

杨 明, 王青来, 刘敬顺, 等. MUC13、FUT1 基因在2个种猪核心群中的分子标记辅助选择研究[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(6): 1-8.

MUC13、FUT1 基因在 2 个种猪核心群中的 分子标记辅助选择研究

杨 明^{1,2}, 王青来^{1,2}, 刘敬顺^{1,2}, 刘珍云^{1,2}, 温淑贤¹, 吴珍芳^{1,2,3}, 罗旭芳^{1,3} (1广东温氏食品集团股份有限公司, 广东 新兴 527439;2 国家生猪种业工程技术研究中心, 广东 新兴 527439; 3 华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】MUC13、FUT1 基因分别为大肠埃希菌引起的断奶前和断奶后仔猪腹泻的主效基因,通过探索 2 个基因在不同种猪群中的分子标记辅助选择方法,提高种猪抗病性的选育效率.【方法】利用 PCR-SNaPshot 和 PCR-RFLP 的方法分别检测影响断奶前仔猪腹泻的 MUC13 基因及断奶后仔猪腹泻的 FUT1 基因在温氏集团 2 个专门化父系群体(666 头杜洛克和 512 头皮特兰)中的基因分布情况.【结果和结论】MUC13 基因频率在 2 个群体中表现出明显的群体特异性,有利等位基因频率分别为 0.890 和 0.180,而 FUT1 基因则相差不大,分别为 0.754 和 0.677. MUC13 与 FUT1 基因的有利等位基因型组合个体比例在 2 个群体中差异较大,在杜洛克群体中达 36.75%,而在皮特兰群体中仅为 3.49%.通过基因型与选育性状表型的相关分析,发现优势基因型对皮特兰群体的体型外貌负面影响较大,但却不影响杜洛克群体.综合现场育种实践,建议杜洛克群体先实现 MUC13 基因的辅助选育纯化,再启动 FUT1 基因的选育工作.皮特兰群体有利等位基因型组合个体比例太低,暂时不宜进行抗腹泻基因纯化选育.

关键词:MUC13 基因; FUT1 基因; 种猪核心群; 分子标记辅助选择

中图分类号:S813.3

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2015)06-0001-08

Molecular maker-assisted selections of *MUC13* and *FUT1* genes in the two swine nucleus populations

YANG $Ming^{1,2}$, WANG $Qinglai^{1,2}$, LIU $Jingshun^{1,2}$, LIU $Zhenyun^{1,2}$, WEN $Shuxian^1$, WU $Zhenfang^{1,2,3}$, LUO $Xufang^{1,3}$

(1 Guangdong Wens Foodstuff Co., Ltd., Xinxing 527439, China;

- 2 National Engineering Research Center for Breeding Swine Industry, Xinxing 527439, China;
- 3 College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: [Objective] MUC13 and FUT1 genes are associated with susceptibility/ resistance to ETEC diarrhea in pre-weaning and weaning piglets, respectively. The goal of this study was to improve breeding of diarrhea resistance in different swine populations through development of MAS technology on the two genes. [Method] In the study, PCR-SNaPshot and PCR-RFLP assay were used for animals genotyping from two swine populations (666 Duroc and 512 Pietrain pigs) for the 2 specialized variants. [Result and conclusion] The results showed that the favorable allele frequency (FAF) of MUC13 gene was 0.890 and 0.180 in Duroc and Pietrain respectively while the FAF of FUT1 gene was 0.754 and 0.677 respectively. Animals with a favorable allele combination of MUC13 and FUT1 genes were different in Duroc with a

收稿日期:2014-11-24 优先出版时间:2015-10-16

优先出版网址:http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20151016.1446.008.html

作者简介: 杨 明(1985—), 女, 博士, E-mail: 359311126@qq. com; 通信作者: 罗旭芳(1964—), 男, 副教授, 硕士, E-mail: luoxf@wens. com. cn

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2011AA100304);广东省科技计划项目(2011A202102003);广东省院士工作站建设项目(2011A020102003)

frequency of 36.75% and Pietrain with 3.49%. The correlation between genotype and phenotype was analyzed, and the results showed that the gene effect on traits was different in the two populations. For example, there were significantly negative correlations between genotype and somatotype in Pietrain, but no association was found in Duroc. According to the breeding practice, it is recommended to achieve purification of *MUC13* gene first, and then follow *FUT1* gene in Duroc. It is not suitable for marker-assisted selection of two genes in Pietrain temporarily because the ratio of animals with a favorable allele combination of *MUC13* and *FUT1* gene is too low.

Key words: MUC13 gene; FUT1 gene; swine nucleus population; molecular marker-assisted selection

仔猪腹泻是养猪生产中的常见传染病,尤其是这 几年,我国频频暴发,仔猪腹泻导致的死亡率达 11.5%~29.5%,其中由大肠埃希菌 Escherichia coli 引 起的发病率和死亡率分别占腹泻发病率和死亡率的 56.2%和24.7%[1],给养猪业造成了巨大经济损失. 目前,针对仔猪腹泻,虽然可以通过改善饲养环境、缓 慢断奶、添加维生素和外源蛋白、使用药物、隔离扑杀、 免疫接种等措施防治,但由于新传染病的发生和流行, 病毒发生变异快,超强毒株不断出现,疫苗效力不够, 并有药物残留等问题,使仔猪腹泻病无法得到有效 防治[2-5]. 此外,用疫苗和药物治疗的方法会导致猪 抵抗力下降,耐药性增强,猪群健康度无法提高.因 此,通过分子育种的方法培育抗病品种,增强猪只抗 病力,从而解决由于片面追求高产而导致的高产与 健康等性状间的遗传拮抗[6]. 遗传学家和育种学家 们通过研究鉴定了由大肠埃希菌引起的仔猪腹泻的 主效基因黏蛋白 13 (Mucin 13, MUC13) 和 α(1, 2) 岩藻糖转移酶(Alpha (1,2) fucosyltransferase, FUT1)的主效位点[7-10]. 这2个基因分别影响断奶前 仔猪腹泻和断奶后仔猪腹泻,且2003年在法国和西 班牙利用 FUTI 基因分子辅助选择育种首先推出了 能特异抵抗 F18ab 仔猪腹泻的新品系.

温氏集团 2005 年,在法系皮特兰群体中针对断 奶后仔猪腹泻进行过猪 FUTI 基因的检测,发现猪只 对腹泻的抵抗力有差异. 2009 年针对杜洛克群体断 奶前仔猪腹泻进行过 MUCI3 基因位点的检测,发现 其抗腹泻等位基因频率达 80% 左右. 本研究利用群

体基因频率分析、基因型与性状相关分析等方法,通过估算这2个抗腹泻基因在温氏杜洛克专门化父系S22和皮特兰专门化父系S11核心群中的差异表现,制定特异的抗腹泻集成育种方案,进行不同的集成分子育种筛选,辅助选留,为培育抗病品系奠定基础.

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物来自温氏集团国家生猪种业工程技术研究中心研发基地沙湖原种场杜洛克核心群体和清远一区原种场皮特兰核心群体. 样本总数 1 178 头,其中核心群杜洛克 666 头,核心群皮特兰 512 头. 利用耳号钳剪取已经利用乙醇消毒过耳尖的待检猪只耳样 2~3 g,放入装有 1.5 mL 体积分数为 75% 乙醇的离心管内,低温保存.

1.2 基因型判型

采取的耳组织样本送至江西农业大学动物生物技术国家重点实验室培育基地检测 2 个抗腹泻基因,检测方法如下:采用酚 – 三氯甲烷法手工提取基因组 DNA. 2 个基因位点的引物序列及具体扩增情况见表 1, PCR 反应体系总体积为 20 μL, 包括 20 ng · μL $^{-1}$ 模板 DNA 2 μL, 10 × buffer 2. 0 μL, 25 mmol · L $^{-1}$ MgCl $_2$ 1. 2 μL, 10 mmol · L $^{-1}$ dNTP 0. 3 μL, PF 0. 4 μL, PR 0. 4 μL, Taq 聚合酶 0. 5 μL, 超纯水 13. 2 μL. PCR 循环参数:94 $^{\circ}$ 变性 3 min, 退火温度见表 1,72 $^{\circ}$ 延伸 10 min, 共 36 个循环.

表 1 引物与扩增情况

Tab. 1 PCR primers and the amplicons

位点名称	引物序列(5′→3′)	目的片段/bp	t退火/℃	判型方式
MUC13	Fp: GGA GAG ACC AAA CCC ACA GA Rp: CTC CTC ACC AGC TCC TTA GC SNaPshot: TTT TTT TTT TTT CCA TGT ACA TTT CAG AGT CTG AGG GA	280 T	61	SNaPshot
FUT1 c. 307G>A	Fp: CTT CAG CCA GGG CTC CTT TAA G Rp: CTG CCT GAA CGT CTA TCA AGA CC	421	56	内切酶 Hin6I

PCR-SNaPshot 法 PCR-SNaPshot 的基本原 1, 2, 1 理是通过引物在标有不同荧光的 ddNTP(A、G、C、T) 反应体系内进行一步延伸后,使用 3130XL 型 DNA 测序仪检测不同的荧光信号. MUC13 的基因型利用 PCR-SNaPshot 法进行检测,其 SNaPshot 反应体系为 5 μL,其中含 2 μL SNaPshot multiplexmix (含 Taq 聚 合酶和荧光标记的 ddNTPs),1.5 μL 纯化后 PCR 产 物,1.2 µL 去离子水,0.3 µL SNaPshot 引物. SNaPshot 反应体系的扩增程序为: 96 ℃ 10 s,50 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s,25 个循环. 反应后,在 SNaPshot 反应产物 中加 0.57 μL 1 × NEB buffer 和 0.1 μL 的 CIP,37 ℃ 反应 60 min 以清除荧光标记的 ddNTPs, 随后 75 ℃ 反应 15 min 灭活纯化酶;最后,每 1 μL SNaPshot 反 应产物加 8 µL Hi-Di formamide 与 GeneScan 120 LIZ size standard 混合物(两者体积比为20:1),经变性后 上样于 ABI3130XL 自动遗传分析仪(ABI, USA)进 行电泳,利用 GeneMapper Software version 4.0(ABI, USA)进行基因型判定和数据收集.

1.2.2 PCR-RFLP 法 FUT1 主效位点是通过 Hin6I PCR-RFLP 判定基因型, 检测酶切反应体系与条件如下:反应体系总体积为 15 μ L, 其中 $10 \times Buffer$ 1.5

μL, HinP1I 内切酶 0.3 μL, DDW 8.2 μL, PCR 产物 5 μL. 37 $^{\circ}$ C 水浴反应, 过夜. PCR 产物通过 0.02 $g \cdot mL^{-1}$ 的琼脂糖凝胶电泳来判型: A 等位基因可酶 切为 3 283 和 93 bp 2 条带, G 等位基因表现为 241、93、87 bp 3 条带.

1.3 统计分析

通过 R 软件进行表型与基因型相关分析,模型为: $y = 1\mu + \mathbf{Z}\alpha + e$. 其中,y 为所测得的表型值, μ 为总体平均值, \mathbf{Z} 为基因型的指示矩阵, α 为 SNP 随机加性遗传效应向量,且 α — $N(0,\mathbf{G}\sigma_{\alpha}^{2})(\mathbf{G}$ 为分子血缘相关矩阵, σ_{α}^{2} 为加性遗传方差), $\mathbf{Z}\alpha$ 为基因型效应,e 为残差.

2 结果与分析

2.1 基因频率和基因型频率

2.1.1 *MUC13* 的基因型及基因频率 从 2 个父系 群体的 *MUC13* 的基因型频率及基因频率分布 (表 2)来看,2 个群体表现差异较大,G 等位基因为 抗性有利基因,杜洛克群体有利等位基因频率高达 0.890,而皮特兰群体仅为 0.180.

表 2 MUC13 基因型及基因频率的分布1)

Tab. 2 MUC13 genotypes and allele frequencies in tested breeds

	+ 日 米 / コ		基因型频率		基因	频率
品种	样品数/头	AA	AG	GG	A	G
杜洛克	666	0.007(5)	0.206(137)	0.787(524)	0.110	0.890
皮特兰	459	0.741(340)	0.159(73)	0.100(46)	0.820	0.180

1) G 等位基因为抗性有利基因, A 等位基因为易感不利基因; AA 和 AG 为腹泻易感个体, GG 为腹泻抗性个体; 括号中的数字为样本数量/头.

2.1.2 *FUTI* 基因型及基因频率 从 2 个父系群体的 *FUTI* 基因型频率及基因频率分布(表 3)来看,2 个群体在此位点表现差异不大,A 等位基因为抗性

有利等位基因,有利等位基因频率偏高;杜洛克猪未 检测到 GG 基因型个体,皮特兰猪 GG 频率也相对 较低.

表 3 FUT1 基因型及基因频率的分布1)

Tab. 3 FUT1 genotypes and allele frequencies in tested breeds

D 5th	+ + 口 *** / 3		基因型频率		基因	频率
品种	样品数/头	AA	GA	GG	A	G
杜洛克	619	0.507(314)	0.493(305)	0.000(0)	0.754	0.246
皮特兰	480	0.373(179)	0.608(292)	0.019(9)	0.677	0.323

1) A 等位基因为抗性等位基因、G 等位基因为易感等位基因:括号中的数字为样本数量/头.

2.2 2个基因与2个群体的生长性状相关分析

2.2.1 *MUC13* 的基因型与杜洛克选育表型的相关 分析 由 *MUC13* 与杜洛克群体 18 个选育性能的相 关分析结果(表 4)可以看出,在父系指数、母系指数 以及背膘育种估计值(EBV)选育性能中,GG 型个体要明显优于 AA 和 AG 型个体;而在其余的性能中,则 3 种基因型表现差异不大.

2.2.2 FUTI 的基因型与杜洛克选育表型的相关分

析 由 FUT1 与杜洛克群体 18 个选育性能的相关分析结果(表 5)可以看出,在父系指数、母系指数、日增质量 EBV 以及背膘 EBV 等选育性能中,GA 型个

体要明显优于 AA 型个体;而在出生体质量和 100 kg 体质量日龄性能上, AA 型个体要明显优于 GA 型个体;2 种基因型在其余性能中表现差异不大.

表 4 MUC13 的基因型与杜洛克生长性能的关系1)

Tab. 4 The relationship between MUC13 genotype and growth performance in Duroc

	a a west t.t. bla	Lo will the	a a multi the	
表型	AA 型均值	AG 型均值	GG 型均值	Р
父系指数	125.214 ± 17.603	137.049 ± 15.978	141.967 ± 17.810	0.002 6
母系指数	125.214 ± 17.603	137.049 ± 15.978	141.967 ± 17.810	0.002 6
背膘 EBV	-0.099 ± 0.291	-0.575 ± 0.548	-0.697 ± 0.587	0.009 6
校正 100 kg 背膘厚/cm	13.960 ± 1.120	13.660 ± 1.475	13.329 ± 1.620	0.083 3
校正 100 kg 体质量日龄/d	156.020 ± 6.221	162.190 ± 7.665	160.916 ± 7.932	0.093 2
日增质量 EBV	34.734 ± 22.205	39.962 ± 19.262	44.084 ± 22.106	0.109 2
校正 30~100 kg 日增质量/g	864.080 ± 84.316	833.394 ± 78.154	850.946 ± 92.557	0.135 6
体高/cm	63.600 ± 1.342	62.381 ± 1.604	62.337 ± 1.497	0.177 0
校正 100 kg 瘦肉率/%	62.900 ± 1.111	63.919 ± 1.636	64.072 ± 1.576	0.183 7
窝质量 EBV	-2.753 ± 1.249	-3.444 ± 1.418	-3.576 ± 1.455	0.3105
体长/cm	118.400 ± 0.894	116.492 ± 3.154	116.567 ± 3.045	0.3928
管围/cm	18.000 ± 0.612	17.670 ± 0.581	17.671 ± 0.559	0.429 7
出生体质量/kg	1.840 ± 0.288	1.705 ± 0.248	1.721 ± 0.276	0.5045
外貌指数	7.900 ± 0.224	8.008 ± 0.438	8.046 ± 0.503	0.606 3
肢蹄评分	7.700 ± 0.447	7.733 ± 0.445	7.775 ± 0.492	0.655 7
繁殖指数	49.194 ± 41.33	60.980 ± 51.161	56.814 ± 53.419	0.6874
总仔数 EBV	-0.643 ± 0.521	-0.555 ± 1.067	-0.635 ± 1.079	0.7528
头型评分	8.000 ± 0.612	7.994 ± 0.387	7.986 ± 0.479	0.985 6

¹⁾ AA 型样本数量为5头, AG 型样本数量为126头, GG 型样本数量为496头.

表 5 FUT1 的基因型与杜洛克生长性能的关系1)

Tab. 5 The relationship between FUT1 genotype and growth performance in Duroc

1ab. 5 The r	eiationsnip between FUII ge	notype and growth performance	in Duroc
表型	AA 型均值	GA 型均值	P
父系指数	138. 352 ± 16. 851	142.964 ± 18.010	0.000 9
母系指数	138.352 ± 16.851	142.964 ± 18.010	0.000 9
出生体质量/kg	1.753 ± 0.274	1.690 ± 0.263	0.003 5
日增质量 EBV	40.907 ± 20.400	45.043 ± 22.749	0.016 6
背膘 EBV	-0.613 ± 0.586	-0.717 ± 0.574	0.024 8
校正 100 kg 体质量日龄/d	160.583 ± 7.863	161.835 ± 7.825	0.045 8
外貌指数	7.995 ± 0.505	8.058 ± 0.477	0.107 3
窝质量 EBV	-3.439 ± 1.405	-3.608 ± 1.461	0.140 2
校正 100 kg 背膘厚/cm	13.506 ± 1.550	13.330 ± 1.616	0.162 4
校正 100 kg 瘦肉率/%	63.919 ± 1.527	64.087 ± 1.600	0.208 6
校正 30~100 kg 日增质量/g	850.047 ± 86.193	842.405 ± 94.437	0.2900
繁殖指数	59.894 ± 51.549	55.860 ± 53.585	0.3364
肢蹄评分	7.744 ± 0.462	7.768 ± 0.504	0.534 1
体高/cm	62.398 ± 1.524	62.330 ± 1.518	0.575 6
总仔数 EBV	-0.590 ± 1.043	-0.638 ± 1.095	0.576 6
管围/cm	17.665 ± 0.551	17.684 ± 0.568	0.6729
头型评分	7.989 ± 0.451	7.974 ± 0.473	0.6798
体长/cm	116.554 ± 3.008	116.543 ± 3.078	0.9629

¹⁾ AA 型样本数量为 314 头, GA 型样本数量为 315 头.

2.2.3 *MUC13* 基因型与皮特兰选育表型的相关分析 由 *MUC13* 的基因型与皮特兰群体 18 个选育性 http://xuebao.scau.edu.cn

能的相关分析结果(表6)可以看出,在体高、头型评分、肢蹄评分等体貌表型上,GG型个体要明显差于

AA 和 AG 型个体;而 GG 型个体的校正 100 kg 瘦肉 kg 体质量日龄方面要明显优于 AA 和 GG 型个体;3 率明显高于 AA 和 AG 型个体;AG 杂合子在校正 100 种基因型在其他性能中表现差异不大.

表 6 MUC13 基因型与皮特兰生长性能的关系1)

Tab. 6 The relationship between MUC13 genotype and growth performance in Pietrain

表型	GG 型均值	AG 型均值	AA 型均值	P
体高/cm	54.862 ± 2.150	57.120 ± 3.160	57.482 ± 3.172	0.000 1
头型评分	7.128 ± 0.652	7.436 ± 0.792	7.654 ± 0.831	0.0022
肢蹄评分	7.155 ± 0.614	7.432 ± 0.718	7.616 ± 0.752	0.003 7
校正 100 kg 瘦肉率/%	68.318 ± 1.572	67.190 ± 2.400	67.550 ± 1.731	0.036 1
校正 100 kg 体质量日龄/d	156.396 ± 7.210	154.353 ± 7.544	157.799 ± 9.384	0.044 5
总仔数 EBV	-0.654 ± 1.219	-1.066 ± 1.054	-1.162 ± 1.188	0.053 7
繁殖指数	59.614 ± 76.366	37.139 ± 69.719	29.362 ± 73.635	0.067 3
出生体质量/kg	1.574 ± 0.278	1.592 ± 0.279	1.682 ± 0.356	0.081 2
管围/cm	16.517 ± 0.605	16.790 ± 0.743	16.815 ± 0.721	0.1088
体长/cm	110.414 ± 3.279	111.800 ± 3.175	111.923 ± 3.992	0.1342
校正 30~100 kg 日增质量/g	851.954 ± 67.147	854.886 ± 75.366	833.995 ± 83.058	0.1714
日增质量 EBV	7.460 ± 14.254	11.922 ± 13.475	8.248 ± 15.043	0.2128
校正 100 kg 背膘厚/cm	10.727 ± 1.581	11.272 ± 1.536	11.100 ± 1.286	0.227 7
父系指数	114.092 ± 19.835	116.736 ± 17.314	113.989 ± 15.161	0.517 3
母系指数	114.092 ± 19.835	116.738 ± 17.313	113.991 ± 15.162	0.517 5
背膘 EBV	-0.352 ± 0.601	-0.298 ± 0.651	-0.317 ± 0.533	0.9048
窝质量 EBV	-0.681 ±1.492	-0.585 ± 1.295	-0.656 ± 1.181	0.914 4

¹⁾ AA 型样本数量为 36 头, AG 型样本数量为 55 头, GG 型样本数量为 236 头.

2.2.4 *FUTI* 的基因型与皮特兰选育表型的相关分析 由 *FUTI* 的基因型与皮特兰群体 18 个选育性能的相关分析结果(表7)可以看出,在体高、头型评分体貌表型上,GG 型个体要明显优于 AA 和 GA 型个

体;背膘 EBV 和出生体质量等选育的生长性能方面,AA 型个体要明显优于其他 2 种基因型个体;而杂合子 GA 型个体在校正 100 kg 瘦肉率方面表现较好;在其他性能中基因型间表现差异不大.

表 7 FUTI 基因型与皮特兰生长性能的关系1)

Tab. 7 The relationship between FUT1 genotype and growth performance in Pietrain

表型	AA 型均值	GA 型均值	GG 型均值	P
体高/cm	57.958 ± 3.309	56.410 ± 2.875	58.000 ± 3.000	0.000 0
背膘 EBV	-0.430 ± 0.496	-0.254 ± 0.595	0.213 ± 0.382	0.002 2
出生体质量/kg	1.721 ± 0.352	1.595 ± 0.311	1.650 ± 0.265	0.002 8
校正 100 kg 瘦肉率/%	67.623 ± 1.837	67.670 ± 1.807	64.300 ± 0.954	0.006 7
头型评分	7.689 ± 0.747	7.455 ± 0.848	7.833 ± 0.764	0.032 2
肢蹄评分	7.630 ± 0.708	7.453 ± 0.773	7.667 ± 0.577	0.105 7
校正 100 kg 背膘厚/cm	10.947 ± 1.455	11.113 ± 1.253	12.383 ± 2.262	0.130 0
母系指数	116.481 ± 15.319	113.142 ± 16.420	109.987 ± 10.406	0.134 3
父系指数	116.479 ± 15.319	113.141 ± 16.420	109.985 ± 10.407	0.134 5
体长/cm	112. 141 ± 4.305	111.289 ± 3.392	111.000 ± 1.732	0.139 2
繁殖指数	27.606 ± 69.402	41.087 ± 76.025	49.983 ± 90.382	0.224 6
总仔数 EBV	-1.195 ± 1.100	-0.979 ± 1.214	-0.906 ± 1.240	0.230 5
管围/cm	16.856 ± 0.759	16.756 ± 0.679	17.167 ± 1.258	0.327 1
日增质量 EBV	8.258 ± 15.179	8.869 ± 13.964	17.129 ± 8.182	0.467 7
校正 100 kg 体质量日龄/d	157.092 ± 9.262	156.771 ± 8.739	151.770 ± 6.195	0.583 3
校正 30~100 kg 日增质量/g	840.079 ± 84.558	839.179 ± 77.029	839.370 ± 34.818	0.995 1
窝质量 EBV	-0.615 ± 1.133	-0.625 ± 1.308	-0.604 ± 1.521	0.9964

¹⁾ AA 型样本数量为 151 头, GA 型样本数量 189 头, GG 型样本数量 4 头.

2.3 2 个抗腹泻基因组合基因型分布情况

图 1 表明: 杜洛克群体有 5 种组合类型,其中 MUC13 与 FUT1 基因均为优势基因型组合 GG/AA 的 个体数为 222 头,占群体总量的 36.75% (222/604). 图 2 结果表明:皮特兰群体有 8 种组合类型,仅有 11 头是优势基因型组合个体,占群体总量的 3.49% (11/315).

2.4 2 个抗腹泻基因组合基因型与 2 个群体生长性 状相关分析

2.4.1 *MUC13*、*FUT1* 组合基因型与杜洛克群体 18 个选育性能的相关分析 *MUC13*、*FUT1* 组合基因型与杜洛克群体 18 个选育性能的相关分析结果(表 8) 可以看出,在父系指数、母系指数、背膘 EBV 以及目增质量 EBV 选育性能中,GG/GA 型个体要明显优于其他组合型个体;在校正 100 kg 体质量日龄、出生体质量方面,AA/AA 组合型要比其他组合型占优势.其余性状中,几个组合型表现无差异.

2.4.2 *MUC13*、*FUT1* 组合基因型与皮特兰群体 18 个选育性能的相关分析 *MUC13*、*FUT1* 组合基因型与皮特兰群体 18 个选育性能的相关分析结果见表 9. 由于仅有 1 头 AG/GG 组合型个体,数据准确性不够,不做比较. 由表 9 可以看出,在体高、头型评分、肢蹄评分以及出生体质量表型上,AA/AA 组合型要比其他组合型占优势;在校正 100 kg 瘦肉率、校正 100 kg 背膘厚以及背膘 EBV 性能中,GG/AA 组合型

个体要明显优于其他组合型个体;在其余性能中各组合型间表现差异不大.

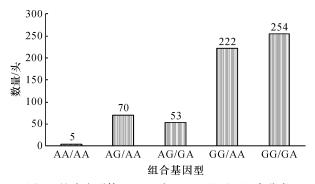


图 1 杜洛克群体 MUC13 与 FUT1 基因型组合分布

Fig. 1 Distributions of MUC13 and FUT1 genotypic combinations in Duroc pigs

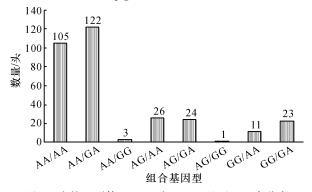


图 2 皮特兰群体 MUC13 与 FUT1 基因型组合分布

Fig. 2 Distributions of MUC13 and FUT1 genotypic combinations in Pietrain pigs

表 8 MUC13、FUT1 组合基因型与杜洛克生长性能的关系

Tab. 8 The relationship between MUC13, FUT1 genotypic combination and growth performance in Duroc

表型	AA/AA 均值	AG/AA 均值	AG/GA 均值	GG/AA 均值	GG/GA 均值	P
父系指数	125. 214 ± 17. 603	136.773 ± 16.362	137. 226 ± 15. 351	138.978 ± 16.913	144. 278 ± 18. 447	0.000 1
母系指数	125. 214 ± 17. 603	136.773 ± 16.362	137.226 ± 15.351	138.978 ± 16.913	144.278 ± 18.447	0.000 1
背膘 EBV	-0.099 ± 0.291	-0.514 ± 0.564	-0.615 ± 0.505	-0.643 ± 0.581	-0.736 ± 0.592	0.007 1
校正 100 kg 体质量日龄/d	156.020 ± 6.221	160.587 ± 7.651	164.330 ± 7.143	160.550 ± 7.906	161.327 ± 7.950	0.013 4
日增质量 EBV	34.734 ± 22.205	41. 124 ± 17. 881	39.192 ± 20.815	41.060 ± 21.212	46.491 ± 23.065	0.024 6
出生体质量/kg	1.840 ± 0.288	1.711 ± 0.261	1.683 ± 0.231	1.761 ± 0.279	1.690 ± 0.269	0.034 7
校正 100 kg 背膘厚/cm	13.960 ± 1.120	13.698 ± 1.649	13.639 ± 1.251	13.466 ± 1.498	13.264 ± 1.692	0.172 1
校正 30~100 kg 日增质量/g	864.080 ± 84.316	842.820 ± 77.620	823.108 ± 79.825	854.002 ± 88.691	847.520 ± 97.255	0.255 2
体高/cm	63.600 ± 1.342	62.243 ± 1.334	62.528 ± 1.928	62.396 ± 1.582	62.295 ± 1.432	0.2948
校正 100 kg 瘦肉率/%	62.900 ± 1.111	63.817 ± 1.333	63.902 ± 1.865	63.972 ± 1.588	64. 121 ± 1. 558	0.3125
外貌指数	7.900 ± 0.224	7.974 ± 0.455	8.057 ± 0.421	8.006 ± 0.528	8.067 ± 0.491	0.4994
窝质量 EBV	-2.753 ± 1.249	-3.390 ± 1.315	-3.511 ± 1.559	-3.497 ± 1.440	-3.624 ± 1.443	0.506 0
管围/cm	18.000 ± 0.612	17.684 ± 0.566	17.660 ± 0.561	17.653 ± 0.556	17.691 ± 0.576	0.6940
体长/cm	118.400 ± 0.894	116.500 ± 2.636	116.453 ± 3.724	116.527 ± 3.185	116.571 ± 2.970	0.753 9
繁殖指数	49. 194 ±41. 33	59.583 ± 49.338	62.269 ± 54.604	59.054 ± 53.065	55.587 ± 52.869	0.8827
肢蹄评分	7.700 ± 0.447	7.709 ± 0.421	7.775 ± 0.471	7.757 ± 0.477	7.772 ± 0.513	0.8964
总仔数 EBV	-0.643 ± 0.521	-0.587 ± 1.031	-0.510 ± 1.141	-0.603 ± 1.066	-0.645 ± 1.074	0.9408
头型评分	8.000 ± 0.612	8.003 ± 0.379	7.994 ± 0.384	7.985 ± 0.475	7.971 ± 0.492	0.987 8

表 7 MUUIJ JUII 组日本图学 1 及付三主 以注此的天	₹9 <i>1</i>	MUC13.	FUT1	组合基因型与皮特兰生长性能的关系
-----------------------------------	-------------	--------	------	------------------

Tab. 9 The relationship between MUC13, FUT1 genotypic combination and growth performance in Pietrain

表型	AA/AA 均值	AA/GA 均值	AA/GG 均值	AG/AA 均值	AG/GA 均值	AG/GG 均值 ¹⁾	GG/AA 均值	GG/GA 均值	P
体高/cm	58. 630 ± 3. 057	56.474 ± 2.975	58.000 ± 4.243	56. 920 ± 3. 730	56.950 ± 2.460	58.000	55.111 ± 2.759	54. 684 ± 1. 916	0.0000
头型评分	7.865 ± 0.698	7.484 ± 0.889	7.750 ± 1.061	7.372 ± 0.778	7.600 ± 0.788	8.000	7.111 ± 0.651	7.168 ± 0.671	0.0010
校正 100 kg 瘦肉率/%	67. 386 ± 1. 704	67.777 ± 1.683	64.750 ± 0.778	67.720 ± 2.361	66.630 ± 2.352	63.400	68.612 ± 1.129	68.358 ± 1.622	0.0011
校正 100 kg 背膘厚/cm	11.143 ± 1.436	11.017 ± 1.118	11.525 ± 2.411	10.708 ± 1.570	11.844 ± 1.334	14. 100	10. 229 ± 1. 177	10.947 ± 1.758	0.0146
肢蹄评分	7.755 ± 0.679	7.489 ± 0.796	7.500 ± 0.707	7.480 ± 0.684	7.430 ± 0.807	8.000	7.167 ± 0.707	7. 184 ± 0. 582	0.0199
出生体质量/kg	1.747 ± 0.382	1.627 ± 0.329	1.733 ± 0.252	1.642 ± 0.272	1.490 ± 0.268	1.400	1.630 ± 0.283	1.540 ± 0.284	0.0212
背膘 EBV	-0.377 ±0.454	-0.299 ± 0.588	0.142 ± 0.434	-0.471 ± 0.639	-0.123 ± 0.664	0.426	-0.633 ± 0.492	-0.170 ± 0.578	0.033 9
管围/cm	16.925 ± 0.776	16.719 ± 0.652	17.750 ± 1.061	16.820 ± 0.802	16.750 ± 0.698	16.000	16.389 ± 0.486	16.605 ± 0.658	0.0588
体长/cm	112.520 ± 4.569	111.421 ± 3.459	112.000 ± 0.000	111.560 ± 3.305	112.000 ± 2.956	109.000	111.222 ± 3.801	109.895 ± 3.053	0.1826
母系指数	114.478 ± 13.926	114. 059 ± 16. 435	111.643 ± 12.082	118.380 ± 19.196	114.603 ± 16.486	105.020	122. 851 ± 18. 609	107. 222 ± 15. 967	0.1980
父系指数	114.475 ± 13.927	114.057 ± 16.434	111.643 ± 12.082	118.379 ± 19.197	114.601 ± 16.487	105.010	122.849 ± 18.611	107. 222 ± 15. 967	0.1981
校正 100 kg 体质量日龄/d	158.186 ± 9.590	157.703 ±9.437	148.295 ± 2.072	153.743 ± 8.568	154. 255 ± 6. 959	158.720	157.883 ± 6.837	155.476 ± 7.560	0.1994
繁殖指数	21. 130 ± 73. 402	35.791 ±73.674	69. 207 ± 100. 180	31.574 ± 56.302	45. 122 ± 81. 475	-7.690	62. 153 ± 63. 938	52.811 ±72.210	0.3224
总仔数 EBV	-1.287 ±1.174	-1.062 ±1.206	-0.600 ± 1.321	-1.151 ±0.881	-0.944 ±1.220	-1.824	-0.663 ± 0.958	-0.755 ± 1.163	0.3494
日增质量 EBV	7. 275 ± 15. 780	8.786 ± 14.595	17. 252 ± 10. 016	9.423 ± 13.785	13.910 ± 12.876	16.760	10.494 ± 17.168	4.089 ± 10.964	0.3524
窝质量 EBV	-0.705 ±1.101	-0.612 ± 1.249	-0.195 ± 1.569	-0.592 ± 1.071	-0.489 ± 1.551	-1.833	-0.124 ± 1.239	-1.045 ±1.286	0.4689
校正 30~100 kg 日增质量/g	831. 248 ± 86. 629	835. 192 ± 82. 419	853. 305 ± 35. 490	853. 228 ± 81. 769	848.785 ±65.261	811.500	856.477 ± 77.996	848.697 ±65.296	0.8849

1) AG/GG 型仅有1个个体, 无可比性.

3 讨论与结论

3.1 温氏杜洛克核心群体的抗腹泻基因选育方案

杜洛克作为商业猪种中的重要父系品种,其与 生产相关的各性状都经过了严格的选育,尤其是核 心育种群. 本研究在温氏杜洛克核心育种群中检测 抗大肠埃希菌引起的断奶前仔猪腹泻基因 MUC13 以及抗大肠埃希菌引起的断奶后仔猪腹泻基因 FUT1 的主效位点变异情况,结果显示:在温氏集团 杜洛克核心育种群中, MUC13 优势等位基因频率高 达89.0%,这与阮国荣等[11]在福建省杜洛克群体中 的检测结果一致,也与温氏集团生产实践中杜洛克 种猪群体断奶前仔猪腹泻比例低的情况一致,只需 对少量的劣势等位基因纯合个体及公猪杂合个体进 行淘汰,对杂合母猪根据现场选育情况减少选留,慎 重选配,经过3个世代左右可育成抗断奶前仔猪腹 泻纯系. 而 FUT1 基因的检测中,有利等位基因频率 大于 0.75, 与其他商业种猪群体的检测结果相比偏 高[12-13],这与温氏杜洛克群体多年的群体选育息息 相关,断奶后仔猪腹泻情况较轻微.2个基因均与父 系指数、母系指数极显著相关,说明这2个基因在温 氏杜洛克群体中具备应用于辅助选择的潜力.

通过分析2个抗腹泻基因组合基因型分布情况

发现:在温氏杜洛克群体中,GG/GA型组合(254头)所占群体比例最高达 42.05%.各种组合基因型与各生产性状的相关分析显示,GG/GA组合型个体的综合生产性能表现最好,这与本文的单基因相关分析结果一致.由于 2 个基因有利基因型所占比例相差较大,在兼顾性能测定和表型的现场实践选育的情况下,2 个基因聚合育种需要经过多个世代才能实现优化.鉴于此,在杜洛克群体中,MUC13基因的优势等位基因频率近 90%,建议先实现 MUC13基因的辅助选育纯化,再启动 FUT1基因的选育工作,相对来讲,较同时选育更容易育成抗腹泻纯合品系.

3.2 温氏皮特兰核心群体的抗腹泻基因分子辅助 选择方案

温氏皮特兰核心群体 MUC13 基因的表现与杜洛克群体完全不同,皮特兰 MUC13 优势等位基因频率仅 0. 180,这与当时的产房生产状况相吻合,断奶前腹泻仔猪偏多. MUC13 基因型与生产性能相关分析结果显示,有利基因型与体高、头型评分、肢蹄评分等体型外貌性状呈极显著负相关,仅与 100 kg 瘦肉率生产性状呈正相关. 根据目前市场需求分析制定的皮特兰选育方案中,体型外貌为重点选育方向. 因此,综合考虑群体优势等位基因频率低及与体型外貌的负相关等因素, MUC13 基因暂不列为皮特兰

http://xuebao.scau.edu.cn

群体的选育候选基因.

FUTI 基因在皮特兰群体中的表现与在杜洛克群体中的表现相差不大,优势等位基因频率达0.677,其中杂合子个体偏多.FUTI 基因型与生产性能相关分析结果显示,优势基因型(AA)在体高、头型评分等体型外貌方面表现不如GG型个体,但在背膘EBV和出生体质量方面表现出正相关趋势.综合现场育种实践,FUTI 基因在皮特兰群体中的优化较难实现,基础群杂合子过多造成优化周期加长,且基因型选择与现场育种实践指标不一致(体型外貌)或相关性不高(父系指数等),因此,皮特兰群体暂时不宜对FUTI 基因进行纯化,仅需保持对基因频率进行长期监控即可,在市场以及群体频率变化适宜时,再开展优化工作.

3.3 关于基因聚合育种的群体特异性

在本研究中,同为终端父本的杜洛克和皮特兰群 体的抗腹泻基因频率表现不同,基因型和生产性状的 相关分析也表现出较大差异. 由于核心育种群都是以 固定的育种目标长期选育的群体,因此同样的基因在 不同的核心育种群的频率分布和对各生产性状的影 响表现不同. 若是多个基因聚合在不同的育种群中,可 能由于不同基因频率、不同的基因型组合分布、不同相 关性、不同连锁关系以及不同选育方向等综合因素表 现出更加复杂的特异性,所以基因聚合育种不能通用 任何群体,而是需要针对不同群体进行分析和验证, 具有群体特异性. 在本研究中 2 个抗腹泻基因辅助 选择育种,可应用于温氏杜洛克群体,却并不适用于 皮特兰群体,与2个群体长期向着不同的选育方向 选育有关. 其基因型组合分布呈现很大差异,根据相 关分析及现场育种的实践出发,制定适宜的抗腹泻 基因的分子辅助选择方案.

致谢:感谢江西农业大学省部共建猪遗传改良与养殖技术 国家重点实验室任军教授和黄路生院士给予的支持和帮助!

参考文献:

- [1] 施启顺. 猪肠毒性大肠杆菌(ETEC)病抗病育种研究 [J]. 中国畜牧兽医,1999,26(4):51-54.
- [2] 许建民,赵德明. 仔猪肠毒素性大肠杆菌病的防治 [J]. 中国兽医杂志,2005,41(2):48-50.
- [3] 刘勇,顾正明,王克虎,等. 微生态制剂促康生Ⅱ号治疗大肠杆菌抗药性菌株引起的仔猪黄痢白痢临床效果

- 观察[J]. 中国兽医杂志,2001,37(7):14.
- [4] 曹国文,姜永康,周淑兰,等. 中草药抗猪大肠杆菌制剂的研制与效果观察[J]. 黑龙江畜牧兽医,2002,26 (10):33-34.
- [5] 李书华,李艳琴,冯敏,等. 生态制剂——制痢康防治 仔猪下痢的试验研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1999,23 (5):19-20.
- [6] SCHAEFER L R. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle [J]. J Anim Breed Genet, 2006, 123(4): 218-223.
- [7] VÖGELI P, BERTSCHINGER H U, STAMM M, et al. Genes specifying receptors for F18 fimbriated *Escherichia coli*, causing oedema disease and postweaning diarrhoea in pigs, map to chromosome 6 [J]. Anim Genet, 1996, 27 (5):321-328.
- [8] ZHANG B, REN J, YAN X M, et al. Investigation of the porcine *MUC13* gene: Isolation, expression, polymorphisms and their strong association with susceptibility to enterotoxigenic *E. coli* F4ab/ac[J]. Anim Genet, 2008, 39(3): 258-266.
- [9] REN J, YAN X M, AI H S, et al. Susceptibility towards enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ac diarrhea is governed by the *MUC13* gene in pigs [J/OL]. PloS One, 2012, 7 (9): e44573 [2014 11 11]. http://journals. plos. org/plosone/article? id = 10. 1371/journal. pone. 0044573.
- [10] GOETSTOUWERS T, POUCKE M V, COPPIETERS W, et al. Refined candidate region for F4ab/ac enterotoxigenic *Escherichia coli* susceptibility situated proximal to *MUC13* in pigs[J/OL]. PloS One, 2014, 9(8): e105013 [2014 11 11]. http://journals.plos.org/plosone/article? id = 10.1371/journal.pone.0105013.
- [11] 阮国荣,肖石军,徐盼,等. 福建省商业猪种 *MUC13*、 *IGF2* 和 *RYRI* 基因主效位点的遗传变异分析[J]. 江 西农业大学学报,2012,34(5):997-1002.
- [12] CODDENS A, VERDONCK F, MULINGE M, et al. The possibility of positive selection for both F18 + Escherichia coli and stress resistant pigs opens new perspectives for pig breeding[J]. Vet Microbiol, 2008, 126 (1/2/3):210-215.
- [13] 晏学明,郭源梅,丁能水,等. 不同品种猪 al 岩藻糖转移酶基因遗传变异初析[J]. 中国畜牧杂志,2004,40(3):8-10.

【责任编辑 柴 焰】