

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 雞隻肌肉品質與脂質代謝基因表現之探討

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2313-B-029-001-

執行期間：94年01月01日至94年12月31日

執行單位：東海大學畜產與生物科技學系

計畫主持人：陳珠亮

共同主持人：李淵百

計畫參與人員：劉幸宜

報告類型：精簡報告

報告附件：國際合作計畫研究心得報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 3 月 31 日

## 一、中文摘要

計畫的主要目的在比較不同地方雞種肌肉組織內脂肪的含量與組成，並藉由分析與脂質代謝有關基因的表現，探討造成肌肉脂質差異可能的原因，以供將來飼養或育種改善肉質之利用。本試驗採用在中興大學家禽育種實驗室保種之金門雞與石岐雞，石岐雞肌肉性狀與金門雞明顯不同，同時具有較高的生長速率、腹脂與肌肉粗脂肪量。然而以組織切片技術觀察腿肌脂質的堆積並無法區別金門與石岐雞肌肉粗脂肪量的不同。石岐雞無論在腿雞或是腹部脂肪組織皆有顯著較高的飽和脂肪酸與較低的多元不飽和脂肪酸。即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應(real time RT-PCR)結果顯示，石岐雞肝臟具有較高的 SCD, PPAR $\gamma$  與 apoB 等與脂質代謝有關的基因 mRNA 表現。在脂肪組織石岐雞有較高 PPAR $\gamma$ , LPL 與 VLDLR mRNA 的表現。在肌肉組織石岐雞同樣有較高 LPL 與 VLDLR mRNA 的表現。另外金門雞有顯著較高的肌肉/脂肪組織 LPL 比值，而肌肉/脂肪組織 VLDLR 金門與石岐雞並無明顯差異。這些結果指出生長快的石岐雞在肝臟與脂肪組織皆有較高的脂質生成能力，肌肉與脂肪組織吸收三酸甘油酯的能力亦較金門雞高；但同一雞種比較肌肉與脂肪組織吸收三酸甘油酯的能力時，石岐雞的脂肪組織有比肌肉組織高的吸收能力，這或許是石岐雞有較高腹脂率的原因。

關鍵詞：肉雞、肉質、脂質代謝、脂肪酸組成。

## 二、英文摘要

The goal of this research was to dissect the mechanisms involved in muscle lipid accumulation, by comparing the composition and amounts of lipids in muscle tissues between two local chicken strains, and further analyzing the expression of genes involved in lipid metabolism. The information gathered herein can be applied to improve measures for chicken nutrition, management, or breeding programs for better meat quality. The two chicken strains, namely Quemoy and Shek-Ki, were collected and provided by the Poultry Breeding Laboratory at the National Chung-Hsing University. The two strains differ significantly in their muscle traits. The Shek-Ki strain displayed higher body weight, abdominal fat, and muscle lipid content. However, lipid accumulation in the leg (*semimembranosus* muscle) was in essence indistinguishable between the two strains, based on histochemistry staining analysis. Higher levels of saturated fatty acids and lower levels of polyunsaturated fatty acids were present in the leg (*semimembranosus* muscle) and abdominal adipose tissues of the Shek-Ki strain than those of the Quemoy strain. As demonstrated by real-time RT PCR analysis, comparing to the Quemoy strain, the Shek-Ki strain had higher levels of mRNA of lipid metabolism-related genes in various tissues, including the SCD, PPAR $\gamma$  and apoB mRNA in the liver; the PPAR $\gamma$ , LPL, and VLDLR mRNA in the adipose tissues, and the LPL and VLDLR mRNA in the muscle. Furthermore, the Quemoy strain showed higher muscle/adipose tissue LPL ratio. Taken together, these results indicated that the faster-growing Shek-Ki strain expresses higher levels of genes involved in lipid synthesis in the liver and adipose tissue, as well as those involved in the adsorption of triglycerides in muscle and adipose tissue than the Quemoy strain. Nevertheless, higher mRNA levels of the genes involved in the adsorption of triglycerides were observed in the adipose tissue

than in the muscle in the Shek-Ki strain, offering a possible mechanism for the higher abdominal adipose mass observed in the Shek-Ki strain than the Quemoy strain.

Key words: chicken, meat quality, fatty acid profile, lipid metabolism.

### 三、前言

台灣商業生產的肉用雞，主要為白色肉雞與有色肉雞兩大類。白色肉雞為進口種，生長效率極佳，不足六週齡就屠宰出售。有色肉雞，俗稱土雞，為本土培育的雞種，雖然飼養期較長，約十五週左右，但肉質鮮美、適合國人調理方式與食用喜好，普受國人歡迎，其產量甚至超過白色肉雞，為台灣最重要的肉用雞（李等，2001a）。台灣由於地理環境的限制，農產品的生產成本一直很高。在進入世界貿易組之後，各類畜禽產品將完全開放，白色肉雞的生產首先將面臨考驗。本土培育的土雞，因為外國尚無可替代的產品，因此是最適合國內生產的肉用雞。然而強調高品質的產品隨著人類生活水準的提高，已在世界各地興起（李等，2001b），所以台灣土雞勢必面臨不僅生產成本與生產效率方面的競爭，也同時面臨品質競爭的嚴苛挑戰。

肉雞的選拔一直是在以追求高生長效率（尤指肌肉組織）和低飼養成本的方向下進行，在此過程中肌肉的品質很少被強調。事實上若以目前用來評斷肉質的幾個標準，如肉色、保水性與嫩度等，現代商用白色肉雞的肉質已明顯地比過去差（Le Bihan-Duval et al. 1999）。在消費者對肉質要求的壓力下，生長慢、肉質佳的地方雞種的生產愈來愈受到重視。除此之外，在食品安全的考慮下，抗生素藥物的禁用已成為趨勢，而地方雞種比商用白肉雞有較強的抗病力。同時因應未來家禽福利法規的規定，地方雞種亦可在較“自然”的環境生長。基於上述理由，為建立適合我國肉用雞的生產與消費體系，台灣土雞種原的保存以及生長繁殖與肉質表現等性狀的研究是更顯重要。

肉質的認定儘管有各種科學分析方法就肌肉的物理化學性質做客觀的測定，然而各種測定的結果會因各地方消費者喜好的不同，而有不同的解讀與意義，因此肌肉品質的好壞會因消費者主觀的決定而變得抽象複雜。然而在目前眾多的肉質分析項目中，肌肉內脂肪含量的要求，似乎不會因不同地域的消費者而有太大的不同。許多報告亦指出選拔造成肌肉脂質含量降低，及其對肉質的負面影響，說明肌肉中脂質含量及組成對肉質的重要性。台灣偏愛高肉質的土雞消費型態是土雞產業建立的重要動力，提供消費者多元的高品質雞肉需要有多元肉質的土雞品系（李，2005），於是各地方土雞肉質的鑑定以及其與遺傳或飼養方法間的關係急待建立。

### 四、研究目的

肉雞的選拔一直是以追求高生長效率和低飼養成本的方向下進行，在此過程中肌肉的品質很少被強調；事實上現代商用肉雞的肉質已明顯地比過去差。為了培育優良肉質且生長效率高之肉雞，首先必須尋找鑑定具有優良肌肉特性的雞種。肉質的認定儘管可藉各種科學分析方法，然而消費者主觀的喜好往往使肉質鑑定變得複雜且困難。許多報告指出選拔造成肌肉脂質含量降低，及其對肉質的負面影響，說明肌肉中脂質含量及組成對肉質的重要性。所以此計畫的主要目的在比較不同地方雞種肌肉組織內脂肪的含量與組成，並藉

由分析與脂質代謝有關基因的表現，探討造成肌肉脂質差異之可能遺傳上與生理上的原因。了解這些與脂質有關的代謝機制，不僅可以促進國內家禽科學之研究，並有助於未來無論是建立由選拔育種，或是營養、內分泌或飼養管理等不同策略，以改善肌肉脂肪含量計畫的依據，進而提高肉雞肌肉品質。

## 五、文獻探討

商用肉雞品質的下降，主要是由於在強調肌肉生長速度的選拔下，改變了肌肉的組織與生化特性 (Berri, 2000)。例如肌纖維的數目與大小，生長快速的雞隻明顯地比同年齡生長慢的雞隻，有較多與較大的肌纖維 (Remignon et al., 1994)。商用肉雞肉質的測定技術一般有官能品評，包括風味、嫩度、質地與多汁性等，以及色澤、切斷值、保水性和 pH 值的測定等。高度選拔造成肌肉組織特性的改變，不僅改變了這些測定值，也影響了組織內脂質的含量；而脂質的含量與肌肉的風味、嫩度、保水性與肉色等又有高度的關係 (Remignon and Le Bihan-Duva, 2003)。儘管肉質的檢測涵蓋了許多分析項目，在一個由法國國家消費者協會 (National Consumers Institute) 於 2003 年所做的問卷調查結果中發現，當消費者被問到影響肉質的最重要因素時，40% 的人回答風味，甚至遠高於肉品安全與營養價值，而與風味最有相關的因子即是脂質的含量 (Beilken et al., 1990)。除了脂質含量外，脂肪酸的組成 (fatty acid composition) 亦顯著地影響肉品的風味 (Camfield et al., 1997; Melton et al., 1982)。同時也有文獻指出，當脂質含量增加時，飽和脂肪酸的比例會下降，亦即不飽和脂肪酸的含量會增加 (尤其是單不飽和脂肪酸)，這些改變不僅提高肉品風味，也增加了肉品的營養價值 (Busboom et al., 1993; May et al., 1993)。這些報告說明了選拔造成脂質含量降低，及其對肉質的負面影響，也說明肌肉中脂質含量及組成對肉質的重要性。

肌肉組織中適量的脂質含量可提高肉質，而皮下脂肪卻不被消費者喜歡；由於對肉質的要求日增，將來的飼養或育種計劃必須兼顧生長性能與肉質的改進；亦即在促進雞隻生長的過程中，必須同時了解其脂質的代謝與分布情形，以調節肌肉組織內的脂質含量或是減少皮下脂肪組織的量，達最佳的肉質與飼料效率。一般雞隻飼料中脂質的含量不高，故其體內之脂質主要是由脂質合成作用 (lipogenesis)，由澱粉轉換而來。家禽的脂質合成作用，主要在肝臟進行 (Griffin et al., 1992)，少部分在脂肪組織。雞的脂質在肝臟合成後，由 Very-low-density lipoprotein (VLDL) 負責運輸至其他周邊組織使用 (Chapman et al., 1977)。富含三酸甘油酯之 VLDL 由肝臟釋出至血液循環，附著於組織表面之 VLDLR 後，LPL 將三酸甘油酯分解為脂肪酸細胞所吸收利用 (Cryer, 1981)。了解肌肉與脂肪組織對脂質使用效率的生理機制與遺傳基礎，將可提供是改善肉質方法設計的理論依據。

為了培育優良肉質且生長效率高之雞種，首先必須尋找鑑定具有優良肌肉特性的雞種。一般相信許多生長慢的地方雞種都具有很優秀的肉質。本計畫選用在中興大學由李淵百教授主持的家禽育種實驗室保種的金門雞與廣東石岐雞 (李, 1992) 為實驗動物。相對於本地的金門雞，石岐雞生長較快且皮下脂肪很厚，很明顯地它們的肌肉型態與脂質代謝有很大的不同。了解脂質代謝以及能量分佈與肌肉型態的關係，將有助於將來追求高肌肉品質之飼養或選拔育種改善的依據。

參考文獻：

- 李淵百。1992。台灣本土雞。國立中興大學。台中。
- 李淵百。2005。台灣本土雞產業。農業生技產業季刊，2:1-7。
- 李淵百、吳憲郎、林旻蓉、涂海南、張秀鑾、項延塏、趙清賢、賴元亮、蘇夢蘭。2001a。台灣商用土雞性能介紹：生長與屠體性能。行政院農業委員會畜產試驗所。台南。
- 李淵百、鄧福順、林興誠、鄭裕信、陳志峰、王建培、莊慶忠、江德龍、林謙利、張業勤、黃學信。2001b。法國紅標雞認證制度：兼談台灣土雞標誌認證工作之推動。國立中興大學。台中。
- Beilken, S. L., L. M. Eadie, P. N. Jones, and P. V. Harris. 1990. Quality assessment of manufactured meat products. *Food Australia*. 42(11):532-536.
- Berri, C. 2000. Variability of sensory and processing qualities of poultry meat. *World's Poult. Sci. J.* 56:209-224.
- Busboom, J. R., L. E. Jeremiah, L. L. Gibson, K. A. Johnson, C. T. Gaskins, J. J. Reeves, and R. W. Wright. 1993. Effects of biological source on cooking and palatability attributes of beef produced for the Japanese market. *Meat Sci.* 35:241-258.
- Camfield, P. K., A. H. Jr. Brown, P. K. Lewis, L. Y. Rakes, and Z. B. Johnson. 1997. Effects of frame size and time-on-feed on carcass characteristics, sensory attributes, and fatty acid profiles of steers. *J. Anim. Sci.* 75:1837-1844.
- Chapman, M. J., S. Goldstein, and M. H. Laudat. 1977. Characterization and comparative aspects of the serum very low and low density lipoproteins and their apoproteins in the chicken (*Gallus domesticus*). *Biochemistry* 16(13):3006-3015.
- Cryer, A. 1981. Tissue lipoprotein lipase activity and its action in lipoprotein metabolism. *Int. J. Biochem.* 13(5):525-541.
- Griffin, H. D., K. Guo, D. Windsor, and S. C. Butterwith. 1992. Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens. *J. Nutr.* 122(2):363-368.
- Le Bihan-Duval, E., N. Millet, and H. Remignon. 1999. Broiler Meat Quality: Effect of Selection for Increased Carcass Quality and Estimates of Genetic Parameters. *Poult. Sci.* 78:822-826.
- May, S. G., C. A. Sturdivant, D. K. Lunt, R. K. Miller, and B. Smith. 1993. Comparison of sensory characteristics and fatty acid composition between Wagyu crossbred and Angus steers. *Meat Sci.* 35:289-298.
- Melton, S. L., M. Amiri, G. W. Davis, and W. R. Backus. 1982. Flavor and chemical characteristics of ground beef from grass, forage-grain, and grain-finished steers. *J. Anim. Sci.* 55:77-87.
- Remignon, H. and E. Le Bihan-Duval. 2003. Meat quality problems associated with selection for increased production. *Poultry Genetics, Breeding, and Biotechnology*, eds W. M. Muir and S. E. Aggrey. CAB International.
- Remignon, H., M. F. Gardahaut, G. Marche, and F. H. Ricard. 1994. Selection for rapid growth increased the number and the size of muscle fibres without changing their typing in the chicken. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 16:95-102.

## 六、研究方法

本計畫採用中興大學家禽育種實驗室目前保有的金門土雞與石岐土雞，比較其肌肉與脂肪組織的脂質含量與脂肪酸組成，以及這些組織內與脂質代謝有關基因的表現。每一雞種選擇母雞 8 隻，在約 17 至 18 週齡性成熟時屠宰。屠宰前將測量動物體重，屠宰後測量腹部脂肪之重量。另外分別取出胸肌 (*Pectoralis major muscle*) 與腿肌 (*semimembranosus muscle*)、肝臟以及腹部脂肪組織，供脂質含量和脂肪酸組成測定、組織切片與脂質代謝相關基因表現分析使用。

1. 建立並比較不同雞種之肌肉組織特性：

腿肌將用於粗脂肪含量以及脂肪酸組成分析。

2. 建立肌肉組織之脂肪分佈情形：

肌肉冷凍組織切片將用於 oil Red-O 脂質染色。此染色分析提供在肌肉中三酸甘油酯的堆積情形。

3. 肌肉、肝臟與脂肪組織中脂質代謝相關基因的表現：

胸肌、腿肌、肝臟與脂肪組織之總 RNA 將先萃取出，各樣本之總 RNA 經由反轉錄反應，接著加入適當之引子，以 ABI Prism 7000 系統進行即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應方法分析不同基因 mRNA 的表現。每一反應將以加入 18S 引子之反應作為控制組(internal control)。分析之基因包括：Fatty acid synthase (FAS)、Stearoyl CoA desaturase (SCD)、apo lipoprotein B (apoB)、Peroxisome proliferators-activated receptor g (PPAR g)、lipoprotein lipase (LPL)與 Very-low density-lipoprotein receptor (VLDLR)。

4. 統計分析：

試驗所得之各項數值以平均值 ± 標準偏差表示之。各項試驗數值利用 SAS 系統進行資料處理，以一般線性模式程序進行變方分析(SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA)。

## 七、結果與討論 (含結論與建議)

本計畫採用中興大學家禽育種實驗室保種之金門雞與石岐雞為實驗動物。石岐雞肌肉性狀與金門雞明顯不同，同時具有較高的生長速率與腹脂量。此次試驗石岐雞屠宰平均體重為 1636.4 克，比金門雞 1122.0 克顯著較重。石岐雞腹脂重為 28.4 克亦顯著地比金門雞的 17.8 克為重。而腹脂與體重的比例，石岐雞 1.74% 亦比金門雞 1.59% 為高。另外石岐腿雞粗脂肪含量為金門雞的 2.3 倍 (表一)。然而我們使用組織冷凍切片技術，以 Oil red O 染色，觀察腿肌脂質的堆積情形，並無法偵測與區別金門與石岐雞肌肉組織脂質的分佈 (圖一)，這可能是因為肌間脂質量太低，染色敏感度不足所致。進一步分析腿雞脂肪酸的組成，我們發現金門雞有較高的亞麻油酸 (Linoleic acid, C18:02) 與較低的 (Palmitic acid, 16:00) 組成 (表二)。脂肪組織亦表現相似的組成，金門雞有顯著較高的多元不飽和脂肪 (C18:02+C18:03) 與較低的飽和脂肪酸 (C16:00+C18:00) (表三)。這些結果顯示石岐雞有較高的生長速率且腹脂率亦較高；又由於實驗過程兩雞種皆餵飼相同飼糧，推測石岐雞應有較高的脂質生成作用，及與金門雞不同的脂肪酸代謝和能量分配。

FAS 與 SCD 直接參與脂質生成作用，脂質於肝臟生成後以極低密度脂蛋白 (Very-low density-lipoprotein; VLDL) 形式，由肝臟分泌經血液循環運送至周邊組織，包括肌肉與脂肪組織；而 apoB 是組成 VLDL 的重要蛋白質成份。PPARg 則是調控脂質生成作用的關鍵

轉錄因子。使用即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應(real time RT-PCR)分析，我們發現石岐雞肝臟具有較高的 SCD、apoB 與 PPAR $\gamma$  mRNA 的表現(圖二)，顯示其具有較高的脂質生成作用。可是 FAS mRNA 的表現，石岐雞卻顯著地比金門雞還低，這個結果與我們的預期相反，或許在此例，FAS mRNA 不是決定脂質生成作用的關鍵因素。雖然雞在脂肪組織的脂質生成作用不若肝臟重要，儘管如此石岐雞的脂肪組織有比金門雞高的 PPAR $\gamma$  表現(圖三)，顯示其在脂肪組織亦有較高的脂質生成。整體而言石岐雞有較高的脂質生成作用，造成較高的腹脂率以及肌肉粗脂肪量。

血液中的 VLDL 由 VLDLR 辨識後，LPL 將三酸甘油酯水解為脂肪酸與甘油而進入周邊組織細胞內。無論於肌肉組織或是脂肪組織(圖三、圖四)，石岐雞有顯著較高的 VLDLR 與 LPL mRNA 的表現，可見石岐雞吸收脂質的能力比金門雞要強。當肌肉 LPL mRNA 比脂肪組織的比值拿來比較時，我們發現金門雞有較高的比值(圖五)，顯示金門雞的肌肉比脂肪組織有較高的吸收能力，而石岐雞卻是脂肪比肌肉組織有較高的吸收能力。而 VLDLR 比值並無顯著差異，顯示不同組織吸收能力的不同，主要決定於 LPL。

這些結果指出生長快的石岐雞在肝臟與脂肪組織皆有較高的脂質生成能力，肌肉與脂肪組織吸收三酸甘油酯的能力亦較金門雞高；但同一雞種比較肌肉與脂肪組織吸收三酸甘油酯的能力時，石岐雞的脂肪組織有比肌肉組織高的吸收能力，這或許是石岐雞有較高的體脂率的原因。了解地方雞種生理表現的差異，將有助於國內家禽科學之研究，也為建立適合我國肉用雞的生產消費體系提供理論基礎，將有助於將來追求多元高品質肉雞產業的建立。

## 八、計畫成果自評

試驗執行按原計畫進行，唯執行過程發現脂肪酸的組成亦會影響肉質，所以除了測定肌肉粗脂肪含量外，我們又測定脂肪酸組成；另外原計畫肌肉組織測定包括胸肌與腿肌，由於胸肌脂質含量太低而未完成測定，但腿肌的試驗結果已足以支持所下的結論。

台灣偏愛高肉質的土雞消費型態是土雞產業建立的重要動力，提供消費者多元的高品質雞肉需要有多元肉質的土雞品系，此計畫的研究結果使我們更進一步了解不同肌肉型態的地方土雞其脂質在各組織的分佈與組成，以及其脂質代謝基因表現與肉質的關係，未來可結合其他肉質檢測方法，用以分析肉質優點以及肉質形成之遺傳上與生理上的原因。並且有助於未來無論是建立由選拔育種，或是營養、內分泌或飼養管理等不同策略，以改善肌肉內脂肪含量計畫的依據，進而提高肉雞肌肉品質，奠定高品質肉雞產業建立的基礎。

此計畫執行提供研究生的參與，有助於教育訓練為家禽產業培育人才。

## 九、附錄

表一：腿雞一般性狀分析

	石岐	金門
粗脂肪含量(g)	0.06743 <sup>a</sup>	0.02913 <sup>b</sup>
粗脂肪(%)	1.3233 <sup>a</sup>	0.5760 <sup>b</sup>

乾物質(%)	23.2033 <sup>a</sup>	24.3567 <sup>a</sup>
水分(%)	76.7967 <sup>a</sup>	75.5767 <sup>b</sup>

表二：腿雞脂肪酸組成分析

脂肪酸種類	石歧(%)	金門(%)
16:00	27.86	25.82
16:01	2.15	2.53
18:00	33.15	33.59
18:01	18.32	17.77
18:02	18.61	24.42
18:03	ND	ND

表三：脂肪組織飽和脂肪酸、單元不飽和脂肪酸與多元不飽和脂肪酸組成分析

脂肪酸種類	石歧(%)	金門(%)
飽和脂肪酸 16:00+18:00	40.042 <sup>a</sup>	33.683 <sup>b</sup>
單元不飽和脂肪酸 16:01+18:01	40.669 <sup>a</sup>	42.086 <sup>a</sup>
多元不飽和脂肪酸 18:02+18:03	20.034 <sup>a</sup>	24.259 <sup>b</sup>

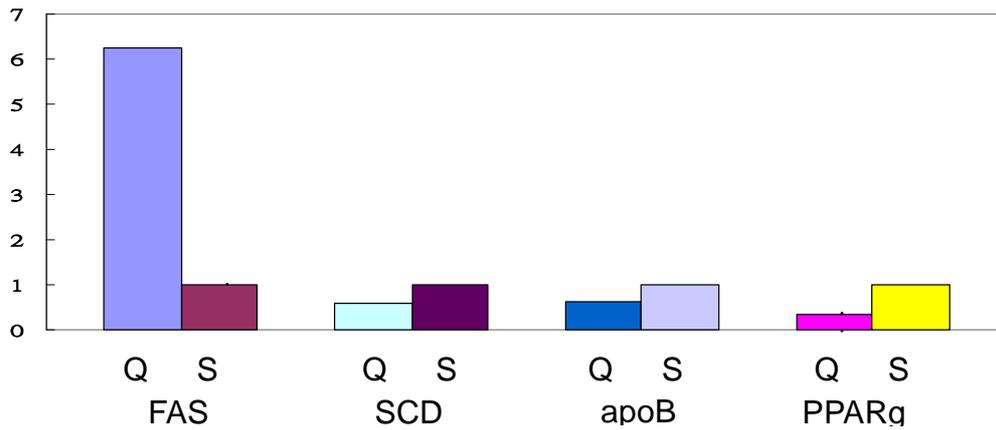


石歧

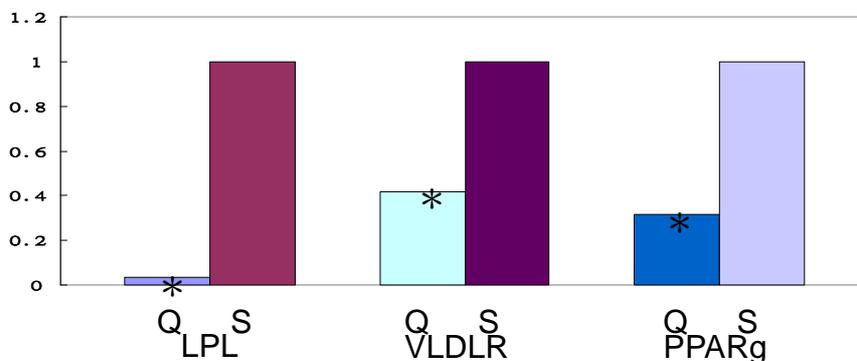


金門

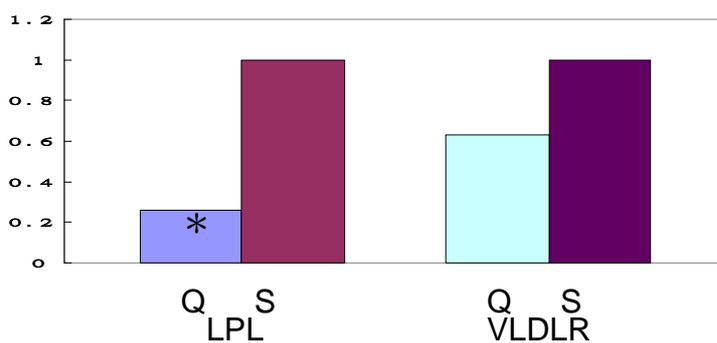
圖一：肌肉組織冷凍切片染色 (Oil Red O 染色)



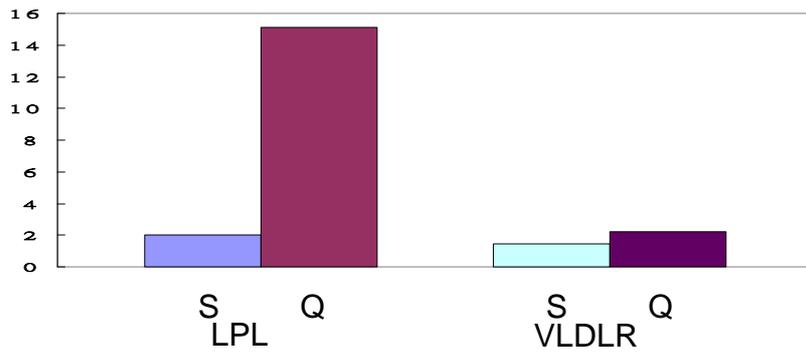
圖二：即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應分析：肝臟組織脂質代謝相關基因 mRNA 表現，各基因表現以石歧雞表現之百分比表示之。S：石歧、Q：金門。



圖三：即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應分析：脂肪組織脂質代謝相關基因 mRNA 表現，各基因表現以石歧雞表現之百分比表示之。S：石歧、Q：金門。



圖四：即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應分析：肌肉組織脂質代謝相關基因 mRNA 表現，各基因表現以石歧雞表現之百分比表示之。S：石歧、Q：金門。



圖五：即時相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應分析：肌肉/脂肪組織脂質代謝相關基因 mRNA 表現之比例。S：石岐、Q：金門。