

莱芜黑猪 FUT I 基因检测及其与生长性能的关系

王怀中^{1,2},沈彦锋³,王继英^{1,2},郭建凤^{1,2},张印^{1,2},王诚^{1,2},武英^{1,2}

(1. 山东省农科院畜牧兽医研究所,济南 250100; 2. 山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室,济南 250100;

3. 山东省莱芜市畜牧办公室,莱芜 271100)

摘要:本研究采用 PCR2RFLP 法对莱芜黑猪 FUT I 基因 M307 位点多态性及其与生长性能的关系进行分析。结果表明:莱芜黑猪 FUT I 基因 M307 位点均存在丰富的多态性,而且在该突变位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P < 0.01$)。3 种基因型对莱芜黑猪的初生重、断奶重和 70 日龄保育重(和断奶仔猪腹泻和水肿病密切相关)等均无显著影响 ($P > 0.05$)。本研究结果提示:肠毒素大肠杆菌 F18 抗性基因有可能起源于西方猪种,对莱芜黑猪无显著影响,有必要对其中所具备的遗传抗性做更深入的研究,寻找、定位其相应的 QTL 和抗性基因。

关键词:肠毒素大肠杆菌 F18; FUT I 基因; 莱芜黑猪; 生长性能

中图分类号: Q343.1+5

文献标识码: A

文章编号: 167127236(2008)0820057203

肠毒素大肠杆菌 (ETEC) F18 是引起断奶仔猪腹泻和水肿病的最主要病原菌,它不仅可引起仔猪泻痢,而且能产生一种肠毒素,通过血液传播引起血管壁损伤,水分大量渗出而致水肿病。该病原菌能否结合到猪的小肠黏膜上皮细胞并进入体内增殖,决定于小肠黏膜有无受体。Vgeli 等 (1997) 研究表明 F18 受体基因位点控制着 F18 受体的敏感性, *al* 岩藻糖转移酶基因 (FUT1) 可作为控制

ETEC F18 粘附的一个候选基因。Meijerink 等 (1997) 研究认为 FUT I 基因开放阅读框架 M307 核苷酸位点存在 G2A 突变,这个突变改变了蛋白质的构象和功能,造成了红细胞酶系统的改变,导致猪对 F18 粘附素的抗性和敏感性。

莱芜黑猪是山东省地方黑猪的典型代表,具有耐粗饲、抗逆性强、繁殖率高、肉质细嫩香醇等优点,从分子遗传学角度对莱芜黑猪的抗逆性进行研究是十分必要的。FUT I 基因在莱芜黑猪群体内的多态性分布情况,及其对与断奶仔猪腹泻和水肿病相关的生产性能的影响还未见研究和报道。本研究采用 PCR2RFLP 方法对莱芜黑猪 FUT I 基因 M307 位点多态性进行了研究,并探讨其与生长性能的关系,旨在探索我国地方猪种和外来猪种 M307 位点遗传基础的差异,为莱芜黑猪抗性配套系的培育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 莱芜黑猪样本 206 头,采自莱芜市杨庄种猪场。取被测猪的耳组织,酚2氯仿法提取基因组 DNA。

1.2 仪器和材料 Ex TaqTM Polymerase (DRR100) 和 DL2000 DNA Marker (D501) 均购自宝生物工程(大连)有限公司。Hin6 I ER0481) 购自 Fermentas。(引物设计参照 Vgeli 等 (1997) 的方法,上游引物 F1: 5'CTTCA GCCA GGGCTCCTT2 TAA G23',下游引物 F2: 5'

2CTTCCTGAACGTCTAT2 CAA GACC 23'。引物由上海生物工程有限公司合成。

1.4 PCR 扩增 FUT I 基因 PCR 扩增,反应体系为: 10 × buffer 2.5 μl, 2 μl dNTP, 上、下游引物各 1 μl (20 μmol/L), 50 ng/μl 模板 1 μl, Taq 酶 1 U, 加双蒸水至 25 μl。反应条件为: 94 °C 变性 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 次循环; 72 °C 延伸 8 min。

1.5 多态性检测 采用 PCR2RFLP (Hin6 I 进行 FUT I 基因多态性检测: 6 μl PCR 产物加入 0.5 μl Hin6 I 1.5 μl buffer, 加双蒸水至 15 μl, 37 °C 及水浴过夜。酶切产物用 3% 的琼脂糖电泳检测。基因分型与 Vgeli 等 (1997) 的相关报道相同。

1.6 统计分析 用统计软件包 SAS 9.0 的 PROC FREQ 程序对猪 FUT I 基因 M307 位点的基因型分布进行 Hardy-Weinberg 平衡检验; 并用该统计软件包的 PROC GLM 程序对该位点不同基因型的初生重、日龄断奶重、日龄重效应的最小二乘 3570 均值进行估计和显著性检验。统计分析模型为:

$$y = \mu + G + e$$

其中 y 为表型值, μ 为总体平均数, G 为基因型, e 为残差效应。

收稿日期: 2007212220

作者简介: 王怀中 (1977-), 男, 山东人, 学士, 研究方向: 猪的遗传育种。

通讯作者: 武英, 研究员, 研究方向: 猪遗传育种和营养。E2 效应, e 为残差效应。

mail: wusaas@163.com

基金项目: 国家 863 项目 (2006AA10Z1E1), 山东省农科院青年

基金项目 (2007 YQN030)。

2 结果与分析

2.1 FUT I 基因的 PCR 扩增和基因型分析

PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后,结果如图 1 所示,可见 PCR 扩增具有较高的特异性,扩增片段大小约为 421 bp,与根据猪 FUT I 基因登录的序列预测的大小相同。FUT I 基因进行 PCR2RFLP 分析,结果有 3 种情况:328 和 93 bp 纯合子 (AA 基因型),328、和 87 bp 杂合子 (AG 基因型),241、和 87 bp 纯合子 (GG 基因型)。由于 93 和 87 bp 两条带分子量相差较小,所以在琼脂糖凝胶上成 1 条带,实际看到 AA 和 GG 纯合子均为两条带,AG 杂合子为 3 条带 (图 2)。

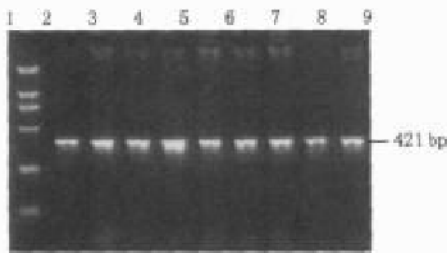


图 1 FUT I 猪基因包含 M307 位点的 PCR 扩增
注:1, DL2000 Marker;2~9, FUT I 基因 PCR 扩增产物。

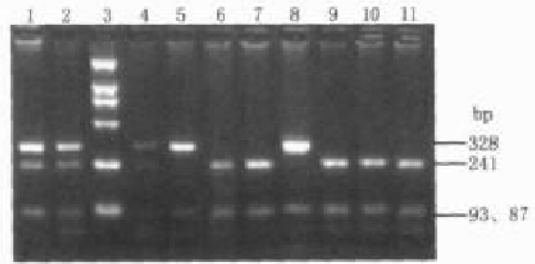


图 2 FUT I 猪基因 PCR2RFLP 基因型分析
注:5、AA 型;1、、,GA 型;6、、、、,GG 型;3, DL20008247 9 10 11 Marker。

2.2 FUT I 基因在莱芜黑猪群体内的多态性

采用 PCR2RFLP 技术对 206 头莱芜黑猪的 FUT I 基因 M307 位点的多态性进行了检测。结果显示 (表 1):莱芜黑猪在 FUT I 基因 M307 位点存在多态性。莱芜黑猪群体内 G 基因占优势 (基因频率为 0.8301),GG 基因型频率最高 (0.7039),AA 基因型频率最低 (0.0437); χ^2 适合性检验结果表明,莱芜黑猪群体在该突变位点均显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P < 0.01$)。

表 1 FUT I 基因在莱芜黑猪、杜洛克和大约克群体内的多态性分布

个体数	基因型频率 (个体数)			基因频率		χ^2 值	χ^2 概率	
	AA	AG	GG	A	G			
莱芜黑猪	206	0.0437 (9)	0.2524 (52)	0.7039 (145)	0.1699	0.8301	33.1036	<0.0001

表 2 莱芜黑猪群体内 FUT I 不同基因型与生产性能的关系

基因型	样本数	初生重 (kg)	35 日龄断奶体重 (kg)	70 日龄体重 (kg)
AA	9	1.0429 ± 0.681 a0.	7.1889 ± 2.485 a0.	19.3625 ± 4.315 a0.
AG	52	0.9529 ± 0.249 a0.	7.0327 ± 1.034 a0.	19.2256 ± 1.955 a0.
GG	145	0.9337 ± 0.149 a0.	6.9871 ± 0.619 a0.	19.2017 ± 1.124 a0.

: ①注:生产性能数据以最小二乘均值 ± 标准误表示。②同列数据肩标相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$),肩标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 莱芜黑猪群体内 FUT I 不同基因型与生产性能的关系

在对莱芜黑猪的 FUT I 基因 M307 位点的多态性进行检测的基础上,对该位点与莱芜黑猪、杜洛克和大约克生产性能的关系进行了分析。结果显示 (表 2):3 种基因型 AA、G 和 GG 对莱芜黑猪的初生重、日龄重、日龄断奶重和 70 日龄 2135 重的影响差异均不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

对 206 头莱芜黑猪的 FUT I 基因 M307 位点的多态性检测结果显示:莱芜黑猪群体内存在 FUT I 基因 M307 位点的多态性,但抗病 AA 基因型频率很低,只有 0.0437,杂合 AG 基因型频率为 0.2524。晏学明等 (2003,2004)、施启顺等 (2002,2003)、张引

红等 (2007) 对几十个中国地方猪种进行 FUT I 基因 M307 位点的多态性检测结果表明,只有临高猪在该位点存在多态性,其他中国地方猪种均表现为极端的单态分布,只有易感的 GG 基因型,没有多态性。莱芜黑猪是中国地方猪种中在这个位点存在多态性的为数不多的猪种之一,对该猪种品种资源保存具有重要的意义。V geli 等 (1997) 研究结果表明 F18 受体基因位点控制着 F18 受体的敏感性,该基因位点有 1 对等位基因,表达为能与 ETEC F18 结合的受体的基因为敏感性基因,呈显性遗传;反之则为抗性基因,呈隐性遗传。FUT I 基因可作为控制 ETEC F18 粘附的一个候选基因。若 AA 基因型的仔猪抗水肿

与腹泻病能力比另外 2 种基因型强,则其 70 日龄的保育体重要比另外两种基因型的猪高。本研究结果表明:AA、G 和 GG 3 种基因型对莱芜黑猪的初生重、日龄断奶重、日龄的保育重均无显著影响($P > 0.05$),说明 FUT1 基因 AA 抗性基因型对猪的生产性能没有有利影响, FUT1 基因不能作为莱芜黑猪抗 ETEC F18 病原菌的候选基因。但在养猪生产实践中,莱芜黑猪等中国地方猪种的仔猪抗水肿与腹泻病能力普遍强于杜洛克、大约克等外来猪种,是抗 ETEC F18 病原菌的重要种质资源,所以有必要对莱芜黑猪等中国地方猪种所具备的遗传抗性做更深入的研究,寻找、定位其相应的 QTL 和抗性基因。

参 考 文 献

1 吴圣龙,鞠慧萍,孙鹏翔,等. 部分引进猪种 α 岩藻糖转移酶基

因多态性研究. 中国畜牧兽医, 2007, 34 (6): 52~54.
 2 张引红,周忠孝,曹果清. FUT1 基因多态性及其与产仔性状的相关性研究. 遗传, 2007, 29 (1): 52~56.
 3 施启顺,谢新民,柳小春,等. 猪肠毒素大肠杆菌 ETEC F18 受体基因型检测报告. 遗传, 2002, 24 (6): 656~658.
 4 施启顺,黄生强,柳小春,等. 不同猪种 E Coli F18 受体基因的多态性. 遗传学报, 2003, 30 (3): 221~224.
 5 晏学明,任军,郭源梅,等. 猪 I 岩藻糖转移酶基因 (FUT1) 在 26 个中外猪种中的遗传变异研究. 遗传学报, 2003, 30 (9): 830~834.
 6 Meijerink E, Fries R, Vogeli P, et al. Two α (1, 2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and Escherichia coli F18 receptor (ECF18R) Loci. Mammalian Genome, 1997, 8 : 736~741.
 7 Vogeli P, Meijerink E, Fries R, et al. A molecular test for the detection of E. coli F18 receptors: a breakthrough in the struggle against edema disease and postweaning diarrhea in swine [J]. Schweiz Arch Tierheilkd, 1997, 139 (11): 479~484.

The Polymorphisms of Porcine FUT1 Gene in Laiwu Black Pigs and their Relationship with Growth Performance

WANG Huai²zhong^{1,2}, SHEN Yan²feng³, WANG Ji²ying^{1,2}, GUO Jian²feng^{1,2}, ZHANG Yin^{1,2}, WANG Cheng^{1,2}, WU Ying^{1,2}

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinarian of Shandong Province, Jinan 250100, China ;
 2. Key Lab of Disease Control and Animal Breeding of Shandong Province, Jinan 250100, China ;
 3. The Animal Husbandry Office of Laiwu, Laiwu 271100, China)

Abstract : In this study, the polymorphisms at M307 of FUT1 gene in Laiwu Black pigs were investigated by the way of PCR-RFLP and their associations with growth performance were analyzed. The result showed that there were polymorphism at M307 of FUT1 gene in Laiwu pigs, and the population was not in a state of Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.01$). The three genotypes had no significant effect on weight of birth, weight at weaning day and weight at day 70 for Laiwu pigs ($P > 0.05$). It was inferred that the resistance gene to ETEC F18 might be originated from western pig breeds, and the gene play a significant effect to the western pigs and had no effect to Laiwu Black pigs. Further study should be validated to identify and characterize putative QTL and functional gene responsible for the resistance to ETEC F18 in Laiwu Black pigs.

Key words : ETEC F18 ; FUT1 gene ; Laiwu black pigs ; growth performance

销售纯正三元仔猪

鹏程三元仔猪繁育基地是正阳县委、县政府、县畜牧局重点扶持的品种改良单位。本基地常年向全国各地销售纯正三元、三元杂交、杜洛克等优良品种仔猪,售新丹系长白、加系大约克原种猪,新美(台)系杜洛克原种公猪及长大二元母猪。以上仔猪、种猪经畜牧专家配制药物注射后,运输途中不拉稀,无

应激反应。所购种猪在 7 天内非正常死亡的原款退回。来人购猪报销路费、食宿免费,代办检疫运输出境手续。购量大可免费送货。我基地宗旨是:专业服务,信誉第一。欢迎客户参观、考察、选购,专车接送,免费送养殖技术资料 and 光盘。

地址:正阳县真阳镇鹏程三元仔猪繁育基地
 销售经理:张宏伟 手机:13839935089

注册号:4128296534654 动检号:4128297893695