa 荧光定量试剂盒中 PCR 试剂使用说明进行,反应总体积为 25 μL。目的基因和内参基因分别在不同的定量 PCR 管中进行反应,每个样品做 3 个重复。

1.4 数据统计与处理

MSTN 和 GAPDH 荧光定量 PCR 结果使用 Opticon Monitor 分析软件进行处理,获得相应的 Ct 值,并计算目的基因与内参基因 Ct 值差值,即 ΔCt,通过扩增曲线数学模型推导,用 2^{-ΔCt} 表示目的基因 MSTN 基因在组织中的相对表达量。

试验结果以“平均值 ± 标准差”表示,用 SAS 8.2 统计软件 GLM 程序进行方差分析,用 Duncan's

进行各处理组间多重比较。

2 结果

2.1 母鸡日粮不同蛋白水平对后代生长性能的影响

母鸡日粮不同蛋白水平对后代生长性能的影响见表 3,母代高蛋白日粮组肉仔鸡初生体质量显著高于正常蛋白组 ($P < 0.05$),而 56 日龄体质量各组之间差异不显著,1~56 日龄高蛋白组肉仔鸡平均日增体质量略高于低蛋白组和正常蛋白组 ($P > 0.05$),平均日采食量高蛋白组有降低的趋势,料重比各组间差异不显著 ($P > 0.05$);品系对肉仔鸡体质量的影响不显著;品系和蛋白的交互作用对生长性能影响不显著 ($P > 0.05$)。

表3 母鸡日粮不同蛋白水平对后代生长性能的影响

Table 3 The effect of maternal different dietary protein levels on growth performance of offspring

品系 Line	蛋白 Protein	初始体质量/g Initial weight	终末体质量/kg Closing weight	日采食量/(g·d ⁻¹) Daily Feed Intake	日增体质量/(g·d ⁻¹) Daily Gain	料重比 Feed/Gain
LL	LP	46.34±1.02 ^{ab}	2.42±0.16	96.71±1.26	45.19±2.44	2.14±0.07
	NP	46.12±0.72 ^b	2.58±0.14	91.18±2.32	42.41±2.88	2.15±0.07
	HP	47.28±1.14 ^a	2.69±0.21	103.07±1.65	47.28±3.72	2.18±0.05
FL	LP	46.55±0.66 ^{ab}	2.67±0.39	97.31±2.35	45.05±5.92	2.16±0.06
	NP	46.87±1.02 ^{ab}	2.57±0.33	103.65±3.26	46.90±6.93	2.21±0.09
	HP	47.31±0.51 ^a	2.56±0.16	97.84±2.35	44.88±2.92	2.18±0.08
LL		46.58±1.07 ^a	2.56±0.20	97.11±2.65	44.96±3.56	2.16±0.07
FL		46.91±0.79 ^a	2.60±0.30	99.43±3.01	45.61±5.36	2.18±0.08
	LP	46.45±0.84 ^b	2.55±0.32	100.45±3.04	45.12±4.37	2.18±0.06
	NP	46.49±0.94 ^b	2.57±0.25	97.36±2.35	44.66±5.63	2.18±0.08
	HP	47.29±0.85 ^a	2.63±0.19	97.01±2.59	46.08±3.46	2.15±0.06
P 值 P-Value						
品系 Line		0.199 9	0.613 3	0.361 6	0.616 2	0.231 6
蛋白 Protein		0.014 4	0.653 2	0.412 1	0.658 7	0.397 0
品系×蛋白 Line×Protein		0.479 1	0.095 9	0.394 2	0.096 4	0.462 3

同列数据肩注字母不同者表示差异显著($P<0.05$),同列数据无肩注或肩注相同者表示差异不显著($P>0.05$)。LL. 低脂系; FL. 高脂系; LP. 低蛋白; NP. 正常蛋白; HP. 高蛋白,下表同

Different superscripts within a row mean significant difference ($P<0.05$), no superscript or the same superscript within a row mean no significant difference ($P>0.05$). LL. Lean line; FL. Fat line; LP. Low protein; NP. Normal protein; HP. High protein. The same as below

2.2 母鸡日粮不同蛋白水平对后代肌纤维直径的影响

由表4可知,随着蛋白水平的降低胸肌肌纤维直径逐渐减小,其中低蛋白组显著低于正常蛋白组和高蛋白组($P<0.05$);品系对肌纤维直径影响不显著;低脂系肉仔鸡中,与正常蛋白组相比,低蛋白组1、56日龄胸肌肌纤维直径显著降低($P<0.05$);高脂系肉仔鸡中,与正常蛋白组相比,低蛋白组1、42、56日龄胸肌肌纤维直径均显著降低($P<0.05$),高蛋白组56日龄胸肌肌纤维直径显著提高($P<0.05$);品系和蛋白的交互作用对肌纤维直径影响不显著($P>0.05$)。

2.3 母鸡日粮不同蛋白水平对后代肌纤维密度的影响

由表5可知,随着蛋白水平的降低胸肌肌纤维密度逐渐增加,其中低蛋白组显著高于正常蛋白组和高蛋白组($P<0.05$);品系对肌纤维密度影响不显著($P>0.05$);低脂系肉仔鸡,与正常蛋白组相比,低蛋白组1日龄胸肌肌纤维密度显著提高($P<$

0.05),高脂系肉仔鸡,与正常蛋白组相比,低蛋白组1、42、56日龄胸肌肌纤维密度显著提高($P<0.05$),高蛋白组肌纤维密度差异不显著($P>0.05$);品系和蛋白的交互作用对肌纤维密度影响不显著($P>0.05$)。

2.4 母鸡日粮不同蛋白水平对后代MSTN mRNA表达水平的影响

图1为MSTN与GAPDH基因PCR熔解曲线;图2为MSTN与GAPDH基因PCR扩增曲线。从熔解曲线看到MSTN及GAPDH的扩增产物均出现单一峰,表明特异的扩增了MSTN和GAPDH基因,说明PCR扩增片段为单一特异性产物。从MSTN基因PCR扩增效率曲线(图3)及GAPDH基因PCR扩增效率曲线(图4)得出,MSTN的扩增曲线回归方程为 $y=-3.1279x+33.37$, $R^2=0.9966$;GAPDH的扩增曲线回归方程为 $y=-3.4283x+25.91$, $R^2=0.9999$;其中,y为待测基因表达量的对数值,x为Ct值,二者呈负线性相关关系。结果也表明,MSTN与GAPDH基

因的扩增效率相似。

表 4 母鸡日粮不同蛋白水平对后代肌纤维直径的影响

品系 Line	蛋白 Protein	n	1 日龄 Day 1	21 日龄 Day 21	42 日龄 Day 42	56 日龄 Day 56
LL	LP	4	5.14±0.35 ^b	10.47±0.48 ^{ab}	16.05±1.01 ^{bc}	19.05±0.53 ^b
	NP	4	6.51±0.65 ^a	10.62±0.31 ^{ab}	17.04±0.15 ^{ab}	20.55±0.51 ^a
	HP	4	6.74±0.26 ^a	10.99±0.53 ^{ab}	18.13±0.34 ^a	21.55±1.14 ^a
FL	LP	4	5.25±0.36 ^b	10.09±0.22 ^b	15.26±0.45 ^c	17.36±0.56 ^c
	NP	4	6.64±0.66 ^a	10.60±0.35 ^{ab}	18.36±1.53 ^a	19.20±0.59 ^b
	HP	4	6.62±0.65 ^a	11.46±1.37 ^a	17.48±0.74 ^a	21.31±1.47 ^a
LL		12	6.13±0.84 ^a	10.69±0.47 ^a	17.07±1.05 ^a	20.38±1.28 ^a
FL		12	6.17±0.86 ^a	10.72±0.95 ^a	17.03±1.64 ^a	19.29±1.91 ^b
	LP	8	5.19±0.33 ^b	10.28±0.40 ^b	15.66±0.84 ^b	18.20±1.04 ^c
	NP	8	6.58±0.61 ^a	10.61±0.31 ^{ab}	17.70±1.23 ^a	19.87±0.88 ^b
	HP	8	6.68±0.47 ^a	11.23±1.00 ^a	17.81±0.64 ^a	21.43±1.23 ^a
P 值 P-Value						
品系 Line			0.851 8	0.934 1	0.912 8	0.007 2
蛋白 Protein			<.000 1	0.033 0	<.000 1	<.000 1
品系×蛋白			0.869 8	0.447 9	0.038 4	0.251 9
Line×Protein						

表 5 母鸡日粮不同蛋白水平对后代肌纤维密度的影响

品系 Line	蛋白 Protein	n	1 日龄 Day 1	21 日龄 Day 21	42 日龄 Day 42	56 日龄 Day 56
LL	LP	4	48 674.94±6 537.55 ^a	10 497.87±1 004.69 ^{ab}	4 229.51±646.05 ^{ab}	3 021.04±187.45 ^b
	NP	4	30 824.32±7 124.89 ^b	9 503.70±867.45 ^{ab}	3 583.79±52.72 ^{bc}	2 865.35±54.24 ^b
	HP	4	28 162.67±2 188.01 ^b	9 053.47±834.00 ^{ab}	3 281.39±210.70 ^c	2 410.89±768.58 ^b
FL	LP	4	46 747.41±6 278.66 ^a	10 808.44±1 638.81 ^a	4 593.91±518.28 ^a	3 783.68±193.14 ^a
	NP	4	29 603.68±6 842.74 ^b	9 397.07±302.02 ^{ab}	3 267.85±579.81 ^c	2 875.16±130.52 ^b
	HP	4	29 780.30±6 474.56 ^b	8 621.72±1 945.33 ^b	3 567.34±290.40 ^{bc}	2 596.56±395.27 ^b
LL		12	35 887.31±10 830.02 ^a	9 685.01±1 033.18 ^a	3 698.23±545.24 ^a	2 765.76±494.56 ^a
FL		12	35 377.13±10 270.23 ^a	9 609.08±1 638.09 ^a	3 809.70±734.64 ^a	3 085.13±581.12 ^a
	LP	8	47 711.18±6 022.74 ^a	10 653.15±1 269.32 ^a	4 411.71±576.14 ^a	3 402.36±444.10 ^a
	NP	8	30 214.00±6 499.90 ^b	9 450.39±604.01 ^{ab}	3 425.82±416.88 ^b	2 870.26±92.68 ^b
	HP	8	2 8971.49±4 556.87 ^b	8 837.60±1 404.70 ^b	3 424.37±280.23 ^b	2 503.73±574.43 ^b
P 值 P-Value						
品系 Line			0.841 1	0.881 1	0.541 3	0.050 9
蛋白 Protein			<.000 1	0.025 3	0.000 3	0.000 6
品系×蛋白			0.831 4	0.833 3	0.262 7	0.137 8
Line×Protein						

由表 6 可知,蛋白对 21 日龄胸肌 *MSTN* mRNA 表达量的影响显著($P<0.05$),随着蛋白水平的提高 *MSTN* mRNA 表达量有降低的趋势,与正常蛋白和低蛋白组相比,高蛋白组 *MSTN* mRNA 表

达量显著降低($P<0.05$);品系对 *MSTN* mRNA 表达量影响不显著($P>0.05$);低脂系肉仔鸡,高蛋白组 21 日龄胸肌 *MSTN* mRNA 表达量显著低于正常蛋白组和低蛋白组;品系和蛋白的交互作用对

MSTN mRNA 表达量影响不显著。

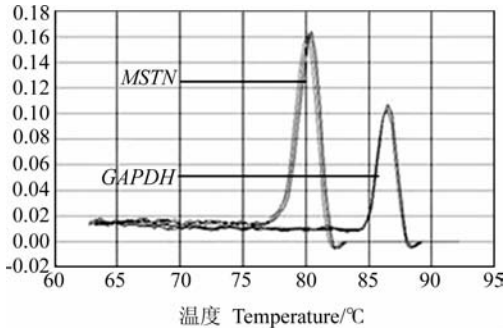


图 1 实时 PCR 熔解曲线

Fig. 1 PCR amplification melting curves

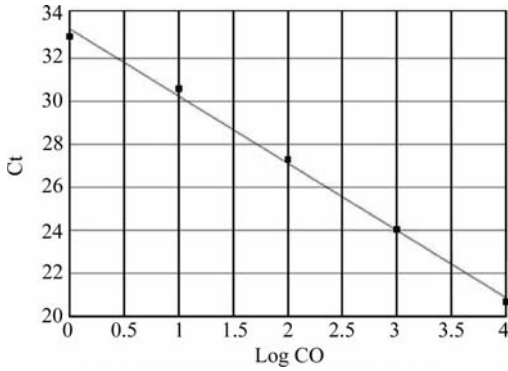


图 3 MSTN 基因实时 PCR 扩增效率曲线

Fig. 3 The amplification efficiency curve of MSTN gene by real time PCR

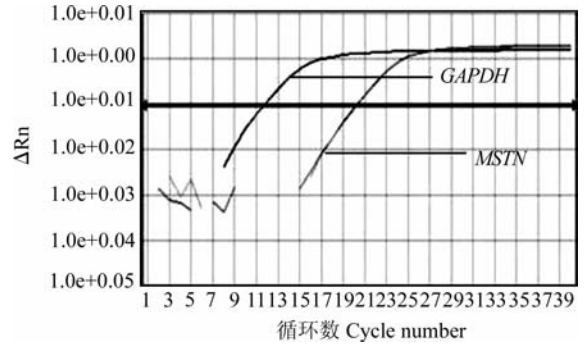


图 2 实时 PCR 扩增曲线

Fig. 2 PCR amplification curve

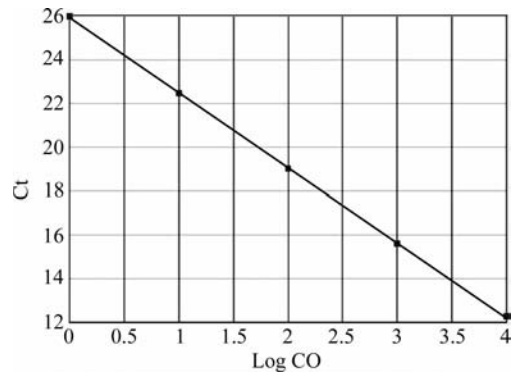


图 4 GAPDH 基因实时 PCR 扩增效率曲线

Fig. 4 The amplification efficiency curve of GAPDH gene by real time PCR

表 6 母鸡日粮不同蛋白水平对后代 MSTN 基因相对表达量的影响

Table 6 The effect of maternal different dietary protein levels on the relative expression of Myostatin gene of offspring

品系 Line	蛋白 Protein	n	21 日龄 Day 21	42 日龄 Day 42	56 日龄 Day 56
LL	LP	4	0.049 7 ± 0.007 3 ^a	0.039 3 ± 0.008 6	0.0229 ± 0.014 0
	NP	4	0.031 4 ± 0.012 4 ^b	0.020 0 ± 0.013 4	0.031 3 ± 0.001 8
	HP	4	0.031 8 ± 0.004 8 ^b	0.028 9 ± 0.017 8	0.027 3 ± 0.008 9
FL	LP	4	0.038 4 ± 0.006 3 ^{ab}	0.037 1 ± 0.024 7	0.039 0 ± 0.023 2
	NP	4	0.036 0 ± 0.014 2 ^{ab}	0.035 6 ± 0.011 0	0.028 5 ± 0.005 3
	HP	4	0.034 4 ± 0.004 0 ^b	0.026 3 ± 0.006 2	0.020 6 ± 0.007 6
LL		12	0.037 6 ± 0.011 9 ^a	0.029 4 ± 0.014 9	0.027 2 ± 0.009 4
FL		12	0.036 3 ± 0.008 5 ^a	0.033 0 ± 0.015 3	0.029 4 ± 0.015 2
	LP	8	0.044 0 ± 0.008 7 ^a	0.038 2 ± 0.017 1	0.030 9 ± 0.019 7
	NP	8	0.033 7 ± 0.012 6 ^b	0.027 8 ± 0.014 1	0.030 0 ± 0.003 9
	HP	8	0.033 1 ± 0.004 3 ^b	0.027 6 ± 0.012 4	0.023 9 ± 0.008 4

P 值 P-Value

品系 Line	0.716 6	0.559 9	0.667 1
蛋白 Protein	0.045 4	0.292 9	0.476 8
品系×蛋白	0.186 3	0.396 4	0.167 2
Line×Protein			

3 讨论

3.1 母鸡日粮不同蛋白水平对后代肌纤维直径和密度的影响

肌纤维的组织形态特征是肉质的组织学基础。肌纤维直径和密度作为肌纤维的反映指标,被证实与肉质性状有密切关系^[6-7]。肌纤维的粗细与品种、年龄、性别、部位运动和营养状况等因素有关。出生后一定时期内肌纤维数目不再增多,而其直径则随年龄的增长而变粗;不同品种随体质量的增加,肌纤维直径也增加,但幅度有所差异;营养水平低时,肌纤维直径较小;运动后肌肉发达,不但肌浆增多,肌纤维间的结缔组织也增多。本研究发现,1日龄时低蛋白组胸肌肌纤维直径显著低于高蛋白组和正常蛋白组,而肌纤维密度低蛋白组显著高于高蛋白组和正常蛋白组,由此可见,母体蛋白水平的调控对1日龄肉鸡存在显著的影响,证实了母体效应的存在,且在21、42及56日龄低蛋白组胸肌的肌纤维直径仍小于高蛋白组和正常蛋白组,肌纤维密度低蛋白组显著高于高蛋白组和正常蛋白组,说明母体蛋白水平的调控对后代肌纤维的生长不存在补偿效应。从试验结果来看,品系对肌纤维直径和密度均无显著影响,且品系和蛋白并不存在互作效应。

3.2 母鸡日粮不同蛋白水平对后代 MSTN mRNA 表达水平的影响

肌肉生长抑制因子(myostatin, MSTN)是一类在骨骼肌中广泛表达的糖蛋白,其功能和表达量的变化可能会通过调节靶基因的表达来改变肌肉的纤维组成及肌肉质量的变化。MSTN mRNA 主要分布在骨骼肌中,对骨骼肌的生长有调节作用,主要控制和维持骨骼肌细胞的数量和体积^[8]。McPherron等^[9]通过简并 PCR 首次在小鼠中发现并证实了MSTN基因对骨骼肌生长的负调控作用。Krik等^[10]发现再生的肌管中MSTN的含量极低,进一步证明了其对肌肉再生的负调控作用。Patel^[11]等也报道MSTN敲除鼠的骨骼肌量提高200%~300%,其胸肌约为野生型鼠的262%。有研究者设想通过MSTN基因来调控畜禽的肌肉生长^[12-13], Bass和Sakuma等^[14-15]认为,MSTN基因缺失使骨骼肌增大,一方面是由于肌纤维的数量增加,另一方面是由于肌纤维的大小增加。而Zhu等^[16]成功获得转基因小鼠,所表达的MSTN发生突变,这些小鼠的肌肉质量明显增加(20%~35%),并认为肌肉

质量的增加是由于肌纤维肥大而不是肌纤维增生引起的。目前已经克隆到小鼠、猪、牛、鸡、鹅等物种MSTN基因的部分序列,但是有关营养素对该基因表达的调控研究资料很少。本研究结果发现,母体高蛋白日粮组可显著降低子代21日龄胸肌MSTN mRNA表达量,其它阶段各组之间差异不显著,但MSTN表达量都有随蛋白升高而降低的趋势,可能是由于生长早期MSTN的表达量较高,而后期生长速度减慢表达量逐渐降低,差异逐渐变小,高蛋白组MSTN表达量降低对肌肉生长的抑制作用减弱,导致肌纤维肥大,初生体质量增加,但具体的作用机制还有待于进一步研究。

4 结论

4.1 母体蛋白水平对子代生长发育的影响存在显著的母体效应。

4.2 母鸡日粮蛋白水平的调控可影响后代肌纤维的发育,且子代受母体蛋白水平的影响并无补偿效应。

4.3 MSTN mRNA 的表达可调控肌纤维的生长和发育,母体蛋白水平的调控可能通过MSTN基因表达来影响后代的肌纤维发育。

参考文献:

- [1] GLUCKMAN P D, HARDING J E. The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation [J]. *Hormone Research*, 1997, 48 (Suppl): 11-16.
- [2] DWYER C M, STICKLAND N C, FLETCHER J M. The influence of maternal nutrition on muscle fiber number development in the porcine fetus and on subsequent postnatal growth [J]. *J Anim Sci*, 1994, 72: 911-917.
- [3] BOYD R D, TOUCHETTE K J. Current concepts in feeding prolific sows [C]. Proc 13th Annual Carolina Swine Nutr Conf. Raleigh N C, 1997: 11.
- [4] FAHEY A J, BRAMELD J M. The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb [J]. *J Anim Sci*, 2005, 83: 2564-2571.
- [5] BEE G. Effect of early gestation feeding, birth weight, and gender of progeny on muscle fiber characteristics of pigs at slaughter [J]. *J Anim Sci*, 2004, 82: 826-836.
- [6] 朱 砺,李学伟,李芳琼,等.肌纤维生长的影响因素

- 分析[J]. 四川农业大学学报, 2002, 20 (1): 29-31.
- [7] 刘冰. 不同品种鸡的肌纤维发育规律及其与肉质的关系[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [8] ANTONIOU E, GROSZ M. PCR based detection of bovine myostatin Q204X mutation[J]. *Anim Genet Jun*, 1999, 30 (3): 231-232.
- [9] McPHERRON A C, LAWIER A M, LEE S J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-superfamily member [J]. *Nature*, 1997, 387: 83-90.
- [10] KRIK S, OLDHAM J. Myostatin regulation during skeletal muscle generation [J]. *Cell Physiol*, 2000, 184 (3): 356-363.
- [11] PATEL K, AMTHOR H. The function of Myostatin and strategies of Myostatin blockade-new hope for therapies aimed at promoting growth of skeletal muscle [J]. *Neuromuscular Disorders*, 2005, 15 (2): 117-126.
- [12] SHARMA M, LANGLEY B, BASS J, et al. Myostatin in muscle growth and repair [J]. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 2001, 29 (4): 155-158.
- [13] LEE S J, McPHERRON A C. Myostatin and the control of skeletal muscle mass Commentary [J]. *Current Opinion in Genetics & Development*, 1999, 9(5): 604-607.
- [14] BASS J, OLDHAM J, SHARMA M, et al. Growth factors controlling muscle development [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 1999, 17 (2-3): 191-197.
- [15] SAKUMA K, WATANABE K, SANO M, et al. Differential adaptation of growth and differentiation factor 8/myostatin, fibroblast growth factor 6 and leukemia inhibitory factor in overloaded, regenerating and denervated rat muscles [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1497 (1): 77-88.
- [16] ZHU X, HADHAZY M, WEHLING M, et al. Dominant negative myostatin produces hypertrophy without hyperplasia in muscle [J]. *FEBS Lett*, 2000, 474 (1): 71-75.