

徐小波, 冯 宇, 陆志强, 等. 二花脸猪产仔数性状的分子标记及其效应分析[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(3): 579-582.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.03.018

二花脸猪产仔数性状的分子标记及其效应分析

徐小波¹, 冯 宇², 陆志强², 胡东卫², 陈 哲¹

(1. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏省常熟市畜牧兽医站, 江苏 常熟 215500)

摘要: 采用 PCR 及 PCR-RFLP 技术对 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLR* 基因在二花脸猪群体内的多态性及对繁殖性状的影响进行了检测与分析。结果表明: 108 头二花脸猪中检测到 *FSH β* 基因的 AA 和 AB 基因型, *ESR* 和 *PRLR* 基因的 AA、AB 和 BB 3 种基因型。*FSH β* 基因的 AA 基因型初产和经产的总产仔数(*TNB*)和产活仔数(*NBA*)均显著或极显著高于 AB 基因型;*ESR* 基因的 BB 基因型初产及经产 *TNB* 和 *NBA* 均显著高于 AB 基因型和 AA 基因型;*PRLR* 基因的 AA 基因型和 AB 基因型初产和经产 *TNB* 和 *NBA* 均高于 BB 基因型($P < 0.01$)。*FSH β* 基因的 AB 基因型初产和经产初生质量(*BW*)和断奶质量(*WW*)均高于 AA 基因型($P > 0.05$); *ESR* 基因的 AA 基因型初产和经产 *BW* 高于 AB 和 BB 基因型($P < 0.05$), *WW* 高于 BB 基因型;*PRLR* 基因的 BB 基因型初产和经产仔猪的 *WW* 均显著高于 AA 基因型($P < 0.05$)。*FSH β* 、*PRLR* 和 *ESR* 基因对二花脸猪繁殖性状有一定影响, 可作为二花脸猪繁殖性状辅助选择的标记。

关键词: 二花脸猪; 产仔数; 分子标记

中图分类号: S828.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)03-0579-04

Molecular markers of litter size and its effect in Erhualian sows

XU Xiao-bo¹, FENG Yu², LU Zhi-qiang², HU Dong-wei², CHEN Zhe¹

(1. Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Animal Husbandry and Veterinary Station of Changshu City, Jiangsu Province, Changshu 215500, China)

Abstract: The estrogen receptor (*ESR*) gene, prolactin receptor (*PRLR*) gene and follicle-stimulating hormone β submit (*FSH β*) gene of Erhualian sows were detected using PCR and PCR-RFLP for the polymorphisms and their effects on reproductive performance. AA and AB genotypes for *FSH β* gene, and AA, AB and BB genotypes for *ESR* and *PRLR* genes were found in 108 sows. The total number born (*TNB*) and number born alive (*NBA*) of primiparous or multiparous sows with AA genotype for *FSH β* gene were higher than those with AB genotype ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The *TNB* and *NBA* of primiparous or multiparous sows with BB genotype for *ESR* gene were higher than those with AA genotype ($P < 0.01$) and AB genotype ($P < 0.05$). The *TNB* and *NBA* of primiparous or multiparous sows with AA and AB genotypes for *PRLR* gene were higher than those with BB genotype ($P < 0.01$). The birth weight (*BW*) and weaning weight (*WW*) of primiparous or multiparous sows with AB genotype for *FSH β* gene were higher than those with AA genotype ($P > 0.05$). The *BW* of primiparous or multiparous sows with AA genotype for *ESR* gene were higher than those with AB and BB genotypes ($P < 0.05$), and the *WW* were higher than those with BB genotype ($P < 0.05$). The *WW* of primiparous or multiparous sows with BB genotype for *PRLR* gene were higher than those with AA genotype ($P < 0.05$). In conclusion, *FSH β* , *ESR* and *PRLR* genes

收稿日期: 2014-12-30

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(12)2036]

作者简介: 徐小波(1964-), 男, 江苏镇江人, 学士, 副研究员, 主要从事地方猪种质资源保存与利用研究。(Tel) 025-84390341; (E-mail) xiaoboxu@sohu.com

contributed to the reproductive traits in Erhualian sows, and could be used as important genetic markers for reproductive traits selection in Erhualian sows.

Key words: Erhualian sows; litter size; molecular marker

控制猪产仔数的基因或标记已报道的有雌激素受体基因(*ESR*)^[1]、促卵泡素 β 亚基因(*FSH β*)^[2]、催乳素受体基因(*PRLP*)^[3]和表皮生长因子基因(*EGF*)^[4]等。它们是母猪生殖调节的关键基因,是生殖激素的受体基因,参与调节猪生殖道、卵巢及泌乳等的生长发育等。二花脸猪是江苏省最优秀猪种之一,以繁殖力高、肉质优良而著称于世。本试验选择 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLP* 3 个功能基因作为候选基因,采用 PCR-RFLP 进行多态性检测,同时对 3 个候选基因对二花脸猪的产仔与哺育性状进行相关性分析,以揭示二花脸猪高繁殖力的分子遗传机理,为二花脸猪的种质资源保护及开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验猪群

试验猪群为常熟市牧工商总公司二花脸保种猪场的育种核心群 108 头母猪。母猪繁殖成绩统计范围为所有核心群母猪初产和经产的纯种繁殖产仔哺育记录。母猪群系谱资料完整,各胎配种与繁殖记录齐全,仔猪哺乳期为 35 d。

1.2 试验方法

1.2.1 采样与 DNA 提取 用猪用耳缺钳夹取一小块耳缘组织(约 0.10~0.15 g),浸于 EP 管内 70% 乙醇中,−20 ℃ 冷冻保存。采用苯酚法提取 DNA。

1.2.2 引物设计 分别参照赵要风等^[2]、Short 等^[5]和 Drogemuller 等^[6]的文献设计 *FSH β* 、*ESR*、*PRLR* 基因多态位点引物。*FSH β* -F: 5'-CCTTTAAGACAGTCAATGGC-3'; *FSH β* -R: 5'-ACTGGTCTATTCATCCTCTC-3'。*ESR*-F: 5'-CCTGTTTTTACAGTACTTTTACAGAG-3'; *ESR*-R: 5'-CACTTCGAGGGTCAGTCCAATT-

AG-3'。*PRLR*-F: 5'-CGTGGCTCCGTTTGAAGAACC-3'; *PRLR*-R: 5'-CTGAAAGGAGTGCATAAAGCC-3'。引物用去离子水溶解,−20 ℃ 保存。

1.2.3 PCR 反应 反应总体积为 25.0 μ l, Premix *Ex Taq* 12.5 μ l, 两端引物(100 μ mol/L)各 0.5 μ l, 模板 DNA 1.0 μ l, 加纯水至 25.0 μ l。PCR 反应条件为: 95 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 45 s, 32 个循环, 最后 72 ℃ 延伸 10 min。PCR 产物经电泳检测后置于 4 ℃ 保存。

1.2.4 酶切与电泳 *ESR* 和 *PRLR* 基因扩增产物分别用 *Pvu* II 和 *Alu* I 限制性内切酶进行酶切。酶切反应体系为: 2.0 μ l 10 \times NEB 缓冲液, 0.2 μ l 100 \times BSA, 0.5 μ l 内切酶, PCR 产物 5.0 μ l, 加纯水至 20.0 μ l。酶切反应条件: 37 ℃, 反应时间 4~6 h。*ESR* 和 *PRLR* 基因经酶切后进行 2% 琼脂糖凝胶电泳分析, *FSH β* 基因扩增产物直接进行电泳分析。

1.3 统计分析

分别统计初产和经产的总产仔数(*TNB*)、产活仔数(*NBA*)、初生质量(*BW*)和断奶质量(*WW*)。采用 SPSS 统计软件包进行统计分析。

2 结果

2.1 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLR* 基因在二花猪中的基因频率

二花脸猪 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLR* 基因的基因型和基因频率分布见表 1。经卡方适合性检验, 二花脸猪群体内 *FSH β* 基因只发现 2 种基因型, AA 型和 AB 型, *ESR* 和 *PRLR* 基因有 AA 型、AB 型和 BB 型 3 种基因型, 基因型分布均符合哈迪-温伯格平衡($P>0.05$)。

表 1 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLR* 基因在二花脸猪群中的基因型频率和基因频率

Table 1 Gene and genotype frequencies of *ESR*, *PRLR* and *FSH β* genes in Erhualian sows

基因	N	等位基因型频率			等位基因频率		χ^2 值
		AA	AB	BB	A	B	
<i>FSHβ</i>	108	0.907(98/108)	0.093(10/108)	0	0.954	0.046	0
<i>ESR</i>	108	0.130(14/108)	0.518(56/108)	0.352(38/108)	0.389	0.611	0.01
<i>PRLR</i>	108	0.324(35/108)	0.565(61/108)	0.111(12/108)	0.606	0.394	0.03

2.2 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLR* 基因多态性与二花脸猪产仔性能的关联性

FSH β 、*ESR* 和 *PRLR* 各基因型初产和经产的总

产仔数(*TNB*)和产活仔数(*NBA*)列于表 2。*FSH β* 基因在二花脸猪群体中只检测到 AA 型和 AB 型, AA 型无论初产和经产 *TNB* 和 *NBA* 均显著或极显

著高于 AB 型;*ESR* 基因 BB 型个体的初产及经产的 *TNB* 和 *NBA* 均显著或极显著高于 AB 型和 AA 型, AB 型的初产 *NBA*、经产 *TNB* 和 *NBA* 均显著或极显

著高于 AA 型;*PRLR* 基因的 AA 型为有利基因型, AA 型和 AB 型初产和经产 *TNB* 和 *NBA* 均极显著高于 BB 型, AA 型和 AB 型之间差异不显著。

表 2 不同基因型二花脸猪的总产仔数与产活仔数

Table 2 Total number of born and number of born alive of different genotypes of Erhualian sows

基因	等位基因型	初产			经产		
		胎数	总产仔数(<i>TNB</i>)	产活仔数(<i>NBA</i>)	胎数	总产仔数(<i>TNB</i>)	产活仔数(<i>NBA</i>)
<i>FSHβ</i>	AA	98	9.92±0.66a	9.86±0.65a	295	14.22±0.66A	13.87±0.65a
	AB	10	9.36±0.69b	9.05±0.77b	29	13.04±0.65B	12.81±0.68b
<i>ESR</i>	AA	14	9.01±0.60Bb	8.01±0.60Bc	43	11.31±0.69B	11.31±0.71B
	AB	56	9.29±0.72ABb	9.18±0.56ABb	166	13.14±0.72Ab	12.81±0.57Ab
	BB	38	9.91±0.71Aa	9.76±0.74Aa	115	14.11±0.63Aa	13.81±0.64Aa
<i>PRLR</i>	AA	35	10.18±0.54A	10.09±0.56A	104	14.39±0.57A	14.06±0.63A
	AB	61	9.95±0.62A	9.73±0.62A	179	14.14±0.71A	13.81±0.52A
	BB	12	8.73±0.33B	8.51±0.49B	41	12.37±0.72B	12.14±0.57B

同一基因不同基因型间不同大、小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。

2.3 *FSHβ*、*ESR* 和 *PRLR* 基因多态性与二花脸仔猪初生质量、断奶质量的关联性

FSHβ、*ESR* 和 *PRLR* 各基因型初产和经产的初生质量(*BW*)和断奶质量(*WW*)列于表 3。*FSHβ* 基因的 AB 型初产和经产 *BW* 和 *WW* 均显著高于 AA

型。*ESR* 基因的 AA 型初产和经产 *BW* 显著高于 AB 和 BB 型, AA 型的初产和经产 *WW* 显著高于 BB 型, AA 型是仔猪体质量优势基因。*PRLR* 基因的 BB 型初产和经产仔猪的 *WW* 均显著高于 AA 型, 其余差异不显著, BB 型为仔猪体质量优势基因。

表 3 不同基因型二花脸猪所产仔猪的初生质量和断奶质量

Table 3 Birth weight and weaning weight for different genotypes of Erhualian sows

基因座	等位基因型	初产			经产		
		头数	初生质量(<i>BW</i>) (kg)	断奶质量(<i>WW</i>) (kg)	头数	初生质量(<i>BW</i>) (kg)	断奶质量(<i>WW</i>) (kg)
<i>FSHβ</i>	AA	98	1.51±0.08	5.75±0.42	295	1.62±0.08	5.87±0.41
	AB	10	1.57±0.11	6.02±0.48	29	1.68±0.11	6.14±0.43
<i>ESR</i>	AA	14	1.75±0.11a	6.76±0.36a	43	1.86±0.10a	6.89±0.39a
	AB	56	1.53±0.10b	6.07±0.44ab	166	1.64±0.10b	6.19±0.41ab
	BB	38	1.54±0.09b	5.74±0.40b	115	1.65±0.10b	5.85±0.40b
<i>PRLR</i>	AA	35	1.50±0.11	5.65±0.22b	104	1.61±0.11	5.76±0.30b
	AB	61	1.52±0.09	5.71±0.43ab	179	1.63±0.09	5.83±0.35ab
	BB	12	1.62±0.10	6.33±0.41a	41	1.73±0.10	6.45±0.44a

同一基因座不同基因型间不同大、小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。

3 讨论

3.1 基因多态性分析

赵要风等^[2]在二花脸猪和香猪内只发现了 *FSHβ* 基因的 A 等位基因, 本研究中未发现 *FSHβ* 基因的 BB 基因型, B 等位基因频率为 0.22。陈克飞等^[7]报道 *ESR* 基因的 B 等位基因在国内猪种中占优势(0.73), 在二花脸猪群体中也表现为 B 基因频率较高。本研究 *PRLR* 基因多态性表现与李婧等^[8]

的检测结果一致。群体的遗传平衡检测结果表明, 二花脸猪尚处于稳定遗传平衡状态。

3.2 基因多态性与产仔数的关联性

赵要风等^[2]认为 *FSHβ* 是猪产仔性状主效基因, AA 基因型的产仔数明显提高^[8-9]。本研究的二花脸猪群体内, B 基因的频率很低, 与其他地方猪种的基因频率类似^[9-11], 本研究结果表明 AA 型的初产和经产总产仔数(*TNB*)和产活仔数(*NBA*)均较 AB 型略高, A 基因为优势基因。

有研究者认为 *ESR* 基因的每个 B 基因能提高产仔数 0.3 ~ 1.5 头^[1,10]。丁家桐等研究发现, *ESR* 基因对 *TNB* 和 *NBA* 的效应在 3 个地方猪种中效应极显著, 每个 B 基因对 *TNB* 和 *NBA* 的加性效应分别为 1.52 头和 1.50 头^[12]。本研究结果也表明, 二花脸猪 *ESR* 基因 BB 型为优势基因型, B 基因频率达到 0.817, 且 *ESR* 基因的 BB 基因型个体初产和经产的 *TNB* 和 *NBA* 显著高于 AA 型个体 ($P < 0.01$), 与国内其他猪种相似^[7], 说明 *ESR* 基因也是控制猪产仔数性状的主效基因, 而且二花脸猪有较高的繁殖性能的潜力。

关于 *PRLR* 基因与产仔数的关联性研究结果存在一定分歧, 部分研究者认为 A 等位基因能显著提高产仔数^[13-14], 但另一部分研究者则认为 B 基因对猪产仔数更有利^[6,15]。*PRLR* 基因在不同猪种中的多态性及其与繁殖性状的关系尚无定论。本研究与李婧等^[10]的研究结果一致, *PRLR* 基因的 A 等位基因为优势基因, AA 基因型 *TNB* 和 *NBA* 均显著高于 BB 基因型。

3.3 基因多态性与初生质量、断奶质量的相关性

部分研究者认为 *FSH β* 、*ESR* 和 *PRLR* 基因对仔猪初生质量 (*BW*) 和断奶质量 (*WW*) 没有显著影响^[16-17], 但也有研究者认为, *PRLR* 基因对初生窝质量有作用, 且在国内外猪种中的表现显著不同^[18]。本研究中, *PRLR* 基因对初产和经产仔猪的 *WW* 效应显著, *ESR* 基因对初产、经产的 *BW* 和 *WW* 均有显著影响。本研究中二花脸猪的 *TNB* 和 *NBA* 与 *BW* 之间存在显著的负相关, 这与在金华猪上的研究结果^[19]一致。这为二花脸猪的分子标记辅助选择提供了新的依据和参考。

繁殖性状遗传率很低, 受微效多基因调控, 同时也受到品种、胎次、营养及环境等多方面的影响。通过对产仔数的表型选择提高种群的产仔数收效甚微, 但是通过对诸多与产仔数相关的候选基因的研究, 将一些主效基因作为分子标记进行合并选择, 对提高种群产仔数将是一个有效的方法。

参考文献:

- [1] ROTHSCCHILD M, JACOBSON C, VASKE D, et al. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs [J]. Pnas USA, 1996, 93(1): 201-205.
- [2] 赵要风, 李 宁, 肖 璐, 等. 猪 *FSH β* 亚基因结构区逆转座子插入突变及其与猪产仔数关系的研究 [J]. 中国科学 (C 辑), 1999, 29 (1): 81-86.
- [3] VAN RENS B T, EVANS G J, VAN DER LENDE T. Components of litter size in gilts with different prolactin receptor genotypes [J]. Theriogenology, 2003, 59 (3-4): 915-926.
- [4] 周利华, 肖石军, 杨广成, 等. 猪表皮生长因子基因的遗传变异及其与产仔性状的相关性分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37 (5): 147-150.
- [5] SHORT T H, ROTHSCCHILD M F, SOUTHWOOD O I, et al. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial lines [J]. J Anim Sci, 1997, 75(12): 3138-3142.
- [6] DROGEMULLER C, HAMANN H, DISTL O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines [J]. J Anim Sci, 2001, 79 (10): 2565-2570.
- [7] 陈克飞, 黄路生, 李 宁, 等. 猪雌激素受体 (*ESR*) 基因对产仔数性状的影响 [J]. 遗传学报, 2000, 27 (10): 853-857.
- [8] 李 婧, 孟 和, 李长龙, 等. *ESR* 和 *PRLR* 基因对民猪产仔数的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2003 (4): 11-12.
- [9] 柳淑芳, 杜立新, 闫艳春. 莱芜黑猪 *FSH β* 亚基因的多态性分析 [J]. 山东农业大学学报, 2002, 33 (4): 403-408.
- [10] 李 婧, 杨润清, 孟 和, 等. 民猪产仔数性状四个候选基因效应分析 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2004, 22 (1): 74-77.
- [11] 李国治, 连林生, 鲁绍雄, 等. 撒坝猪促卵泡素 β 亚基因多态性及其与初产产仔性能相关性研究 [J]. 养猪, 2005 (2): 22-23.
- [12] 丁家桐, 葛红山, 姜勋平, 等. 猪雌激素受体基因与产仔数和乳头数的关系 [J]. 南京农业大学学报, 2002, 25 (2): 79-81.
- [13] VINCENT A I, TUGGLE C K, ROTHSCCHILD M F, et al. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pig [R]. Armidale: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 1998.
- [14] VAN RENS B T, VAN DER L T. Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes [J]. Theriogenology, 2002, 57 (2): 883-893.
- [15] 孙延晓, 曾勇庆, 陈其美, 等. 八个猪种 *PRLR* 和 *RBP4* 基因 PCR-RFLP 检测及群体遗传特性研究 [J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2008, 39 (4): 544-548.
- [16] 孙菊英, 吕钢进, 王友杉, 等. 嵊县花猪 *PRLR* 基因多态性与繁殖性状的相关分析 [J]. 浙江畜牧兽医, 2010 (3): 1-3.
- [17] 李千军, 王立刚, 穆淑琴, 等. *ESR*、*FSH β* 及 *OPN* 基因多态性与母猪繁殖性状的关联分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37 (10): 139-143.
- [18] 胡雪松, 王希彪. 民猪、长白猪及其杂种母猪催乳素受体 (*PRLR*) 基因的 *Nae I* 多态性与繁殖性状的相关分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37 (11): 1135-1140.
- [19] 谢保胜. 应用约束性最大似然法 (REML) 估计金华猪繁殖性状和生长性状的遗传参数 [D]. 杭州, 浙江大学, 2002.

(责任编辑: 张震林)