

微卫星 DNA 标记与猪肉质性状的相关分析

侯建国, 李加琪, 陈瑶生, 王 翀

(华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:测定了长蓝参考家系 F_2 代个体的肉色、大理石纹、pH 值和系水力 4 个肉质性状,同时测定了 6 号染色体的 23 个微卫星 DNA 标记,将不同基因型与 4 个肉质性状进行方差分析与多重比较.结果表明:肉色与大理石纹、pH 值、系水力间的相关系数分别为-0.322、0.419、0.468, pH 值和系水力间的相关系数最高,为 0.737,差异极显著; MN006 座位与影响 pH 值性状的 QTL 连锁,加性效应为 0.108, MN004 座位与影响大理石纹性状的 QTL 连锁,加性效应为 0.125.

关键词:猪; 微卫星 DNA 标记; 肉质性状; QTL

中图分类号: S828.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2003)02-0063-04

随着人民生活水平的提高,猪肉质性状的选育已经逐渐为育种工作者所重视,猪肉质性状是一综合性状,包括肉色、大理石纹、pH 值、系水力、肌肉脂肪含量、滴水损失和品尝鉴定等.其中肉色是评定猪肉品质的重要性状,虽然肉色本身对风味没有影响,但对公众的感官反应有很大的影响;大理石纹是主观评定肌肉脂肪含量的指标,而肌肉脂肪含量是猪肉嫩度与食用品质的重要决定因素,直接影响到猪肉的嫩度、风味和多汁性;pH 值则是肉质评定中最广泛应用的指标之一,是反映宰后体内糖原酵解速率最重要的指标;系水力与滴水损失也是判定肉质的重要指标,它反映了猪肉的货架期长短^[1].猪肉质性状为宰后测定的性状,因此,其选择在选育实践中难于进行,标记辅助选择是猪肉质性状选择的有效途径,但这首先应寻找与肉质性状紧密连锁的遗传标记或控制肉质性状的数量性状位点(QTLs),而目前对肉质性状连锁与 QTL 定位的报道不多^[2~4]. 本研究的目的是通过分析猪第 6 号染色体的微卫星 DNA 标记基因型与猪肉质性状的关系,为猪肉质性状的 QTL 定位与标记辅助育种提供依据.

1 材料与方法

1.1 试验群体

以长白猪为父本,蓝塘猪为母本,按照 F_2 代设计建立长×蓝资源群体,以该资源群体 96 头 F_2 代群体为试验材料.

1.2 微卫星引物

参照 Robic 等^[5], Zhao 等^[6] 以及 Ambady 等^[7] 的

报道,由上海生工生物工程公司合成了 23 对引物,其碱基序列见表 1.

1.3 性状测定方法

肉色:宰后 1 h 测定第 4~6 胸椎间背最长肌切面的颜色,采用美国和日本的标准比色板测定法,肉色分 5 级.大理石纹:采用美国 NPPC 的 5 级评分制评分. pH 值:宰后 1 h 左右用 pH 计直接测定背最长肌的 pH 值.系水力:采用重量加压测定法测定.称 10 g 左右背最长肌,用 12 层滤纸包好,持续施加 25 kg 恒定的压力,然后再称肉样,前后之差即为失去的水分,再计算系水力^[1].

1.4 基因组 DNA 的抽提及模板的制备

取前腔静脉血液,加 1/10 体积 $w=2\%$ EDTA 抗凝剂,轻轻摇匀.采用常规的苯酚氯仿抽提方法,将抽提出的 DNA 原液 3 μ L 与 3 μ L 溴酚蓝混合,点样于 0.008 g/mL 的琼脂糖凝胶(内含 0.5 μ g/mL EB)中,5 V/cm 电泳 30 min 后观察结果.取少量分装,稀释到 50 ng/ μ L 备用.原液-70 $^{\circ}$ C 保存.

1.5 PCR 扩增体系及基因型检测

PCR 扩增反应体系参照 Robic 等^[5], Zhao 等^[6] 以及 Ambady 等^[7] 的报道.用 WAVE[®] 核苷酸片段分析系统检测判定基因型. WAVE[®] 核苷酸片段分析系统是美国 TRANSGENOMIC 公司的产品,近年来在分析单核苷酸多态性(SNP)和微卫星的研究中广为应用.其原理是 DNA 片段经过洗脱,不同的 DNA 片段产生停滞时间(retention time)不同的波峰,根据停滞时间

收稿日期: 2002-10-16

作者简介:侯建国(1977-),男,硕士,现在广东省农业科学院情报所工作.

通讯作者:李加琪(1965-),男,副教授,硕士.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39800103);广东省自然科学基金资助项目(980153)

©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

来判断波峰是否是目标片段.该仪器的精确度比较高,可以区分在琼脂糖胶上不能区分的片段.

1.6 数据统计方法

采用 SAS 软件的 GLM 过程和 CORR 过程分析.

表 1 微卫星引物(6号染色体)
Tab.1 Microsatellite primers (Chr. 6)

标记 marker	上游引物 forward primer	下游引物 reverse primer	t(退火)anneal temperature/℃	等位基因数 number of alleles	片段大小(bp) size range
S0121	TTGTACAATCCCAGTGG AATCC	AATAGGGCATGAGGGTGT TTTGA	55	5	173
S0059	CAGGGTAGCCAAAAAGAGTAAA	TGCACACCTTGTGAACGTAGTT	55	14	148
MN001	TAAAACTTTAACCAGACCTTC	ATATGCACAGAA GTTAGCTTTG	50	7	132~154
MN002	GAGCAACATCAGCTTAGTCC	GATAGCACCATATG TGGGAC	58	3	118~124
MN003	TAACCATGAACGACCTGG	GCGTGATATGTG TTTTAGTGTC	58	3	145~149
MN004	CAGTAGCCAGGTATGGAAG	TTTAATGGCTCGTAATACTC	58	5	148~165
MN005	AAC TGCCTGAGTTACATTC	CAGGCTGTGACCCATTAG	58	4	190~202
MN006	CTCTCATTCAGAGAATAGAGGC	CAAAAGTCCTAGGTGCTTATC	58	4	178~194
MN007	ACCAGTTCCAAGGGACTC	TC TGTGTGATCTTCACCTGTG	58	4	118~133
MN008	GATCTCATTTATTGAAATCTAA	GGAAGTTTGTACCTTTGACTC	55	5	120~134
MN009	CCAGTTCCATCTTAAATGGG	GATGGGCACAAGACAATC	58	5	221~231
MN10	CCAAGACCCAGCATCAGG	CGTGCAGACATGGAACG	60	6	114~126
MN11	GTG GTTGGAGGATGCTTG	CTTGGGTAGATACCAAGGCC	55	7	129~149
MN12	CTGTAATTCTGTGGT TGG	TGATGGTGACCGGCATAAG	55	5	159~181
MN13	CTGAAACAGAGGCTTACTG	TCTGAGATGACTGGACGAC	55	3	135~141
MN14	CCTAGGCAGGCAGCTCAG	AGCAGCTTGGCGCTCTC	60	4	156~166
MN15	CAACAAATGCTGCGTGTCC	CCATGTCACTTGTGTCTC	55	10	115~147
MN16	GGGTTAATGGATGAATGG	TCCATTATGTCTAGACAC	57	10	82~108
MN17	ATACCTTGCCAGTGAGGGAC	TGCTATGGTGTGTGTAAGG	57	8	131~155
MN18	GGGAGAGAGTCTGCAAGG	CTGTGCCCTCAGAGGAAG	60	4	137~143
MN19	CTCCATCATCATAAC	GATGATGAGTTATGAGTGTC	55	4	119~130
MN20	GATATGTGTCCACAGATGC	CGGAGATTGTAGGATG	57	6	147~161
MN21	CTCCAGAATCTAAGCTCTC	AGGACTCCGTGAGAGTTCTC	60	14	137~193

2 结果与分析

2.1 肉质性状间的表型相关分析

表 2 列出了 4 个主要猪肉质性状间的表型相

关,结果表明肉色、pH 值和系水力之间都存在正相

关,肉色和大理石纹呈负相关,差异极显著;pH 值与

系水力之间的相关系数最高,达 0.737.其余性状间

的相关系数都很小,且差异不显著.

表 2 肉质性状之间的相关系数¹⁾

Tab.2 correlation coefficient between meat quality traits

性状 traits	肉色(92) meat color	大理石纹(92) marble	pH 值(96) pH value	系水力(96) water holding capacity
肉色(92) meat color	1.000(0.000 0)	-0.322(0.002 0) **	0.419(0.000 1) **	0.468(0.000 1) **
大理石纹(92) marble		1.000(0.000 0)	0.049(0.643 5)	0.023(0.827 6)
pH 值(96)pH value			1.000(0.000 0)	0.737(0.000 1) **
系水力(96)water holding capacity				1.000(0.000 0)

1) ** 表示差异极显著(P<0.01),相关系数后括号中为 P 值,项目栏中括号内为样本含量.

2.2 标记基因座与肉质性状的相关分析

不同标记基因型对 4 个肉质性状的方差分析结

果表明,在所测定的 23 个微卫星 DNA 标记座位中,

只有 MN004 标记的基因型在大理石纹表型值上差异

显著(表 3),MN006 标记的基因型在 pH 值表型值上

差异显著(表 4).这说明在 MN004 座位附近可能存

在影响大理石纹的 QTL; MN006 座位附近存在影响 pH 值性状的 QTL.

表 3 MN004 座位大理石纹性状的方差分析¹⁾

Tab 3 The analysis of variance for marbling at locus MN004

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值
source	DF	sum of squares	mean squares	F value
基因型间	2	0.702	0.351	2.78 *
genotypes				
误差	82	10.370	0.126	
error				

1) * 表示差异显著 ($P<0.05$)

表 4 MN006 座位 pH 值性状的方差分析结果¹⁾

Tab. 4 The analysis of variance for pH at locus MN006

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值
source	DF	sum of squares	mean squares	F value
基因型间	2	1.097	0.549	4.13 **
genotypes				
误差	92	12.228	0.133	
error				

1) ** 表示差异极显著 ($P<0.01$)

2.3 标记基因的效应分析

MN004 座位不同基因型对大理石纹的影响见表 5, AB 基因型与 BD 基因型之间的差异显著, BB 基因型与 BD 基因型之间的差异显著, 从平均数中可以看出 BD 基因型比 BB 基因型在表型效应上高出 0.207, BD 基因型比 AB 基因型在表型效应上高出 0.226, 而 AB 和 BB 基因型之间效应基本相似, 因此 D 基因与控制大理石纹性状的有利 QTL 基因连锁, 其加性效应值为 0.108.

表 5 MN004 座位大理石纹性状的多重比较

Tab. 5 Multiple range test of marbling at locus MN004

平均数 ¹⁾	样本含量	基因型
means	number of sample	genotype
3.435 ^a	20	BD
3.228 ^b	43	BB
3.209 ^b	22	AB

1) 上标字母相同, 表示差异不显著, 上标字母不相同, 表示差异显著

MN006 座位不同基因型对 pH 值的影响见表 6, MN006 座位的 AB 基因型与 AA 基因型之间的差异显著, BB 基因型与 AA 基因型之间的差异显著. 在表型效应上, AA 基因型比 AB 基因型高出 0.20 左右, AA 基因型比 BB 基因型高出 0.25 左右, 而 AB 型稍高于 BB 型, 因此 A 基因与控制 pH 值性状的有利 QTL 基因连锁, 其加性效应值为 0.125.

表 6 MN006 座位 pH 值性状的多重比较

Tab. 6 Multiple range test of pH value at locus MN006

平均数 ¹⁾	样本含量	基因型
means	number of sample	genotype
6.354 ^a	39	AA
6.157 ^b	38	AB
6.102 ^b	18	BB

1) 上标字母相同, 表示差异不显著, 上标字母不相同, 表示差异显著

3 讨论与结论

肉质性状是一类综合性状, 应评定的指标很多, 其中肉色、大理石纹、pH 值和系水力是反映猪肉品质最重要的指标, 根据不同肉质性状间的相关进行猪肉质改良的间接选择, 对减少选择性状数, 提高选择效率有重要的意义. 本研究的结果表明, pH 值与系水力的相关系数最高, 肉色也与 pH 值和系水力存在正相关, 因此, 育种实践中可以只对其中的一个性状进行选择. 但肉色与大理石纹呈负相关, 肉质的改良仍然应对大理石纹进行选择.

标记基因座与肉质性状的方差分析显示 MN006 座位与 pH 值性状有关, MN004 座位与大理石纹性状有关. MN004 标记位于第 6 染色体 113 cM 附近, Cristina ovilo 等^[2] 将与大理石性状有关的 QTL 定位于第 6 染色体的 97~98 cM 处, 和 RYR1 基因相距 30 cM. 而 Gerbens 等^[3] 则定位在第 6 染色体的 149 cM 处. 也有报道认为在 SW871 和 S0175 标记附近的 QTL 和大理石纹有关^[4]. MN006 标记位于第 6 染色体 129 cM 附近, 和 SW824 标记紧密连锁. 国外有研究将与 pH 值性状有关的 QTL 定位在 RYR1 区域, 和标记 MN006 相距 60 cM^[4], 也有报道定位于 2 和 12 号染色体^[8].

MN004 与 MN006 标记基因型的多重比较表明: MN004 座位的 BD 基因型比 BB 和 AB 基因型的大理石纹表型值高, 这说明 D 等位基因和控制大理石纹的 QTL 有利基因是紧密连锁的, 其加性效应值为 0.108. MN006 座位的 AA 基因型比 AB 和 BB 基因型的 pH 值表型值高, 这说明 A 等位基因和控制 pH 值的 QTL 有利基因是紧密连锁的, 其加性效应为 0.125. 因此, 猪肉质改良实践中可以应用 MN004 与 MN006 标记进行标记辅助选择或早期选择.

参考文献:

[1] 毕英佐, 傅伟龙. 动物科学进展[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 114—129.

[2] CRISTINA O, MIGUEL P E, CARMEN B et al. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine

chromosome 6[J]. *Mammalian Genome*, 2000, 11: 344—346.

[3] GERBENS F, de KONING D J, HARDERS F L, et al. The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in meishan crossbred pigs[J]. *J Anim Sci*, 2000, 78: 552—559.

[4] 元开兴, 连林生. 猪数量性状位点定位的研究现状[J]. *动物科学与动物医学*, 2000, 17(5): 23—25.

[5] ROBIC A, PARROU J L, YERLE M, et al. Pig microsatellites isolated from cosmids revealing polymorphism and localized on chromosomes[J]. *Animal Genetics*, 1995, 26: 1—6.

[6] ZHAO F, AMBADY S, PONCE de LEON F A, et al. Microsatellite markers from a microdissected swine chromosome 6 genomic library[J]. *Animal Genetics*, 1999, 30: 251—255.

[7] AMBADY S, MENDIOLA J R, LOUIS C F, et al. Development and use of a microdissected swine chromosome 6 DNA library[J]. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 1997, 76: 27—33.

[8] ROTHSCCHILD M F. 猪数量性状座位和候选基因探测研究进展及展望[J]. 刘荣宗译. *国外畜牧科技*, 1998, 25(5): 35—37.

Relationships Between Microsatellite DNA Markers and Pork Quality Traits

HOU Jian-guo, LI Jia-qi, CHEN Yao-sheng, WANG Chong
(College of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Pork quality traits, color, marbling, pH and water-holding capacity, were measured in F₂ population of Landrace×Lantang swine reference family by genotyping 23 microsatellite DNA markers at chromosome 6. The results showed that the correlation coefficients between pork color and marbling, pH, water-holding capacity were -0.322, 0.419, 0.468 respectively, and 0.737 between pH and water-holding capacity. The additive effect of QTL linkage with D allele at MN006 locus is 0.108 for pH, and the additive effect of QTL linkage with A allele at MN004 locus is 0.125 for marbling.

Key words: swine; microsatellite DNA markers; pork quality traits; QTL

【责任编辑 柴 焰】

(上接第18页)

Studies on Effects of Combined Chemo-Biological Technique on Rice Straw Decomposition and Its IR Characteristics

FENG Xin, KONG Wei-dong, MAO Xiao-yun, LIAO Zong-wen
(New Fertilizer Resources Research Lab, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Decomposition of rice straw was studied by applying a combined chemo-biological technique. The results showed that the treated rice straw turned deeply black, was easily drawn apart and gave out strong odor. The water submerging the treated rice straw became black too. The treated rice straw was studied with FTIR technique. The results indicated that there was an increase in the contents of phenylic- and alcohol hydroxy and methyl radicals. The fatty group compounds were partly decomposed. Carboxylic acid lipid compounds and ketone compounds were hydrolyzed. There was an obvious process of organic nitrogen being changed into inorganic nitrogen in the form of ammonium ion. Available silicon existing in amorphous form was obtained from the decomposition of polymeric silicon and even brought into accumulation. Oxidation and condensation of the organic compounds were intensified and the contents of aryl compounds increased. The structural variation of the treated rice straw showed that the decomposition of rice straw was accelerated by the combined chemo-biological technique.

Key words: rice straw; quick decomposition; IR spectrum

【责任编辑 周志红】