

猪肌肉组织 MDH 和 LPL 基因表达与肌肉脂肪含量和脂肪酸组成关系的研究

祝仁铸¹, 尹逊河^{1*}, 王元虎², 李少青², 武道留³, 王倩¹

(1. 山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018; 2. 山东绿润生态产业园, 章丘 250200;

3. 山东省农业管理干部学院, 济南 250100)

摘要: 为了研究野菜 F₁ 代猪肌肉内苹果酸脱氢酶 (Malate dehydrogenase, MDH) 和脂蛋白脂酶 (Lipoprotein lipase, LPL) 基因表达与肌肉脂肪含量及脂肪酸组成的关系, 探讨肌肉脂肪的沉积机理。本研究以长白山野猪与莱芜猪的杂交 1 代猪 (简称野菜 F₁ 代猪) 和长×大白猪 (各 40 头, 公母各半) 为研究对象, 在 20、35、50、70、90 kg 5 个体重阶段采取背腰最长肌, 利用荧光定量 RT-PCR 方法研究 MDH 和 LPL 基因表达的发育性变化, 分析该变化与肌肉脂肪含量和脂肪酸组成的关系。结果表明: 随着体重的增加, 野菜 F₁ 猪和长×大白猪肌肉内 MDH 基因表达在 20~70 kg 阶段呈上升趋势, 在 70~90 kg 阶段呈下降趋势; 野菜 F₁ 猪和长×大白猪肌肉内 LPL 基因表达皆呈持续上升的趋势。相关分析表明: 野菜 F₁ 猪 MDH 和 LPL mRNA 表达均与肌肉脂肪含量呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与多不饱和脂肪酸/饱和脂肪酸的比值 (PUFA/SFA) 不相关 ($P > 0.05$); 长×大白猪 MDH 和 LPL mRNA 表达分别与肌肉脂肪含量不相关和显著正相关 ($P > 0.05$ 和 $P < 0.05$), 分别与 PUFA/SFA 呈极显著和显著负相关 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$); 2 种猪肌肉内 PUFA/SFA 与肌肉脂肪含量皆呈显著负相关 ($P < 0.05$)。结果提示: 猪肌肉内 MDH 和 LPL 基因表达皆具有明显的体重发育特征; 可以通过控制猪饲料中 PUFA 的含量来调节猪肉中 PUFA 的含量, 从而影响 MDH 和 LPL 的基因表达, 达到调节肌肉脂肪含量的目的。

关键词: 猪; 肌肉脂肪含量; 脂肪酸组成; MDH mRNA; LPL mRNA; 发育性变化

中图分类号: S828; S813.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)08-1182-07

The Gene Expression of MDH and LPL in Muscle and Their Association with Content of Intramuscular Fat and Composition of Fatty Acids in Pigs

ZHU Ren-zhu¹, YIN Xun-he^{1*}, WANG Yuan-hu², LI Shao-qing², WU Dao-liu³, WANG Qian¹

(1. College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018,

China; 2. Lujian Environmental Friendly Park of Shandong, Zhangqiu 250200, China;

3. Shandong Cadre College of Agricultural Management, Jinan 250100, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the relationship among gene expression of malate dehydrogenase and lipoprotein lipase in muscle and contents of intramuscular fat and composition of fatty acids in F₁ hybrids with boar × Laiwu pigs, and to investigate the sedimentary mechanism of intramuscular fat. F₁ hybrids with boar × Laiwu pigs (called YL F₁) and pigs with Landrace × Yorkshire (40 pigs for each, 20 for male, 20 for female) were used. The dorsal-waist longissimus muscle were collected when the body weight reached 20, 35, 50, 70 and 90 kg. The developmental changes of MDH and LPL genes expression was detected by fluorescent quantitative RT-PCR method, and the relationship between the change and the content of intramuscu-

收稿日期: 2013-02-04

基金项目: 山东省科技攻关项目 (2010GNC10930)

作者简介: 祝仁铸 (1988-), 男, 山东临沂人, 硕士, 主要从事安全优质绿色猪肉生产及品质检测研究, E-mail: zhurenzhu@126.com

* 通信作者: 尹逊河, 教授, E-mail: xhyin@sdau.edu.cn; xhyin@163.com

lar fat and composition of fatty acids was analyzed. The results indicated that with the increase of body weight, the MDH gene expression in muscle in F₁ hybrids with boar × Laiwu pigs and pigs with Landrace × Yorkshire pigs increased from 20 to 70 kg, and decreased from 70 to 90 kg. The LPL gene expression in muscle in F₁ hybrids with boar × Laiwu pigs and pigs with Landrace × Yorkshire pigs increased with the increase of body weight. Correlation analysis showed that in F₁ hybrids with boar × Laiwu pigs, the expression of MDH and LPL mRNA had significant positive correlation with content of intramuscular fat ($P < 0.05$), but had no correlation with rate of polyunsaturated fatty acid to saturated fatty acid ($P > 0.05$). In Landrace × Yorkshire pigs, the expression of MDH and LPL mRNA had no relationship and had significant positive correlation with content of intramuscular fat, respectively ($P > 0.05$ and $P < 0.05$), and had significant negative correlation with rate of polyunsaturated fatty acid to saturated fatty acid ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). The rate of polyunsaturated fatty acid to saturated fatty acid had significant negative correlation with the content of intramuscular fat in two pig populations ($P < 0.05$). The results suggest that with the increase of body weight, the expression of both MDH and LPL genes in muscle of pigs have apparent developmental characteristic. We can adjust the content of PUFA in muscle by controlling the content of PUFA in diet of pigs, which can affect the expression of MDH and LPL genes, and adjust the content of intramuscular fat.

Key words: pigs; content of intramuscular fat; composition of fatty acids; MDH mRNA; LPL mRNA; developmental changes

肌内脂肪 (Intramuscular fat, IMF) 含量是评定肉质的重要指标,它决定了肉的风味、嫩度和多汁性^[1]。肌内脂肪的脂肪酸组成对人体健康有影响,食入过多饱和脂肪酸 (SFA) 会导致血浆中 LDL 胆固醇的增加和冠心病的发生,动脉粥样硬化和癌症的发生^[2]。相反,多不饱和脂肪酸 (PUFA) 可使胆固醇酯化,降低血中胆固醇和甘油三酯的含量,降低血液粘稠度,改善血液微循环,提高脑细胞的活性,增强记忆力和思维能力,抗肿瘤,防止心脏病等^[3-5]。因此,多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值 (PUFA/SFA) 是评价肉质的一个重要指标。近年来研究发现,牛多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值 (PUFA/SFA) 对肌内脂肪的沉积量有重要影响^[6],但对猪是否有影响,目前还未见报道。

苹果酸脱氢酶 (Malate dehydrogenase, MDH) 和脂蛋白脂酶 (Lipoprotein lipase, LPL) 分别是脂肪酸合成和分解过程中的关键酶,对肌内脂肪沉积有着非常重要的影响。MDH 在动物体内催化苹果酸转变为丙酮酸并产生 NADPH,而 NADPH 是动物体内脂肪合成的重要辅酶,因此 MDH 在脂肪合成中起了非常重要的作用^[7]。目前关于 MDH 活性对猪体背膘厚及肌内脂肪含量影响的研究已有报道^[8],但从基因表达的角度分析 MDH 对肌内脂肪

沉积影响的报道尚未见。LPL 能够将血液中乳糜微粒和极低密度脂蛋白所携带的甘油三酯分解成甘油和脂肪酸,向有关组织提供合成甘油三酯所需的原料,对脂肪沉积起着重要的调控作用^[9]。但是,关于猪肌内脂肪中多不饱和脂肪酸 (PUFA) 与饱和脂肪酸 (SFA) 的比值对 LPL 基因表达影响的研究,目前还未见报道。

本研究以野菜 F₁ 猪和长 × 大白猪为试验动物,以在各组织中都恒量表达的 β actin 作为内参基因,运用荧光定量 RT-PCR 方法,研究肌肉中 MDH 和 LPL 基因表达的发育性变化,并对 MDH 和 LPL 基因表达量、肌内脂肪含量和多不饱和脂肪酸/饱和脂肪酸的比值三者之间进行相关性分析。以得出 MDH 和 LPL 基因表达对肌内脂肪沉积的影响规律,分析 PUFA/SFA 与 MDH 和 LPL 基因表达的相关性,为进一步阐述肌内脂肪的沉积机理提供理论依据,为生产健康美味的猪肉做理论探索。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物的选择及饲养 随机选择出生日龄基本一致、生长良好、体重 15 kg 左右的野菜 F₁ 猪和长 × 大白猪断奶仔猪各 40 头 (公母各半),以同

一营养水平,饲养在同一栋大型半封闭式水泥地面猪舍内,每种猪各关在 2 个栏内。试验猪前期(开始~50 kg 体重)以舍饲为主,自由采食和饮水,并补饲牧草、落果和青储多汁饲料;后期(50~90 kg 体重)舍饲+放牧,按体重的 3.5% 给料,自由采食牧草、落果和青储多汁饲料,自由饮水。按猪场常规进行驱虫和免疫,做好采食量等记录。

1.1.2 试验样品的采集 当试验猪饲养至 20、35、50、70 和 90 kg 时屠宰,每个猪群每个体重组各屠宰 6 头。屠宰后迅速在胴体第 1~2 腰椎处取背腰最长肌,一部分肌肉-20℃ 保存,用于测肌内脂肪含量及脂肪酸组成,其余的装入冻存管再放入液氮罐中用于测定 *MDH* 和 *LPL* mRNA 的表达量。

1.1.3 主要仪器及试剂 GC-2010 型气相色谱仪(岛津国际贸易有限公司);5804R 低温冷冻离心

机(Sigma 公司);ABI7500 Realtime 荧光定量 PCR 仪(美国 Gene Company Limited);索氏提取仪;D9108A 型 Trizol、DRR036S 型反转录试剂盒、DRR420A 型 SYBR Green 定量试剂盒(大连宝生生物工程有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 肌内脂肪含量及脂肪酸组成的测定 肌内脂肪含量按照国家标准,采用索氏抽提法测定(GB/T 5009.6-2003);脂肪酸组成按照国家标准,利用 GC-2010 型气相色谱仪进行测定(GB/T 9695.2-2008)。

1.2.2 引物的设计合成 根据 GenBank 中猪 cDNA 序列,设计引物,引物由北京华大生物技术有限公司合成,见表 1。

表 1 PCR 引物信息

Table 1 The information of PCR primers

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence	序列号 Accession No.	产物大小/bp Product size
β -actin-Forward	GGACTTCGAGCAGGAGATGG	AY550069	233
β -actin-Reverse	GCACCGTGTGGCGTAGAGG		
MDH-Forward	CGAGCTAAAGCACAGATT	XM003484245	430
MDH-Reverse	TAGGGAGACCTTCAACAA		
LPL-Forward	CTCGTGCTCAGATGCCCTAC	AY686761	147
LPL-Reverse	GGCAGGGTGAAAGGGATGTT		

1.2.3 *MDH* 和 *LPL* 基因表达量的测定 总 RNA 的提取及纯化借鉴王刚等^[10]的方法;*MDH* 和 *LPL* 基因表达量的测定采用荧光定量 RT-PCR 方法,以持家基因 β actin 为内参,利用 DRR036S 型反转录试剂盒和 DRR420A 型 SYBR Green 定量试剂盒在 7500Real time PCR System 上测定 Ct 值,采用相对定量法中的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法^[11]计算表达量。

1.2.4 数据的统计分析 肌内脂肪含量、脂肪酸组成、*MDH* 和 *LPL* 表达量数据用 SAS 9.13 统计软件中的单因子方差分析(One-way ANOVA),均数间的多重比较用 Duncan 法,相关性分析使用 Descriptive 中的 Correlations 方法。

2 结果

2.1 野莱 F₁ 猪和长×大白猪肌肉组织 *MDH* 和 *LPL* mRNA 表达的发育性变化

肌肉组织 *MDH* mRNA 的表达量在 2 个猪群

都随着体重的增加表现出先升高后降低的发育趋势,野莱 F₁ 猪的表达量在 20、35、50、90 kg 体重阶段都要高于长×大白猪,尤其在 20~50 kg 时与长×大白猪差异显著($P<0.05$),在 70 kg 体重阶段时略低于长×大白猪(图 1)。*LPL* mRNA 表达量在 2 个猪群皆随着体重的增加表现出持续上升的趋势,野莱 F₁ 猪的表达量在各体重阶段都要高于长×大白猪,尤其在 20~35 kg 时与长×大白猪差异极显著($P<0.01$),在 50 kg 时差异显著($P<0.05$)(图 2)。

2.2 野莱 F₁ 猪和长×大白猪肌内脂肪含量的发育性变化

野莱 F₁ 猪和长×大白猪肌内脂肪含量随着体重的增加都呈现出先升高后降低再升高的发育趋势,在 50 kg 体重阶段时达到最高水平,之后开始下降,从 70 kg 开始又处于上升阶段。在各体重阶段野莱 F₁ 猪肌内脂肪含量都要高于长×大白猪,且在 20 和 90 kg 体重时与长×大白猪差异显著($P<$

0.05), 在 35 kg 时差异极显著 ($P < 0.01$, 图 3)。

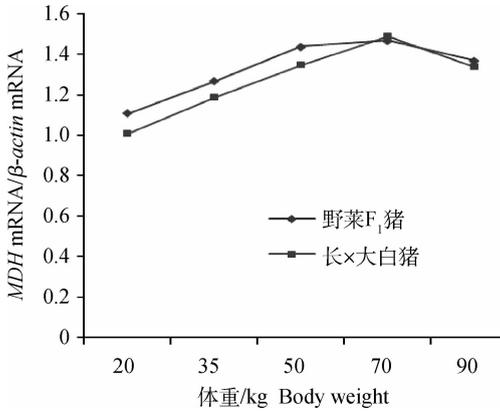


图 1 2 个猪群肌肉组织 MDH mRNA 表达的发育性变化
Fig. 1 Developmental changes of MDH mRNA expression in muscle in two pig populations

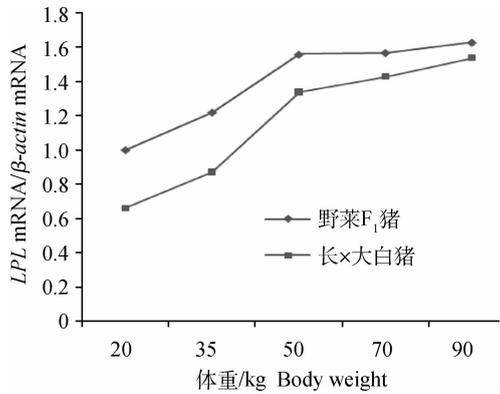


图 2 2 个猪群肌肉组织 LPL mRNA 表达的发育性变化
Fig. 2 Developmental changes of LPL mRNA expression in muscle in two pig populations

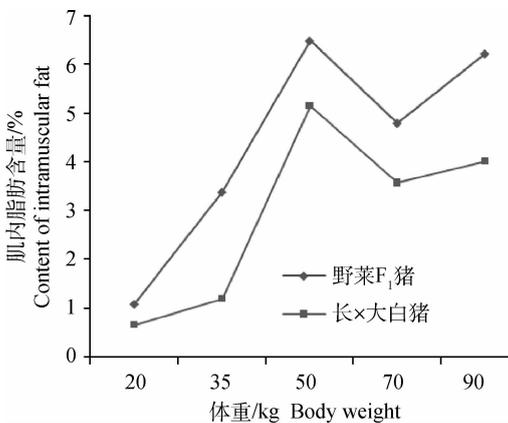


图 3 2 个猪群肌内脂肪含量的发育性变化
Fig. 3 Developmental changes of the content of intramuscular fat in two pig populations

2.3 野菜 F₁ 猪和长×大白猪肌内脂肪脂肪酸组成的发育性变化

野菜 F₁ 猪肌内脂肪的饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸随着体重的增加呈现出由低到高之后降低再升高的趋势(表 2), 50 kg 体重阶段达到最高水平且与其他各体重阶段相比差异显著 ($P < 0.05$), 而长×大白猪是呈现出由高到低之后升高再降低的趋势(表 3), 70 kg 体重阶段达到最高水平且与其他各个体重阶段相比差异显著 ($P < 0.05$); 多不饱和脂肪酸随着体重的增加野菜 F₁ 猪表现出由低到高再降低的趋势, 50 kg 体重阶段达到最高水平且与其他体重阶段相比差异不显著 ($P > 0.05$), 而长×大白猪是由高到低之后升高再降低的趋势, 20 kg 体重阶段为最高水平且与其他体重阶段相比差异显著 ($P < 0.05$); 多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值随着体重的增加野菜 F₁ 猪表现出由高到低之后升高再降低的变化趋势, 而长×大白猪表现出由低再升高的趋势, 这 2 个猪群各自在各体重阶段相比均差异显著 ($P < 0.05$)。

2.4 野菜 F₁ 猪和长×大白猪肌肉 MDH 和 LPL mRNA 表达与肌内脂肪含量及 PUFA/SFA 三者之间的相关性

经相关分析表明(表 4), 野菜 F₁ 猪 MDH 和 LPL mRNA 表达均与肌内脂肪含量呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与多不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸的比值 (PUFA/SFA) 呈不相关 ($P > 0.05$); 长×大白猪 MDH 和 LPL mRNA 表达与肌内脂肪含量呈不相关和显著正相关 ($P > 0.05$ 和 $P < 0.05$), 与 PUFA/SFA 呈极显著负相关和显著负相关 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$); 2 个猪群肌内 PUFA/SFA 与肌内脂肪含量皆呈显著负相关 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 LPL mRNA 表达与肌内脂肪含量及脂肪酸组成的关系

脂蛋白脂酶(LPL)是脂肪细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞、乳腺细胞以及巨噬细胞等实质细胞合成和分泌的一种糖蛋白, 催化与蛋白质相联的甘油三酯的分解代谢。它可将血液中的乳糜微粒和极低密度脂蛋白所携带的甘油三酯水解成甘油和脂肪酸, 以供各种组织贮存和利用。V. Gerfault 等研究表明, 猪皮下脂肪组织中 LPL 的高表达能够显著的增加其

表2 野菜 F₁ 猪肌肉内脂肪脂肪酸组成的发育性变化Table 2 Developmental changes of the composition of intramuscular fatty acids in F₁ hybrids with boar × Laiwu pigs mg · g⁻¹

项目 Item	体重/kg Body weight				
	20	3	50	70	90
十五烷酸 C15:0	0.11±0.08	0.10±0.05	0.10±0.03	0.11±0.04	0.07±0.02
棕榈酸 C16:0	32.32±0.74 ^{Bd}	45.72±0.73 ^{ABb}	63.10±0.93 ^{Aa}	30.28±0.13 ^{Bc}	52.84±0.74 ^{Aa}
十七烷酸 C17:0	0.51±0.16	0.49±0.08	0.48±0.10	0.41±0.06	0.30±0.00
硬脂酸 C18:0	101.36±0.62 ^{BCc}	145.18±1.10 ^{Bb}	207.82±1.59 ^{Aa}	71.46±0.68 ^{Cd}	132.07±1.22 ^{Bb}
花生酸 C20:0	0.33±0.11 ^{ABb}	0.55±0.04 ^{Aa}	0.58±0.18 ^{Aa}	0.10±0.02 ^{Bc}	0.55±0.07 ^{Aa}
十五碳银杏酸 C15:1	0.04±0.02	0.03±0.01	0.06±0.02	0.04±0.01	0.03±0.01
棕榈油酸 C16:1	5.06±0.15 ^{Bc}	5.96±0.20 ^{Bb}	8.00±0.37 ^{Aa}	5.09±0.12 ^{Bc}	8.82±0.19 ^{Aa}
十七碳银杏酸 C17:1	0.32±0.06	0.35±0.22	0.37±0.06	0.38±0.15	0.30±0.00
油酸 C18:1	37.71±0.48 ^{Cd}	50.72±0.85 ^{Bc}	78.28±0.06 ^{Aa}	40.27±0.29 ^{Cd}	68.07±0.85 ^{ABb}
花生一烯酸 C20:1	1.13±0.12 ^c	1.57±0.28 ^b	1.78±0.11 ^a	1.30±0.28 ^b	2.05±0.27 ^a
亚油酸 C18:2	23.14±0.87 ^a	25.08±0.21 ^a	24.97±0.15 ^a	15.71±0.40 ^b	13.89±0.56 ^b
花生二烯酸 C20:2	0.90±0.12 ^{Ab}	1.36±0.31 ^{Aa}	1.09±0.14 ^{Ab}	0.22±0.16 ^{Bc}	0.21±0.08 ^{Bc}
亚麻酸 C18:3	0.84±0.17 ^{Ab}	1.10±0.27 ^{Aa}	0.99±0.20 ^{ABab}	0.53±0.25 ^{Bc}	0.39±0.11 ^{Bd}
花生三烯酸 C20:3	0.75±0.17 ^{Ac}	0.87±0.25 ^{ABab}	0.94±0.15 ^{Aa}	0.40±0.21 ^{Bd}	0.38±0.03 ^{Bd}
花生四烯酸 C20:4	6.83±0.45 ^{Aa}	5.95±0.24 ^{Ab}	7.14±0.39 ^{Aa}	3.27±0.10 ^{Bd}	3.90±0.39 ^{Bc}
花生五烯酸 C20:5	0.24±0.03 ^{Ab}	0.33±0.06 ^{Aa}	0.35±0.14 ^{Aa}	0.06±0.01 ^{Bc}	0.09±0.02 ^{Bc}
二十二六烯酸 C22:6	0.50±0.09 ^{Ab}	0.70±0.13 ^{Aa}	0.72±0.20 ^{Aa}	0.14±0.05 ^{Bc}	0.07±0.02 ^{Bd}
饱和脂肪酸 SFA	134.63±0.78 ^{Cc}	192.10±1.22 ^{Bb}	272.08±1.34 ^{Aa}	102.36±0.86 ^{Cd}	185.93±1.02 ^{Bb}
单不饱和脂肪酸 MUFA	44.26±0.22 ^{Cd}	58.63±0.41 ^{Bc}	88.49±0.34 ^{Aa}	47.08±0.32 ^{Cd}	79.27±0.44 ^{Ab}
多不饱和脂肪酸 PUFA	33.20±0.31 ^{Ab}	35.39±0.26 ^{ABab}	36.20±0.24 ^{Aa}	20.33±0.15 ^{Bc}	18.93±0.24 ^{Bc}
多不饱和脂肪酸/ 饱和脂肪酸之比 PUFA/SFA	1:4.06±0.11 ^{Aa}	1:5.43±0.13 ^{Ab}	1:7.52±0.21 ^{ABc}	1:5.03±0.18 ^{Ab}	1:9.82±0.13 ^{Bd}

不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下同

The different lowercase letters indicate significant difference($P<0.05$), the different capital letters indicate extremely significant difference($P<0.01$). The same as below

表3 长×大白猪肌肉内脂肪脂肪酸组成的发育性变化

Table 3 Developmental changes of the composition of intramuscular fatty acids in pigs with Landrace×Yorkshire mg · g⁻¹

项目 Item	体重/kg Body weight				
	20	35	50	70	90
十五烷酸 C15:0	0.18±0.03 ^a	0.16±0.05 ^{ab}	0.14±0.03 ^b	0.13±0.02 ^b	0.11±0.01 ^c
棕榈酸 C16:0	39.37±0.18 ^{Cc}	30.62±0.45 ^{Cd}	78.56±0.11 ^{Aa}	80.44±0.21 ^{Aa}	53.33±0.05 ^{Bb}
十七烷酸 C17:0	1.08±0.06 ^a	0.72±0.03 ^b	0.79±0.04 ^b	0.79±0.05 ^b	0.60±0.08 ^c
硬脂酸 C18:0	142.46±1.47 ^{Bc}	94.01±0.22 ^{Cd}	244.58±1.41 ^{Aa}	247.82±1.83 ^{Aa}	155.36±1.38 ^{Bb}
花生酸 C20:0	0.39±0.11 ^{Bbc}	0.26±0.06 ^{Bc}	0.77±0.09 ^{Aa}	0.80±0.04 ^{Aa}	0.48±0.05 ^{Bb}
十五碳银杏酸 C15:1	0.12±0.02 ^A	0.11±0.03 ^A	0.05±0.00 ^B	0.04±0.00 ^B	0.05±0.01 ^B
棕榈油酸 C16:1	4.80±0.17 ^{Cc}	3.78±0.11 ^{Cd}	10.77±0.06 ^{Aa}	10.18±0.15 ^{Aa}	7.83±0.06 ^{Bb}
十七碳银杏酸 C17:1	0.62±0.07 ^{ab}	0.48±0.03 ^c	0.78±0.04 ^a	0.63±0.06 ^{ab}	0.56±0.05 ^c
油酸 C18:1	45.29±0.28 ^{Cd}	40.10±0.21 ^{Cc}	112.89±0.56 ^{Ab}	118.25±1.24 ^{Aa}	80.16±0.27 ^{Bc}
花生一烯酸 C20:1	1.43±0.11 ^{Cc}	1.26±0.04 ^{Cd}	3.54±0.04 ^{Aa}	3.69±0.08 ^{Aa}	2.54±0.11 ^{Bb}
亚油酸 C18:2	32.52±0.18 ^{Aa}	18.78±0.05 ^{Bd}	26.39±0.16 ^{Bb}	21.65±0.33 ^{Bc}	20.55±0.23 ^{Bc}
花生二烯酸 C20:2	1.55±0.06 ^A	0.93±0.11 ^B	1.63±0.03 ^A	0.38±0.07 ^C	0.37±0.03 ^C
亚麻酸 C18:3	1.06±0.11 ^a	0.54±0.05 ^c	0.84±0.03 ^b	0.64±0.05 ^c	0.60±0.07 ^c
花生三烯酸 C20:3	1.22±0.04	0.87±0.06	1.05±0.04	0.77±0.12	0.74±0.06
花生四烯酸 C20:4	10.31±0.31 ^{Aa}	6.58±0.09 ^{Bb}	6.26±0.08 ^{Bb}	5.36±0.07 ^{Bc}	5.43±0.10 ^{Bc}
花生五烯酸 C20:5	0.36±0.07 ^a	0.19±0.03 ^b	0.14±0.03 ^c	0.10±0.01 ^d	0.13±0.01 ^c
二十二六烯酸 C22:6	0.89±0.11 ^{Aa}	0.54±0.05 ^{Bb}	0.38±0.04 ^{Cc}	0.24±0.04 ^{Ced}	0.19±0.03 ^{Cd}
饱和脂肪酸 SFA	183.48±0.82 ^{Bc}	125.77±0.56 ^{Bd}	324.84±0.65 ^{Aa}	329.98±0.47 ^{Aa}	209.88±0.97 ^{Bb}
单不饱和脂肪酸 MUFA	84.78±0.24 ^{Bd}	45.73±0.32 ^{Cc}	128.03±0.61 ^{Ab}	132.79±0.46 ^{Aa}	91.14±0.53 ^{Bc}
多不饱和脂肪酸 PUFA	47.91±0.32 ^A	28.43±0.33 ^C	36.69±0.15 ^B	29.14±0.35 ^C	28.01±0.21 ^C
多不饱和脂肪酸/ 饱和脂肪酸之比 PUFA/SFA	1:3.83±0.12 ^{Aa}	1:4.42±0.11 ^{Ab}	1:8.85±0.09 ^{Bd}	1:11.32±0.17 ^{Cc}	1:7.49±0.17 ^{Bc}

表 4 2 个猪群肌肉 MDH 和 LPL mRNA 表达与 IMF 含量及 PUFA/SFA 三者之间的相关性

Table 4 Correlationship of MDH and LPL mRNA expression in muscle, content of intramuscular fat (IMF) and the ratio of polyunsaturated fatty acid to saturated fatty acid (PUFA/SFA) in two pig populations

项目 Item	品种 Breed variety	IMF	PUFA/SFA
MDH mRNA	YL F ₁	0.88*	-0.62
	L×D B	0.80	-0.97**
LPL mRNA	YL F ₁	0.95*	-0.80
	L×D B	0.90*	-0.94*
PUFA/SFA	YL F ₁	-0.91*	-
	L×D B	-0.91*	-

*. 表示相关显著 ($P < 0.05$); **. 表示相关极显著 ($P < 0.01$)

*. Means significant correlationship ($P < 0.05$); **. Means significant correlationship ($P < 0.01$)

脂肪的沉积^[12]。王刚等证明在莱芜黑猪 LPL mRNA 的高表达对增加肌内脂肪的含量有积极的影响^[10]。本研究结果显示,野莱 F₁ 猪和长×大白猪 LPL mRNA 表达量随着体重的增加皆呈现持续上升的趋势,且野莱 F₁ 猪都要高于长×大白猪。高勤学^[13]曾证明,猪在生长前期肌肉生长强烈,后期肌肉生长强度减弱,脂肪酸氧化供能代谢需求降低, LPL 的表达水平因此下调。但在本试验中,采取的是 50 kg 体重开始放牧的饲养方式,加强了猪的运动量,增强了肌肉的生长,提高了脂肪酸氧化功能的需求,因此, LPL 的基因表达水平呈持续上升趋势,这和廉红霞等^[14]的研究结果一致。本研究中,相关分析结果表明,野莱 F₁ 猪和长×大白猪肌内脂肪含量与 LPL mRNA 表达皆呈显著性正相关 ($P < 0.05$), PUFA/SFA 与 LPL mRNA 表达分别呈不显著负相关 ($P > 0.05$) 和显著负相关 ($P < 0.05$)。高含量的 PUFA 能够干扰生脂酶基因的转录和破坏其 mRNA 的稳定性,从而抑制其基因表达,调节体脂代谢^[15]。因此 PUFA 在脂肪中的含量越低, LPL 基因的表达越高,因而导致肌内脂肪含量越高。

3.2 MDH mRNA 表达与肌内脂肪含量及脂肪酸组成的关系

苹果酸脱氢酶(MDH)在动物体内催化苹果酸

转变为丙酮酸并产生 NADPH,而 NADPH 是动物体内脂肪合成的重要辅酶,因此 MDH 在脂肪合成中起了非常重要的作用^[7]。王美玲等曾证明,肉鸡体内 MDH mRNA 表达量降低能显著降低腹脂的沉积^[16]。本研究结果显示,野莱 F₁ 猪和长×大白猪 MDH mRNA 表达量随着体重的增加皆呈先升高后降低的趋势,在 70 kg 体重阶段维持较高水平。猪在生长过程中随着体重的增加,肌内脂肪的生成量在不断的增加,这需要 MDH 的活性升高而产生出更多的 NADPH 参与到体内脂肪的合成过程中。但是到了生长后期,肌肉内的柠檬酸循环更为旺盛,为脂肪合成提供了大量的 NADPH^[17],从而相对的抑制了 NDH 的活性,所以在生长后期 MDH mRNA 表达量降低,这与本试验结果相一致。MDH mRNA 表达与肌内脂肪含量及组成的相关性分析结果表明,野莱 F₁ 猪肌内脂肪含量及 PUFA/SFA 与 MDH mRNA 表达分别呈显著性正相关 ($P < 0.05$) 和不显著负相关 ($P > 0.05$),而长×大白猪肌内脂肪含量及 PUFA/SFA 与 MDH mRNA 表达分别呈不显著正相关 ($P > 0.05$) 和极显著负相关 ($P < 0.01$)。这说明 PUFA 在脂肪中的含量越低, MDH mRNA 基因表达越高,因而导致肌内脂肪含量越高。这支持了高含量的多不饱和脂肪酸能抑制动物生脂酶基因表达^[17]的观点。

3.3 PUFA/SFA 与肌内脂肪含量的关系

王刚等^[10]曾证明,莱芜猪随着体重的增加,肌内脂肪含量呈持续上升的趋势。本试验设计中,从 50 kg 体重阶段采取的是放牧的饲养方式,突然从舍饲变成放牧,猪的运动量增加,肌肉生长增强,脂肪酸氧化功能的需求提高,肌内脂肪的消耗量大于生成量,因此最终的肌内脂肪沉积量会下降。到了 70 kg 体重之后,猪只肌肉生长趋于平缓,脂肪的生成量大于消耗量,因此肌内脂肪的沉积量再次上升。R. E. Ward 等^[6]证明在牛上多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比率对于肌内脂肪的沉积有重要影响。本研究表明,野莱 F₁ 猪和长×大白猪肌内脂肪含量与 PUFA/SFA 皆呈显著性负相关 ($r = -0.91, P < 0.05$)。这说明,肌内脂肪的沉积量与多不饱和脂肪酸在脂肪中的含量有着非常紧密的关系,高含量的多不饱和脂肪酸会抑制肌内脂肪的沉积,这与赵华等^[15]的结论相吻合。徐海军等^[18]研究表明,通过添加豆油的方式提高猪日粮能量水平,可以显著的提高猪肉中 PUFA 的含量 ($P < 0.05$)。因此,可以通

过控制猪饲料中 PUFA 的含量来调节猪肉中 PUFA 的含量,从而影响 MDH 和 LPL 的基因表达,达到调节肌肉脂肪含量的目的。

4 结 论

猪肌肉中苹果酸脱氢酶(MDH)和脂蛋白脂酶(LPL)的基因表达皆具有明显的体重发育特征;肌肉内多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值、肌肉脂肪含量及 MDH 和 LPL 基因表达三者之间的关系密切;我们可以通过控制猪饲料中 PUFA 的含量来调节猪肉中 PUFA 的含量,从而影响 MDH 和 LPL 的基因表达,最终达到调节肌肉脂肪含量的目的。

参考文献:

- [1] SCOLLAN N, HOCQUETTE J F, NUERNBERG K. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality[J]. *Meat Sci*, 2006, 74:17-33.
- [2] SMITH S, WITKOWSKI A, JOSHI A K. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase[J]. *Prog Lipid Res*, 2003, 42:289-317.
- [3] MALEK M, DEKKERS J C, LEE H K. Molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig[J]. *Meat Muscle Comp*, 2001, 6:37-45.
- [4] WILLIAMS C M. Dietary fatty acids in human health [J]. *Ann Zootech*, 2000, 49:165-180.
- [5] SACKS F M, CAMPOS H. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and cardiovascular disease: time to widen our view of the mechanisms[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91: 398-400.
- [6] WARD R E, WOODWARD B, OTTER N. Relationship between the expression of key lipogenic enzymes, fatty acid composition, and intramuscular fat content of Limousin and Aberdeen Angus cattle[J].

Livest Sci, 2010, 127:22-29.

- [7] 宋庆文. 不同营养水平下荣昌猪和 DLY 猪脂肪(酸)代谢关键酶活性的发育性变化研究[D]. 内蒙古:内蒙古农业大学, 2007.
- [8] 杨海玲, 曾勇庆, 魏述东. 莱芜猪脂肪代谢酶活性的发育性变化及其对肌肉脂肪沉积的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(11):1150-1154.
- [9] MEAD J R, INVINE S A, RAMJI D P. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease[J]. *Mol Med*, 2002, 80(12): 753-769.
- [10] 王 刚, 曾勇庆, 武 英. 猪肌肉组织 LPL 基因表达的发育性变化及其与肌肉脂肪沉积关系的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(3):253-257.
- [11] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. 利用实时定量 PCR 和 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析基因相对表达量[J]. *Methods*, 2001, 25:402-408.
- [12] GERFAULT V, LOUVEAU I, MOUROT J. Lipogenic enzyme activities in subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle from neonatal pigs consuming maternal or formula milk[J]. *Reprod Nutr Dev*, 2000, 40(2): 103-112.
- [13] 高勤学. 二花脸猪生长期肌肉内脂肪组织学和分子生物学特征的研究[D]. 南京:南京农业大学, 2003.
- [14] 廉红霞, 卢德勋, 高 民. 饲料营养水平对猪血液生化指标、背最长肌 IMF 含量及 LPL mRNA 表达量的影响[J]. 中国饲料, 2008, (5): 12-16.
- [15] 赵 华, 王康宁. 多不饱和脂肪酸对动物体脂沉积及其基因表达的影响[J]. 动物营养学报, 2004, 16(1): 2-6.
- [16] 王美玲, 陈仲建, 吕 林, 等. 不同形态锰对肉仔鸡脂肪代谢关键酶活性及其基因表达的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(18):3850-3858.
- [17] 杨海玲. 莱芜猪肌肉脂肪沉积的生物学和组织形态学研究[D]. 山东:山东农业大学, 2005.
- [18] 徐海军, 都 文, 李亚君, 等. 日粮能量水平对肥育猪肌肉脂肪含量、肌肉和皮下脂肪组织脂肪酸组成的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(7):1019-1027.

(编辑 郭云雁)