

苏淮猪抗腹泻 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性 及其与经济性状的关联

刘晨曦^{1,2}, 王彬彬^{1,2}, 蒲广^{1,2}, 张倩^{1,2}, 曹旻^{1,2}, 王欢^{1,2}, 高琛^{1,2}, 牛培培^{2,3}, 李平华^{1,2,3}, 黄瑞华^{1,2,3}

(¹南京农业大学养猪研究所/动物科技学院, 南京 210095; ²南京农业大学淮安研究院, 江苏淮安 223005; ³淮安市南农大新农村发展研究有限公司, 江苏淮安 223005)

摘要:【背景】MUC13 基因是调控致使仔猪断奶前腹泻的产肠毒素大肠杆菌 F4ac 感染的主效基因, 该基因上 *rs319699771* 位点 (G/A 突变) 能准确鉴别易感和抗性个体, 其中 GG 型是抗腹泻基因型, 苏淮猪抗腹泻性能分子选育是通过选留 GG 型个体来实现。但在选留抗腹泻 GG 型个体时是否会对苏淮猪其它重要经济性状如生长、胴体、肉质产生不利影响尚未明晰。【目的】旨在分析该位点是否与其它性状关联, 以确定基于 MUC13 基因 *rs319699771* 位点抗腹泻性能的分子选育是否会对苏淮猪其它经济性状产生不利影响。【方法】以 313 头体重为 87.61 ± 0.54 kg 的苏淮育肥猪为试验动物, 屠宰测定其胴体和肉质性状, 以 261 头日龄为 161.1 ± 0.5 d 苏淮后备猪为试验动物, 测定其生长、体尺性状, 同时采集相应苏淮育肥猪和后备猪群耳组织样提取组织 DNA, 经过多重 PCR 反应进行 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性检测, 采用 SAS 软件中一般线性模型分析 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性基因型和苏淮猪肉质、胴体和生长性状的关联性。【结果】MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性检测结果显示, 苏淮猪育肥群公、母猪群体 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的抗腹泻 G 等位基因频率分别为 0.695 和 0.634, 抗腹泻优势 GG 型频率在苏淮猪育肥群公、母群体中分别为 0.467 和 0.373; 该位点抗腹泻 G 等位基因频率在苏淮后备群公、母猪群体分别为 0.690 和 0.705, 抗腹泻优势 GG 型频率在后备群公、母猪群体中分别为 0.508 和 0.480, 说明苏淮猪抗腹泻等位基因频率较高, 通过分子选育提升苏淮猪抗腹泻 GG 型频率的可行性强。MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与苏淮猪经济性状关联分析结果显示: 育肥猪群体该位点多态性与胴体、肉质性状均无显著关联 ($P > 0.05$), 可见在苏淮猪育肥猪群体内加大对抗腹泻 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的选育不会影响到苏淮育肥猪的胴体和肉质性状; 苏淮后备猪群体该位点多态性与腿臀围指标存在极显著关联 ($P < 0.01$), 该位点 GG 型个体腿臀围平均比比 AG 型个体腿臀围长 1.46 cm, 比 AA 型个体腿臀围长 3 cm; 与日增重和结测体重的关联性分析有关联趋势 ($P < 0.10$), GG 型个体相较于 AA、AG 型个体有提升趋势, 对于这三个性状来说, 有利基因型都是 GG 型, 说明选留该位点 GG 型进行苏淮后备猪抗腹泻选育的同时还可以提升苏淮后备猪生长相关性状。【结论】据此, 苏淮猪群体 MUC13 基因 *rs319699771* 位点抗腹泻等位基因频率较高, 进行抗腹泻选育的可行性强, 同时对于苏淮猪群体, 不仅可通过选留提升 MUC13 基因 *rs319699771* 位点 GG 型频率来提高抗腹泻能力, 还能同时实现对苏淮猪群腿臀围、日增重的选育提升。

关键词: 苏淮猪; MUC13 基因; 抗腹泻; 经济性状; 关联性分析

Polymorphism of *Rs319699771* Locus of Anti-Diarrhea MUC13 Gene in Suhuai Pig Population and Their Association with Economic Traits

LIU ChenXi^{1,2}, WANG BinBin^{1,2}, PU Guang^{1,2}, ZHANG Qian^{1,2}, CAO Yang^{1,2}, WANG Huan^{1,2}, GAO Chen^{1,2},
NIU PeiPei^{2,3}, LI PingHua^{1,2,3}, HUANG RuiHua^{1,2,3}

收稿日期: 2018-09-20; 接受日期: 2019-01-21

基金项目: 国家自然科学基金 (31601923, 31672381)、淮安市重点研发计划 (HAN201618, HAN201617)、江苏省农业三新工程项目 (SXGC [2017] 275)、畜禽舍内氨气浓度监测系统及控制设备的研发 (NSY2080003)、南京农业大学淮安研究院建设 (BM2017020)、“家庭牧场环境优化技术集成与推广”项目 (SXGC[2016]146)

联系方式: 刘晨曦, E-mail: 2577797585@qq.com. 通信作者李平华, E-mail: lipinghua718@163.com. 通信作者黄瑞华, 270583435@qq.com

(¹Institute of Swine Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ²Huaian Academy of Nanjing Agricultural University, Huaian Jiangsu 223005; ³ Huaian New Rural Development Co. LTD of Nanjing Agricultural University, Huaian Jiangsu 223005)

Abstract: 【Background】 MUC13 gene is one of the main genes, which can regulate the infection of enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ac, and cause diarrhea in piglets before weaning. The *rs319699771* locus of the gene (G/A mutation) can accurately identify susceptible and resistant individuals, among which GG type is an anti-diarrhea genotype. The anti-diarrhea molecular breeding of Suhuai pig has been implemented by selecting GG genotype individuals, but whether the selection of GG genotype individuals will have adverse effects on other important economic traits, such as growth, carcass and meat quality, which is not yet clear. 【Objective】 The purpose of this study was to analyze the association between the locus and other economic traits to determine whether the molecular selection based on the *rs319699771* locus of anti-diarrhea MUC13 gene would have adverse effects on other economic traits of Suhuai pig. 【Method】 In this experiment, 313 Suhuai fattening pigs weighting 87.61 ± 0.54 kg were tested as experimental animals, and their carcass and meat quality traits were determined through slaughter. 261 Suhuai gilt pigs aging for 161.1 ± 0.5 d were tested as experimental animals, and their growth and body size phenotype were also determined. At the same time, the corresponding ear tissue samples of Suhuai fattening pigs and gilt pigs were collected to extract tissue DNA. After Multiplex-PCR reactions, the polymorphism of the *rs319699771* locus of MUC13 gene was detected in each pig. The association analysis between the polymorphism genotype of the *rs319699771* locus of MUC13 gene and meat quality, carcass and growth traits were conducted by using the general linear model in SAS software. 【Result】 The results of polymorphism of *rs319699771* locus of MUC13 gene showed that among the frequency of anti-diarrhea G allele of *rs319699771* locus of MUC13 gene, the male and female pigs of the fattening pigs reached 0.695 and 0.634, respectively, and the anti-diarrhea GG genotype frequency was 0.467 and 0.373, respectively, in the male and female fattening pigs. While the locus G allele among the male and female pigs of the gilt reached 0.690 and 0.705, respectively, and the anti-diarrhea GG genotype frequency was 0.508 and 0.480, respectively, in the male and female gilt pigs. This indicated that the frequency of anti-diarrhea gene in Suhuai pig belonged to a higher level, and it could be feasible for the further improvement of anti-diarrhea GG frequency in the Suhuai pig through molecular breeding. The association analysis between polymorphism of *rs319699771* locus of MUC13 gene and economic traits of Suhuai pig showed that there was no significant association between the locus's polymorphism and carcass, meat quality traits in the fattening pigs ($P > 0.05$), and it could be seen that increasing the breeding of the *rs319699771* locus of MUC13 gene in Suhuai fattening pigs would not affect the carcass and meat quality traits. The locus's polymorphism in the gilt extremely associated with the ham circumference index ($P < 0.01$), and on average, the ham circumference of GG type individuals at this locus was about 1.46 cm longer than that of AG type individuals, and about 3 cm longer than that of AA type individuals. Also, the locus tended to associate with daily gain and terminal measurement weight ($P < 0.10$), GG type individuals showed an upward trend compared with AA and AG type individuals. All of the three traits, GG genotype was a favorable genotype. The results showed that the breeding of the anti-diarrhea GG genotype of this locus could improve the growth traits of Suhuai gilt pigs. 【Conclusion】 Based on these results, the anti-diarrhea allele frequency of the *rs319699771* locus of MUC13 gene in Suhuai pig was high, and the anti-diarrhea breeding was feasible, and the anti-diarrhea ability of Suhuai pig could be improved by selecting and remaining resistant homozygous GG genotype of *rs319699771* locus of MUC13 gene and raising the frequency of the resistant homozygous genotype. At the same time, it could also realize the improvements of ham circumference and daily gain of Suhuai pig.

Key words: Suhuai pig; MUC13 gene; anti-diarrhea; economic traits; association analysis

0 引言

【研究意义】生猪腹泻发病数约占发病猪总量的35%—45%^[1],尤其是对于哺乳和断奶仔猪来说普遍多发腹泻^[2]。仔猪腹泻发病1周致死率可以达到80%—100%^[3-4]。目前,针对仔猪腹泻的治疗方法主要是疫苗、药物等防治措施^[5],但这些均不是根本解决措施。因此,从遗传改良入手,提升猪自身抗腹泻的能力,

可从根本上改善腹泻对于生猪产业的影响。已有相关研究结合分子育种技术,通过提升猪群抗腹泻基因的有利等位基因频率来有效提高猪群体对于腹泻的抵抗能力,但与此同时是否会影响猪群其它经济性能仍需进一步研究。【前人研究进展】研究人员发现猪MUC13基因是影响仔猪断奶前腹泻的产肠毒素大肠杆菌F4ac感染的主效基因^[6-7],其机制是通过编码仔猪小肠上皮产肠毒素大肠杆菌(ETEC)F4ac亚型受体蛋白

来调控对于 ETEC F4ac 的黏附性,从而表现出对于腹泻的易感或抗性^[8-9],可应用于分子育种。任军等发现该基因 *rs319699771* 位点 G/A 突变能准确鉴别对于腹泻的易感或者抗性个体,其中该位点 GG 型为优势抗腹泻基因型,AG 型以及 AA 型为易感腹泻的基因型^[10-11]。已有相关研究证实,通过选留优势基因型 GG 型个体可有效提高群体抗腹泻能力^[12-15],但在选留 GG 型个体时是否会对其其它重要经济性状如生长、胴体和肉质等产生不利影响目前研究较少,且结果不一致。杨明等发现,杜洛克猪 GG 型个体的校正 100 kg 瘦肉率明显高于 AA 和 AG 型个体,在其它性状上 GG 型个体相较于 AA 和 AG 型个体来说没有优势^[16]。刘亚轩等发现,大白猪核心育种群的 MUC13 基因的不同基因型与其生长、肉质性状没有显著的关联性^[17]。【本研究切入点】苏淮猪作为一种优质的新型培育猪种,越来越受到高端猪肉消费市场的青睐,同时也是很多配套系组合中优质亲本的选择。为进一步提高苏淮猪群体抗腹泻能力,方宇瑜等^[18]已通过选留 MUC13 基因 *rs319699771* 位点 GG 有利基因型对苏淮猪进行选育,通过该位点选育后发现苏淮猪断奶前仔猪腹泻率有所下降。但在苏淮猪群体中,该位点是否与其生长、胴体、肉质等经济性状存在关联未知,在选留 MUC13 基因 *rs319699771* 位点 GG 有利基因型时是否会对其其它经济性状产生不利影响需要进一步研究。【拟解决的关键问题】为此,笔者所在团队先后屠宰测定了 313 头苏淮猪育肥猪群体胴体、肉质性状;活体测定了 261 头苏淮猪后备猪群体生长、体尺等性状,对 MUC13 基因 *rs319699771* 位点在苏淮猪育肥群和后备群进行多态性检测,并开展 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与苏淮猪生长、体尺、胴体和肉质等经济性状的关联性分析,为利用 MUC13 基因进一步选育提升苏淮猪抗腹泻能力的同时兼顾好其它生产性状提供积极借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验时间和地点

于 2016 年 12 月至 2017 年 5 月在淮安市金源肉品有限公司屠宰车间分批次屠宰测定苏淮育肥猪胴体和肉质性状,其中胴体性状在屠宰车间进行现场测定,并采集耳组织样和背最长肌样品,样品采集完成后随即送往南京农业大学淮安研究院进行肉质性状测定。于 2017 年 5 月至 2017 年 8 月在淮安市淮阴种猪场现场测定苏淮后备猪生长性能,并采集耳组织样。

1.2 试验动物

选取在江苏省淮安市淮阴种猪场内分别筛选的 313 头健康的育肥猪和 261 头健康的后备猪,在同样的饲养管理条件下饲养,自由饮水。育肥猪体重达 87.61 ± 0.54 kg 时送到淮安市金源肉中心进行屠宰,屠宰批次不同,屠宰前禁食 24h,自由饮水;后备猪日龄达 161.1 ± 0.5 d 时进行生长性能测定。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集与保存 采集 313 头苏淮育肥猪耳样,261 头苏淮后备猪耳样,新鲜的耳组织样品放置于 75% 浓度乙醇溶液中,并在 -20°C 环境下储存,用于 DNA 提取;采集 313 头苏淮育肥猪胸腰结合处、倒数第一至第二肋骨处和倒数第三至第六肋骨处背最长肌组织样品,背最长肌样品用真空泵 (PR4257,美吉斯) 抽真空后保存在 -20°C 环境下,其中胸腰结合处背最长肌样品用于肌肉脂肪含量的测定,倒数第一至第二肋骨处背最长肌样品用于 pH 和肉色性状的测定,倒数第三至第六肋骨处背最长肌样品用于滴水损失率和系水力的测定。

1.3.2 胴体及肉质性状测定 胴体性状测定参考《瘦肉类型的胴体性状的测定 NY/T 825-2004 技术规范》;用数字电子游标卡尺 (电子数显卡尺 0—200 mm,广陆数字测控股份有限公司) 测定 6—7 肋膘厚,同时测定以下的三点背膘厚:肩部最厚处膘厚、最后肋骨膘厚和腰荐结合膘厚,同时计算此三点背膘厚的平均值,即三点平均背膘厚;屠宰 45 min 和 24 h pH 值用 pH 计 (HI99163,北京和谐仪器有限公司) 测量;屠宰 2 h 和 24 h 后的肉色用色差计 (MiniScanEZ, HunterLab 的仪器, USA) 测定,测定内容包括亮度值 (L^*)、红度值 (a^*) 和黄度值 (b^*);参考《NY/T 821-2004 猪肌肉品质测定技术规范》测定滴水损失率,系水力和肌肉脂肪含量。

1.3.3 生长性能测定 根据文献[19]记载方法测定体重体尺;参考《NY/T 822-2004 种猪生产性能测定规程》测定日增重、活体背膘厚和活体眼肌面积。

1.3.4 DNA 的提取 耳组织样品通过苯酚/氯仿提取法提取和纯化 DNA 后测定浓度,并且将浓度稀释为 $30 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$,并储存于 -20°C 冰箱中。

1.3.5 MUC13 基因分型 本试验采用 iMLDRTM 多重 SNP 分型试剂盒 (上海天昊生物科技有限公司) 对 574 个样本进行 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的分型检测,具体分型步骤如下:

1.3.5.1 DNA 质检和浓度均一化 取 1 μL DNA 样本, 利用 1% agarose 电泳进行样本质检及浓度估计, 并将样本浓度稀释到 5—10 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的标准工作浓度。

1.3.5.2 PCR 反应 MUC13 基因 PCR 引物序列和 MUC13 基因多重 PCR 连接引物序列见表 1。其中 PCR 反应体系 (20 μL) 包含 $1\times\text{GC-Buffer}$ Takara, 3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mg^{2+} , 0.3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP, 1 U HotStar Taq

polymerase (Qiagen Inc), 1 μL 样本 DNA 和 1 μL 多重 PCR 引物。PCR 反应条件分为 4 个阶段。第一阶段为 95℃ 预变性 2 min; 第二阶段共 11 个循环, 94℃ 变性 20 s, 65℃ 退火 40 s (每个循环减少 0.5℃), 72℃ 延伸 1.5 min; 第三阶段共 24 个循环, 94℃ 变性 20 s, 59℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1.5 min; 第四阶段为 72℃ 延伸 2 min, 并置于 4℃ 保存待用。

表 1 MUC13 基因引物序列
Table 1 MUC13 gene primer sequence

MUC13 基因 MUC13 gene		引物序列 Primer sequence
PCR 引物序列	上游 Upstream	TCCTCACACCTCCTGCCTTTTC
PCR primer sequence	下游 Downstream	TCAAAACAGAGCGATTCTGGGTAA
多重 PCR 连接引物序列	MUC13_A_GFP	TGAATTTTGGCTATAGRCCTGTGGTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
Multiplex-PCR binding primer sequence	MUC13_A_GFG	TTCCGCGTTCGGACTGATATTCCATGTACATTTTCAGAGTCTGAGGGTTG
	MUC13_A_GFA	TACGGTTATTCGGGCTCCTGTTCCATGTACATTTTCAGAGTCTGAGGGCTA

引物中 R 代表兼并碱基, 为 G/A。In the primer, R represents the mergering base G/A

1.3.5.3 多重 PCR 产物纯化 取 10 μL PCR 产物, 并向其中加入 5 U SAP 酶和 2 U Exonuclease I 酶, 37℃ 温浴 1 h, 然后 75℃ 灭活 15 min。

1.3.5.4 连接反应 MUC13 基因连接引物见表 1。连接反应的反应体系: $10\times$ 连接缓冲液 1 μL 、高温连接酶 0.25 μL 、5'连接引物混合液 ($1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.4 μL 、3'连接引物混合液 ($2\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.4 μL 、纯化后多重 PCR 产物 2 μL 、ddH₂O 6 μL 混匀。连接反应的连接程序: 反应温度为 94℃ 1 min, 56℃ 4 min, 共 38 个循环, 最后 4℃ 保存。

1.3.5.5 毛细血管电泳 取 0.5 μL 稀释后的连接产物, 与 0.5 μL Liz500 SIZE STANDARD, 9 μL Hi-Di 混匀, 95℃ 变性 5 min 后, 将产物上机 ABI3730XL 测序仪进行测序。

1.3.5.6 数据收集 ABI3730XL 测序仪上收集的原始数据用 GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems, USA) 来分析并分型。

1.4 数据分析

所有原始数据均用 Excel 2013 进行整理。关联性分析采用 SAS 软件 (SAS 9.2 版本) 中相关分析法。使用一般线性模型进行肉质、胴体和生长性状和基因型的关联性分析。

1.4.1 育肥猪群体的关联性分析模型:

$$Y=\mu+G_i+S_j+N_k+D_l+e_{ijkl}$$

上述计算模型中, Y 为所测得的表型, μ 表示均

值, G_i 、 S_j 和 N_k 是基因型、性别和批次因素的固定效应, D_l 是日龄的协变量, e_{ijkl} 代表随机误差。

1.4.2 后备猪群体的关联性分析模型:

$$Y=\mu+G_i+S_j+D_k+e_{ijk}$$

上述计算模型中, Y 为所测得的表型, μ 表示均值, G_i 和 S_j 是基因型和性别的固定效应, D_k 是日龄的协变量, e_{ijk} 代表随机误差。

本文中的结果均以平均数 \pm 标准误 ($\bar{x}\pm SE$) 的形式展示。

2 结果

2.1 MUC13 基因 rs319699771位点在育肥猪和后备猪群中多态性分析

由表 2 可以看出, 在 313 头苏淮猪育肥猪群体中, 母猪、阉公猪和整个群体优势 G 等位基因频率较高, 分别为 0.634、0.695 和 0.682。在基因型方面, 母猪、阉公猪的优势抗腹泻 GG 型频率分别为 0.373, 0.467, 合计优势 GG 型为 0.447。整体优势抗腹泻 GG 型数量仍然有待进一步选育提高, 尤其是母猪的不足 40%。

在 261 头苏淮猪后备猪群体中, 母猪、公猪和整个群体优势 G 等位基因频率分别为 0.705、0.690 和 0.701。在基因型方面, 母猪、公猪优势抗腹泻 GG 型频率分别为 0.480, 0.508, 合计优势抗腹泻 GG 型为 0.487。后备猪群体在优势等位基因频率和优势基因型比例方面都优于育肥猪群体。

表 2 MUC13 基因 *rs319699771* 位点在育肥猪和后备猪群中多态性分析

Table 2 The polymorphism analysis of *rs319699771* locus of MUC13 gene in fattening and gilt pigs

群体 Group	性别 Gender (n)	基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Gene frequency	
		AA (n)	AG (n)	GG (n)	A	G
育肥群 Fattening pigs	母猪 Sow (67)	0.104 (7)	0.522 (35)	0.373 (25)	0.366	0.634
	阉公猪 Barrow (246)	0.077 (19)	0.455 (112)	0.467 (115)	0.305	0.695
	合计 Total (313)	0.083 (26)	0.470 (147)	0.447 (140)	0.318	0.682
后备群 Gilt	母猪 Sow (198)	0.071 (14)	0.449 (89)	0.480 (95)	0.295	0.705
	公猪 Boar (63)	0.127 (8)	0.365 (23)	0.508 (32)	0.310	0.690
	合计 Total (261)	0.084 (22)	0.429 (112)	0.487 (127)	0.299	0.701

2.2 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与育肥猪胴体、肉质性状关联性分析

2.2.1 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与育肥猪胴体性状关联性分析 胴体性状主要集中在胴体重量、胴体大小和胴体脂肪等几个关键指标上。表 3 显示了育肥猪群体 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与胴体性状的关联性分析结果，由此可见，育肥猪群体 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与其主要胴体性状，包括胴体重，胴体大小和各部位膘厚均无关联 ($P>0.05$)，可见在苏淮猪育肥猪群体内加大对 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的选育不会影响到育肥猪的胴体性状。

2.2.2 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与育肥猪肉质性状关联性分析 表 4 显示了育肥猪群体 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与肉质性状的关联性分析结果，由此可见，MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性仅与 2 h 红度值 a_{2h} 和 24 h 亮度值 L_{24h} 有关联趋势 ($P<0.10$)，其中 GG 型的 a_{2h} 值分别比 AA 型的 a_{2h} 值和 AG 型的 a_{2h} 值低 0.6 和 0.2 左右，GG 型的 L_{24h} 值比 AA 型的 L_{24h} 值高 1.7 左右，与 AG 型的 L_{24h} 值一致，与其余肉质性状均无关联 ($P>0.05$)。可见在苏淮猪育肥猪群体内加大对 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的选育对育肥猪肉质性状影响较小。

2.3 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与后备猪生长性状关联性分析

表 5 显示的是后备猪群体 MUC13 基因 *rs319699771* 位点与其各生长性状的关联性分析结果，只有与腿臀围这个表型性状存在极显著关联 ($P<0.01$)，GG 型个体比 AA 型个体的腿臀围平均长 3 cm，比 AG 型个体的腿臀围平均长 1.46 cm；与日增重和结测体重的关

联性分析有关联趋势 ($P<0.10$)，GG 型个体相较于 AA、AG 型个体有提升趋势；MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性和其它生长性状均没有关联，可见 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的多态性对后备猪体重的增长和腿臀围的增加有一定影响。

3 讨论

3.1 MUC13 基因 *rs319699771* 位点在苏淮猪群体的多态性

本研究团队前期对淮安市淮阴种猪场的 355 头苏淮猪核心群做了 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的多态性检测。结果发现 G 等位基因频率较高，并且制定了以提升 GG 抗腹泻基因型为目的的选育策略^[18]。本次在苏淮猪育肥群和后备群的研究结果和核心群的结果相似，G 型基因频率在苏淮猪育肥群和后备群中分别达到 0.682 和 0.701，并且相较于之前核心群来说有所提升，说明之前的选育策略正确。但苏淮猪群体中优势基因型 GG 型比例相对较少，在苏淮猪育肥群和后备群中分别为 0.447 和 0.487，没有超过 50%。这与阮国荣等研究的在 1 836 头杜洛克、长白和大白群体中优势基因型 GG 型比例 0.542 相比较少^[20]，需通过选育来提高 GG 型频率。所以，在确定 GG 型为优势抗腹泻基因型的前提下，应继续保留之前制定的选育计划，即尽量淘汰不利纯合 AA 型个体和保留有利纯合 GG 型个体，对于不利杂合 AG 型个体选择性保留，但选配时必须要和纯合的 GG 型个体进行选配。此外，后备猪优势抗腹泻基因型 GG 型频率相较于育肥猪来说高，在制定选育计划时可以加大对于后备猪不利纯合个体 AA 型和不利杂合个体 AG 型的淘汰力度，兼顾更多的生产性状。

3.2 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性对苏淮猪其它经济性状的影响及其可能的原因

对于消费市场的需求而言, 种猪选育的重点主要在于其胴体性状和肉质性状这两块。本试验发现 MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与育肥猪胴体、肉质性状无显著关联。此结果与刘亚轩等人在大白猪中的试验结果相一致^[17]。也就是说由于不存在育种的拮抗作用^[21], 肉质、胴体性状和 MUC13 基因 *rs319699771* 位点抗腹泻基因型可以独立起来进行选育, 互不影响。在后备猪群体中进行的与生长性状的关联性分析表明, MUC13 基因 *rs319699771* 位点多态性与生长性状有一定关联。与苏淮猪腿臀围性状差异极显著 ($P<0.01$), GG 型明显优于 AA 型和 AG 型个体, 与日增重和结测体重的关联性分析结果表明有关联趋势 ($P<0.10$), 日增重和结测体重的 GG 型个体比 AA、AG 型个体都略高, 表明 MUC13 基因的选育有加快后备猪生长的趋势。这与阮国荣对杜洛克猪的研究结果基本一致^[22-24]。与杨明等对温氏两个专门化父系群体 (666 头杜洛克和 512 头皮特兰) 的研究结果基本一致^[16]。与游永佳在约克夏和杜洛克猪的研究也基本一致^[25]。由于 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的多态性对苏淮猪后备猪的生长性状有一定的影响, 与腿臀围存在极显著的关联 ($P<0.01$), 并且苏淮猪此位点 GG 型个体腿臀围长度明显优于 AA 型和 AG 型个体; 对日增重和结测体重的关联性分析结果表明该位点与以上两个性状存在有显著关联的趋势 ($P<0.10$), 并且 GG 型相较于 AA、AG 型来说这两个性状朝有利方向提升, 与体高、体长等其它生长性状均没有关联, 所以在选育时既可以通过上述选育方案增加后备群体优势 GG 型的比例, 达到抗腹泻的目的, 同时达到对个体进行生长性能和腿臀围选育的效果。

对于 MUC13 基因 *rs319699771* 位点是如何对苏淮猪腿臀围等相关生长性状起到提升作用的, 推测原因可能是: 猪只通过选育 MUC13 基因 *rs319699771* 位点提升抗腹泻性能后^[12-15], 其肠道健康度增加, 肠道消化吸收能力更强, 可吸收更多的营养物质用于其骨骼和肌肉的生长发育。同时, 猪只抗腹泻性能提升后, 可节约机体免疫系统中用于抵抗、杀灭病原菌而消耗的蛋白与能量, 从而拥有更多的营养物质用于其骨骼和肌肉的生长发育。已有文献表明, 随着腹泻率的降低, 猪的一些重要的生长性能和发育性状会有一定的提升^[26-29]。这表明猪群的腹泻率和其生长性能存

在一定的相关性, 但其背后系统的机制要有待进一步研究。

3.3 MUC13 基因 *rs319699771* 位点选育结合全基因组选择开展育种工作的趋势

猪腹泻是由诸多内外因素造成。对于苏淮猪抗腹泻性能的选育, 仅仅通过 MUC13 这一个主效基因的选育是不够的。还应同时对 *FUT1*、*ITGB5* 等已报道的猪抗腹泻基因结合起来共同选育^[30-31]。此外, 除了运用猪抗腹泻性状主效基因开展分子标记辅助选育的方法外, 对于腹泻这类复杂性状还需运用全基因组选育方法开展育种工作。全基因组选择育种是利用中等或者高密度芯片中大量的 SNP 标记信息估计出个体在全基因组水平的育种值的一种新的育种方法^[32]。目前, 这种技术已经在奶牛育种中广泛应用^[21,33], 而且随着猪中等密度芯片检测费用降低, 已经开始在育种中应用。对于苏淮猪群体抗腹泻选育来说, 建立数量较大、腹泻表型记录准确的参考群体是其全基因组选育的关键点, 也是难点, 需要育种人员和生产管理人员的共同努力。为了有效提升苏淮猪抗腹泻等抗病性能, 运用全基因组选择育种方法开展育种是种必然趋势。

4 结论

苏淮猪 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的选育可以提升苏淮猪的抗腹泻性能, 其中育肥猪群和后备猪群的 MUC13 基因 *rs319699771* 位点的抗性基因频率较高, 但优势基因型 GG 型相对较少, 需要持续选育提高抗性基因型 GG 型的频率来提升抗腹泻能力。苏淮猪群体中 MUC13 基因 *rs319699771* 位点抗腹泻基因型的选育对胴体、肉质性状没有影响, 对生长性状有一定的提升作用, 尤其是对体重增长和腿臀围性状, 在获得抗腹泻个体的同时可提升后备猪生长速度。

References

- [1] 孙宏伟, 王泽岩, 任少敏, 高发辉, 高小鹏, 何斌. 猪主要腹泻病的发病机制综述. 中国动物检疫, 2016, 33(03): 63-66+70.
SUN H W, WANG Z Z, REN S Y, GAO F H, GAO X P, HE B. Summary on the pathogenesis of porcine primary diarrhea diseases. *China Animal Health Inspection*, 2016, 33(03): 63-66+70. (in Chinese)
- [2] 倪建强, 原霖, 王静, 杨林, 李文合, 辛盛鹏. 2013—2015 年我国部分原种猪场猪腹泻病的流行病学调查. 中国动物检疫, 2017, 34(04): 5-9.
NI J Q, YUAN L, WANG J, YANG L, LI W H, XIN S P. Epidemiological survey on porcine diarrhea in swine breeding farms

- in China during 2013 to 2015. *China Animal Health Inspection*, 2017, 34(04): 5-9. (in Chinese)
- [3] PENSART M B, BOUCK P D. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. *Archives of Virology*, 1978, 58(3): 243-247.
- [4] TAKAHASHI K, OKADA K, OHSHIMA K. An outbreak of swine diarrhea of a new-type associated with coronavirus-like particles in Japan. *Nihon Juigaku Zasshi the Japanese Journal of Veterinary Science*, 1983, 45(6): 829-832.
- [5] 许建民, 赵德明. 仔猪肠毒素性大肠杆菌病的防治. *中国兽医杂志*, 2005(02): 48-50.
- XU J M, ZHAO D M. Prevention and control of enterotoxigenic *Escherichia coli* in piglets. *China Journal of Veterinary Medicine*, 2005(02): 48-50. (in Chinese)
- [6] ZHANG B, REN J, YAN X, HUANG X, JI H, PENG Q. Investigation of the porcine *MUC13* gene: isolation, expression, polymorphisms and strong association with susceptibility to enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ab/ac. *Animal Genetics*, 2008, 39(3): 258-266.
- [7] REN J, TANG H, YAN X, HUANG X, ZHANG B, JI H. A pig-human comparative RH map comprising 20 genes on pig chromosome 13q41 that harbours the ETEC F4ac receptor locus. *Journal of Animal Breeding & Genetics*, 2015, 126(1): 30-36.
- [8] 陈一杰. ETEC F4ac 易感和抗性猪只小肠差异蛋白的鉴别[D]. 南昌: 江西农业大学, 2011.
- CHEN Y J. Identification of differential proteins in small intestinal between piglets susceptible and resistant to ETEC F4ac[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [9] REN J, YAN X, AI H, ZHANG Z, HUANG X, OUYANG J. Susceptibility towards enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ac diarrhea is governed by the *MUC13* gene in pigs. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44573.
- [10] 任军, 晏学明, 艾华水, 肖石军, 丁能水, 黄璐生. 仔猪断奶前腹泻抗病基因育种技术的创建及应用. *猪业科学*, 2012, 29(01): 44-48.
- REN J, YAN X M, AI H S, XIAO S J, DING N S, HUANG L S. The establishment and application of the gene breeding technology of diarrhea resistance before weaning of piglets. *Swine Industry Science*, 2012, 29(01): 44-48. (in Chinese)
- [11] HUANG L, REN J, YAN X. *MUC13* molecular marker for identifying the F4ac adhesin-caused diarrhea resistance of the weanling pig and the use thereof. WO, 2010066118 A1[P]. 2010.
- [12] 熊胜利, 龙清孟, 陈大芳, 甘霖, 谭晓山, 李俊. 杜洛克种猪抗腹泻新品系选育研究. *养猪*, 2017(04): 49-52.
- XIONG S L, LONG Q M, CHEN A F, GAN L, TAN X S, LI J. Breeding research on new anti-diarrhea strains of duroc sows. *Swine Production*, 2017(04): 49-52. (in Chinese)
- [13] RUAN G R, XING Y Y, FAN Y, QIAO R M, HE X F, YANG B. Genetic variation at *RYR1*, *IGF2*, *FUT1*, *MUC13*, and *KPL2* mutations affecting production performances in Chinese commercial pig breeds. *Czech Journal of Animal Science*, 2013, 58(2): 65-70.
- [14] 李俊, 许钟峰, 张海航, 尚月丽, 孔祥峰, 石德顺. 环江香猪黏附素 13 基因多态性及其与仔猪腹泻的相关性分析. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(07): 1818-1825.
- LI J, XU Z F, ZHANG H H, SHANG L Y, KONG X F, SHI D S. Association analysis of *MUC13* gene polymorphisms with diarrhea in Huanjiang miniature pigs. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2016, 43(07): 1818-1825. (in Chinese)
- [15] 唐建红, 邓政, 林峰, 任军, 肖石军, 王闯. 抗仔猪断奶前腹泻猪专门化新品系的培育. *猪业科学*, 2013(10): 102-105.
- TANG J H, DENG Z, LIN F, REN J, XIAO S J, WANG C. Breeding of new specialization-specific strains of anti-piglet diarrhea before weaning. *Swine Industry Science*, 2013(10): 102-105. (in Chinese)
- [16] 杨明, 王青来, 刘敬顺, 刘珍云, 温淑贤, 吴珍芳. *MUC13*、*FUT1* 基因在 2 个种猪核心群中的分子标记辅助选择研究. *华南农业大学学报*, 2015, 36(06): 1-8.
- YANG M, WANG Q L, LIU J S, LIU Z Y, WEN S X, WU Z F. Molecular marker-assisted selections of *MUC13* and *FUT1* genes in the two swine nucleus populations. *Journal of South China Agricultural University*, 2015, 36(06): 1-8. (in Chinese)
- [17] 刘亚轩, 肖石军, 郭长明, 陈福珍, 林金玉, 陈晓燕. 大白猪 *MUC13* 基因多态性与生长、肉质性状的相关性. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2014, 43(03): 295-298.
- LIU Y X, XIAO S J, GUO C M, CHEN F Z, LIN J Y, CHEN X Y. The polymorphism of *MUC13* gene of large white pig and its correlation with the traits of growth and meat quality. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2014, 43(03): 295-298. (in Chinese)
- [18] 方宇瑜, 吴艳, 高硕, 李强, 李会智, 付玲玲. 苏淮猪群体抗腹泻基因 *MUC13* 和 *FUT1* 多态性分析及其抗腹泻选育方案研究. *畜牧与兽医*, 2015, 47(12): 12-17.
- FANG Y Y, WU Y, GAO S, LI Q, LI H Z, FU L L. Polymorphism analysis of anti-diarrhea genes *MUC13* and *FUT1* in Suhui pigs and its selective breeding on anti-diarrhea traits. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2015, 47(12): 12-17. (in Chinese)
- [19] 熊远. 种猪测定原理及方法. 北京: 中国农业出版社, 1999: 32-33.
- XIONG Y. *Measurement Principles And Methods Of Breeding Pigs* [M].

- Beijing: China Agriculture Press, 1999: 32-33. (in Chinese)
- [20] 阮国荣, 肖石军, 徐盼, 刘亚轩, 陈金雄, 江宵兵. 福建省商业猪种 *MUC13*、*IGF2* 和 *RYR1* 基因主效位点的遗传变异分析. 江西农业大学学报, 2012, 34(5): 997-1002.
- RUAN G R, XIAO S J, XU P, LIU Y X, CHEN J X, JIANG X B. Genetic variation of *MUC13*, *IGF2* and *RYR1* causative mutations in commercial pig breeds in Fujian Province. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 2012, 34(5): 997-1002. (in Chinese)
- [21] SCHAEFFER L R. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding & Genetics*, 2006, 123(4): 218-223.
- [22] 阮国荣, 肖石军, 刘亚轩, 陈福珍, 林国忠, 孙耀华. 杜洛克猪肠毒素大肠杆菌 F4ac *MUC13* 基因型与生长性能的关联性分析. 福建畜牧兽医, 2012, 34(06): 4-5.
- RUAN G R, XIAO S J, LIU Y X, CHEN F Z, LIN G Z, SUN Y H. Association analysis of enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ac *MUC13* genotypes and their growth performances in duroc pig. *Fujian Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2012, 34(06): 4-5. (in Chinese)
- [23] 阮国荣, 何晓芳, 黄晶, 肖石军, 陈金雄, 李军山. *MUC13* 腹泻抗性纯合杜洛克种群的选育研究. 江西农业大学学报, 2014, 36(01): 174-180.
- RUAN G R, HE X F, HUANG J, XIAO S J, CHEN J X, LI J S. Selection of Duroc breeds homozygous for *MUC13* diarrhea-resistant allele. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 2014, 36(01): 174-180. (in Chinese)
- [24] 阮国荣, 黄晶, 肖石军, 陈金雄, 李军山, 林国忠. *MUC13* 腹泻抗性纯合杜洛克选育与推广[C]// 中国猪业科技大会暨中国畜牧兽医学会 2015 年学术年会论文集, 2015: 69.
- RUAN G R, HUANG J, XIAO S J, CHEN J X, LI J S, LIN G Z. The breeding and promotion of *MUC13* diarrhea resistance homozygous duroc[C]// Proceedings of China Swine Industry Science and Technology Conference and 2015 Academic Annual Meeting of Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 2015: 69. (in Chinese)
- [25] 游永佳. 猪大肠杆菌 F4ab/ac 抵抗力相关基因单核苷酸多态型对蓝瑞斯、约克夏及杜洛克猪生长性能与屠体性状之影响[D]. 台湾: 中兴大学, 2012.
- YOU Y J. Effect of single nucleotide polymorphisms in *E. coli* F4ab/ac resistance related genes on the growth and carcass traits of Landrace, Yorkshire and Duroc pigs[D]. Taiwan: Zhongxing University, 2012. (in Chinese)
- [26] 魏清甜, 李平华, 汪涵, 石磊, 牛清, 林明新, 吴望军, 周波, 黄瑞华. 粪肠球菌替代抗生素对保育仔猪生长性能、腹泻率、体液免疫指标和肠道微生物数量的影响. 南京农业大学学报, 2014, 37(06): 143-148.
- WEI Q T, LI P H, WANG H, SHI L, NIU Q, LIN M X, WU W J, ZHOU B, HUANG R H. Effect of dietary *Enterococcus faecalis* replacing of antibiotic on growth performance, diarrhea rate, humoral immunity and intestinal microflora of nursery pigs. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2014, 37(06): 143-148. (in Chinese)
- [27] 张静洁, 温黎俊, 周玉岩. 抗菌肽对仔猪生长性能及降低腹泻率的影响. 中国动物保健, 2014, 16(10): 7-9.
- ZHANG J J, WEN L J, ZHOU Y Y. Effects of antimicrobial peptide on growth performance and reduce diarrhea rates of piglets. *China Animal Health*, 2014, 16(10): 7-9. (in Chinese)
- [28] 布登付, 郑中华. 益生菌发酵湿料对肥育猪生长性能及腹泻率的影响. 养猪, 2014(06): 47-48.
- BU D F, ZHEN Z H. Effect of probiotic fermentation wet feed on growth performance and diarrhea rate of fattening pigs. *Swine Production*, 2014(06): 47-48. (in Chinese)
- [29] 晏家友, 张纯, 李书伟, 邝声耀. 不同铜源对仔猪生长性能、腹泻率及血清免疫和抗氧化功能的影响. 中国畜牧杂志, 2018, 54(11): 93-95+100.
- YAN J Y, ZHANG C, LI S W, KUANG S Y. Effects of different copper sources on growth performance, diarrhea rate, serum immunity and antioxidant function of piglets. *Chinese Journal of Animal Science*, 2018, 54(11): 93-95+100. (in Chinese)
- [30] VÖGELI P, MEIJERINK E, FRIES R, NEUENSCHWANDER, S, VORLÄNDER N, & STRANZINGER, G. A molecular test for the detection of *E. coli* F18 receptors: a breakthrough in the struggle against edema disease and post-weaning diarrhea in swine. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 1997, 139(11): 479-484.
- [31] 王文文. 仔猪产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) F4ac 受体基因的鉴定及功能验证[D]. 北京: 中国农业大学, 2016.
- WANG W W. Identification and functional verification for *Enterotoxigenic Escherichia coli* F4acR genes in piglets[D]. Beijing: China Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [32] MEUWISSEN T H, HAYES B J, GODDARD M E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 2001, 157(4): 1819-29.
- [33] BERGLUND B. Genetic improvement of dairy cow reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals*, 2010, 43(s2): 89-95.

(责任编辑 林鉴非)