

葵花籽对羊组织共轭亚油酸沉积及相关酶基因表达的影响

陈东 屈小丹 富俊才*

(中国农业大学 动物科学技术学院,北京 100193)

摘要 研究日粮中添加葵花籽(SS)对生长羊血液、不同组织共轭亚油酸(conjugated linoleic acid,CLA)的含量、硬脂酰辅酶A去饱和酶和脂肪酸合成酶基因表达的影响,选用18只健康体重相近3月龄生长羊(公)随机分为2组,分别饲喂不含葵花籽的基础日粮(对照组)和含6%葵花籽的日粮(处理组),进行为期30d的试验。结果表明:日粮中添加葵花籽极显著提高血液中t11-C18:1和CLA-c9,t11的含量($P<0.01$),处理组羊皮下脂肪组织中CLA-c9,t11含量极显著增加($P<0.01$),肾周脂肪和肝脏组织中CLA-c9,t11含量有增加趋势,背最长肌CLA-c9,t11含量无显著变化($P>0.05$)。葵花籽日粮能显著提高皮下脂肪SCD基因表达量($P<0.05$),但对肝脏和肾周脂肪SCD基因表达量没有显著影响($P>0.05$);处理组羊肝脏和肾周脂肪FAS基因表达量显著降低($P<0.05$),皮下脂肪FAS基因表达量无显著变化($P>0.05$)。

关键词 羊; 葵花籽; 共轭亚油酸; 硬脂酰辅酶A去饱和酶; 脂肪酸合成酶

中图分类号 S 816.7; S 826

文章编号 1007-4333(2012)01-0110-09

文献标志码 A

Effect of sunflower seed on conjugated linoleic acid accumulation and relative enzymes gene expression of sheep

CHEN Dong, QU Xiao-dan, FU Jun-cai*

(College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract The objective of this research is to study the effects of dietary sunflower seed(SS) on conjugated linoleic acid(CLA)content, Stearoyl-CoA desaturase (SCD) and fatty acid synthase (FAS)gene expression in different tissues of growing sheep. Eighteen 3-month old male growing sheeps ((22.47 kg±0.62) kg) were randomly divided into two groups, where one group was fed basic dietary without SS (the Control Group) for 30 days, and the other group was fed experimental dietary with 6% SS (the Treatment Group) for 30 days. Results showed that supplementation of SS in dietary significantly increased the content of t11-C18:1, c9 and t11-CLA ($P<0.01$) in blood, and it also increased the content of c9 and t11-CLA in subcutaneous adipose tissue. The content of c9 and t11-CLA in perinephrit fat and liver had a growing tendency, while the content of c9 and t11-CLA in Longissimus dorsi muscles had no significant change. SCD gene expression of treatment group in subcutaneous fat increased 2.88 times ($P<0.01$), but there is no significantly change in liver and perinephrit fat ($P>0.05$). FAS gene expression of the treatment group in liver and perinephrit fat decreased significantly ($P<0.05$), while no significant change was observed in subcutaneous fat ($P>0.05$).

Key words growing sheep; sunflower seed; CLA; SCD; FAS

共轭亚油酸(conjugated linoleic acid,CLA)因其广泛的生物活性作用而倍受关注。动物试验研究表明,CLA(其中顺-9,反-11异构体含量最高,反-

10,顺-12异构体含量甚微^[1])具有抗动脉粥样硬化、抗糖尿病、抗肿瘤、提高机体免疫力、营养重分配和调节骨组织代谢等功能^[2]。人类不能内源合成

收稿日期:2011-07-26

基金项目:国家现代肉羊产业技术体系(CARS-39)

第一作者:陈东,硕士研究生,E-mail:chendong_326@126.com

通讯作者:富俊才,副教授,主要从事反刍动物脂肪代谢与羊肉品质研究,E-mail:jcfcau@263.net

CLA, 必须通过膳食获得^[3], 反刍动物的乳制品和肉制品是人类 CLA 的主要来源^[4]。近年来, 共扼亚油酸在动物营养中的作用受到较大的关注, 并逐渐成为动物营养研究的崭新领域和热点。

已有研究表明, 添加植物油籽能够改变动物脂肪酸组成, 并且发现日粮脂肪酸能够影响动物脂肪酸代谢相关酶基因的表达^[5]。硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(stearoyl-CoA desaturase, SCD)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)是动物机体脂肪代谢的重要酶。SCD 是催化饱和脂肪酸或不饱和脂肪酸形成双键的重要酶, 是动物内源合成 CLA 途径的关键酶^[6]。SCD 在组织中的分布有种间差异, 其活性受日粮、激素平衡和生理状态的影响。对啮齿类动物, SCD 的 mRNA 丰度及酶活在肝脏中最高, 而对于绵羊和牛, 脂肪组织中含有更多的 SCD, 是反刍动物内源合成 CLA-c9, t11 的重要场所^[7]; 猪脂肪组织中的 SCD 活力也明显高于肌肉和肝脏^[8]。哺乳动物脂肪酸合成主要是由 FAS 催化乙酰-CoA、丙二酸单酰-CoA 和还原型辅酶 II (NADPH) 等反应来完成, 通过调控 FAS 基因表达而改变脂肪酸组成, 是探讨动物脂肪酸合成机理的重要方法之一。本试验通过在羊日粮中添加葵花籽, 以饲养试验和生物学技术检测葵花籽对生长羊体组织脂肪酸的组成以及对脂肪酸代谢相关酶 FAS、SCD 基因表达量的影响, 旨在为调控羊肉脂肪酸组成、生产富含 CLA 羊肉提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物及分组

试验设计采用单因素分组设计。选择体重相近(22.47±0.62)kg, 健康的无角陶赛特(♂)×小尾寒羊(♀)杂交一代公生长羊 18 只, 随机分为 2 组, 每组 9 只, 实行单栏饲养。对照组饲喂不含葵花籽的基础日粮; 试验组饲喂添加质量分数为 6% 葵花籽(下同)的日粮。试验前驱虫, 试验期间饲喂全混合日粮, 干物质饲喂量为 1 000 g/(只·d), 分 3 次饲喂(06:00、12:00、18:00), 自由饮水, 预试期 7 d, 正试期 23 d。

1.2 试验日粮

参考《肉羊饲养标准》^[9] 配制全混合日粮, 试验日粮组成及营养水平见表 1。

表 1 试验日粮组成及营养水平(饲喂基础)

Table 1 Composition and nutrition level of diet

指 标	基础日粮	试验日粮
日粮组成		
ω(玉米)/%	32.00	24.50
ω(豆粕)/%	15.50	11.75
ω(棉粕)/%	5.00	8.25
ω(磷酸二氢钠)/%	0.40	0.00
ω(食盐)/%	0.60	0.60
ω(碳酸氢钠)/%	0.50	0.50
ω(维生素预混料)/%	1.00	1.00
ω(矿物元素预混料)/%	1.00	1.00
ω(葵花籽)/%	0.00	6.00
ω(苜蓿)/%	10.00	10.00
ω(青干草)/%	4.00	6.00
ω(玉米青贮)/%	30.00	30.00
合计	100.00	100.00
营养水平		
代谢能/(MJ/kg)	12.994	13.077
ω(粗蛋白)/%	16.370	16.589
ω(钙)/%	0.550	0.620
ω(总磷)/%	0.586	0.650

注: 每 kg 预混料中含: 碘钙粉(ω(KI)=1%) 17 g, FeSO₄·7H₂O 31.2 g, CuSO₄·5H₂O 1.5 g, CoCl₂·6H₂O 0.3 g, MnSO₄·H₂O 7.8 g, ZnSO₄·7H₂O 17.5 g, Na₂SeO₃ 4.3 mg。营养水平除代谢能外均为实测值。基础日粮和试验日粮中葵花籽质量分数分别为 0% 和 6%。

1.3 样品采集及分析方法

1.3.1 样品采集

试验期第 30 天清晨羊空腹屠宰, 分别取肾周脂肪、眼肌、皮下脂肪和肝脏样品, 于 -20 °C 冰箱保存, 用于测定各组织中脂肪酸组成。同时取肾周脂肪、眼肌、皮下脂肪和肝脏样品, 迅速放入装有 RNA 保存液的试管中, 并于 -20 °C 冰箱保存, 用于提取总 RNA。

1.3.2 脂肪酸组成测定

取血浆 1 mL 以及冻干的肌肉 0.2 g、脂肪 0.04 g 于液氮中, 进行脂肪酸的提取及甲酯化, 采用气相色谱测定。

1.3.3 SCD 和 FAS 基因表达的检测

1) 组织总 RNA 抽提。分别将收集的样品用 Trizol 试剂抽提总 RNA, 按照试剂盒(百泰克)说明书操作。抽提的总 RNA 经 DNaseI 处理后, 取出 2

μL 总 RNA 用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度测量 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 分别检测其完整性和浓度。

2) 反转录。用随机引物对总 RNA 进行反转录, 反应体系为 20 μL , 2 μL 总 RNA, 1 μL 随机引物, 1 μL dNTP Mix, 加 Rnase Free H_2O 至 14 μL , 65 $^\circ\text{C}$ 变性 5 min 后立即放冰上冷却, 在上述管中加

入 5 倍 first-stand Buffer 4 μL , M-MLV 1 μL , Rnase Inhibiter 1 μL , 放至 PCR 仪上进行如下程序反应: 30 $^\circ\text{C}$, 10 min; 42 $^\circ\text{C}$, 45 min; 95 $^\circ\text{C}$, 5 min, 具体操作见反转录试剂盒说明书(百泰克)。

3) 荧光相对定量 PCR。引物设计使用 NCBI 数据库基因序列, 采用 Primer 5.0, 引物序列见表 2。

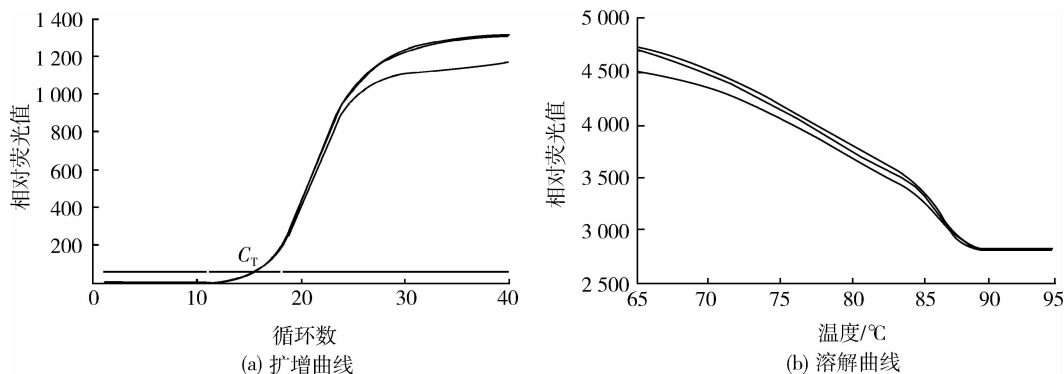
表 2 引物序列及扩增产物
Table 2 Primer sequence and PCR products

扩增基因	引物名称	引物序列	$t_m^*/^\circ\text{C}$	产物长度/bp
GAPDH	GAPDH-F	5'-CTGACCTGCCGCCTGGAGAAA-3'	60	149
	GAPDH-R	5'-GTAGAAGAGTGAGTGTCTGCTGTT-3'		
FAS	FAS-F	5'-ACAGCCTCTTCTGTTTGACG-3'	58	169
	FAS-R	5'-CTCTGCACGATCAGCTCGAC-3'		
SCD	SCD-F	5'-ACATCATCCTCATGGGTC-3'	60	168
	SCD-R	5'-GAGCTTTGTAGGTTCCGGT-3'		

注: * 为 DNA 双链碱基对分离 50% 的温度。

不同引物的扩增曲线, 溶解曲线见图 1、2、3。由图 1、2 和 3 可以看出, 所设计的引物用相同模版

检测到的荧光 C_T 值基本一致, 而且由溶解曲线可以看出 t_m (DNA 双链碱基对分离 50% 的温度) 值唯



C_T 为积累足够扩增产物可以检测荧光信号的初始循环数, 下图同。

图 1 GAPDH 扩增曲线和溶解曲线

Fig. 1 GAPDH amplification and dissociation curve

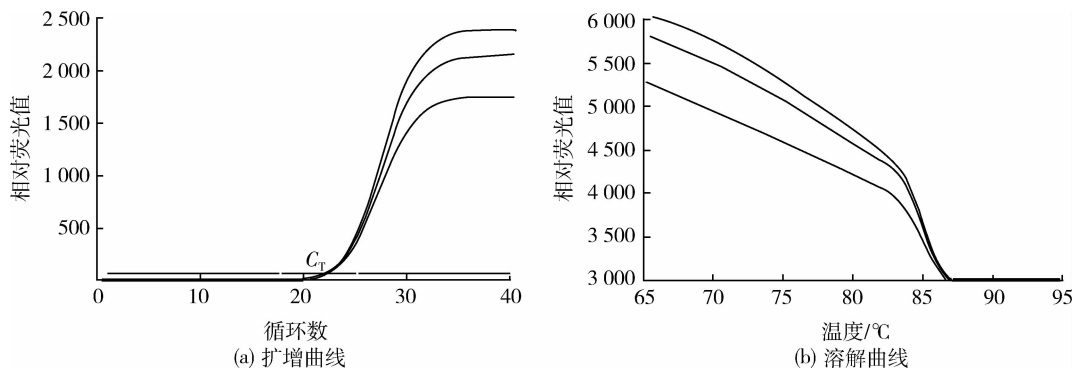


图 2 SCD 基因扩增曲线和溶解曲线

Fig. 2 SCD amplification and dissociation curve

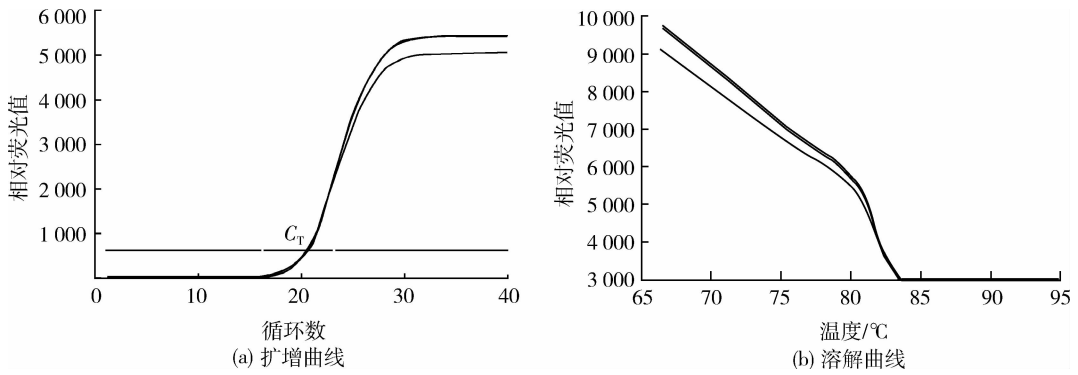


图 3 FAS 基因扩增曲线和溶解曲线

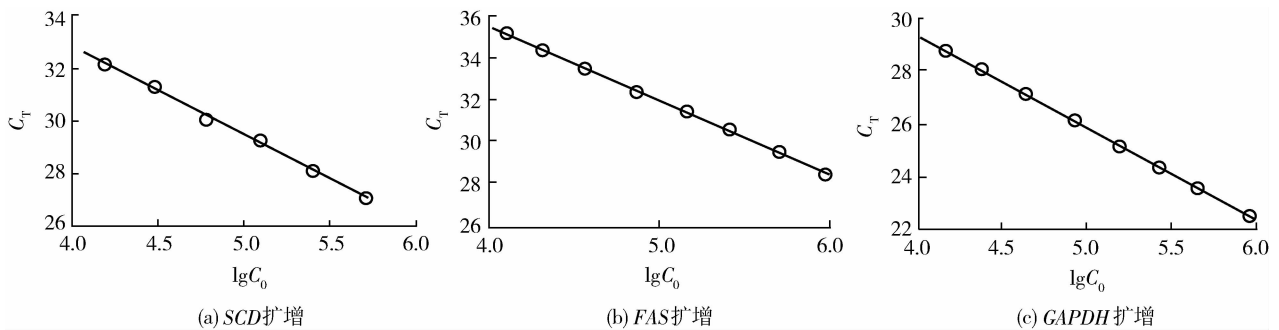
Fig. 3 FAS amplification and dissociation curve

一,表明 PCR 产物具有单一性和特异性,可以用于定量分析。荧光定量反应体系为:2×Premix 10 μL;上游引物(10 μmol/L) 0.3 μL;下游引物(10 μmol/L) 0.3 μL;模版 cDNA 1 μL; ddH₂O 8.4 μL;总体积 20 μL。根据试剂盒(百泰克)说明书上操作,PCR 反应程序:①94 °C 1 min;②94 °C 15 s;③t_m 30 s;④68 °C 30 s;⑤返回第 2 步,共 40 个循环;⑥30 °C 10 s。

1.4 数据处理与统计分析

采用 Excel 进行不同组织间脂肪酸含量的数据进行整理,用 SAS 8.0 统计软件中的 *t* 检验对测定数据进行显著性分析。

由图 4 可以看出 SCD 基因的扩增效率为 98.5%,FAS 基因的扩增效率为 94.5%,GAPDH 扩增效率为 94.7%。由于目的基因与内参基因的扩增效率均在 95%~105%之间,而且偏差在 5%以



C₀ 为扩增模板的初始量。SCD 标准曲线斜率为-3.359,R² 为 0.991;FAS 标准曲线斜率为-3.462,R² 为 0.990;

GAPDH 标准曲线斜率为-3.456,R² 为 0.992。

图 4 SCD、FAS、GAPDH 的扩增标准曲线

Fig. 4 Standard curve of SCD、FAS and GAPDH amplification

内,符合 2^{-ΔΔC_T} 法的要求,因此采用 2^{-ΔΔC_T} 法统计数据。

2 结果与分析

2.1 葵花籽对生长羊血液脂肪酸组成的影响

由表 3 可以看出,与对照组相比,葵花籽日粮能

极显著提高血液中 C18:0、t11-C18:1、C18:2、C18:3 n6、CLA-c9,t11、C20:4 n6、C22:0 和 C16:1 的含量(P<0.01),且 t11-C18:1、C18:2 和 CLA-c9,t11 含量分别提高 153.2%、52.7%和 42.5%;显著提高 C22:4 和 C16:0 的含量(P<0.05);极显著减少了 C16:1 的含量(P<0.01)。

表3 日粮葵花籽对血液脂肪酸组成的影响

Table 3 Effect of sunflower seed on blood fatty acid composition

脂肪酸组成	$\rho(\text{脂肪酸})/(\text{mg/mL})$		SEM	<i>P</i>
	对照组	试验组		
C16:0	0.202 4	0.214 4 [*]	0.003 05	0.049 4
C16:1	0.013 8	0.010 6 ^{**}	0.000 59	0.004 1
C _m :n($m \leq 16$)	0.226 9	0.246 2	0.006 17	0.122 0
C18:0	0.222 0	0.300 8 ^{**}	0.011 87	0.000 1
t11-C18:1	0.010 9	0.027 6 ^{**}	0.002 45	0.000 1
C18:2	0.176 0	0.268 9 ^{**}	0.012 31	<0.000 1
C18:3n6	0.004 3	0.006 3 ^{**}	0.000 33	0.000 6
CLA-c9,t11	0.004 7	0.006 7 ^{**}	0.000 33	0.001 0
C20:4n6	0.049 2	0.067 1 ^{**}	0.002 45	<0.000 1
C22:0	0.002 6	0.004 7 ^{**}	0.000 32	0.000 2
C22:4	0.006 4	0.007 8 [*]	0.000 30	0.035 3
SFA	0.437 7	0.010 4	0.014 78	0.090 0
MUFA	0.319 3	0.318 3 [*]	0.007 95	0.040 0
PUFA	0.262 2	0.021 2	0.015 32	0.337 0

注:*,**分别表示5%和1%的显著水平;SEM表示平均数的标准误。部分没有显著差异的脂肪酸未在表中列出,下表同。

2.2 葵花籽对生长羊肾周脂肪脂肪酸组成的影响

由表4可以看出,与对照组相比,饲喂葵花籽后生长羊肾周脂肪中t11-C18:1含量极显著增加($P < 0.0001$),涨幅为56.7%;C18:2和总多不饱

和脂肪酸含量显著增加($P < 0.05$);CLA-c9,t11($P = 0.081$)含量有增加的趋势;C16:1、C18:3n3含量显著降低($P < 0.05$);C18:1n9($P = 0.087$)、C20:4n6($P = 0.056$)、C22:5($P = 0.057$)含量有降低的趋势。

表4 葵花籽对生长羊肾周脂肪组织脂肪酸组成的影响

Table 4 Effects of sunflower seed on fatty acid composition of perinephrit fat in lamb

脂肪酸组成	$w(\text{脂肪酸})/(\text{mg/g})$		SEM	<i>P</i>
	对照组	试验组		
C16:1	8.440	6.238 [*]	0.478	0.016
C _m :n($m \leq 16$)	231.230	212.700	9.065	0.317
C18:0	274.090	308.960	10.534	0.099
t11-C18:1	20.746	32.506 ^{**}	1.753	<0.001
C18:1n9	259.750	225.360	10.020	0.087
C18:2	23.992	28.878 ^{**}	0.806	0.002
C18:3n3	2.118	1.879 [*]	0.058	0.036
CLA-c9,t11	3.270	3.789	0.149	0.081
CLA-t10,c12	0.128	0.147	0.007	0.208
C20:4n6	0.779	0.611	0.044	0.056
C22:5	0.357	0.250	0.028	0.057
SFA	499.090	518.270	10.228	0.365
MUFA	298.760	274.170	9.442	0.202
PUFA	31.627	36.402 ^{**}	0.858	0.003

2.3 葵花籽对生长羊肝脏脂肪酸组成的影响

由表 5 可以看出,葵花籽能显著影响肝脏中多种脂肪酸含量,极显著提高 t11-C18:1、C22:0 含量 ($P < 0.01$),其中 t11-C18:1 含量升高了 42.5%;显著提高了 C18:2 的含量 ($P < 0.05$);CLA-c9,t11 ($P = 0.058$)、C24:0 ($P = 0.057$) 含量有增加的趋势,其中 CLA-c9,t11 含量升高了 22.4%;极显著降低 C20:2、C20:5、C16:1、C16:0、C14:1、Cm:n($m \leq 16$) 的含量 ($P < 0.01$);显著降低了 C18:1 n9、C18:1 n7、C18:3 n3、C22:5、总饱和脂肪酸和总单不饱和含量 ($P < 0.05$),CLA-t10,c12 ($P = 0.095$) 有降低的趋势。

表 5 葵花籽对生长羊肝脏脂肪酸组成的影响

Table 5 Effects of sunflower seed on fatty acid composition of liver in lamb

脂肪酸组成	ω (脂肪酸)/(mg/g)		SEM	P
	对照组	试验组		
C14:1	0.043	0.032**	0.002	0.007
C16:0	22.110	17.618**	0.714	0.000
C16:1	1.626	1.010**	0.122	0.007
Cm:n($m \leq 16$)	24.77	19.37**	0.863	0.000
t11-C18:1	1.752	2.497**	0.124	0.001
C18:1n9	31.900	26.070*	1.229	0.015
C18:1n7	1.844	1.408*	0.104	0.037
C18:2	11.937	14.088*	0.526	0.042
C18:3 n3	0.639	0.500*	0.029	0.014
CLA-c9,t11	0.827	1.012	0.048	0.058
CLA-t10,c12	0.128	0.095	0.010	0.095
C20:2	2.167	1.520**	0.111	0.001
C22:0	0.274	0.397**	0.018	0.000
C22:5	2.588	2.187*	0.097	0.034
C20:5	1.001	0.692**	0.044	<0.001
SFA	51.418	46.443*	0.886	0.024
MUFA	34.546	26.044*	1.453	0.035
PUFA	32.050	31.968	0.792	0.281

2.4 葵花籽对生长羊皮下脂肪脂肪酸组成的影响

由表 6 可以看出,饲喂葵花籽后,生长羊皮下脂肪中 t11-C18:1、CLA-c9,t11 含量极显著的升高了 59.3%和 33.2% ($P < 0.01$);C18:2、总多不饱和脂肪酸有增加的趋势;极显著降低 C18:3 n3 含量 ($P < 0.01$)。

表 6 葵花籽对生长羊皮下脂肪脂肪酸组成的影响

Table 6 Effects of sunflower seed on fatty acid composition of subcutaneous fat in lamb

脂肪酸组成	ω (脂肪酸)/(mg/g)		SEM	P
	对照组	试验组		
Cm:n($m \leq 16$)	267.270	245.760	7.396	0.148
t11-C18:1	19.668	31.326**	2.022	0.003
C18:2	22.926	27.687	1.320	0.078
C18:3 n3	2.168	1.730**	0.088	0.008
CLA-c9,t11	3.871	5.156**	0.182	<0.001
CLA-t10,c12	0.126	0.158	0.010	0.123
SFA	440.080	452.060	9.075	0.526
MUFA	353.020	354.430	6.174	0.913
PUFA	32.490	37.680	1.325	0.054

2.5 葵花籽对生长羊背最长肌脂肪酸组成的影响

由表 7 可以看出,饲喂葵花籽日粮对生长羊背最长肌影响较小,生长羊背最长肌 C20:2 脂肪酸含量极显著降低 12.9% ($P < 0.01$),t11-C18:1、C18:2、CLA-c9,t11 和 CLA-t10,c12 和其他脂肪酸含量与对照组相比没有显著差异 ($P > 0.05$)。

表 7 葵花籽对生长羊背最长肌脂肪酸组成的影响

Table 7 Effects of sunflower seed on fatty acid composition of Longissimus dorsi muscles in lamb

脂肪酸组成	ω (脂肪酸)/(mg/g)		SEM	P
	对照组	试验组		
Cm:n($m \leq 16$)	31.049	25.654	3.319	0.370
t11-C18:1	1.575	2.083	0.247	0.320
CLA-c9,t11	0.390	0.386	0.048	0.968
CLA-t10,c12	0.035	0.031	0.001	0.250
C20:2	0.495	0.431**	0.013	0.008
SFA	48.423	41.550	4.584	0.471
MUFA	42.661	38.400	4.041	0.613
PUFA	11.206	11.195	0.461	0.990

2.6 葵花籽对生长羊肾周脂肪、肝脏和皮下脂肪 SCD 基因表达量的影响

由表 8 的结果可以看出,饲喂葵花籽后,显著升高皮下脂肪 SCD 基因表达量 2.88 倍 ($P < 0.05$),而对生长羊肝脏和肾周脂肪 SCD 基因表达量没有显著影响 ($P > 0.05$)。

表8 日粮葵花籽对生长羊肾周脂肪、肝脏和皮下脂肪 *SCD* 基因表达量的影响*

Table 8 Effect of sunflower seed on *SCD* gene expression of perinephrit fat, liver, subcutaneous fat

指标	表达量		SEM	<i>P</i>
	对照组	试验组		
肾周	1.000 0	0.905 0	0.213 3	0.756 9
肝脏	1.000 0	1.099 5	0.259 1	0.914 1
皮下	1.000 0	3.879 7*	0.867 0	0.035 1

注: * *SCD* 基因表达量值都以同组织对照组为基准的相对值表示。

2.7 葵花籽对生长羊肾周脂肪、肝脏和皮下脂肪 *FAS* 基因表达量的影响

由表9的结果可以看出,葵花籽日粮显著降低生长羊肝脏和肾周脂肪 *FAS* 基因表达量 ($P < 0.05$),对生长羊的皮下脂肪 *FAS* 基因表达量没有显著影响 ($P > 0.05$)。

表9 日粮葵花籽对生长羊肾周脂肪、肝脏和皮下脂肪 *FAS* 基因表达量的影响*

Table 9 Effect of sunflower seed on *FAS* gene expression of perinephrit fat, liver, subcutaneous fat

指标	表达量		SEM	<i>P</i>
	对照组	试验组		
肾周	1.000 0	0.402 3*	0.146 3	0.049 0
肝脏	1.000 0	0.232 4*	0.174 9	0.034 6
皮下	1.000 0	1.439 8	0.529 1	0.488 8

注: * *FAS* 基因表达量值都以同组织对照组为基准的相对值表示。

2.8 不同部位 *SCD* 和 *FAS* 基因的表达差异

由表10结果可以看出,无论是对照组还是处理组,皮下脂肪 *SCD* 基因的表达跟其他2个部位都有极显著差异,而肝脏和肾周这2个部位之间的 *SCD* 基因表达没显著差异。而 *FAS* 基因在对照组和处理组中不同部位的表达趋势不尽相同,对照组肝脏

表10 不同部位组织中 *SCD* 和 *FAS* 基因的表达差异

Table 10 Expression of *SCD* and *FAS* gene in different tissues of growing sheep

项目	部位(I)	部位(J)	均值差*	标准误	<i>P</i>	
<i>SCD</i> 表达	对照组	皮下	肝脏	-4.936 10**	0.639 06	0.000
			肾周	-3.855 63**	0.639 06	0.000
	处理组	皮下	肝脏	4.936 10**	0.639 06	0.000
			肾周	1.080 47	0.639 06	0.104
		肝脏	皮下	-2.616 50**	0.843 49	0.005
			肾周	-2.360 52**	0.843 49	0.010
<i>FAS</i> 表达	对照组	皮下	肝脏	-4.496 92**	0.746 11	0.000
			肾周	0.159 38	0.746 11	0.833
		肝脏	皮下	4.496 92**	0.746 11	0.000
			肾周	4.656 30**	0.746 11	0.000
	处理组	皮下	肝脏	-1.448 15	1.080 26	0.193
			肾周	3.175 45**	1.080 26	0.007
		肝脏	皮下	1.448 15	1.080 26	0.193
			肾周	4.623 60**	1.080 26	0.000

注: * 为部位(I)与部位(J)的差。

与皮下脂肪及肾周脂肪 FAS 基因表达存在显著差异, 而皮下和肝脏两者 FAS 基因表达无显著差异, 处理组肾周脂肪与皮下脂肪及肝脏中 FAS 基因表达存在极显著差异, 皮下脂肪与肝脏 FAS 基因表达差异不显著。

3 讨 论

1) 有关研究表明, 葵花籽亚油酸占脂肪酸总量的 54.46%^[10]。亚油酸进入瘤胃后在微生物的作用下, 彻底氢化的终产物为硬脂酸, 但氢化过程总是不完全的, 产生的中间产物 CLA-c9, t11、t11-C18:1 等被瘤胃壁吸收或随食糜流到小肠被吸收进入血液, 瘤胃中 CLA-c9, t11、t11-C18:1 产量的多少与瘤胃环境有关。本试验研究数据显示, 与对照组相比, 日粮中添加 6% 葵花籽极显著地增加了血液中 CLA-c9, t11 和 t11-C18:1 的含量, 血液 t11-C18:1 含量的增加导致肝脏、肾周脂肪、皮下脂肪中 t11-C18:1 含量的显著增加。t11-C18:1 是羊内源合成 CLA-c9, t11 的底物, 底物的增加有利于相关组织中 CLA-c9, t11 的合成, 最终使处理组羊肝脏、肾周脂肪、皮下脂肪中 CLA-c9, t11 的含量不同程度地增加, 这与前人^[11-12]的研究结果一致。此外, 本试验数据显示, 饲喂 6% 葵花籽日粮使羊皮下脂肪中 CLA 沉积量和 SCD 基因表达量同步大幅度提高, 而与肝脏和肾周脂肪中 SCD 基因表达量未检测到显著增加相对应, 肝脏和肾周脂肪中 CLA 沉积量的增加幅度也远低于皮下脂肪, 上述现象预示着组织中 SCD 基因表达量与 CLA 沉积量有密切的关联性, 这进一步证实了 Mosley^[13]的相关结论。本试验未检测到添加 6% 葵花籽使羊背最长肌中 CLA 沉积明显增加, 该结果与前人^[12, 14-15]的研究结果不一致, 这可能与饲喂时间有关, 其饲喂时间为 60 d 以上, 而本试验只有 30 d。

2) SCD 是反刍动物脂肪组织以 t11-C18:1 为底物内源合成 CLA 的关键酶^[16]。日粮中添加 6% 葵花籽显著地增加了肝脏、肾周脂肪、皮下脂肪中 t11-C18:1 的含量, 理论上 t11-C18:1 作为 SCD 的底物, 其含量增加, 势必导致 SCD 酶基因表达量的增加, 但本试验中只在皮下脂肪检测到 SCD 基因表达量的显著增加, 而在肾周脂肪、肝脏组织中未检测到 SCD 基因表达量的显著增加。SCD 基因表达除受 t11-C18:1 含量影响外, 还受组织中 C18:2、C18:3 等几种在 $\Delta 9$ 、 $\Delta 12$ 位至少含有 2 个双键的十八碳多

不饱和脂肪酸以及 CLA-t10, c12 含量的影响^[17], 这几种多不饱和脂肪酸对 SCD 基因表达有抑制作用, 但本试验中不同组织中这几种多不饱和脂肪酸总含量相对于对照组都有不同程度提高, 且提高程度相似, 因此这几种多不饱和脂肪酸对 SCD 基因表达的抑制作用不能合理解释不同组织 SCD 基因表达量差异。不少研究^[13, 18]发现 SCD 基因表达在动物个体及组织间存在差异, 本试验数据统计分析也显示, 动物个体间和组织间 SCD 基因表达确实存在较大的变异, 表 10 数据显示不同组织间 SCD 基因表达量的差异性, 而个体间差异可以从表 8 的 SEM 值得到印证。

3) Azain^[19] 和 Bec^[20] 分别对生长小鼠和生长猪试验中发现, 日粮添加 CLA 对肝脏和脂肪组织中 FAS mRNA 表达量没有影响。卜攀登^[21] 在奶牛日粮中添加 2% 豆油后乳腺 SCD、FAS 和 LPL 的 mRNA 表达量分别比不加油对照组降低了 50%、13% 和 32%, 而且奶牛个体间这些酶基因表达出现了个体差异。本试验中葵花籽日粮显著降低羔羊肝脏和肾周脂肪 FAS 基因的表达量, 这与前人的研究结果相一致, 但皮下脂肪中 FAS 表达量未发生显著变化, 具体原因有待进一步研究。

FAS 对动物体内脂肪酸从头合成起着关键作用, 肝脏和脂肪组织是动物体内脂肪合成的主要场所, 因此肌内脂肪中的饱和脂肪酸(SFA) 主要从肝脏中转运而来, 而皮下脂肪中的 SFA 则一部分从肝脏转运而来, 另一部分来自脂肪组织本身的从头合成。肌内和皮下的 MUFA 主要由 SFA 脱饱和而来。本试验研究数据显示, 处理组羊肝脏、肾周脂肪中的 FAS 基因表达量显著降低, 这将使 SFA 合成量减少, 进而导致由 SFA 脱饱和和生成的 MUFA 量减少, 同时也导致运送到背最长肌的 SFA 和 MUFA 量的减少, 结果使背最长肌 SFA 和 MUFA 含量降低, 这与本试验肝脏、肾周、背最长肌 SFA 和 MUFA 含量有不同程度降低的结果相一致的。而皮下脂肪 FAS 基因表达未发生显著变化(但有增加趋势), 与之相应其 SFA 和 MUFA 含量也未检测到明显变化。

4 结 论

1) 饲喂含葵花籽日粮能显著提高绵羊血液、肾周脂肪、肝脏和皮下脂肪中 t11-C18:1 含量, 为合成 CLA-c9, t11 提供前体物, 不同程度上提高了绵羊体

组织中 CLA-c9,t11 的含量。饲喂葵花籽能改善绵羊体组织饱和脂肪酸的组成,提高肉的品质。

2)饲喂葵花籽对绵羊体组织 SCD 和 FAS 的基因表达的影响不尽相同,对皮下脂肪组织 SCD 基因表达具有显著提高作用,对肾脂肪、肝脏组织 FAS 基因表达具有显著抑制作用。

参 考 文 献

- [1] Parodi P W. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat[J]. J Dairy Sci, 1977, 60: 1550-1553
- [2] Banni S, Martin J C. Conjugated linoleic acid and metabolites [C]// Sebedio J L, Christie W W. Trans Fatty Acids in Human Nutrition, Dundee, United Kingdom: The Oily Press, 1998: 261-302
- [3] Banni S, Angioni E, Casu V, et al. Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid[J]. Carcinogenesis 1999, 20: 1019-1024
- [4] Ritzenthaler K L, McGuire M K, Falen R, et al. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology[J]. J Nutr 2001; 131: 1548-1554
- [5] 仲伟静. 共轭亚油酸调控肥育猪脂肪沉积的机理研究[J]. 饲料工业, 2006, 27(22): 39-41
- [6] Miriam L K, Julie R B, Debra A D, et al. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows[J]. Journal of Nutrition, 1998, 128: 881-885
- [7] Ritzenthaler K L, McGuire M K, Falen R, et al. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology[J]. J Nutr, 2001, 131: 1548-1554
- [8] Kouba M, Hermier D, Dividich J L. Influence of a high ambient temperature on stearoyl-CoA desaturase activity in the growing pig[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 1999, 124: 7-13
- [9] 中华人民共和国农业部. NY/T 816-2004 肉羊饲养标准[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004
- [10] 王翠艳, 侯冬岩, 回瑞华, 等. 葵花籽中脂肪酸的气相色谱-质谱分析[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 428-430
- [11] Santos-Silva J, Bessa R J B, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat [J]. Livestock Production Science, 2002, 77: 187-194
- [12] 胡琼. 不同油籽对绵羊瘤胃内容物及体组织脂肪酸组成的影响[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(1): 55-61
- [13] Mosley E E, Shafii B, Moate P J, et al. Cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle[J]. Nutr, 2006, 136: 570-575
- [14] 褚海义, 富俊才, 孙茂红, 等. 添加亚麻籽对肉羊生产性能和肌肉中功能性脂肪酸含量的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44(7): 31-33
- [15] 孙岩. 日粮中添加葵花籽和活性碳对肉羊瘤胃消化代谢和消化道食糜脂肪酸组成的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(11): 39-42
- [16] Santos-Silva J, Bessa R J B, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat [J]. Livestock Production Science, 2002, 77: 187-194
- [17] 郑婷. 多不饱和脂肪酸对动物脂酰辅酶 A 去饱和酶基因的影响及调控机制[J]. 畜禽业, 2007, 217: 16-17
- [18] Peterson D G, Kelsey J A, Bauman D E. Analysis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows[J]. Dairy Sci, 2002, 85(9): 2164-2171
- [19] Azain M J, Hausman D B, Sisk M B, et al. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number[J]. Nutr, 2000, 130: 1548-1554
- [20] Bee G. Dietary conjugated linoleic acid consumption during pregnancy and lactation influences on growth and tissue composition in weaned pigs[J]. Nutr, 2000, 130: 1981-2989
- [21] 卜登攀. 日粮不饱和脂肪酸对乳脂共轭亚油酸(CLA)合成的影响及其机理[D]. 北京: 中国农业科学院, 2006

责任编辑: 苏燕