

撒坝猪 MYOG 基因 *MspI* 多态性 及其与部分生长性状的关系*

鲁绍雄, 丁 艳, 李明丽, 连林生**, 严达伟, 李国治
(云南农业大学动物科学技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 肌细胞生成素(MYOG)基因的表达产物对肌细胞的分化和肌纤维的生成有着重要的调控作用。以 MYOG 基因作为撒坝猪生长性状的候选基因,在通过 PCR-RFLPs 技术对其 *MspI* 酶切位点多态性进行检测的基础上,对该基因不同基因型与 5 个阶段体重和日增重性状的关系进行了分析。结果表明,撒坝猪 MYOG 基因 *MspI* 酶切位点 2 个等位基因和 3 种基因型均有不同频率的分布,在经历多年的开放核心群选育后仍保持了较高的遗传多态性;MYOG 基因的不同基因型对撒坝猪 4 月龄体重和 45 日龄~6 月龄日增重有显著影响($P < 0.05$),以 AB 型最高,AA 型最低。结合前人的相关研究结果,可初步推断,MYOG 基因对猪的部分生长性状确有一定影响。

关键词: 撒坝猪;肌细胞生成素基因;体重;日增重

中图分类号: S 828.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X(2007)03-0385-04

The *MspI* Polymorphism of MYOG Gene and Its Relationship with Some Growth Traits in Saba Pig

LU Shao-xiong, DING Yan, LI Ming-li, LIAN Lin-sheng, YAN Da-wei, LI Guo-zhi
(Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The expression product of myogenin (MYOG) gene plays an important role in regulating muscle growth and differentiation of pigs. In this research, MYOG gene was chosen as a candidate gene for growth traits of Saba pigs. The *MspI* polymorphism of the gene was investigated by using PCR-RFLPs technique, and the relationship between the polymorphisms and 5 growth traits was analyzed. The results showed that 2 alleles and 3 genotypes of MYOG gene were detected in Saba pigs, which there was still a higher degree of polymorphisms on MYOG gene in the population, though it was selected by years of opening nucleus breeding. The two growth traits, 6 months body weights and average daily gains from 45 days to 6 months of 3 genotypes were significantly different ($P < 0.05$). The traits of genotype AB were better than those of AA or BB. Combining with the previous results, it could be preliminarily deduced that MYOG gene probably had some associations with growth traits in pigs.

Key words: saba pig; myogenin gene; body weight; daily gain

撒坝猪是云南的一个地方优良猪种,具有利用农家饲料能力强、病少好养、肉质优良等优点。以撒坝猪为素材选育而成的专门化母系,不仅较好地保持了撒坝猪原有的优点,而且产仔数高(平均窝

产仔数 12 头以上),作为母本与引进猪种杂交可获得明显的杂种优势^[1,2]。在经多次重复杂交试验确定最佳配套杂交组合的基础上,以撒坝猪专门化母系为基础开展了优质瘦肉猪配套系的选育。

收稿日期: 2006-10-17

* 基金项目: 云南省“十五”科技攻关项目资助(2001NG39)。

** 通讯作者

作者简介: 鲁绍雄(1972-),男,博士,教授,主要从事动物遗传育种研究。

E-mail: shxlu@263.com

目前,新选育的配套系已通过了国家畜禽品种审定委员会的审定(见农业部第 668 号公告),并正式定名为滇撒猪配套系。

在撒坝猪专门化母系的选育过程中,曾先后对其在生化遗传标记和 DNA 分子标记方面开展了一系列研究,对揭示撒坝猪的种质特性和促进其选育利用起到了积极的作用,但在主要经济性状的分子标记方面仍有不少需要继续深入研究之处。鉴于 DNA 分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)在猪主要经济性状遗传改良上的潜在优势^[3],对一些可能影响猪主要经济性状的基因开展系统研究显得尤为重要。

在已知基因的结构和功能基础上所进行的候选基因分析(candidate gene approach)是畜禽 QTL 检测与定位的一种快捷、有效的方法,并已在猪的 QTL 定位研究中得到了广泛应用。猪肌细胞生成素(myogenin, MYOG)基因位于第 9 号染色体上,其表达产物对猪肌细胞的分化和肌纤维生成有着重要的调控作用^[4]。大量研究表明,猪的 MYOG 基因具有较高的多态性,且已成功地建立了一套完整的 PCR-RFLPs 检测方法^[5,6]。据此,本研究以 MYOG 基因作为撒坝猪生长性状的候选基因,在采用 PCR-RFLPs 技术对其多态性进行检测的基础上,分析该基因与生长性状的关系,以期为进一步利用 DNA 标记信息促进撒坝猪的选育提供一定的基础和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究共采集了 162 头纯种撒坝猪(♂ 15, ♀ 147)的耳组织样,置于 70% 的乙醇中用冰瓶运回实验室,储于 -20℃ 冰箱保存备用。所有样品均随机采自云南省楚雄州种猪场撒坝猪专门化母系纯繁猪群,猪群的饲养管理条件基本一致。

1.2 基因型检测

1.2.1 基因组 DNA 的提取

采用常规酚/氯仿抽提法进行基因组 DNA 的提取,并用 0.7% 的琼脂糖凝胶对所提取的 DNA 浓度和纯度进行初步检测。

1.2.2 引物设计与 PCR 扩增

引物序列参照相关文献^[6]进行设计,引物 1: 5' - 5' - TGG ACT GGA TGG TTC AGA CTG TG - 3'; 引物 2: 5' - AGA CAG TCT CAG TTG GGC

ATG G - 3',由上海生物工程技术公司合成。

PCR 反应体系为:2.5 μL 10 × 缓冲液,2.0 μL MgCl₂ (25 mmol/L), 0.5 μL dNTPs (10 mmol/L), 0.2 μL 引物 1 (25 μmol/L), 0.2 μL 引物 2 (25 μmol/L), 0.5 μL 模板 DNA (50 ~ 100 ng/μL), 0.2 μL Taq DNA 聚合酶(5 IU/μL), 18.9 μL ddH₂O,反应总体积为 25 μL。反应条件为:94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 45 s, 58℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 1 min,共进行 35 个循环;72℃ 后延伸 8 min; 4℃ 保持。PCR 扩增产物用 2.0% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.2.3 PCR 产物的酶切及其检测

MYOG 基因的 PCR 扩增产物用 *MspI* 酶进行酶切,具体条件为:RE 10 × 缓冲液 1.0 μL, *MspI* 酶 (10 U/μL) 0.3 μL, PCR 产物 7.0 μL,加 ddH₂O 至总体积 10 μL,在 37℃ 下反应 3 h。酶切产物用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测,硝酸银染色,并在荧光-紫外分析仪上观察拍照。

1.3 分析性状及数据来源

本研究所分析的性状包括 4 月龄体重、6 月龄体重、45 日龄 ~ 4 月龄日增重、45 日龄 ~ 6 月龄日增重和 4 ~ 6 月龄日增重 5 个生长性状。所有性能数据均来自云南省楚雄州种猪场的原始记录。

1.4 统计分析模型及数据处理

同时考虑 MYOG 基因型与实验猪出生年度(2002 ~ 2004)对生长性状的影响,采用二因素(MYOG 基因型、年度)有互作的最小二乘分析模型对 MYOG 基因不同基因型生长性状的差异进行分析,该模型为:

$$y_{ijk} = \mu + GEN_i + YEAR_j + GEN_i \times YEAR_j + e_{ijk}$$

式中, y_{ijk} 为性状观察值, μ 为群体均值, GEN_i 为 MYOG 基因第 i 基因型的效应, $YEAR_j$ 为第 j 年度的效应, $GEN_i \times YEAR_j$ 为 MYOG 基因第 i 基因型与第 j 年度的互作效应, e_{ijk} 为随机误差,服从 $N(0, \sigma_e^2)$ 分布。

根据上述模型采用 SAS 统计分析系统(8.20 版本)的 GLM 过程^[7]进行数据的处理。

2 结果与分析

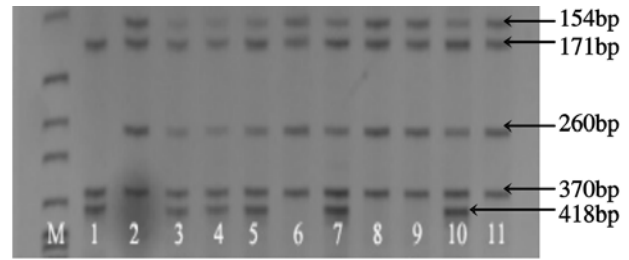
2.1 MYOG 基因的 PCR 扩增及 *MspI* 酶切

用引物 1, 2 对撒坝猪基因组 DNA 进行 PCR 扩增,得到长度为 959 bp 的扩增片段,该片段共有 3 个 *MspI* 酶切位点。扩增产物经 *MspI* 限制性内切酶消化后,电泳检测结果共有 3 种带型(图 1):

370 bp + 260 bp + 171 bp + 154 bp 条带 (AA 型), 418 bp + 370 bp + 171 bp 条带 (BB 型) 和 418 bp + 370 bp + 260 bp + 171 bp + 154 bp 条带 (AB 型)。

2.2 基因频率与基因型频率

检测结果,撒坝猪群体中 MYOG 基因 AA 基因型的频率最高,其次为 AB 型和 BB 型。等位基因 A 和 B 的频率分别为 0.722 2 和 0.277 8,等位基因 A 在群体中占明显优势。该座位的多态杂合度 (heterozygosity, h) 为 0.401 3,多态性较为丰富。 χ^2 检验的结果,撒坝猪 MYOG 基因在 MspI 酶切位点上处于 Hardy - Weinberg 遗传平衡状态 ($\chi^2 = 0.958 5, P > 0.05$)。



M为500bp DNA ladder; 第2, 6, 8, 9, 11为AA型; 第1为BB型; 第3, 4, 5, 7, 10为AB型
M is 500bp DNA ladder, the bands 2, 6, 8, 9, 11 are genotype AA; the band 1 is genotype BB; the bands 3, 4, 5, 7, 10 are genotype AB

图1 MYOG基因MspI酶切产物电泳图谱

Fig. 1 Electrophoresis patterns of enzyme MspI cleavage products for IGF-I gene

表1 基因频率与基因型频率

Tab.1 Gene frequency and genotypic frequency

基因型 genotype	个体数 No. of individuals	基因型频率 genotypic frequency	等位基因 allele	基因频率 gene frequency	杂合度 heterozygosity
AA	87	0.537 0	A	0.722 2	
AB	60	0.370 4			0.401 3
BB	15	0.0926	B	0.277 8	

2.3 MYOG 基因多态性与生长性状的关系

采用二因素 (MYOG 基因型和年度) 有互作的最小二乘模型进行分析的结果,不同基因型与年度间在所分析的 5 个性状上均存在着显著的互作效应 ($P < 0.05$, 具体结果未列出)。

不同基因型生长性状的最小二乘均数见表 2。从表 2 中可以看出,MYOG 基因不同基因型在 6 月龄体重和 45 日龄 ~ 6 月龄体重日增重 2 个性状上

存在显著差异 ($P < 0.05$), 且均以 AB 型最高, AA 型最低。其中, AB 型和 BB 型个体的 6 月龄体重分别较 AA 型高 4.53 kg ($P < 0.05$) 和 2.41 kg ($P > 0.05$), 45 日龄 ~ 6 月龄日增重分别比 AA 型高 41 g ($P < 0.05$) 和 12 g ($P > 0.05$), 但 AB 型和 BB 型间的差异则未达到显著水平 ($P > 0.05$)。在其余性状上, 3 种基因型间的差异虽未达到显著水平 ($P > 0.05$), 但总体上仍以 AB 型和 BB 型较高。

表2 MYOG 基因不同基因型的阶段体重和日增重

Tab.2 Body weights and average daily gains (ADG) at different stages of different MYOG genotypes

基因型 genotype	n	4 月龄体重/kg		6 月龄体重/kg		45 日龄 ~ 4 月龄日增重/g		45 日龄 ~ 6 月龄日增重/g		4 ~ 6 月龄日增重/g	
		Body weight at 4 months		Body weight at 6 months		ADG from 45 days to 4 months		ADG from 45 days to 6 months		ADG from 4 months to 6 months	
		LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
AA	41	31.78 ^a	1.27	48.06 ^b	1.49	305 ^a	18	287 ^b	12	271 ^a	16.91
^a B	35	34.71 ^a	1.11	53.13 ^a	1.31	349 ^a	16	328 ^a	12	307 ^a	14.78
BB	12	31.94 ^a	2.55	50.47 ^{a,b}	3.00	290 ^a	31	299 ^{a,b}	22	309 ^a	33.96

注:表中 LSM 为最小二乘均数,SE 为标准误。同列均数比较,标有相同字母者为差异不显著 ($P > 0.05$), 标有不同字母者为差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The LSM and SE are least square mean and its standard error. The means are compared in same column, means with the same letters have not significant differences ($P > 0.05$), means with different letters have significant differences ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 关于撒坝猪 MYOG 基因的遗传变异

本研究的结果表明,撒坝猪 MYOG 基因 *MspI* 酶切位点 2 个等位基因和 3 种基因型均有不同频率的分布,遗传多态性仍较丰富,且均处于遗传平衡状态($P > 0.05$)。这可能是由于迄今为止所实施的表型选择还未引起撒坝猪群体 MYOG 基因频率发生明显的变化,这与撒坝猪专门化母系所实施的选育方法基本上是吻合的。

撒坝猪专门化母系是采用闭锁与开放相结合、多点核心群联合育种的方法选育而成的,在其培育过程中所实行的核心群定期开放,对于拓宽遗传基础、增加可利用的遗传变异具有明显的效果。故虽经过了多个世代的选育,撒坝猪在包括生长性状在内的主要经济性状上都有了较大幅度的改进和提高,但仍在许多基因座位上保持了较高的遗传变异。这也从一个角度说明,在地方猪种的保护和开发利用中,通过科学的方法对其进行选育提高的同时,其遗传多样性也可得到有效的保护,表明育种与保种相结合是进行地方猪种资源保护的一种有效途径。

3.2 MYOG 基因与撒坝猪生长性状的关系

前述结果表明,撒坝猪 MYOG 基因对其 6 月龄体重和 45 日龄~6 月龄日增重有着显著的影响($P < 0.05$),且都以 AB 型最高,而 AB 型与 BB 型间则无显著差异。te Pas 等(1999)^[8]在大约克猪上的研究表明,MYOG 基因对初生重、生长速度和瘦肉量有显著影响。林万华等(2002)^[9]对我国二花脸猪的研究结果显示,MYOG 基因 AB 型的猪比 BB 型猪的初生重大($P < 0.01$)。高勤学等(2005)^[10]在申农 1 号猪上的研究也证实 MYOG 基因对初生重有显著影响($P < 0.05$),并提出该基因可望应用于猪初生重的早期选择。

MYOG 基因的表达产物直接参与动物肌肉细胞的形成与分化。有研究表明,在猪的第 9 号染色体上存在着与猪肌肉生长和脂肪沉积相关的 QTL^[11],而 MYOG 基因也正好位于第 9 号染色体

上。据已有的研究结果来看,MYOG 基因对猪的部分生长性状确有一定影响。如能通过研究进一步对其遗传效应加以证实,则将会有力地促进其在标记辅助选择中的应用,从而提高猪育种改良的效率。

[参考文献]

- [1] 连林生,严达伟,王鹤云,等. 云南撒坝猪的种质特性 [A]. 第 11 次全国动物遗传育种学术讨论会论文集 [C]. 北京:中国农业科技出版社,2001:431-435.
- [2] 连林生,王鹤云,严达伟,等. 撒坝猪专门化母系及其杂种猪的胴体和肉质特性研究 [J]. 养猪,2000,(3):29-31
- [3] 鲁绍雄,吴常信. 动物遗传标记辅助选择研究及其应用 [J]. 遗传,2002,24(3):359-362.
- [4] 姜运良,李宁,吴常信. 肌肉生成的分子生物学研究进展 [J]. 农业生物技术学报,1999,7(2):201-204.
- [5] CIESLAK D, KAPELANSKI W, Blicharski T, et al. Restriction fragment length polymorphisms in myogenin and MYF3 genes and their influence on lean meat content in pigs [J]. J Anim Breed Genet, 2000, 117(1):43-55.
- [6] 林万华,高军,陈克飞,等. 猪 MYOG 基因的 PCR-RFLP 多态性分析 [J]. 遗传,2003,25(1):22-26.
- [7] 鲁绍雄,连林生. SAS 统计分析系统在畜牧科学中的应用 [M]. 昆明:云南科技出版社,2003.
- [8] TE PAS M F W, SOUMILLION A, HARDERS F L, et al. Influences of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness and lean weight of pigs [J]. J Anim Sci, 1999, 77: 2352-2356.
- [9] 林万华,黄路生,艾华水,等. MYOG 基因型对二花脸猪早期生长性状及肌肉组织学特性的影响 [J]. 农业生物技术学报,2003,10(4):367-372.
- [10] 高勤学,刘梅,杨月琴,等. 猪 MYOG 基因的 PCR-RFLP 分型及其与生长性能和肌纤维数目的相关性分析 [J]. 中国兽医学报,2005,25(3):330-332.
- [11] 朱猛进,刘榜,李奎. 猪肉基因(组)研究进展及相关问题探讨 [J]. 遗传,2005,27(1):137-142.