

# GHRL 及其受体 GHSR 基因多态性与鸭生长及屠体性状的关联性

方梅霞<sup>1,2</sup>, 李莹<sup>2</sup>, 徐海平<sup>2</sup>, 谢亮<sup>2</sup>, 廖新梯<sup>2</sup>, 梁敏<sup>3</sup>, 聂庆华<sup>2</sup>, 张细权<sup>2\*</sup>

(1. 暨南大学医学院 实验动物管理中心, 广州 510632; 2. 华南农业大学动物科学学院, 广州 510642;

3. 广东省佛山市三水联科鸭场, 佛山 528000)

**摘要:** 本研究旨在分析 *GHRL* 和 *GHSR* 基因部分 SNP 和单倍型与鸭生长和屠体性状的关联性。试验以三水白鸭为材料, 利用 PCR-RFLP 方法检测 *GHRL* 基因 C-729T、T+985C 和 *GHSR* 基因 T404C、G3427A 共 4 个 SNPs 位点的多态性, 构建单倍型, 进行方差分析。结果表明, C-729T 与 21、28、35 和 49 日龄体质量、全净膛质量、胸腺质量显著相关 ( $P < 0.05$ ), CT 基因型杂合子优势明显; T404C 与腿肌和脾脏质量显著相关 ( $P < 0.05$ ), TT 基因型个体均值显著高于 CC 和 TC 型个体; G3427A 与 35 日龄体质量、49 日龄体质量、屠体质量、半净膛质量、全净膛质量和翅质量显著相关 ( $P < 0.05$ ), AA 基因型是较为优势的基因型; T+985C 与各生长、屠体性状都不相关 ( $P > 0.05$ )。所构建的单倍型与单个 SNP 的分析结果较为一致, 表明这 3 个 SNPs 是鸭生长和屠体性状的重要分子标记。

**关键词:** 鸭; Ghrelin; GHSR; 生长性状; 屠体性状; 关联分析

中图分类号: S834; Q343.15

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2011)01-0018-07

## Associations of Ghrelin (*GHRL*) and Its Receptor (*GHSR*) Genes Polymorphisms with Duck Growth and Carcass Traits

FANG Mei-xia<sup>1,2</sup>, LI Ying<sup>2</sup>, XU Hai-ping<sup>2</sup>, XIE Liang<sup>2</sup>, LIAO Xin-di<sup>2</sup>, LIANG Min<sup>3</sup>,  
NIE Qing-hua<sup>2</sup>, ZHANG Xi-quan<sup>2\*</sup>

(1. Laboratory Animal Management Center, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 3. Sanshui Lianke Duck Farm, Foshan 528000, China)

**Abstract:** The aim of this study was to analyze the association of *GHRL* and *GHSR* genes polymorphisms with duck growth and carcass traits. In this study, two SNPs of *GHRL* gene (C-729T and C+985T) and two SNPs of *GHSR* gene (T404C and G3427A) were genotyped by PCR-RFLP in a random Sanshui White Duck population to investigate the associations of SNP and their haplotypes with growth and carcass traits. Result showed that C-729T was significantly associated with body weight (BW) at 21 days (BW21), BW28, BW35, BW49, eviscerated weight and Thymus gland weight ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, the individuals with CT genotype had better duck body weight gain. T404C was significantly associated with leg muscle weight and spleen weight ( $P < 0.05$ ). And in these traits, the Least-square means of individuals with TT genotype was higher than others. G3427A was significantly associated with BW35, BW49, dressed weight, eviscerated weight with giblet, eviscerated weight and wing weight ( $P < 0.05$ ). And individuals with AA genotype had the highest value of all traits. Otherwise, no significant association of

收稿日期: 2010-01-01

基金项目: 973 项目 (2006CB102100); 国家自然科学基金 (30600429)

作者简介: 方梅霞 (1979-), 女, 福建宁德人, 博士, 助理研究员, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: fangmx1979@163.com

\* 通讯作者: 张细权, 教授, 博导, E-mail: xqzhang@scau.edu.cn

C985T with any growth and carcass traits was found. Association analysis of haplotypes indicated similar results with that of SNP. It was suggested that C-729T of duck *GHRL* gene and T404C and G3427A of duck *GHSR* gene were important molecular markers for duck growth and carcass traits.

**Key words:** duck; Ghrelin; GHSR; growth traits; carcass traits; association analysis

生长和屠体性状是养鸭生产的重要经济性状,是反映鸭场生产水平和经济效益的重要指标,也是高遗传力的性状。利用候选基因法,分离和鉴定与数量性状连锁的 DNA 标记是标记辅助育种、提高生长和屠体性状的前提和基础。生长素(Ghrelin, *GHRL*)与下丘脑弓状核中的受体(Growth Hormone Secretagogue Receptor or ghrelin receptor, *GHSR*)结合能特异性刺激垂体前叶生长激素(GH)的释放、增加食欲及调节能量代谢平衡、促进胃酸分泌及胃肠发育、增强胃肠道功能、改善心血管功能等广泛的生理作用<sup>[1-3]</sup>,揭示了 *GHRL* 和 *GHSR* 基因是机体生长发育的重要候选基因。*GHRL* 及其受体 *GHSR* 基因的多态性与机体生长、脂肪沉积等的相关性研究也成为热点。例如许多研究表明 Arg-51-Gln 变异是导致人过度肥胖的一个病因<sup>[4]</sup>,与儿童群体的体型指数有显著相关<sup>[5]</sup>;而且出现该变异的人群有较高的 2 型糖尿病及高血压发病率<sup>[6]</sup>。*GHSR* 基因编码区的 1 个 SNP(171T/C)可能与肥胖相关<sup>[7]</sup>,在日本人群中该位点的 CC 基因型是导致神经性易饿病的一个因素<sup>[8]</sup>。

我国是世界水禽王国,近年来关于鸭 *GHRL* 和 *GHSR* 基因结构和多态性研究也越来越多。鸭 *GHRL* 基因全长 2 824 bp,和其他物种一样由 5 个外显子和 4 个内含子组成,其受体 *GHSR* 基因也与其他物种类似由 2 个外显子和 1 个内含子组成<sup>[9]</sup>。2009 年,李慧芳等<sup>[10]</sup>利用 PCR-SSCP 方法,在高邮鸭、金定鸭、北京鸭、建昌鸭、连城白鸭、攸县麻鸭、绍兴鸭及莆田黑鸭等 8 个国家级保护鸭品种中检测发现 *GHRL* 基因存在 3 个突变位点,分别为 157 bp 处 9 bp 的缺失、431 bp 处 T→C 的突变、909 bp 处 A→G(苏氨酸→丙氨酸)的突变;同年,李俊营等<sup>[11]</sup>在巢湖鸭群体中发现 *GHRL* 基因外显子 3 第 54 bp 位置有 G→A 碱基的点突变,外显子 5 第 149 和 166 位分别发生了 C→A 和 G→T 的突变。2010 年,Nie 等<sup>[9]</sup>对三水白鸭、北京鸭、乐昌麻鸭、乐昌水鸭等 4 个地方品种鸭 *GHRL* 和 *GHSR* 全基因直接测序筛查 SNP,发现鸭 *GHRL* 基因共 42 个 SNPs,

1 个微卫星和 1 个 9 bp 插入缺失,鸭 *GHSR* 基因共 48 个 SNPs 和 5 个插入缺失。这些都为筛选 *GHRL* 和 *GHSR* 基因中与鸭生产性能相关的 DNA 分子标记奠定了基础。

尽管如此,前人的研究仅着眼在不同地方品种的比较分析,缺少对商业群体或者资源群体的数据相关分析,关于鸭 *GHRL* 和 *GHSR* 基因与生产性能相关的研究也鲜见报道。因此,本研究以三水白鸭为研究材料,对 *GHRL* 及其受体 *GHSR* 基因部分 SNP 位点进行 PCR-RFLP 检测,并对基因的多态性与鸭生长和屠体性状进行关联分析,为寻找鸭生产性状的遗传标记奠定基础,为标记辅助选择(MAS)提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

从广东省佛山三水联科鸭场随机选取三水白鸭商品代苗鸭 200 只(♀:95 只,♂:105 只),其中水养 120 只(♀:55 只,♂:65 只),旱养 80 只(♀:40 只,♂:40 只),每种饲养方式按饲养人员分成 5 组,自由采食和饮水(水养每组♀:11 只,♂:13 只;旱养每组♀:8 只,♂:8 只)。测量初生体质量及每周龄体质量(7、14、21、28、35 和 42 日龄体质量),饲喂满 49 日龄后停止饲喂,限饲 12 h 后胫脚采血,EDTA 抗凝。屠宰并测量屠体性状,包括:49 日龄宰前体质量、屠体质量、全净膛质量、半净膛质量、胸肌质量、腿肌质量、脾脏质量、胸腺质量、翅质量;并计算各个性状变异系数。基因组 DNA 按照常规酚/氯仿方法抽提,检测质量和浓度后稀释成 20 ng·μL<sup>-1</sup> 的工作液,4℃保存备用。

*Taq* DNA 聚合酶、dNTP(each)等试剂购自上海生物工程有限公司;*Csp6 I*、*Tai 1* 等限制性内切酶购自中晶生物有限公司。

### 1.2 引物设计合成

参照 Nie 等<sup>[9]</sup>对 *GHRL* 和 *GHSR* 基因做 SNPs 筛选的结果,及 *GHRL* 基因 C-729T、C+985T 和 *GHSR* 基因 T404C、G3427A 共 4 个 SNPs

位点的基因型检测信息(表 1),重新合成引物,所有引物均由上海生物技术公司合成。

### 1.3 基因型检测

采用 PCR-RFLP 方法对所有个体进行基因型检测,PCR 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ :基因组 DNA 40 ng,1 $\times$  PCR buffer,1.5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>,0.5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs,*Taq* DNA 聚合酶 1.5 U,0.5  $\mu\text{mol} \cdot$  L<sup>-1</sup> 的上游引物和 0.5  $\mu\text{mol} \cdot$  L<sup>-1</sup> 的下游引物。PCR 反应在 PTC-200 热循环仪(BIO-RAD,USA)上进行。

PCR 反应程序:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 150 s,32 个循环

(94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,最佳退火温度(表 1)退火 45 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 45 s),72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min,10  $^{\circ}\text{C}$  保存。7  $\mu\text{L}$  PCR 产物加入 2 U 的相应限制性内切酶(表 1)及其 Buffer 于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴锅中酶切过夜,次日用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物,根据特征条带类型判定基因型。

根据酶切结果,选取 3 种不同基因型个体的 PCR 产物进行纯化后,由上海英骏生物技术公司测序。随后对测定的序列进行 BLAST 分析,以验证基因型判定的准确性。

表 1 SNP 检测所用引物<sup>[9]</sup>

Table 1 Details of primers for SNP detection<sup>[9]</sup>

基因 Gene	位点 Site <sup>1</sup>	区域 Region	引物序列(5'-3') Primers sequence	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ T <sub>m</sub>	产物长度/ bp Length	内切酶 Restriction enzyme
GHRL	C-729T	5'侧翼区	P1F: CGCATGGTAGCCTTCACACAC P1R: AGCCGATGGGTTAGCAGAGAG	56	734	<i>Csp6</i> I
	T+985C	内含子 3	P2F: TCCCCACGACAGAGTAGTTTGAG P2R: GCCTTCCCCTGCTTCCTAA	56	977	<i>Tai</i> I
GHSR	T404C	外显子 1	P3F: TGGCGTTCTCCGACCTGCTCAT P3R: ACACAGACCTCAGAAACAC	57	582	<i>Csp6</i> I
	G3427A	内含子	P4F: GCAGGTTGTTTAGATATGGCT P4R: CGTGAAAAGGCAACCAGCAGAG	56	250	<i>Csp6</i> I

<sup>1</sup>为 SNPs 在基因中的位置,鸭 GHRL 基因中 ATG 为 +1,鸭 GHSR 基因参照 GenBank(EU005225)序列的位置

<sup>1</sup>. The duck GHRL gene SNPs positions were determined according to the published duck GHRL gene sequence, and ATG was +1. Duck GHSR gene SNPs positions were determined according to the NCBI published duck GHSR gene sequence (EU005225)

### 1.4 单倍型的构建

利用 PHASE V2.0(<http://www.stat.washington.edu/stephens/software.html>)分析各基因的 SNPs 在群体中组成的单倍型情况<sup>[12]</sup>。

### 1.5 统计分析

标记与性状间的相关分析采用 SAS GLM 程序,根据性状及实验群体的特点,构建线性分析模型: $Y_{ijkl} = \mu + G_i + S_j + M_k + H_l + e_{ijkl}$ ,其中  $Y_{ijkl}$  为性状表型值, $\mu$  是群体均值, $G_i$  为基因型或单倍型的影响值, $S_j$  为性别效应值, $M_k$  为饲养方式效应, $H_l$  为分组效应, $e_{ijkl}$  为残差效应。不同基因型间的比较分析采用最小二乘法,结果用最小二乘均值 $\pm$ 标准误表示。基因型效应分析中加性效应 = (AA-BB)/2,显性效应 = AB-(AA+BB)/2。

## 2 结果

### 2.1 群体各生长和屠体性状的表型差异

该鸭群生长屠体性状的表型参数见表 2,初生体质量变异系数最低为 9.90%,胸肌质量变异系数最高为 43.93%。表型数据测定表明各生长和屠体性状的遗传变异相对较大,该群体适合用于标记与性状的关联分析。

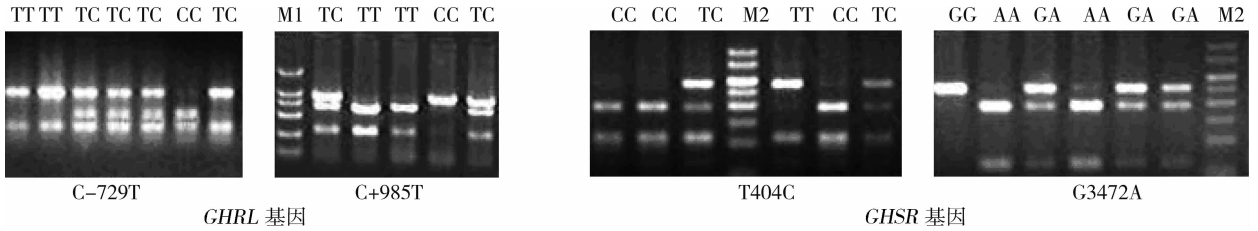
### 2.2 鸭 GHRL 及其受体 GHSR 基因 SNPs 基因型判定

PCR-RFLP 检测结果见图 1,GHRL 基因的 C-729T、C+985T 和 GHSR 基因的 T404C、G3427A 位点不同基因型的 PCR 产物经测序后显示所扩增的产物为目的片段,所检测的 SNPs 位点上测序结果与之前的基因型判定结果一致。

表 2 三水白鸭生长屠体性状的表型参数

Table 2 Parameters of phenotype on growth and carcass traits in Sanshui ducks

表型	变异系数/%	表型	变异系数/%	表型	变异系数/%	表型	变异系数/%	表型	变异系数/%
Phenotype	C. V	Phenotype	C. V	Phenotype	C. V	Phenotype	C. V	Phenotype	C. V
初生体质量	9.90	21 日龄体质量	13.66	49 日龄体质量	19.69	半净膛质量	15.70	脾脏质量	23.75
7 日龄体质量	12.37	28 日龄体质量	17.30	屠体质量	19.39	腿肌质量	23.91	胸腺质量	36.02
14 日龄体质量	12.30	35 日龄体质量	16.33	全净膛质量	27.12	胸肌质量	43.93	翅质量	19.63



M1. DL 2000 Maker(2 000、1 000、750、500、250、100 bp); M2. 50 bp Lander Maker(500、400、300、250、200、150、100、50 bp)

图 1 鸭 GHRL 和 GHSR 基因 SNPs 位点的 RFLP 电泳图谱

Fig. 1 RFLP map of two SNPs of duck for GHRL and GHSR genes, respectively

## 2.2 GHRL 基因多态性与鸭生长、屠体性状的相关分析

2.2.1 C-729T、C+985T 与鸭生长、屠体性状的相关性 从表 3 可知,SNP 位点 C-729T 与 35 日龄体质量、全净膛质量、胸腺质量显著相关 ( $P < 0.05$ ),与 21、28 及 49 日龄体质量相关性极显著 ( $P$

$< 0.01$ );在各性状中 TC 基因型个体均值均显著或极显著高于 TT 和 CC 基因型个体,杂合子优势明显;从该位点对生长和屠体性状的作用方式看,这个位点主要是以显性方式起作用,杂合子有利于这 6 个性状的表现;而 C+985T 位点与各生长屠体性状关联性不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 3 GHRL 及其受体 GHSR 基因多态性与鸭生长、屠体性状的相关性

Table 3 Associations of GHRL and GHSR genes polymorphisms with duck growth and carcass traits

SNP	性状/g Trait	P 值 P value	基因型 <sup>1</sup> Genotype <sup>1</sup>			加性效应 Additive effect	显性效应 Dominant effect	
			TT(97)	TC(62)	CC(26)			
GHRL	21 日龄体质量	0.005 9	776.81±17.24 <sup>a</sup>	864.57±23.61 <sup>B</sup>	860.31±35.00 <sup>b</sup>	-41.75	46.01	
	28 日龄体质量	0.002 9	1 138.25±33.42 <sup>a</sup>	1 308.63±45.55 <sup>B</sup>	1 337.50±67.80 <sup>b</sup>	-99.63	70.75	
	35 日龄体质量	0.048 0	1 596.06±46.39 <sup>a</sup>	1 768.50±63.21 <sup>b</sup>	1 718.46±100.69 <sup>ab</sup>	-61.20	111.24	
	C-729T	49 日龄体质量	0.008 1	1 870.00±0.05 <sup>a</sup>	2 120.00±0.064 <sup>B</sup>	2 040.00±0.11 <sup>b</sup>	-85.00	165.00
	全净膛质量	0.049 3	1 912.16±22.74 <sup>a</sup>	1 993.06±27.47 <sup>b</sup>	1 908.87±42.50 <sup>ab</sup>	1.65	82.55	
	胸腺质量	0.044 4	13.73±0.68 <sup>ab</sup>	15.38±0.80 <sup>a</sup>	11.64±1.27 <sup>b</sup>	1.05	2.70	
GHSR	T404C	腿肌质量	0.034 3	130.17±1.80 <sup>a</sup>	133.87±1.94 <sup>ab</sup>	140.48±3.64 <sup>b</sup>	-5.16	-1.46
		脾脏质量	0.045 7	2.58±0.08 <sup>a</sup>	2.26±0.11 <sup>b</sup>	2.67±0.18 <sup>ab</sup>	-0.05	-0.37
				CC(89)	TC(78)	TT(20)		
	G3472A	35 日龄体质量	0.036 1	1 193.28±200.73 <sup>a</sup>	1 660.92±60.32 <sup>b</sup>	1 731.77±48.27 <sup>b</sup>	-268.86	198.40
		49 日龄体质量	0.003 3	2 398.47±0.09 <sup>a</sup>	2 730.95±0.03 <sup>B</sup>	2 748.39±0.02 <sup>B</sup>	-174.96	157.52
		屠体质量	0.003 8	2 046.83±89.30 <sup>a</sup>	2 326.03±29.44 <sup>B</sup>	2 355.49±23.69 <sup>B</sup>	-154.33	124.87
		半净膛质量	0.015 5	1 844.70±75.13 <sup>a</sup>	2 063.91±24.09 <sup>B</sup>	2 067.88±19.22 <sup>B</sup>	-111.59	107.62
		全净膛质量	0.007 8	1 685.89±83.68 <sup>a</sup>	1 941.74±52.63 <sup>B</sup>	1 956.26±21.41 <sup>B</sup>	-122.06	120.67
		翅质量	0.018 8	58.19±11.45 <sup>a</sup>	83.75±4.18 <sup>b</sup>	91.23±3.31 <sup>B</sup>	-16.52	9.04

<sup>1</sup>. 最小二乘均值±标准误,括号内为各基因型个体数;性状均值间上标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),不同大写字母间表示差异达到极显著水平 ( $P < 0.01$ )

<sup>1</sup>. Least-square Means ± SE; and number in brackets show the numbers of tested individuals of each genotype. Means of each trait with the different superscripts indicate different level of significance; the small letters indicate the level of significance at  $P < 0.05$ , the capital letters indicate the level of significance at  $P < 0.01$

2.2.2 *GHRL* 基因单倍型与鸭生长、屠体性状的关联性 基于 PHASE 软件的分析表明, C-729T、C+985T 在三水白鸭群体中, 频率大于 1% 的单倍型有 4 种, 分别为 H1(CC, 0.294 1)、H2(CT, 0.080 2)、H3(TC, 0.248 7)和 H4(TT, 0.377 0)。构建的单倍型组合 9 种: H1H1(22 个)、H1H2(2 个)、H1H3(26 个)、H1H4(36 个)、H2H2(1 个)、H2H4(26 个)、H3H3(14 个)、H3H4(38 个)、H4H4(20 个), 与各生长、屠体性状的关联分析表明, 其单倍型与 21( $P=0.013 0$ )、28( $P=0.041 1$ )、49 日龄体质量( $P=0.042 9$ )及胸肌质量( $P=0.032 7$ )显著相关( $P<0.05$ ); H2H2 型个体 21 和 28 日龄体质量大于其他单倍型组合个体; H1H2 组合(CC/CT)的个体比其他单倍型组合个体具有较高的 49 日龄体质量和胸肌质量均值。

### 2.3 *GHSR* 基因多态性与鸭生长、屠体性状的关联性

2.3.1 T404C、G3427A 与鸭生长、屠体性状的关联性 SNP 位点 T404C 与腿肌质量和脾脏质量显著相关( $P<0.05$ ); 从表 3 中可知, TT 型个体腿肌质量均值高于 CC 和 TC 型个体, 并与 CC 型差异显著( $P<0.05$ ), TC 基因型与其他 2 种基因型间差异不显著( $P>0.05$ ); 在脾脏质量性状中 TT 基因型也是高于其他 2 种基因型, 但与它们间差异不显著, TC 基因型最低, 与 CC 型间差异显著( $P<0.05$ ); 加性效应和显性效应的计算也表明 T 等位基因是优势等位基因(表 3)。G3427A 位点与 35 日龄体质量、半净膛质量及翅质量显著相关( $P<0.05$ ), 与 49 日龄体质量、屠体质量及全净膛质量相关性极显著( $P<0.01$ ); 从表 3 中可知; GG 基因型在各性状中个体均值最低, 与 AG 和 AA 基因型间差异表现为显著或是极显著( $P<0.05$ ), AG 和 AA 型间差异不显著( $P>0.05$ ), 加性效应和显性效应值也显示 G 等位基因并不是优势等位基因(表 3)。

2.3.2 *GHSR* 基因单倍型与鸭生长、屠体性状的关联性 基于 PHASE 软件的分析表明, T404C、G3427A 在三水白鸭群体中, 频率大于 1% 的单倍型有 3 种, 分别为 Z1(TA, 0.292 8)、Z2(CA, 0.4861)和 Z3(CG, 0.2209)。构建的单倍型组有 6 种: Z1Z1(20 个)、Z1Z2(50 个)、Z1Z3(28 个)、Z2Z2(43 个)、Z2Z3(40 个)、Z3Z3(6 个); 与各生长、屠体性状的关联分析表明, 其单倍型与 49 日龄体质量( $P=0.022 9$ )、半净膛质量( $P=0.017 8$ )、全净膛质量( $P=0.040 3$ )、屠体质量( $P=0.046 2$ )、腿肌质量( $P=0.037 1$ )、脾脏

质量( $P=0.031 1$ )显著相关( $P<0.05$ ); Z1Z1 型个体 49 日龄体质量、半净膛质量和腿肌质量等性状均值大于其他的单倍型组, Z1Z3 型个体在全净膛质量和屠体质量均值大于其他的单倍型组, 而 Z3Z3 型个体的脾脏质量均值小于其他的单倍型组。

## 3 讨论

本试验通过对 *GHRL* 和 *GHSR* 基因多态性与鸭生长屠体性状的相关性研究显示, *GHRL* 基因 C-729T、*GHSR* 基因 T404C 和 G3427A 突变与鸭生长和屠体性状显著相关, 这与 *GHRL*、*GHSR* 的生理功能是密不可分的。一方面, 大量的研究证实 *GHRL*/*GHSR* 系统对机体生长发育的重要作用<sup>[1-3]</sup>; 另一方面, *GHRL* 和 *GHSR* 基因的多态对机体生长、脂肪沉积等性状也有着一定的影响。例如人类的研究表明这 2 个基因部分 SNP 与肥胖、型体指数等显著相关<sup>[4-8]</sup>。家禽中的相关研究也显示: *GHRL* 基因的 3 个 SNPs 与羽羽乌骨鸡 16 周龄体质量和胫长相关<sup>[13]</sup>, 外显子 1 处的 8 bp 插入缺失多态与鸡生长和屠体性状显著相关<sup>[14]</sup>, 内含子 C2100T 位点与第 1、6、9 周龄体质量及皮下脂肪厚度等性状相关<sup>[15]</sup>; 内含子 1 的 157 bp 处 9 bp 的插入缺失突变, 内含子 2 的 431 bp 处 T→C 的突变, 外显子 3 的 909 bp 处 A→G 的突变, 分别与高邮鸭产蛋数、开产体质量、最大连产天数显著相关<sup>[16]</sup>。*GHSR* 基因外显子 1 上的 G18790036A 位点与鸡皮下脂肪带宽度极显著相关<sup>[17]</sup>, 内含子上的 c.739+726T>C 位点与鸡生长和屠体性状显著相关<sup>[18]</sup>。这些都表明 *GHRL* 及其受体 *GHSR* 基因是畜禽生产中的重要候选基因, 对其选择有效的分子标记能够促进畜禽生产性能的提高。

另外, Nie 等<sup>[9]</sup>对生长快大的三水白鸭和生长缓慢的麻鸭各组织中 mRNA 表达研究也表明, *GHRL* 基因 mRNA 在三水白鸭腺胃中的表达显著高于麻鸭, *GHSR* 基因也呈现不同程度的表达差异; 该研究对三水白鸭随机群体研究同样证实了 *GHRL* 基因的 C-729T 位点和 *GHSR* 基因的 G3427A 位点均与鸭皮下脂肪沉积显著相关。该研究侧重于与脂肪沉积的相关性, 而机体生长、屠体等性状与脂肪的沉积是有一定的正相关, 本文中对这 2 个 SNP 的分析也证实了这一点: C-729T 和 G3427A 位点与鸭的生长屠体性状有显著相关。这进一步表明 *GHRL* 基因及其受体 *GHSR* 基因是影

响鸭生产性能的重要候选基因, GHRL 基因的 C-729T 位点和 GHSR 基因的 T404C、G3427A 位点可以作为鸭生长、屠体性状的分子标记位点。此外, 利用多个相邻多态性位点构建单倍型块, 是研究复杂性状相关基因的有效策略。本研究利用单倍型分析方法对所选择 SNPs 进行分析, 结果显示 GHRL 基因 C-729T 和 C+985T 位点所构建的单倍型与鸭 21、28、49 日龄体质量及胸肌质量显著相关 ( $P < 0.05$ ), 这与单个 C-729T 位点分析的结果较为一致; GHSR 基因 T404C 和 G3427A 位点所构建的单倍型与鸭 49 日龄体质量、半净膛质量、全净膛质量、屠体质量、腿肌质量、脾脏质量显著相关 ( $P < 0.05$ ), 也与 2 个 SNP 单独分析的结果一致。可见, GHRL 基因的 C-729T 位点和 GHSR 基因的 T404C、G3427A 位点对鸭的生长和屠体性状的选育具有重要意义。

5'侧翼区和内含子是基因序列中不编码氨基酸的区域, 研究表明这些非编码区存在着基因表达调控的顺式作用元件如启动子、增强子等, 也是基因反式作用因子的特异结合区域<sup>[19-20]</sup>。因此非编码区的突变或许更具有生物学意义。本试验中与鸭生长屠体性状显著相关的 C-729T 和 G3427A 位点分别位于基因的 5'侧翼区和内含子中, 其变异可能影响 GHRL 和 GHSR 基因转录的效率。而 T404C 是鸭 GHSR 基因外显子 1 的一个同义突变, 虽然其突变没有引起蛋白氨基酸的改变, 也不大可能与基因的表达调控有关, 但这或许会由于密码子的偏好性引起转录效率的改变。总之, GHRL 及其受体 GHSR 基因的变异可能影响体内内分泌失调, 从而导致个体生长差异, 具体原因还有待于进一步的研究。

## 4 结 论

通过对 GHRL 及其受体 GHSR 基因 4 个多态位点与鸭生长和屠体性状的关联分析, 发现 GHRL 基因的 C-729T 位点和 GHSR 基因中 T404C、G3427A 位点与鸭的生长和屠体性状显著相关, 具有选育意义。

## 参考文献:

[1] KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 656-660.  
[2] SEOANE L M, AL-MASSADI O, LAGE M, et al.

Ghrelin: from a GH-secretagogue to the regulation of food intake, sleep and anxiety [J]. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2004, (Suppl 3): 432-437.

- [3] HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin [J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 100(5): 398-410.  
[4] UKKOLA O, RAVUSSIN E, JACOBSON P, et al. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(8): 3996-3999.  
[5] KORBONITS M, GUEORGUIEV M, O'GRADY E, et al. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(8): 4005-4008.  
[6] POYKKO S, UKKOLA O, KAUMA H, et al. Ghrelin Arg51Gln mutation is a risk factor for Type 2 diabetes and hypertension in a random sample of middle-aged subjects [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(4): 455-458.  
[7] WANG H J, GELLER F, DEMPFLER A, et al. Ghrelin receptor gene: identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(1): 157-162.  
[8] MIYASAKA K, HOSOYA H, SEKIME A, et al. Association of ghrelin receptor gene polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population [J]. *J Neural Transm*, 2006, 113(9): 1279-1285.  
[9] NIE Q, FANG M, XIE L, et al. Molecular characterization of the ghrelin and ghrelin receptor genes and effects on fat deposition in chicken and duck [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2009, 2009: 567120.  
[10] 李慧芳, 朱文奇, 徐文娟, 等. 鸭生长素基因单核苷酸多态性分析 [J]. *江苏农业学报*, 2009, 25(3): 576-582.  
[11] 李俊营, 詹凯, 许月英, 等. 巢湖鸭生长素基因和垂体特异性转录因子 1 基因的 PCR-SSCP 检测 [J]. *中国畜牧兽医*, 2009, 36(5): 107-111.  
[12] STEPHENS M, SMITH N, DONNELLY P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 68: 978-989.  
[13] LI C C, LI K, LI J, et al. Polymorphism of ghrelin gene in twelve indigenous chicken breeds and its relationship with chicken growth traits [J]. *Asian-Aust J*

- Anim Sci*, 2006, 19: 153-159.
- [14] FANG M, NIE Q, LUO C, et al. An 8 bp indel in exon 1 of Ghrelin gene associated with chicken growth [J]. *Domestic Anim Endocrinol*, 2007, 32(3): 216-225.
- [15] 何丹林, 方梅霞, 聂庆华, 等. 鸡 Ghrelin 基因 C2100T 位点与生长和脂肪性状的相关性[J]. *广东农业科学*, 2007, 4: 73-75.
- [16] 朱文奇, 李慧芳, 宋卫涛, 等. 生长素基因 Ghrelin 对高邮鸭产蛋性能的遗传效应 [J]. *四川农业大学学报*, 2009, 27(3): 354-359.
- [17] LEI M, LUO C, PENG X, et al. Polymorphism of growth-correlated genes associated with fatness and muscle fiber traits in chickens [J]. *Poult Sci*, 2007, 86(5): 835-842.
- [18] FANG M, NIE Q, LUO C, et al. Associations of GHSR gene polymorphisms with chicken growth and carcass traits [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(1): 423-428.
- [19] LATCHMAN D S. Gene Regulation- A Eukaryotic Perspective (Third edition) [M]. Stanley Thornes (Publishers)Ltd. United Kingdom, 1998: 345-310.
- [20] MALL E T J, HOU HOU L, PAJA K F, et al. The cholinergic locus: ChAT and VAcHt genes [J]. *Physiol Paris*, 1998, 92: 145-147.

(编辑 郭云雁)