

# 莱芜黑猪高繁基因的多态性及其对产仔数的影响

王继英<sup>1,2</sup>, 武英<sup>1,2,3</sup>, 张大龙<sup>3</sup>, 王怀中<sup>1,2</sup>,  
郭建凤<sup>1,2</sup>, 张印诚<sup>1,2</sup>

(1. 山东省农科院畜牧兽医研究所, 山东济南 250100; 2. 山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室, 山东济南 250100; 3. 济南市畜牧办公室, 山东济南 250012)

**摘要** : 分析了莱芜黑猪 FSH、ESR 和 PRL R 基因的多态性及其与产仔性能的关系。结果表明 : 对于 FSH 亚基基因, AA 基因型占绝对优势, 且产仔数最高, 但各基因型间的产仔数差异不显著。对于 ESR 基因, AA 基因型占绝对优势, 由于在被检测的样本中未检测出 BB 基因型, 因此难以计算基因型的产仔数差异。对于 PRL R 基因, BB 基因型频率占绝对优势, 但 AA 基因型比 BB 基因型的初产仔数多 1.94 头, 达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。FSH 亚基基因和 PRL R 基因合并统计对产仔数的影响表明 : AAAA 基因型为有利基因型。在育种实践中, 选择 AAAA 合并基因型可进一步提高莱芜黑猪的繁殖性能。

**关键词** : 莱芜黑猪; FSH; ESR; PRL R; 多态性; 产仔数

中图分类号 : S828

文献标识码 : A

文章编号 : 100421389 (2008) 0120007204

## Study on the Polymorphisms of Reproductive Genes and Their Effects on Litter Size in Laiwu Black Pigs

WANG Jiyi<sup>1,2</sup>, WU Ying<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Dalong<sup>3</sup>, WANG Huaizhong<sup>1,2</sup>,

GUO Jianfeng<sup>1,2</sup>, ZHANG Yincheng<sup>1,2</sup> and WANG Cheng<sup>1,2</sup>

(1. The Institute of Animal Husbandry and Veterinarian of Shandong Province, Jinan Shandong 250100, China; 2. The Key

Lab of Disease Control and Animal Breeding of Shandong Province, Jinan Shandong 250100, China;

3. The Animal Husbandry Office of Jinnan, Jinan Shandong 250012, China)

**Abstract** : In this study, the gene and genotype polymorphisms of FSH, ESR and PRL R in Laiwu black pigs and their effects on litter size were analyzed. For the FSH, genotype AA frequency was the highest, and the litter size of genotype AA was 1.94 more than that of genotype BB, but the difference of the litter size among the three genotypes was not significant. While for ESR, genotype AA frequency was the highest, and no genotype BB was detected. Because of the disequilibrium distribution and limited samples, it was difficult to calculate the litter size difference of the three genotypes. For the PRL R, genotype BB frequency was the highest, but the litter size of genotype AA was 1.94 more than that of genotype BB, and the difference was significant ( $P < 0.05$ ). The combined genotype AAAA of FSH and PRL R genes was advantageous. In the breeding, selection of the combined genotype AAAA will further improve the litter size of Laiwu black pigs.

**Key words** : Laiwu black pig; FSH; ESR; PRL R;

Polymorphism; Litter size

莱芜黑猪属华北型地方猪种, 是山东省地方黑猪的典型代表, 具有适应性强、繁殖率高、肉质细嫩香醇等优点, 是我国地方猪种宝贵的基因库。然而, 迄今对于莱芜黑猪的高繁特性等种质资源

3 收稿日期 : 2007204210 修回日期 : 2007209215

基金项目 : 国家 863 项目 (2006AA10Z1 E1)。

作者简介 : 王继英 (1972), 女, 硕士, 研究方向为分子遗传育种。

3 通讯作者 : 武英, 研究员, 硕士生导师。研究方向为猪的遗传育种。E2mail : wusaas@163.com. 英

的研究一直停留在群体性能测定的研究上,在很大程度上影响和限制了这一优良猪种在繁殖性能方面的进一步选育提高和杂交利用。因此,从分子遗传学角度对莱芜黑猪的繁殖性状进行研究是

十分必要的。在猪产仔数主基因的研究中,已有大量的主基因被报道,如雌激素受体基因(ESR)<sup>[11]</sup>、β卵细胞刺激素β亚基因(FSH)<sup>[12]</sup>和催乳素受体基因(PRLR)<sup>[13]</sup>等,这些主基因不同程度影响猪的产仔数。本研究以这3个主基因

为候选基因,检测莱芜黑猪中这3个基因的多态性、分析对产仔数的影响,为探讨在莱芜黑猪种猪核心群体中利用分子标记辅助选择的方法提高产仔数打基础。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试验动物

产仔3胎以上且记录完备的莱芜黑猪母猪样本50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 Taq™ Polymerase (DRR100), Pvu II (D1076), Alu I (D1004) 和 DL2000 DNA Marker (D501) 均购自宝生物工程(大连)有限公司

DNA Engine 和凝胶成像系统分别购自 BIO2 RAD 和 Alpha Innotech 公司。

#### 1.3 引物设计

βFSH 亚基因的引物设计参照 Kato 等<sup>[12]</sup>, 上游引物 f1: 5' TTTAA GACA GTCAA TG22CC GC 23' 下游引物 f2: 5' TGGTC TA T2

2AC  
3CA TGGT C等C 23'上游引物,下游引物, e2: 5' TACA GT GAC TTT TACA GA G23' 下游引物,

2CAC T TC GA GGGTCA GTCCAA T TA G2 3' PRL R 基因的设计参照 Vincent 等<sup>[13]</sup>, 上游引物 p1: 5' 2CCCAAACA GCA GGA GAAC G23' 下游引物 e2: 5' 2GGCAA GT GGT T GAAAA T G2 GA23'。

#### 1.4 PCR 扩增

β ESR 和 PRL R 基因采用相同的反应体系 and 反应条件进行 PCR 扩增。反应体系为: 10 × Buffer 2.5 μ, 2 μ dNTP, 上游、LL 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 μ。反应条件为: 94 °C 变性 5L

min, 35 次循环 (94 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 1

min), 72 °C 延伸 8 min。

#### 1.5 多态性检测

βFSH 等位基因由片段插入造成, 琼脂糖电泳检测 PCR 产物即可见多态性。基因分型与赵要风等<sup>[15]</sup>的相关报道相同。ESR 基因采用 PCR2 RFLP 进行分析: 10 μ PCR 产物加入 0.5 μ LL Pvu II 2.5 μ Buffer, 加双蒸水至 20 μ, 37 °C 及 LL 水浴 3 h。酶切产物用 3% 的琼脂糖电泳检测。基因分型与 So ut hwo o d 等<sup>[15]</sup>的相关报道相同。PRL R 基因采用 PCR2 RFLP 进行分析: 10 μ PCR 产物加入 0.5 μ Alu I 2.5 μ Buffer, 加 L 及 L 双蒸水至 20 μL, 37 °C 水浴 3 h。酶切产物用 12% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。基因分型与 Vin2 cent 等<sup>[13]</sup>的相关报道相同。

#### 1.6 数据分析

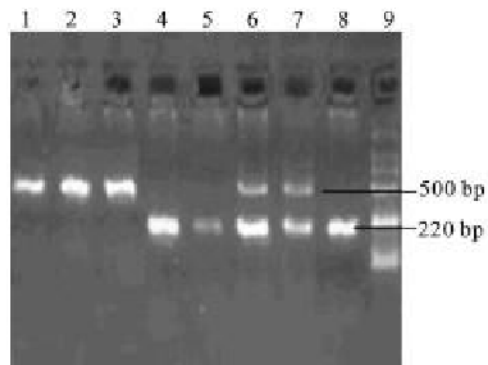
样本的总产仔数, 包括产活仔数、死胎和木乃伊。用 SAS 9.0 统计软件进行方差分析和多重比较。用于分析的统计模型为:  $Y = \mu + G + P + e$ 。其中 Y 为产仔数的表型值, μ 为群体均值, G

为基因型固定效应, P 为胎次固定效应, e 为剩余效应。

### 2. 结果与分析

#### β2.1 FSH 基因、ESR 基因和 PRL R 基因的多态性

βFSH 基因的 PCR 扩增结果出现 3 种情况 (图 1): 500 bp 纯合子 (AA 基因型); 500 bp、220 bp 杂合子 (AB 基因型); 220 bp 纯合子 (BB 基因型)。莱芜黑猪群体内 AA 基因型频率为 0.827, 占绝对优势, BB 基因型频率仅为 0.077。



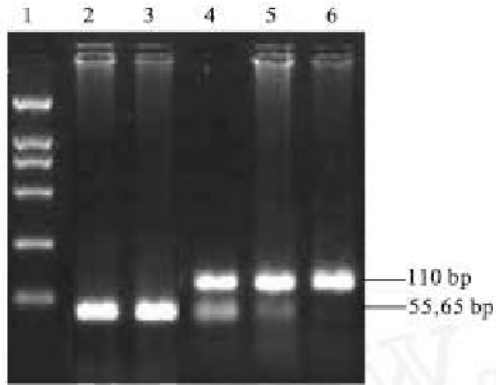
、: AA 型; 6、: AB 型; 4、: BB 型; 9: DL22000 Marker 123758

β图 1 FSH 亚基基因 PCR 扩增电泳

Fig. 1 Electrophoresis pattern of PCR amplification of βFSH subunit gene

ESR 基因进行 PCR2 RFLP 分析, 结果有 3 种情况 (图 2): 121 bp 纯合子 (AA 基因型), 121 bp、

65 bp、bp 杂合子 (AB 基因型),65 bp、bp5656 纯合子 (BB 基因型),在莱芜黑猪群体内,只有 AA 和 AB 基因型,基因频率分别为 0.615 和 0.385,未检测到 BB 基因型。



bp 和 65 bp 相差几个碱基,琼脂糖电泳无法分开,成一条混合带。55 bp and 65 bp could not be distinguished by agarose electrophoresis and formed one combined band.

1:DL22000 Marker;2、:BB 型;4、:AB 型;6:AA 型

图 2 ESR 基因 PCR-RFLP 分析电泳

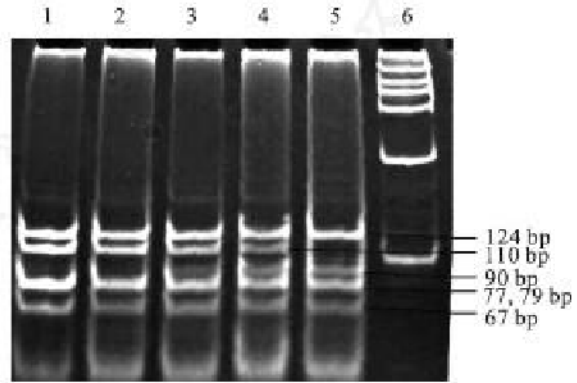
Fig. 2 Electrophoresis pattern of PCR RFLP of ESR gene

2

PRL R 基因 PCR 扩增产物为 447 bp,扩增产物用 Alu I 限制性内切酶酶切出现 3 种基因型 (图 3),AA 基因型有 124 bp、90 bp、77 bp、79 bp、67 bp

bp、bp、bp 共 6 条带,BB 基因型有 124 bp、6720 110 bp、bp、bp、bp 共 5 条带,AB 基因型有 124 bp、bp、bp、bp、bp、bp、1109079776720 bp 共 7 条带。BB 基因型频率为 0.808,占绝对优势,AA 基因型频率仅为 0.077。

β ESR 和 PRL R 基因具体检测结果见 FSH 表 1。



bp、bp,琼脂糖电泳无法分开,成一条混合带。77 bp 7779 and 79 bp could not be distinguished by agarose electrophoresis and formed one combined band.

1、:AA 型;3、:AB 型;5:B 型;7:DL22000 marker

图 3 PRL R 基因 PCR-RFLP 分析电泳

Fig. 3 Electrophoresis pattern of PCR RFLP of PRL R gene

2

β ESR 表 1 FSH、和 PRL R 基因型分布及产仔数比较

β Table 1 The genotype frequencies of FSH, ESR and PRL R and

基因 Genes	基因型 Genot ypes	基因型分布 Genot ype dist ribution	基因型频率 Genot ype f requencies	初产仔数 TNB (first parit y)	经产仔数 TNB (later parit y)
βFSH	AA	43	0.827	11.11 ± 96a2.	14.14 ± 33a12.
	AB	5	0.096	10.39 ± 73a0.	13.09 ± 25a1.
	BB	4	0.077	10.39 ± 23a0.	13.69 ± 14a1.
ESR	AA	32	0.615	10.47 ± 64 a2.	12.91 ± 60 a2.
	AB	20	0.385	10.34 ± 88 a3.	15.92 ± 81b9.
	BB	0	0	0.00 ± 00 a0.	0.00 ± 00 a0.
PRL R	AA	4	0.077	12.00 ± 00a0.	14.00 ± 00a0.
	AB	6	0.115	10.00 ± 74b3.	12.94 ± 96a1.
	BB	42	0.808	10.06 ± 39b2.	13.97 ± 42a10.

注:同一基因,不同基因型间数据肩标不同字母表示差异显著 (P < 0.05)。表 2 同此。

Note: The data with a gene with different superscripts are different significantly (P < 0.05). Table 2 is same as this.

β 2.2 FSH 基因、ESR 基因和 PRL R 基因与产型和 BB 基因型的产仔数差异。对于 PRL R 基因数的关系

β ESR、本研究中检测的莱芜黑猪FSH经产仔数多 0.03 头,AA 基因型和 BB 基因型在初产仔数上的差异达到显著水平 (P < 0.05),

PRL R 基因均表现出极端的偏态分布,因此难以精确计算出各基因型在产仔数上的差异。从统计 β 结果 (表 1) 看,FSH 基因的 3 种基因型中,以

AA 基因型的产仔数最高。莱芜黑猪的 AA 基因型比 BB 基因型的头胎仔数和经产仔数分别高

0.72 和 0.45 头,但没有达到显著水平。对于 ESR 基因,在被检测的莱芜黑猪 52 个样本中,由于未检测出 BB 基因型,因此难以计算 AA 基因

型,AA 基因型比 BB 基因型的初产仔数多 1.94

头,FSH 基因型的 AA 基因型和 BB 基因型在初产仔数上的差异达到显著水平 (P < 0.05),

PRL R 基因的 AA 基因型为莱芜黑猪的优势基因型。

β 2.3 FSH 基因和 PRL R 基因合并基因型与产仔数的关系

β 由表 2 可知,FSH 基因和 PRL R 基因合并统计对产仔数的影响是,AAAA 基因型为优势基因型,但由于 PRL R 基因中 AA 型频率低,只有

0.077,故合并基因型 AAAA 基因型只检测出 4 头。AAAA 基因型比 BBBB 基因型初产仔数多

1.61 头,差异显著 (P<0.05),经产仔数多 0.41 头,差异不显著。

β表 2 FSH 基因和 PRL R 基因合并基因型分布及与产仔数比较

PRL R and the litter size comparison				
合并基因型 Combined genotypes	头数 Number tested	频率 Frequency	初产仔数 TNB (first parity)	经产仔数 TNB (first parity)
βFS H PRL R				
AAAA	4	0.077	12.00a ± 00a0.	14.00 ± 00a0.
ABAB	5	0.096	10.25 ± 71b0.	13.00 ± 35a1.
BBBB	4	0.077	10.39 ± 23b0.	13.69 ± 14a1.

βTable 2 The combined genotype frequencies of FSH and

### 3 讨论

赵要风等 [15] 研究指出,在杜洛克、大约克、长白等国外猪种中,FSH 优良基因型为 BB 型。但我国的地方猪种中检测不到 BB 基因型或基因型频率很低 [15,61],我国的地方猪种的产仔数一般比 β 外国猪种的产仔数高,这可能是由于 FSH 的 β 同基因型在不同品种猪中的作用不同。在本研究 β 中,FSH 基因的 3 种基因型中,AA 基因型频率为 0.827,占绝对优势。产仔数分析表明 AA 基因型为优良基因,这和柳淑芳 [7] 的研究结果一致,但 AA 基因型和 BB 基因型产子数差异没有达到

显著水平。虽有研究证明 ESR 基因 [11] 是控制猪高产仔数的主效基因或与控制猪高产仔数的主效基因紧密连锁,但也有报道指出 [18],Pvu II 酶切多态性与母猪繁殖性能之间相关性不高,这可能是猪品种、样本数量大小、饲养方式以及环境不同造成的。

本研究中莱芜黑猪样本中未检测到 ESR 基因的 BB 基因型,因此难以精确计算出各基因型在产仔数上的差异。

Vincent 等 [3] 在 PIC 的 3 个品系的研究发现,PRL R 基因的 Alu I 酶切位点的多态性同母

猪产仔数有关,在大白和长白合成系中,AA 基因型母猪的产仔数比 BB 型多 0.66~1 头。本试验结果表明,莱芜黑猪群体内 BB 基因型频率为 0.808,占绝对优势。产仔数统计表明 AA 基因型为优良基因,AA 基因型比 BB 基因型的初产仔数多 1.94 头,差异显著 (P<0.05),这和 Vincent

等 [3] 的结果相一致。但 AA 基因型比 BB 基因型的经产仔数仅多 0.03 头。母猪的繁殖性能受遗传、营养水平、管理和周围环境等各方面的影响很大,随着母猪年龄的增加,环境因素如营养和应激

对繁殖性状的影响愈大,所以随着胎次的增加,PRL R 基因影响产仔数的效应在下降。

母猪的繁殖性状是一个受多基因控制的复合性状,基因间或者相互独立,或存在促进和制约关系,单独对某一基因进行选择,很可能会给其他基因带来负面影响。本研究通过对 FSH 基因和 PRL R 基因合并统计对产仔数的影响的统计表明,AAAA 合并基因型为有利的合并基因型,产

仔数最高,初产仔数和 BBBB、ABAB 合并基因型相比差异显著 (P<0.05)。由于莱芜黑猪群体 β 中,FSH 基因的 AA 基因型已占绝对优势,但 PRL R 基因 AA 基因型比例较低,在育种实践中,主要选择 PRL R 基因的 AA 型,使莱芜黑猪群体 β 中 FSH 基因和 PRL R 基因合并基因型 AAAA

型的频率逐步增加,这对进一步提高莱芜黑猪在繁殖性能方面的进一步选育提高具有促进作用。由于本研究中样本含量小,有些基因型仅检出几头,有待于通过提高样本的数量才能得出更

切实可行的结论。

#### 参考文献:

[1] Rothschild M F. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in Pigs [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93: 2012205.

[2] Kato Y, Ezashi T, Hirai T, et al. The gene for common alpha 2 subunit of porcine pituitary glycoprotein hormone [J]. J Mol Endocrinol, 1991; 7 (1): 27234.

[3] Vincent A L, Evans G, Short T H, et al. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs [A]. Proc 6th World Congr on Genet Appl Livest Prod [C]. Armidale, Australia, 1998, 27: 15218.

[4] Southwood O. Genetic markers for litter size in commercial lines of pig [A]. Proc 6th World Congr on Genet Appl Livest Prod [C]. Armidale, Australia, 1998, 26: 4532456.

[5] 赵要风,李肖,等. 猪 FSH 基因结构区逆转座子宁璐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): 81286.

[6] 胡雪松,王希彪. 民猪、长白猪及其杂种母猪 ESR 和 FSH 基因的多态性与繁殖性能的关系分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2006, 1: 37239.

[7] 柳淑芳,闫艳春,杜立新. 莱芜黑猪 FSH 基因的多态性分析 [J]. 山东农业大学学报 (自然科学版), 2002, 33 (4): 4032408.

[8] Rens B T, Van T M, Groot P N, et al. The effect of estrogen receptor genotype on litter size and placental traits at term in F2 crossbred gilts [J]. Theriogenology, 2002, 57 (6): 163521649.