猪背最长肌肌纤维类型的发育性变化及品种与 营养影响特点

杨飞云1,刘作华1,黄金秀1*,程 甦2

(1. 重庆市畜牧科学院, 重庆 402460; 2. 西南大学动物科技学院, 重庆 402460)

关键词: 猪;背最长肌;MyHC I;MyHC 2a;MyHC 2b;MyHC 2x

中图分类号: S828; S852.16

文献标识码: A

文章编号:0366-6964(2008)12-1701-08

Developmental Changes of Myofiber Types in Longissimus Dorsi Muscle of Rongchang and DLY Pigs under Different Nutrient Condition

YANG Fei-yun¹, LIU Zuo-hua¹, HUANG Jin-xiu¹*, CHENG Su²
(1. Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China;
2. College of Animal Science and Technology, Southwest
University, Chongqing 402460, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the developmental changes of myofiber types in longissimus dorsi (LD) muscle of Rongchang (RC) and Duroc×Landrace×Yorkshire (DLY) pigs under different dietary nutrient condition, by determining the proportion of mRNA abundance of four isoforms of myosin heavy chain (MyHC I, 2b, 2b and 2x) with semi-quantitative RT-PCR. The results showed that: (1)From 10 to 20 kg BW, the composition of myofiber types in LD muscle of both breeds changed dramatically with significantly decreased MyHC I and 2x fibers but ramarkably increased MyHC 2b fiber. (2) From 20 to 120 kg BW, the developmental changes of myofibers in LD muscle varied in breed and myofiber type. Except MyHC 2b fiber, the developmental patterns of the other three myofiber types were different between the two breeds. (3) There was no difference in the proportion of four myofiber types in LD muscle during 10-50 kg BW between the two breeds, but at 80 kg BW, RC pigs showed significantly lower proportion of MyHC 2b fiber and higher proportion of MyHC 2a fiber compared with DLY pigs. (4)

收稿日期:2008-04-15

基金项目:国家 973 项目(2004CB117503);重庆市自然科学基金重点项目(2005BA1012;2008BA1013)

作者简介:杨飞云(1968-),男,四川旺苍人,副研,博士生,主要从事动物营养与饲料科学研究,Tel: 023-46792056, E-mail:yfeiyun@yeah.ent

^{*} 通讯作者:黄金秀(1977-),女,江西进贤人,博士,主要从事猪营养与饲料科学研究,Tel: 023-46792081, E-mail:short00@163.com

Dietary nutitional levels had no significant effect on the composition of myofiber types in LD muscle of both breeds. The results suggested that the developmental changes and composition of myofiber types in LD muscle varied in breed. The breed difference of the composition appeared at 80 kg, and RC pigs showed significantly lower proportion of MyHC 2b fiber, which might correspond to their better meat quality.

Key words: pig; longissimus dorsi muscle; MyHC I; MyHC 2a; MyHC 2b; MyHC 2x

肌肉由肌细胞(或肌纤维)组成,是家畜胴体最 主要的组成部分,其特性与胴体的经济性状密切相 关。骨骼肌功能上的差异,主要是由于收缩蛋白和 代谢蛋白的多样性造成的。传统的研究主要采用肌 球蛋白 ATPase 或琥珀酸脱氢酶染色等组织化学法 将肌纤维分为4种类型,即慢速氧化型肌纤维(I 型)、快速氧化型(ⅡA型)、快速酵解型(ⅡB型)和 中间型肌纤维(ⅡX型)。这些方法对研究单个肌纤 维的生化状态发挥了重要作用,但无法准确定义肌 纤维的类型,且不同染色方法得出的结论也不尽相 同[1-2]。肌球蛋白是骨骼肌主要的收缩蛋白,其分子 由 2 个肌球蛋白重链(Myosin heavy chain, MyHC) 和 2 对具有 ATPase 活性的肌球蛋白轻链组成。不 同类型的肌纤维特异性地表达各自特殊类型的 MyHC,故可通过检测各种特异 MyHC 的基因表达 对肌纤维分型[3]。与以往的组织化学法相比,这种 分子分型法更为准确、可靠[4]。

迄今,人们在猪的骨骼肌上共发现8种 MyHC 异构体,但生长猪的骨骼肌仅表达4种: I、2a、2b和2x型 MyHC,其收缩速度依次增加[5-6]。荣昌(Rongchang,RC)猪是我国优良的地方猪种,肉质优良但生长速度慢、脂肪含量高;而杜×长×大(Duroc×Landrace×Yorkshire,DLY)杂交猪则是生长速度快且瘦肉率高,但肉质欠佳。这2个品种猪的不同生长阶段肌纤维类型组成的差异及营养对它的影响如何,至今尚未见相关报道。试验以RC和DLY猪为试验动物,采用相对定量RT-PCR法,研究不同品种、不同营养水平下背最长肌中I、2a、2b和2x4种MyHCmRNA在10~120kg阶段的表达变化,以探讨RC和DLY猪背最长肌肌纤维类型的发育规律,并分析品种及营养的影响特点,为深入认识肌纤维类型与肉质关系提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与饲粮

选择日龄相近、体质量8kg、健康去势的RC和

DLY 猪各 96 头公猪预试。至 10 kg 左右体质量时,每个品种选取 90 头,其中 6 头在试验当天屠宰,其余猪只按体质量随机分为 2 个营养处理组。其中,RC 猪按荣昌猪饲养标准(GB 7223-1987)和中国瘦肉型猪饲养标准(GB 8471-87)饲养,而 DLY 猪按荣昌猪饲养标准和 NRC(1998)标准饲养。每组6个重复,每个重复 7 头。参照试验处理安排,分别配制 10~20、20~50、50~80 及 80~120 kg 4 个阶段的玉米-豆粕型饲粮(表 1)。分别于 20、35、50、80和 120 kg(RC 猪 100 kg)体质量时,每个重复各屠宰 1 头。宰后迅速在胸腰结合处取背最长肌组织样,置液氮速冻,一70 ℃保存。

1.2 主要试剂及仪器

反转录酶(M-MLV)、DNA 聚合酶(Taq)、RNA酶抑制剂(RNase inhibitor)、RNA提取试剂(RNAiso Reagent)和聚丙烯酰胺均购自日本TaKaRa公司;PCR 仪为德国 Biometra Tgradient;电泳凝胶成像系统为 Bio-Rad Gel Doc 2000。

1.3 MyHC I、2a、2b 和 2x mRNA 的 RT-PCR 定量 测定

1. 3. 1 总 RNA 提取 参照 RNAiso Reagent 试剂 的说明书提取背最长肌中总 RNA。用紫外分光光 度计测定 OD_{260} 和 OD_{280} 值,计算总 RNA 浓度,其 OD_{260}/OD_{280} 比值均在 1. 8 以上。

1.3.2 反转录(RT) 总 RNA 2 μ g,5 μ mol/L MyHC下游引物 1 μ L,0.5 mol/L dNTPs 4 μ L,20 U RNA 酶抑制剂(RNase inhibitor)0.5 μ L,10 U 反转录酶(M-MLV RTse)1 μ L,5×RT Buffer 4 μ L (含 250 mol/L Tris-HCl pH8.3,50 mol/L MgCl₂,250 mol/L KCl,50 mol/L DTT,2.5 mol/L Spermidine),反应总体积 20 μ L。先加 RNA 模板和随机引物,70 $\mathbb C$ 水浴 10 min,迅速置于冰上冷却 5 min,然后加入其余试剂,37 $\mathbb C$ 反应 60 min,95 $\mathbb C$ 灭活 5 min。

1.3.3 PCR 2 μ L RT 产物, 1.25 U Taq DNA 聚合酶, 5 μ L 10 \times PCR Buffer (含50 mol/L Tris-

表 1 不同阶段的饲粮组成*

Table 1 Composition of the basal diets for pigs of different periods^a

%

原料	10∼20 kg		20~50 kg		50~80 kg		80~120 kg					
Ingredient	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
玉米 Corn	70.00	59.00	56.00	62.00	60.00	60.20	62.54	61.34	60.50	64.30	64.00	64.89
小麦麸 Wheat bran	5.53	11.56	4.18	19.73	18.95	6.53	25.00	23.00	14.00	28.40	25.49	16.33
豆粕 Soybean meal	16.90	21.00	30.10	15.50	18.00	26.50	10.00	13.00	19.00	4.80	8.00	12.50
植物油 Soybean oil	1.30	2.20	3.30	0.00	0.00	3.65	0.00	0.00	3.80	0.00	0.00	3.80
鱼粉 Fish meal	3.00	3.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.05	1.03
石粉 Limestone	0.65	0.60	0.80	1.04	1.09	1.00	1.00	1.03	0.95	0.00	0.00	0.05
磷酸氢钙	0.76	0.76	0.62	0.39	0.52	0.60	0.12	0.22	0.30	0.30	0.30	0.30
Calcium hydrogen phosphate	0.70	0.70	0.02	0.33	0.32	0.00	0.12	0.22	0.30	0.30	0.30	0.30
食盐 Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.13	0.09	0.04
赖氨酸 Lysine	0.00	0.00	0.05	0.00	0.06	0.08	0.01	0.04	0.05	0.00	0.00	0.00
苏氨酸 Threonine	0.06	0.08	0.15	0.04	0.08	0.14	0.03	0.07	0.10	0.07	0.07	0.06
益生素 Probiotic	0.50	0.50	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
预混料 Premixb	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
营养水平 Nutrient level												
消化能 DE/(MJ/kg)	13.8	13.8	14.2	13.0	13.0	14.2	13.0	13.0	14.2	13.0	13.0	14.2
CP/DE/(g/MJ)	11.25	12.98	14.42	11.57	12.64	13.85	10.80	11.86	12.53	9.21	10.29	9.45
Lys/DE $/(g/MJ)$	0.51	0.57	0.71	0.43	0.51	0.58	0.35	0.42	0.47	0.35	0.37	0.37
粗蛋白 Crude protein ^c	15.5	17.9	20.5	15.0	16.4	19.9	14.0	15.4	17.8	11.9	13.4	13.4
钙 Calcium ^c	0.66	0.66	0.78	0.55	0.60	0.60	0.47	0.50	0.56	0.48	0.55	0.52
有效磷 Available phosphorus	0.33	0.34	0.32	0.21	0.23	0.23	0.17	0.19	0.19	0.15	0.15	0.15
赖氨酸 Lysine	0.70	0.79	1.01	0.56	0.66	0.83	0.46	0.55	0.66	0.45	0.48	0.52
蛋氨酸 Methionine	0.27	0.29	0.33	0.22	0.24	0.27	0.20	0.22	0.23	0.18	0.19	0.21
蛋+胱氨酸 Methionine+Cystine	0.54	0.57	0.64	0.49	0.51	0.56	0.44	0.47	0.50	0.40	0.43	0.45
苏氨酸 Threonine	0.44	0.49	0.63	0.35	0.41	0.52	0.30	0.36	0.43	0.30	0.32	0.34
色氨酸 Tryptophan	0.13	0.15	0.18	0.12	0.12	0.15	0.10	0.11	0.13	0.09	0.09	0.10

*.1-GB 7223-1987; 2-GB 8471-87; 3-NRC(1998). *D. Provided per kilogram of diet; 10-20 kg BW; Cu (CuSO₄ • 5H₂O) 5 mg, Fe (FeSO₄ • 7H₂O) 80 mg, Zn (ZnSO₄ • 7H₂O) 80 mg, Mn (MnSO₄ • H₂O) 3 mg, Se (Na₂SeO₃) 0.25 mg, I (KI) 0.14 mg, VA 1 750 IU, VD₃ 200 IU, VE 11 IU, VK₃ 0.5 mg, Niacin 20 mg, Pantothenic acid 9 mg, Folic acid 0.3 mg, VB₁1 mg, VB₂3 mg, VB₆1.5 mg, VB₁₂ 15 μ g, Biotin 0.05 mg, Choline chloride 0.6 g; 20-50 kg BW; Cu (CuSO₄ • 5H₂O) 4 mg, Fe (FeSO₄ • 7H₂O) 60 mg, Zn (ZnSO₄ • 7H₂O) 60 mg, Mn (MnSO₄ • H₂O) 2 mg, Se (Na₂SeO₃) 0.15 mg, I (KI) 0.14 mg, VA 1 300 IU, VD₃150 IU, VE 11 IU, VK₃0.5 mg, Niacin 16 mg, Pantothenic acid 8 mg, Folic acid 0.3 mg, VB₁1 mg, VB₂ 2.5 mg, VB₆1 mg, VB₁₂10 μ g, Biotin 0.05 mg, Choline chloride 0.6 g; 50-80 kg BW; Cu (CuSO₄ • 5H₂O) 3.5 mg, Fe (FeSO₄ • 7H₂O) 50 mg, Zn (ZnSO₄ • 7H₂O) 50 mg, Mn (MnSO₄ • H₂O) 2 mg, Se (Na₂SeO₃) 0.15 mg, I (KI) 0.14 mg, VA 1 300 IU, VD₃150 IU, VE 11 IU, VK₃0.5 mg, Niacin 11 mg, Pantothenic acid 7 mg, Folic acid 0.3 mg, VB₁1 mg, VB₂2 mg, VB₆1 mg, VB₁₂5 μ g, Biotin 0.05 mg, Choline chloride 0.6 g; 80-120 kg BW; Cu (CuSO₄ • 5H₂O) 3 mg, Fe (FeSO₄ • 7H₂O) 40 mg, Zn (ZnSO₄ • 7H₂O) 50 mg, Mn (MnSO₄ • H₂O) 2 mg, Se (Na₂SeO₃) 0.15 mg, I (KI) 0.14 mg, VA 1 300 IU, VD₃150 IU, VE 11 IU, VK₃0.5 mg, Niacin 11 mg, Pantothenic acid 7 mg, Folic acid 0.3 mg, VB₁1 mg, VB₂2 mg, VB₆1 mg, VB₁₂5 μ g, Biotin 0.05 mg, Niacin 11 mg, Pantothenic acid 7 mg, Folic acid 0.3 mg, VB₁1 mg, VB₂2 mg, VB₆1 mg, VB₁₂5 μ g, Biotin 0.05 mg, Choline chloride 0.6 g. Analyzed composition

HCl pH9.0,100 mol/L NaCl,1.0 mol/L DTT,0.1 mol/L EDTA,50% glycerol,1.0% TritonX-100), 0.2 mmol/L dNTP Mixture (各 2.5 mmol/L),1.6

mol/L $MgCl_2$ (25 mmol/L), 0. 4 $\mu mol/L$ 目的基因引物。

目的基因引物及分析方法参照 Tanabe 与杨晓

静等^[7-8]建立的方法。I、2a、2b和 2x有各自的上游引物,但下游引物相同,其序列及扩增条件见表 2。每样品作 2次重复,同时用 ddH₂O和 RNA 样品分别取代 RT产物作对照,以检验是否有外源和基因

组 DNA 污染,并用混合样品(待测样品等比例混合)来建立最佳反应条件和校正不同批次间 RT 和 PCR 效率的差异。PCR 扩增结果与 Tanabe 和杨 晓静等的结果^[7-8]相吻合(图略)。

表 2 目的基因引物序列及 PCR 条件

Table 2 Forward and reverse primer sequences and PCR condition for target genes

目的基因	PCR 产物/bp	引物序列(5'-3')	PCR 条件	
Target gene	PCR product	Primer sequence	PCR condition	
I	384	F: AGCCTCTTTCTTCTCCCAGGGACATTC	95 ℃变性 9 min;94	
2a	375	F: CACTTGCTAAGAGGGACCTCTGAGTTCA		
2b	398	F: CATCTGGTAACATAAGAGGTACATCTAG	°C 30 s,55 °C 30 s,	
2x	429	F: CTTTCCTCATAAAGCTTCAAGTTCTGCC	72 ℃ 60 s,30 个循	
Antisense		R: ATCCAGGCTGCGTAACGCTCTTTGAGGTTGTA	环;72 ℃ 7 min	

1.3.4 电泳及灰度分析 取 6 μL PCR 产物在 8.0%聚丙烯酰胺凝胶上进行垂直板电泳,四硼酸钠 染色,用凝胶图像分析系统分析条带灰度。

1.3.5 数据统计分析 根据每条目的基因灰度与 2x 基因灰度之间的比值(2x 值为 1),求和,得出每个基因占总和的比例,即为每个基因所代表的肌纤维类型的比例。用 SAS9.0 系统进行数据统计分析。

2 结果与分析

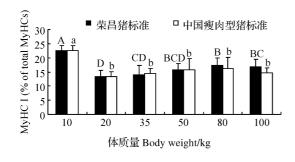
2.1 背最长肌 MyHC I 型纤维比例的发育性变化

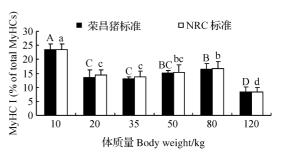
经分析,2 个品种的背最长肌 MyHC I 型纤维比例几乎不受饲粮营养水平的影响($P \ge 0.4842$),但受体质量变化的影响显著(P < 0.0001)。由图 1

可知,RC 和 DLY 猪的背最长肌 MyHC I 型纤维比例均在 10 kg 时最高,随后显著下降,约降 40% ($P \leq 0.0001$)。RC 猪在 $20 \sim 100 \text{ kg}$ 的 MyHC I 型纤维比例随体质量增加而稍有上升。DLY 猪在 $20 \sim 80 \text{ kg}$ 阶段的变化也不大,但 120 kg 时又出现显著降低(P < 0.0001)。

2.2 背最长肌 MyHC 2a 型纤维比例的发育性变化

经分析,2个品种的背最长肌 MyHC 2a 型纤维比例均不受饲粮营养水平的显著影响 ($P \ge 0.221$ 6),但随体质量变化而发生显著变化 (P < 0.000 1)。由图 2 可知,RC 猪的背最长肌 MyHC 2a 型纤维比例在 80 kg 时最低,约为其他各体质量阶段的 $74\% \sim 85\% (P \le 0.011$ 1)。而 DLY 猪随体质量增加而降低,至80 kg 时最低,而后又大幅度



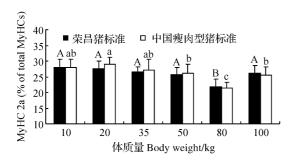


同一营养水平不同体质量差异显著者用不同字母表示(P<0.05),荣昌猪标准用大写字母表示,中国瘦肉型标准或 NRC 标准用小写字母表示,下同

Means with different letters (capital letters for nutrient standard for RC pigs, and small letters for nutrient standard for Chinese lean pigs or NRC) differ significantly among different BW but under the same nutrient condition (P < 0.05), The same as below

图 1 RC(左)和 DLY(右)猪在不同营养水平下背最长肌 MyHC I 型纤维比例的发育性变化

Fig. 1 Developmental changes of the proportion of MyHC I fiber in longissimus dorsi muscle of RC (left) and DLY (right) pigs under different nutrient condition



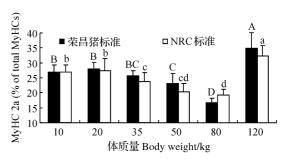
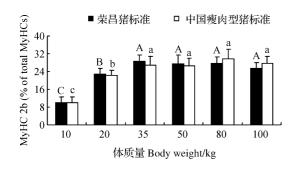


图 2 RC(左)和 DLY(右)猪在不同营养水平下背最长肌 MyHC 2a 型纤维比例的发育性变化 Fig. 2 Developmental changes of the proportion of MyHC 2a fiber in longissimus dorsi muscle of RC (left) and DLY (right) pigs under different nutrient condition

提高,显著高于其他各体质量($P \le 0.0047$)。

2.3 背最长肌 MyHC 2b 型纤维比例的发育性变化 经分析,饲粮营养水平对 RC 和 DLY 猪的背最长肌 MyHC 2b 型纤维比例均无显著影响 (P)

0.3683)。由图3可知,2个品种的发育性变化规律 也较为类似,均随体质量增加逐渐提高,至35 kg 达 到峰值,并维持到80 kg,而后又下降,其中DLY猪 下降显著($P \le 0.0009$)。



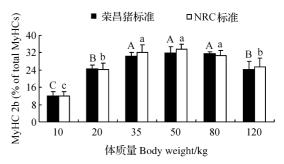
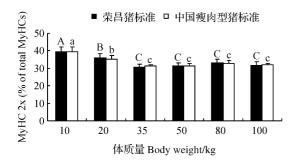


图 3 RC(左)和 DLY(右)猪在不同营养水平下背最长肌 MyHC 2b 型纤维比例的发育性变化 Fig. 3 Developmental changes of the proportion of MyHC 2b fiber in longissimus dorsi muscle of RC (left) and DLY (right) pigs under different nutrient condition

2.4 背最长肌 MyHC 2x 型纤维比例的发育性变化

经分析,饲养营养水平对 2 个品种的背最长肌 MyHC 2x 型纤维比例均无显著影响($P \ge 0.7089$),

但 2 个品种随体质量的变化规律存在一定差异。由图 4 可知,RC 猪随体质量增加逐渐降低,至 35 kg时最低,显著低于前20 kg($P \le 0.0005$),而后变化



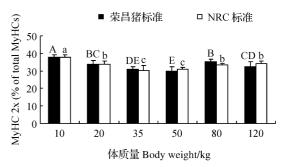


图 4 RC(左)和 DLY(右)猪在不同营养水平下背最长肌 MyHC 2x 型纤维比例的发育性变化 Fig. 4 Developmental changes of the proportion of MyHC 2x fiber in longissimus dorsi muscle of RC (left) and DLY (right) pigs under different nutrient condition

%

不大($P \ge 0.068$ 8)。而在 DLY 猪,背最长肌 MyHC 2x 型纤维比例在 $10 \sim 50$ kg 体质量阶段也随体质量增加而降低,但至 50 kg 时最低,随后又显著提高($P \le 0.022$ 8)。

2.5 背最长肌肌纤维类型在相同饲养标准下的品种间比较

由表 3 可知,在 $10\sim35$ kg 阶段,RC 猪背最长 肌中 4 种 MyHC 肌纤维比例与相同体质量的 DLY 猪没有显著差异($P\geqslant0.107$ 4)。在 50 kg,虽各种

肌纤维类型所占的比例也未见品种间显著差异,但 MyHC 2b 型纤维比例,RC 猪有低于 DLY 猪的趋势(P=0.0502)。到 80 kg 时,RC 猪的 2b 型及 2x + 2b 型纤维比例均显著低于 DLY 猪($P \le 0.0015$),而 2a 型及 I + 2a 纤维比例则与之相反($P \le 0.0126$)。由此可见,相同营养水平下,RC 和 DLY 猪的背最长肌中肌纤维类型的百分组成存在 差异,而这种差异主要体现在 80 kg 后。

表 3 荣昌猪饲养标准下 2 个品种猪背最长肌肌纤维类型的比较

Table 3 The comparison of myofiber types in longissimus dorsi muscle of both breeds under the Nutrient Standard for RC pigs(n=6)

品种 Breed	10 kg	20 kg	35 kg	50 kg	80 kg
МуНС І					
RC	22.5 \pm 1.85	13.4 \pm 2.09	14.1 ± 3.26	15.7 \pm 2.23	17.3 ± 2.57
DLY	23.5 \pm 1.92	13.6 \pm 2.57	13.1 \pm 0.64	15.2 ± 0.87	16.5 \pm 2.04
MyHC 2a					
RC	28.0 ± 2.73	27.6 ± 2.37	26.5 \pm 1.59	25.7 ± 2.23	21.9 ± 2.48^{a}
DLY	26.8 ± 2.39	28.0 ± 2.20	25.6 \pm 1.81	23.0 ± 3.51	16.7 \pm 1.51 $^{\rm b}$
MyHC 2b					
RC	10.1 \pm 2.50	22.9 ± 2.50	28.7 ± 2.70	27.5 ± 3.89	27.6 ± 3.05^{b}
DLY	12.0 ± 1.95	24.5 ± 1.76	30.5 \pm 1.68	31.9 ± 2.86	31.5 ± 0.81^{a}
MyHC 2x					
RC	39.5 \pm 2.67	36.1 \pm 2.23	30.7 \pm 1.59	31.2 ± 1.79	33.2 ± 1.85
DLY	37.7 ± 1.48	33.9 ± 2.02	30.8 \pm 1.48	30.0 ± 2.38	35.3 ± 1.60
MyHC I $+$ 2a					
RC	50.5 ± 3.30	41.0 ± 3.41	40.6 \pm 2.94	41.4 ± 3.10	39.2 ± 2.12^a
DLY	50.3 \pm 2.39	41.6 ± 2.47	38.7 \pm 1.81	38.1 \pm 3.67	33.2 ± 1.46^{b}
MyHC $2x + 2b$					
RC	49.5 \pm 3.30	59.0 ± 3.41	59.4 ± 2.94	58.6 ± 3.10	60.8 \pm 2.12 $^{\rm b}$
DLY	49.7 \pm 0.77	58.4 ± 2.47	61.3 ± 2.23	61.9 ± 3.67	66.8 ± 1.46^{a}

a,b. 同列不同肩标字母者表示同一体质量不同品种差异显著(P<0.05)

3 讨论

大多数陆栖脊椎动物的肌纤维数目在出生前就已确定,如猪在胚胎期 90 d 肌纤维的数目就已不再发生变化^[9],但肌纤维的类型并未固定,受遗传、发育阶段和营养等多种因素的影响。根据氧化供能的特点,肌纤维可分为有氧代谢型(I)、有氧酵解型(2a)、无氧酵解型(2b)及中间型(2x)等 4 种。猪在出生时,肌纤维大多数为氧化型,而酵解型几乎没有分化;随着年龄的增长,一些氧化型肌纤维具有转化

成酵解型纤维能力^[10-11]。动物早期生长阶段是肌纤维代谢和收缩类型转化的重要阶段。在出生后 3~20 d,猪背最长肌中 MyHC I、2a、2x 和 2b 型纤维比例均发生显著变化,其中 I、2a 和 2x 型纤维比例显著降低,而 2b 型纤维比例显著提高^[8]。试验也发现,RC 和 DLY 猪在 10~20 kg 阶段,背最长肌 MyHC I 和 2x 型纤维比例显著降低,2b 型纤维比例显著提高,但 2a 型纤维比例显著降低,2b 型纤维比例显著提高,但 2a 型纤维比例未见显著变化,这与杨晓静等^[8]的结果不同,可能与动物生理阶段有关,因为骨骼肌 MyHC 异构体的表达受时空的调控。成年

a.b. Means with different superscripts within the same column differ significantly between breeds at the same BW (P<0.05)

猪骨骼肌中仅表达 I、2a、2x 和 2b 4 种 MyHC,而刚出生仔猪的骨骼肌中检测不到 2b 型 MyHC 的存在,但高表达胎儿型和 α -心型 MyHC;随着年龄的增长,I 型和胎儿型 MyHC 的表达逐渐降低,而 2b型 MyHC 的表达逐渐提高[12-13]。

不同品种猪肌纤维类型的百分组成存在差异, 且这种特性具有中等到高的遗传力(h² = 0.20~ 0.59),其中 I 和 2b 型肌纤维比例具有高遗传力, h² 分别为 0.46±0.11 和 0.58±0.11[14]。杨晓静等[8] 采用相对定量 RT-PCR 对二花脸猪和大白猪的比 较试验发现,在猪出生后 3~45 d,背最长肌中 My-HCI、2a、2x和2b型纤维比例未见品种间显著差 异;但在 90~180 d,二花脸公猪背最长肌中 I 和 2a 型纤维比例均显著高于大白猪,而大白猪背最长肌 中 2b 型纤维含量显著高于二花脸猪。试验采用相 同方法对 RC 和 DLY 猪的比较研究发现,10~50 kg阶段的背最长肌肌纤维类型的百分组成未见品 种间显著差异,但在80 kg,荣昌猪的 MyHC 2a 型 纤维比例显著高于 DLY, 而 2b 型纤维比例则正好 相反,但 I 型纤维比例未见品种间显著差异,这与 Lefaucheur 等[2]对梅山猪和大白猪的试验结果较为 类似,而与杨晓静等[8]试验结果存在一定差异。其 原因可能是,杨晓静等[8]是在相同日龄不同体质量 下进行的品种间比较,而 Lefaucheur 等[2] 及本试验 采用相同体质量不同年龄的品种比较。此外,动物 品种不同可能也是造成以上差异的另一原因。

表达不同 MyHC 异构体的肌纤维具有不同的 代谢特性, MyHC I、2a、2x 和 2b 型肌纤维的有氧代 谢强度依次递减[5]。经过长期的集约化选育,现代 快速生长的猪种在显著提高瘦肉率产量的同时也提 高酵解型肌纤维的比例,降低氧化型肌纤维的比例, 使肌肉代谢发生变化,从而导致肉品质下降。我国 一些优良的地方品种,如荣昌猪、梅山猪和二花脸 猪,虽生长速度慢、饲料转化率低,但肉质优良,这与 肌纤维类型密切相关。在试验中,80 kg 时的荣昌 猪酵解型肌纤维(MyHC 2a)的含量显著高于相应 的 DLY。二花脸猪与大白猪相比,背最长肌含有较 高比例的 MyHC I 和 2a 型肌纤维^[8]。Lefaucheur 等[2]认为,梅山猪肌肉中酵解型肌纤维(背最长肌: MyHC 2b 型,菱形肌:MyHC 2x 型)的含量较低,使 其更多进行有氧代谢,而减少酵解代谢,同时提高利 用脂肪作为能源底物的能力。

除遗传内在因素外,营养是影响肌纤维肥大及

类型转化的重要外界因素。营养不良可显著降低肌纤维大小,且对快速酵解 II 型肌纤维的影响程度较其他类型的大[13,15]。然而,试验结果却表明,营养水平对 10~120 kg 的 RC 和 DLY 猪背最长肌中肌纤维类型的百分组成均无显著影响,这与 Harrison等[16]结果相一致。Harrison等[16]发现,营养不良对 3~7 周龄猪背最长肌中各肌纤维类型的含量也无显著影响,但显著提高菱形肌中慢速氧化 I 型肌纤维的比例。故营养对骨骼肌肌纤维类型构成的影响与肌肉部位有关,且因动物年龄或体质量而异。Lefaucheur等[13]对刚出生 1 周仔猪的试验发现,营养不良延迟了背最长肌肌纤维的成熟,而对菱形肌的影响却相对较轻。

综上所述,猪背最长肌肌纤维类型的百分组成 具有明显的发育性变化,随着年龄增长,氧化型肌纤 维类型减少,而酵解型肌纤维增加。而且,不同品种 存在差异,尤其是在 80 kg,RC 猪背最长肌中 My-HC 2b 型纤维比例显著低于 DLY 猪,这可能与其 优良肉质相关。

参考文献:

- [1] PETTE D.STARON R S. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers[J]. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 1990, 116:1-76.
- [2] LEFAUCHEUR L, MILAN D, ECOLAN P, et al.
 Myosin heavy chain composition of different skeletal
 muscles in Large White and Meishan pigs[J]. J Anim
 Sci,2004,82:1 931-1 941.
- [3] CHANG K C, FERNANDES K. Developmental expression and 5' end cDNA cloning of the porcine 2x and 2b myosin heavy chain genes[J]. DNA Cell Bio1, 1997,16:1 429-1 437.
- [4] ZHAO R Q, YANG X J, XU Q F, et al. Expression of GHR and PGC-1alpha in association with changes of MyHC isoform types in longissimus muscle of Erhualian and large white pigs Sus scrofa during postnatal growth[J]. Anim Sci, 2004, 79:203-211.
- [5] LEFAUCHEUR L, ECOLAN P, PLANTARD L, et al. New insights into muscle fiber types in the pig [J]. J Histochem Cytochem, 2002, 50; 719-730.
- [6] PELLEGRINO M A, CANEPARI M, ROSSI R, et al.
 Orthologous myosin isoforms and scaling of shortening velocity with body size in mouse, rat, rabbit and human muscles[J]. J Physiol, 2003, 546:677-689.
- [7] TANABE R, MUROYA S, CHIKUNI K. Expression

- of myosin haevy chain isoforms in porcine muscles determined by multiplex PCR[J]. J Food Sci,1998,64: 222-225.
- [8] 杨晓静,赵茹茜,陈 杰,等. 猪背最长肌肌纤维类型的发育性变化及其品种和性别特点[J]. 中国兽医学报,2005,25(1):89-94.
- [9] PICARD B, LEFAUCHEUR L, BERRI C, et al. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species[J]. Reprod Nutr Dev, 2002, 42: 415-431.
- [10] PETTE D, STARON R S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions [J]. Micr Res Tech, 2000, 50:500-509.
- [11] LARSSON L, ANSVED T. Effects of ageing on the motor unit[J]. Prog Neurobiol, 1995, 45:397-458.
- [12] LEFAUCHEUR L, HOFFMAN R, OKAMURA C, et al. Transitory expression of alpha cardiac myosin heavy chain in a subpopulation of secondary generation muscle fibers in the pig[J]. Dev Dynamics, 1997,

- 210:106-116.
- [13] LEFAUCHEUR L, ECOLAN P, BARZIC Y, et al. Early postnatal food intake alters myofiber maturation in pig skeletal muscle[J]. J Nutr, 2003, 133:140-147.
- [14] LARZUL C, LEFAUCHEUR L, ECOLAN P, et al. Phenotypic and genetic parameters for longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass, and meat quality traits in Large White pigs[J]. J Anim Sci, 1997, 75:3 126-3 137.
- [15] GOLDSPINK G, WARD P S. Changes in rodent muscle fibre types during post-natal growth, under-nutrition and exercise[J]. J Physiol, 1979, 296: 453-469.
- [16] HARRISON A P, ROWLERSON A M, DAUNCEY M J. Selective regulation of myofiber differentiation by energy status during postnatal development [J]. Am J Physiol, 1996, 270; R667-674.

动物疫情快递

欧洲多国发生蓝舌病

2008 年 11 月 6-7 日,葡萄牙、德国、希腊和奥地利相继向 OIE 通报了蓝舌病疫情。

葡萄牙的疫情始于 10 月 23 日,雷阿尔城 Chaves 的 1 家养殖场发生 1 型蓝舌病,涉及的易感动物有 5 头牛和 143 只绵羊,1 只绵羊发病并死亡。通过怀疑、临床症状和实验室检验确诊。葡萄牙国家兽医研究所 (国家实验室)10 月 31 日的实时 RT-PCR 试验结果呈阳性。感染来源尚不清楚。葡萄牙采取的控制措施有控制节肢动物、检疫、国内控制移运、筛检、浸洗/喷雾消毒,未禁止免疫,未对动物进行治疗。

奥地利的疫情始于 10 月 31 日,上奥地利州的 1 家养殖场发生 8 型蓝舌病,涉及 36 头易感牛(放养),1 例病例,该养殖场还有 14 头猪、3 匹马、9 只山羊。此次疫情非临床发病,系在牛传染性鼻气管炎、牛传染性脓疱型阴户阴道炎例行筛检中对反刍动物的样品进行蓝舌病检测发现。11 月 7 日,奥地利卫生与食品安全局(国家实验室)通过竞争 ELISA、血清分型、PCR、实时 PCR 和实时 RT-PCR 确诊为蓝舌病。感染来源尚不清楚。奥地利采取的控制措施有控制节肢动物、国内移运控制、筛检、区域化、浸洗/喷雾消毒,未禁止免疫,未对动物进行治疗。即将进行紧急免疫。这是奥地利首次发生蓝舌病。

德国的疫情始于 11 月 3 日,下萨克森州 Grafschaft Bentheim 地区的 3 家养殖场发生 6 型蓝舌病,涉及 369 头易感牛,4 例发病。依靠临床诊断和实验室检验作出诊断。Friedrich-Loeffler 研究所(国家实验室)11 月 5 日的 PCR 试验结果呈阳性。感染来源尚不清楚。德国采取的控制措施有检疫、国内移运控制、筛检、区域化、浸洗/喷雾消毒,未禁止免疫,未对动物进行治疗。

希腊的疫情始于 11 月 3 日,北爱琴大区的 3 家养殖场发生蓝舌病。疫情共涉及 462 只易感绵羊,20 例病例,死亡 1 例。通过怀疑、临床诊断和实验室检验作出诊断。雅典兽医研究所(国家实验室)11 月 5 日通过竞争 ELISA、实时 RT-PCR 手段确诊为蓝舌病,病毒血清型正在鉴定中。感染来源尚不清楚。希腊采取的控制措施有检疫、国内移运控制、筛检、区域化、浸洗/喷雾消毒,禁止免疫,未对动物进行治疗。即将采取改良扑杀措施。希腊上一次发生蓝舌病是在 2001 年 12 月。