

日粮营养水平对临高猪 *H-FABP* 基因 表达量和肉品质的影响

孙瑞萍¹,魏立民^{1*},刘圉炜¹,晁哲¹,郑心力¹,王峰²
(1.海南省农业科学院 畜牧兽医研究所,海南 海口 571100;
2.海南省热带动物繁育与疫病研究重点实验室,海南 海口 571100)

摘要:为探讨日粮营养水平对临高猪生产性能、心型脂肪酸结合蛋白基因(*H-FABP*)表达量和肉品质的影响。挑选48头体质量为(34.54±1.58) kg的阉割临高母猪,随机分为2组,每组设4个重复,每个重复6头猪,分别饲喂高(DE 12.50 MJ/kg、CP 15.50%)、低(DE 11.60 MJ/kg、CP 13.00%) 2种营养水平的日粮,至体质量达到约85 kg时,每重复挑选1头(共8头)体质量接近平均体质量的临高猪进行屠宰,测定临高猪的生产性能、*H-FABP*基因表达量及肉品质。结果表明:高、低2种营养水平的日粮对临高猪生产性能的影响不显著;与高营养水平日粮相比,低营养水平日粮可显著提高临高猪*H-FABP*基因表达量及熟肉率,提高临高猪肌肉脂肪含量、减少滴水损失、降低肌肉pH值。临高猪*H-FABP*基因表达量与肌肉脂肪含量呈正相关。可见,日粮营养水平对临高猪*H-FABP*基因表达量和肉品质产生重要影响。

关键词:营养水平;临高猪;*H-FABP*基因表达量;肉品质

中图分类号: S828.9⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)10-0141-05

Effect of Dietary Nutrition Levels on *H-FABP* Gene Expression and Pork Quality in Lingao Pigs

SUN Ruiping¹, WEI Limin^{1*}, LIU Quanwei¹, CHAO Zhe¹, ZHENG Xinli¹, WANG Feng²
(1. Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100, China;
2. Hainan Key Lab of Tropical Animal Reproduction & Breeding and Epidemil Disease Research, Haikou 571100, China)

Abstract: The experiment was conducted to study the effect of nutritional level on growth performance, *H-FABP* gene expression and pork quality in Lingao pigs, 48 Lingao pigs [(34.54±1.58) kg] were randomly divided into two groups with diets of high (DE of 12.50 MJ/kg, CP of 15.50 %) and low (DE of 11.60 MJ/kg, CP of 13.00 %) nutritional level, respectively. Each repeat 1 and total 8 pigs were slaughtered when their weight were about 85 kg, and determined *H-FABP* gene expression and meat quality traits. The results showed that the growth performance of Lingao pigs was not significantly influence of high and low nutritional levels in the diet, low nutritional level significant increased *H-FABP* gene expression, significant increased the rate of cooked meat in Lingao pigs, increased intramuscular fat, reduced drip loss and slow muscle acidification(pH). In conclusion, nutritional level influenced *H-FABP* gene expression and so influenced meat quality in Lingao pigs, *H-FABP* gene expression and intramuscular fat content in Lingao pigs were positively relevant.

Key words: nutritional level; Lingao pigs; *H-FABP* gene expression; meat quality

收稿日期:2015-05-06
基金项目:海南省自然科学基金项目(312080);海南省重点科技计划项目(ZDXM2014138)
作者简介:孙瑞萍(1982-),女,山西运城人,助理研究员,在读博士研究生,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。
E-mail:ruiping937@126.com
* 通讯作者:魏立民(1982-),男,河南许昌人,副研究员,主要从事动物营养与饲料科学研究。
E-mail:liminedu@126.com

日粮营养水平对动物的肉品质有着重要的影响,营养水平虽然不能改变动物机体的遗传性状,但可以调控性状基因的表达量而改变该性状^[1]。摄入的营养物质不同,可能影响 DNA 的复制或者改变染色体的结构,从而影响基因的表达^[2,4]。猪心型脂肪酸结合蛋白(heart-type fatty acid binding proteins genes, H-FABP)是一组同源性小分子胞质蛋白质,分子质量为 14~16 ku,含有 126~134 个氨基酸。主要分布在心肌、骨骼肌和脂肪细胞中^[5]。Frans 等^[6]研究发现, *H-FABP* 基因是猪肌肉脂肪(intramuscular fat, IMF)含量的候选基因, *H-FABP* 在细胞内与脂肪酸结合,使细胞内外保持一定的脂肪酸浓度差,从而促进细胞摄取脂肪酸^[7]。而 IMF 含量是猪肉品质的主要决定因子,与肉品质密切相关^[1,8]。关于日粮营养水平对猪 *H-FABP* 基因表达量的影响,国内外虽有研究报道,但多是针对国外品种或杂交品种的研究,研究结果也存在一定的差异,针对国内地方品种的研究报道还不多。临高猪是海南省优良的地方猪种和主要的消费猪肉品种,在国内外极负盛名,具有重要的经济和社会价值。为此,本研究以临高猪为研究材料,研究日粮营养水平对 *H-FABP* 基因表达量与肉品质性状的影响,以阐明 *H-FABP* 基因表达量与肉品质性状的关系,同时也对研究临高猪在不同营养水平条件下猪肉的品质具有重要的实践和指导意义。

1 材料和方法

1.1 主要试剂来源

2 × *Taq* Mix、DNA marker、cDNA 反转录试剂盒均购自北京天根生化科技有限公司,其他试剂均为国产分析纯产品。PCR 仪为 PTC-100 Peltier Thermalcycler Controller 多功能 PCR 仪,紫外凝胶成像仪为美国 UVP。

1.2 试验设计

挑选海南省农业科学院畜牧兽医研究所永发基地临高猪场的 48 头体质量为 (34.54 ± 1.58) kg 的阉割临高母猪,随机分为 2 组,每组设 4 个重复,每个重复 6 头猪,分别饲喂高 (DE 12.50 MJ/kg、CP 15.50%)、低 (DE 11.60 MJ/kg、CP 13.00%) 2 种营养水平的日粮,至体质量达到约 85 kg 时,每重复挑选 1 头 (共 8 头) 体质量接近平均体质量的临高猪进行屠宰。

1.3 试验日粮

按照设计要求,高营养水平日粮参照 NRC (1998) 饲养标准配制;低营养水平日粮按照中国地方猪种饲养标准 (2004) 配制。日粮配方及营养水平见表 1。

表 1 试验日粮配方及营养水平 (风干基础)

原料组成/%	低营养水平组	高营养水平组	营养水平	低营养水平组	高营养水平组
玉米	69.70	74.70	消化能/(MJ/kg)	11.60	12.50
豆粕	11.00	16.50	蛋白质/%	13.00	15.50
麦麸	14.50	0.00	赖氨酸/%	0.54	0.77
鱼粉	0.00	3.00	蛋氨酸+胱氨酸/%	1.05	1.05
玉米油	0.00	1.00	钙/%	0.80	0.90
石粉	1.00	1.00	有效磷/%	0.42	0.49
磷酸氢钙	1.50	1.50			
食盐	0.30	0.30			
预混料	2.00	2.00			

注:预混料为每千克日粮提供: Cu 10 mg、Fe 60 mg、Zn 60 mg、Mn 80 mg、Se 0.20 mg、I 0.20 mg、Co 0.15 mg、维生素 E 10 mg、维生素 D₃ 2 000 IU、维生素 K₃ 2 mg、维生素 B₁ 2 mg、维生素 B₂ 8 mg、维生素 B₆ 4 mg、维生素 B₁₂ 0.02 mg、烟酸 50 mg、泛酸 20 mg、叶酸 1 mg、生物素 0.20 mg、胆碱 1 000 mg。

1.4 饲养管理

先对所有试验猪进行驱虫和免疫,用高营养水平饲料预试 10 d,然后 2 个试验组分别饲喂高、低营养水平的饲料,所有试验猪日喂 2 次,自由采食,自由饮水,保持圈舍清洁,定期消毒。

1.5 测定指标

1.5.1 生产性能 整个试验过程记录试验猪的采食量,试验开始和结束时分别称试验猪的初、末体质量。试验结束后计算试验猪的平均采食量、平均日增质量和料重比。

1.5.2 临高猪 *H-FABP* 基因表达量

1.5.2.1 总 RNA 提取及反转录 取最后肋背最长肌样本 30 mg 左右,加入液氮并研磨成粉,转入 1.5 mL Eppendorf 管中,利用 RNA Simple Total RNA 试剂盒提取样本总 RNA,方法按操作说明进行。提取的总 RNA 通过琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,通过 OD_{260/280} 检测样本纯度。应用天根公司的 FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒对总 RNA 进行反转录 (reverse transcription, RT),按说明书配制反应体系、设置反应条件,进行 cDNA 合成,反转录产物保存于 -20 ℃ 备用。

1.5.2.2 引物的设计与合成 引物序列利用软件 Primer premier 5.0 软件设计,由生工生物 (上海) 股

份有限公司合成,相关信息见表 2。

表 2 荧光定量 RT-PCR 目的基因引物

目的基因	引物序列(5'—3')	复性 温度/℃	GenBank 登录号
<i>H-FABP</i>	F:CATGACCAAGCCTACACAC R:CAAGTTTGCTCCATCCAG	58	AJ416019
β -actin	F:ATCGTGGGGACATCAAG R:CAGGAAGGAGGGCTGGAA	58	U07786

1.5.2.3 实时荧光定量 PCR 使用 Bio-RAD CFX-96 实时荧光定量 PCR 仪进行目的基因的表达量检测。反应体系为 20 μ L:模板 cDNA 1.5 μ L、上游引物和下游引物各 0.6 μ L、SYBR Green 10 μ L、RNase-free ddH₂O 7.3 μ L。反应程序为:95 $^{\circ}$ C 15 min; 95 $^{\circ}$ C 10 s,58 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,共 40 个循环;进行溶解曲线分析:60~95 $^{\circ}$ C,每隔 0.5 $^{\circ}$ C 读板一次(温度恒定 1 s 后读板)。

1.5.3 肉品质测定 试验结束时,每重复挑选 1 头共 8 头体质量接近平均体质量的临高猪进行屠宰试验。测定临高猪肌肉的肌内脂肪含量、滴水损失、

pH 值(24 h)和熟肉率。

1.6 数据处理

采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算方法分析目的基因的相对表达量,采用 SPSS 13.0 软件 ANOVA 对试验数据进行统计分析,试验结果用平均数 \pm 标准差表示。运用 LSD 法进行平均数之间的多重比较,分析 *H-FABP* 基因表达量与生产性能的相关性分析。

2 结果与分析

2.1 日粮营养水平对临高猪生产性能的影响

由表 3 可知,高、低营养水平组日粮对临高猪的试验期末质量、平均日增质量、平均日采食量和料重比的影响差异均不显著。在试验期末质量和平均日增质量方面,高营养水平组的结果要好于低营养水平组,分别比低营养水平组提高 2.18% 和 2.92%;但在平均日采食量方面,低营养水平组比高营养水平组的平均采食量提高 2.30%;在料重比方面,高营养水平组更低,为 3.97,低营养水平组为 4.18。

表 3 日粮高、低营养水平对临高猪生产性能的影响结果

组别	初质量/kg	末质量/kg	平均日采食量/g	平均日增质量/g	料重比
高营养水平	34.72 \pm 2.87a	88.28 \pm 1.18a	2 362.43 \pm 1.11a	595.07 \pm 8.32a	3.97 \pm 0.32a
低营养水平	34.36 \pm 3.49a	86.40 \pm 3.05a	2 416.88 \pm 0.52a	578.20 \pm 5.61a	4.18 \pm 0.15a

注:同列数据标注不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

2.2 日粮营养水平对临高猪肉品质的影响

由表 4 可知,日粮营养水平对临高猪肌肉的熟肉率的影响达到了显著水平,而对临高猪肌内脂肪含量、肌肉 pH 值和滴水损失的影响差异不显著。

与低营养水平日粮组相比,高营养水平组临高猪肌肉的肌内脂肪含量降低,肌肉 pH 值(24 h)下降更快,并且滴水损失增加,同时日粮处于高营养水平时,临高猪猪肉的熟肉率也比较低。

表 4 日粮营养水平对临高猪肉品质的影响结果

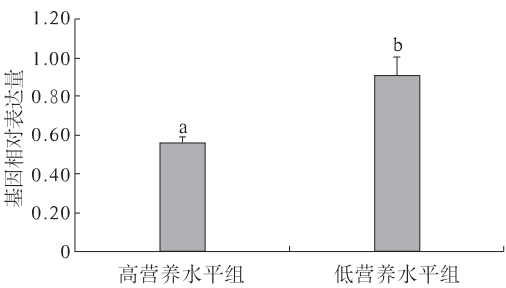
组别	肌内脂肪/%	pH(24 h)	滴水损失/%	熟肉率/%
高营养水平	4.56 \pm 0.78a	5.81 \pm 0.04a	2.84 \pm 0.88a	61.53 \pm 2.18b
低营养水平	5.23 \pm 1.22a	5.83 \pm 0.06a	2.58 \pm 0.31a	70.05 \pm 3.74a

2.3 日粮营养水平对临高猪 *H-FABP* 基因表达量的影响

由图 1 可知,不同营养水平日粮条件下,临高猪 *H-FABP* 基因在背最长肌中的表达量的变化达到了显著水平。与高营养水平日粮组相比,低营养水平日粮组临高猪 *H-FABP* 基因的表达量提高了 62.5%。

2.4 *H-FABP* 基因表达量与生产性能的相关性分析

从表 5 可以看出,*H-FABP* 基因表达量与平均日增质量呈极显著负相关,与料重比、肌内脂肪含



不同小写字母表示差异显著

图 1 营养水平对 *H-FABP* 基因表达量的影响

量、熟肉率呈显著正相关,与肌肉 pH 值(24 h)、平均日采食量呈正相关,但相关性均不显著。

表 5 *H-FABP* 基因表达量与生产性能的相关系数

性状	<i>H-FABP</i> 表达量	平均日增质量	平均日采食量	料重比	肌内脂肪含量	pH(24 h)	滴水损失	熟肉率
<i>H-FABP</i>	1							
平均日增质量	-0.893 **	1						
平均日采食量	0.486	-0.382	1					
料重比	0.936 *	-0.971	0.506	1				
肌内脂肪含量	0.769 *	-0.898 *	0.459	0.920 *	1			
pH(24 h)	0.079	-0.002	0.072	-0.039	-0.005	1		
滴水损失	-0.456	0.401	-0.388	-0.507	-0.258	-0.826	1	
熟肉率	0.864 *	-0.932 *	0.436	0.861 *	0.883 *	0.343	-0.631	1

注：* 表示相关性显著 ($P<0.05$)，** 表示相关性极显著 ($P<0.01$)。

3 结论与讨论

3.1 日粮营养水平对临高猪生产性能的影响

前人研究发现,适当提高日粮的营养水平,可以提高猪的生产性能^[9-11]。但当日粮的营养供应超过了猪的需要量,反而会因营养过剩给猪造成代谢负担而使生产性能下降^[12-13]。本试验中,提高日粮营养水平,可以提高临高猪的生长速度和降低料重比,但高、低日粮水平组间的平均日增质量、平均日采食量和料重比差异均不显著。其原因可能是高营养水平日粮超过了临高猪的生长发育的最佳需要量,造成临高猪代谢负担,从而使高、低营养水平组之间生产性能差异不明显,这一结果与罗献梅等^[12]的试验结果一致。

3.2 日粮营养水平对临高猪 *H-FABP* 基因表达量的影响

关于日粮营养水平对猪 *H-FABP* 基因表达量影响的研究结果存在一定的差异。罗献梅等^[12]研究表明,降低日粮营养水平,可提高 DLY 杂交猪肌肉中 *H-FABP* 基因表达量,但高、低 2 种营养水平日粮差异不显著;王继英等^[14]研究莱芜猪和杜洛克猪背最长肌中 *H-FABP* 基因 mRNA 的表达水平时指出,莱芜猪的背最长肌表达水平比杜洛克猪高 38.60%;边连全等^[15]研究表明,能量水平对 *H-FABP* 基因表达量有一定影响,但差异不显著。在地方猪的研究方面,曹龙凯等^[13]对贵州香猪研究后指出,降低日粮营养水平可极显著提高贵州香猪 *H-FABP* 基因表达量,随着日粮能量或蛋白质水平的降低, *H-FABP* 基因的表达式逐渐提高。本试验结果表明,日粮的营养水平对临高猪 *H-FABP* 基因表达量的影响达到了显著水平,低营养水平日粮组比高营养水平日粮组临高猪 *H-FABP* 基因的表达式提高了 62.5%。这与在贵州香猪^[13]上的研究结果一致,与在国外猪种或杂交猪上的研究结

果^[12,14-15]趋势一致,即降低日粮的营养水平,可提高临高猪 *H-FABP* 基因的表达式,但国内地方猪品种猪 *H-FABP* 基因的表达式受日粮的影响更大。

3.3 日粮营养水平对临高猪肉品质的影响

影响猪肉品质的因素很多,包括基因、环境、饲养方式、宰前宰后的处理方式和屠宰条件等,其中营养因素是影响猪肉品质的一个重要因素,而肉质好坏的指标多用肌内脂肪含量、滴水损失和熟肉率等指标来评定。Wood^[16]和 Smith 等^[17]研究均表明,随着日粮能量水平的提高,猪胴体脂肪含量提高,但肌内脂肪含量降低;Lee 等^[18]研究表明,降低日粮能量水平可以降低滴水损失;陈代文等^[19]研究表明,营养水平对肌肉水分含量和系水力均有显著影响,高营养水平显著降低了肌肉水分和系水力;边连全等^[15]研究则表明,高、低能量水平对 pH 值和滴水损失无显著影响;Gerbens 等^[20]发现,日粮营养水平与肌内脂肪含量呈明显负相关;另有研究表明,猪肉肌内脂肪含量与 *H-FABP* 基因表达式呈正相关关系^[12-13]。本试验结果表明,低日粮营养水平条件下,临高猪肌内脂肪含量增加,肌内脂肪含量与临高猪 *H-FABP* 基因表达式呈正相关关系,这与前人^[12-13]的研究结果一致。同时,本试验还发现,降低日粮营养水平,可以显著提高临高猪的熟肉率,减少滴水损失和减慢猪肉 pH 值下降的时间。其中,有关适当降低日粮营养水平可以提高猪肉熟肉率的结论,目前还没有相关报道。

本试验结果表明,高、低 2 个营养水平日粮对临高猪的生产性能影响差异不显著,高营养水平组临高猪的生产性能高于低营养水平组,但降低日粮营养水平可以显著提高临高猪肌肉中 *H-FABP* 基因的表达式,并且低营养水平组可以显著提高临高猪的熟肉率。提高临高猪肌内脂肪含量、减少滴水损失,减缓猪肉酸化(pH 值)。

参考文献:

- [1] Wood J D. Effects of carcass fatness and sex on the composition and quality of pig meat [C]. The 34th international congress of meat science and technology. Brisbane Australia, 1988; 562-564.
- [2] Wood J D, Nute G R, Richardson R I, *et al.* Effects of breed diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs [J]. *Meat Sci*, 2004, 67: 651-667.
- [3] Clarke S D, Abraham S. Gene expression: Nutrient control of pre- and post-transcriptional events [J]. *FASEB J*, 1992, 6(13): 3146-3152.
- [4] Towle H C, Kaytor E N, Shih H M. Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate [J]. *Annual Review of Nutrition*, 1997, 17(1): 405-433.
- [5] Chm A. The multigen family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism [J]. *Journal of Applied Genetics*, 2006, 47(1): 39-48.
- [6] Frans G, Aswin J, Anton J M, *et al.* The adipocyte fatty acid-binding protein locus: Characterization and association with intramuscular fat content in pigs [J]. *Mamm Genome*, 1998, 9: 1022-1026.
- [7] Frank G S, Ger J, Jan F C, *et al.* Fatty acid-binding protein in the heart [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1998, 180(1/2): 43-51.
- [8] 陈效华. 猪育种的理论与实践 [M]. 北京: 农业出版社, 1990: 32-35.
- [9] 郑心力, 孙瑞萍, 魏立民, 等. 蛋白质水平对海南猪生产性能和血液生化指标的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2013(7): 93-95.
- [10] 邓敦, 李铁军, 孔祥峰, 等. 日粮蛋白水平对生长猪生产性能和氮平衡的影响 [J]. *广西农业生物科学*, 2007, 26(2): 138-143.
- [11] 王娟. 饲料能量和蛋白质水平对 CRP 配套系商品代生长猪生产性能、消化代谢和血清生化指标的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2009: 27-28.
- [12] 罗献梅, 陈代文, 余冰, 等. 营养水平对 DLY 杂交猪肉质性状及 *H-FABP* 基因表达的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2008, 44(19): 26-29.
- [13] 曹龙凯, 郭春华, 汤丽琳, 等. 营养水平对贵州香猪肉质性状及 *H-FABP* 基因表达的影响 [J]. *西南民族大学学报*, 2012, 38(3): 378-382.
- [14] 王继英, 呼红梅, 张大龙, 等. 莱芜猪和杜洛克猪心脏脂肪酸结合蛋白基因表达差异和肉质性状的关系 [J]. *农业生物技术学报*, 2009, 17(3): 543-544.
- [15] 边连全, 许云贺, 苏玉虹, 等. 能量水平对猪 *H-FABP* 基因表达量及肉质的影响 [J]. *食品科学*, 2010, 31(11): 153-156.
- [16] Wood J D. Effects of breed, feed level and conditioning time on the tenderness of pork [J]. *Meat Sci*, 1996, 44(12): 105-112.
- [17] Smith J W, Tokach M D, Quinn P R, *et al.* Effects of dietary energy density and lysine: Calorie ratio on growth performance and Carcass characteristics of growing-finishing pigs [J]. *J Anim Sci*, 1999, 77(11): 3007-3015.
- [18] Lee CY, Lee H P, Jeong J H, *et al.* Effects of restricted feeding, low energy diet, and implantation of trenbolone acetate plus estradiol on growth, carcass traits, and circulating concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 in finishing barrows [J]. *J Anim Sci*, 2002, 80(1): 84-93.
- [19] 陈代文, 张克英, 胡祖余, 等. 营养水平及性别对生长育肥猪肉质性状发育规律的影响 [J]. *四川农业大学学报*, 2002, 20(1): 7-11.
- [20] Gerbens F, Rettenberger G, Lenstra J A, *et al.* Characterization, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene [J]. *Mamm Genome*, 1997, 8(5): 328-332.