

公猪对母猪产仔数影响遗传标记研究进展与启示

曾检华¹, 代盛超^{1,2}, 李 闯¹

(1. 广东壹号食品股份有限公司, 广东 广州 510620 2. 广州艾佩克养殖技术咨询有限公司, 广州 511400)

中图分类号 S828

文献标志码: A

文章编号: 1002-1957(2016)06-0069-03

摘要 产仔数性状是繁殖性状中最重要的性状, 但公猪本身并不表现。文章通过近年来公猪精浆蛋白、精子蛋白与基因拷贝数变异等方面对母猪产仔数影响遗传标记研究进展进行分析, 探讨公猪效应对母猪产仔数影响的分子遗传机制及调控机理, 为公猪的遗传标记筛选提供参考。

关键词 公猪, 遗传标记, 产仔数, 繁殖性状, 繁殖力

DOI: 10.13257/j.cnki.21-1104/s.2016.06.021

猪繁殖力性状具有重要的经济价值, 而产仔数性状又是繁殖性状中最重要的性状, 但其遗传力低且公猪本身并不表现^[1-2]。公猪繁殖力包括生殖器官生理功能、性欲、交配能力、配种负荷能力、利用年限及与配母猪的受胎率等。

公猪对母猪产仔数的影响主要体现在公猪精液质量上, 精液质量的好坏直接影响与配母猪的受胎率和产仔数。长期以来, 常规公猪精液质量检测主要以公猪精子活力、密度、畸形率等做为评价标准, 加上检测方便, 因此广泛应用于商业化公猪精液检测^[3]。由于并未进行精子功能分析, 公猪常规精液质量分析无法准确判断公猪繁殖力, 其实际价值仍值得商榷^[3-4]。本文对近年来公猪精浆蛋白、精子蛋白与基因拷贝数变异对母猪产仔数研究进行综述, 探讨公猪效应对母猪产仔数影响的分子遗传机制, 为公猪的遗传标记筛选提供参考, 从而最大限度地挖掘公猪潜在繁殖力, 有效提高育种效率。

1 公猪精浆对母猪产仔数影响的研究

公猪精液由精子和精浆组成, 精浆由睾丸、附睾和附性腺(精囊腺、前列腺和尿道球腺)分泌产生的混合物, 富含多种有机和无机物质^[5], 为精子提供能量和营养物质, 同时影响精子功能^[6]。精浆蛋白质具有稳定精子膜, 调节精子活力和获能, 促进精卵结合和胚胎发育等作用^[7]。公猪各阶段射出的精液组成也不相同, 第 1 部分为含精子少的水样液体, 主要来自尿道球腺; 中段部分为浓精部分(SPF), 富含精子(80%以上), 悬浮液主要由附睾液和前列腺液及少量的精囊液组成; 第 3 部分

(post-SPF)精子密度递减, 主要来自精囊液和前列腺液^[8]。

Perez 等(2016)^[7]运用蛋白组学技术, 比较了公猪不同精浆部分(SPF 前 10 mL 为 P1 部分, 剩余的 SPF 为 P2, 第 3 部分即 post-SPF 为 P3)蛋白质, 共获得 409 个蛋白, 至少 250 个蛋白是首次报道。仅 20 个蛋白与其生殖过程直接相关, 其余蛋白间接影响公猪精子功能与繁殖力。相对精浆 P3 部分, 精浆 P1、P2 部分有 16 个蛋白上调表达, 18 个蛋白下调表达。该研究为公猪精子质量及繁殖力的遗传标记筛选奠定了基础。

Barranco 等(2015)^[8]研究表明, 公猪精浆富含 Th1、Th2、Th17 和 Th3 型细胞因子, 总共鉴定了包括干扰素 γ (INF- γ)、 γ 干扰素诱导蛋白 10(IP10)、白细胞介素(IL-6、IL-10、IL-7)等在内的 14 个细胞因子, 但生长调节致癌基因(CXCL1)、IL-8 和 IL-15 仅在精浆 P3 部分检测到。各细胞因子浓度存在个体差异, 在精浆 SPF 和 P3 部分间也存在差异, 且在精浆 P3 部分浓度较高($P < 0.05$)。该研究首次鉴定了精浆细胞因子表达谱, 但其对精子的功能及产仔数的影响有待进一步探索。

Barranco 等(2015)^[9]研究表明, 公猪精浆 P1 部分对氧磷酶 1(PON1)活性最高, P3 部分活性最低, 精浆 PON1 活性在公猪个体间差异极显著, 且同一公猪不同采集精液之间差异显著; 精浆 PON1 活性与精子快速前进运动的比率呈正相关, 与精子细胞内产生的活性氧呈负相关; 精浆 PON1 活性高, 母猪分娩率也高, 但对产仔数影响差异不显著。

Barranco 等(2015)^[10]对精浆中总抗氧化能力(TAC)分析结果表明, TAC 值在公猪个体间及同一个体不同次数采集精液间差异极显著; 精浆 TAC 值在不同部分间差异极显著, 且 $P1 > P2 > P3$; 精液稀释后 17 °C 储存 72 h, 其 TAC 值与精子质

收稿日期 2016-09-12

基金项目 广东扬帆计划引进创新创业团队专项(2014YT02H042); 广东省科技计划项目(2014B030302011)

作者简介: 曾检华(1979-)男, 江西会昌人, 博士, 研究方向为动物遗传育种与繁育。E-mail: zjianhua2006@163.com

量(活力与动力学)、细胞活性氧的产生、脂质过氧化作用不相关,但低TAC值精液的精子质量下降明显;TAC值与产仔数和繁殖力指数(产仔总数/总配种母猪数)呈正相关,即TAC值高,则与配母猪分娩率和产仔数也高。该结果也表明,公猪精浆高TAC值精液有助于提高受精能力和随后的胚胎发育。

2 公猪精子蛋白对产仔数影响的研究

Kwon等(2015)^[11]为了研究公猪精子中潜在影响产仔数的遗传标记,采用蛋白组学方法对长白猪高产仔公猪与低产仔公猪精子进行比较分析。该研究根据与配母猪平均产活仔数,将公猪分成高产仔数组(12.3 ± 0.07)和低产仔数组(10.2 ± 0.09),两组产活仔数差异极显著($P<0.01$)。然而,对两组精液精子活力、动力学(曲线运动速度、直线运动速度、平均路径速度、平均头侧摆幅度)、精子获能状态(顶体反应率AR值、未获能精子百分率、获能精子百分率)等检测结果表明,两组间各项指标并无显著性差异。两组精子蛋白组学研究及其表达量与产仔数的相关性分析表明,L-氨基酸氧化酶(LAAO)、线粒体苹果酸脱氢酶2(NAD/MDH2)、胞浆5'核苷酸酶1B(NT5C1B)、溶菌酶样蛋白4(LYZL4)、钙调蛋白(CALM)等5种蛋白在高产仔数公猪精子中表达丰富且差异显著,而赤道素(EQTN)、精子黏附蛋白AWN和AQN-3、磷酸丙糖异构酶(TPI)、Ras相关蛋白Rab-2A(RAB2A)、NADH脱氢酶铁硫蛋白2(NDUFS2)等6种蛋白在低产仔公猪精子中显著高表达。这些差异表达蛋白主要与精子能动性、精子获能、顶体反应、精卵结合及受精有关。该研究结果也为公猪繁殖力遗传标记的筛选提供了参考。

同时,Kwon等(2015)^[12]另一项蛋白组学研究表明,在高产仔(10.99 ± 0.01)与低产仔(6.23 ± 0.38)杜洛克公猪精子中,存在20个差异表达蛋白,其中19个蛋白在低产仔公猪精子中上调表达,仅1个蛋白在高产仔公猪精子中高表达。这些蛋白包括磷酸化相关蛋白、顶体反应相关蛋白、糖酵解/柠檬酸循环相关蛋白和抗氧化相关蛋白等。该研究为低产仔数公猪精子遗传标记研究提供了基础。

由于精子获能后才能受精。因此,Kwon等(2015)^[13]采用27头长白公猪,与配2~5胎经产母猪983头,平均产仔数(11.47 ± 1.19),同时对精子活力、精子获能状态及其与产仔数的相关性进行分析。结果表明,精子活力、精子获能前后动力学与产仔数并无显著性相关,此外精子获能前的获能状态也与产仔数无关。然而,精子获能后的顶体反应率AR值 $<17.5\%$ 的平均产仔数11.1,而AR值 $\geq 17.5\%$ 平均产

仔数11.98,差异显著,且AR值与产仔数呈正相关。据此,Kwon等(2015)^[14]建议精子常规分析与精子获能状态分析相结合,可为公猪繁殖力提供更加准确的评估。

Kwon等(2014)^[12]鉴定了长白公猪10个公猪精子获能前后差异表达蛋白,包括RAB2A、磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶(PHGPx)和线粒体丙酮酸脱氢酶E1亚基(PDHB)在精子获能前表达上调,而这些蛋白与活性氧(ROS)和功能代谢、精子活力、精子活化、顶体反应和精卵结合等功能有关。其中至少有5个蛋白与相应信号通路有关,但仍有极少数蛋白功能未知。这些蛋白可作为精子获能时的候选标记去评估或预测与公猪繁殖力相关的性状。

此外,公猪精子芳香化酶CYP19A1(aromatase, CYP19A1)影响精子穿透率和卵裂率,从而影响公猪繁殖力^[13]。

3 公猪基因拷贝数变异与母猪产仔数

Revay等(2015)^[14]研究了公猪拷贝数变异(CNV)对母猪产仔数的影响。该研究首先通过遗传评估,对超过38000头公猪进行产仔数直接公猪效应(DBE)计算,由于DBE值校正了环境效应及其与配母猪育种值,因而较直接计算公猪平均产仔数更加准确。对高产仔数公猪[DBE值(2.83 ± 0.61)]和低产仔公猪[DBE值(-2.72 ± 0.79)]进行比较,发现35个拷贝数变异区(CNVR),覆盖了约1.3%的猪基因组序列,其中30个CNVR与137个繁殖性状相关的数量性状基因座(QTL)部分重叠,包括乳头数量、初情期、血浆促卵泡素(FSH)浓度、妊娠期、睾丸重量等。高产仔公猪特异性CNVR 14个,低产仔公猪特异性CNVR 19个。在这35个CNVR中,包含50个基因,其中40个基因在低产仔公猪呈现特异性,7个基因在高产仔公猪中呈现特异性,另外3个基因在两个群体中呈现相对的重叠或缺失状态。

功能分析结果表明,低产仔公猪CNVR主要富集在先天免疫系统和脂肪酸氧化途径等通路中。其中,先天免疫系统包括Toll样受体(TLR)和RIG-I样受体介导的干扰素信号通路,这些蛋白位于生殖道内,可能与公猪生殖道感染及低繁殖力有关。脂肪酸氧化途径与多种细胞功能相关,包括线粒体能量产生、氧化应激、细胞质和细胞膜功能等,这些生物学过程通过精子细胞发育和受精能力来影响公猪繁殖力。然而,高产仔公猪CNVR并未显著富集在任何其他通路中。此外,miR-21、miR-142、miR-143、miR-145在低产仔数公猪中呈现特异性,但与所检测的35个CNV无关。该研究为低产仔数公猪

潜在 CNV 标记提供了基础,也为公猪对母猪产仔数选育提供了新的方法和思路。

哺乳动物大部分基因存在 2 个拷贝数,这些基因主要通过重复和缺失的方式导致 1~2 个拷贝数变异^[15]。然而,睾丸特异蛋白 Y 基因(TSPY)属于罕见的多拷贝基因,且存在较高的个体差异,其拷贝数变异与繁殖力相关^[16]。Quach 等(2015)^[17]研究表明,公猪 TSPY 基因在 Y 染色体短臂上平均有 3 个拷贝数,高产仔(DBE 值平均 3.03)与低产仔(DBE 值平均-2.42)公猪 TSPY 基因拷贝数差异不显著,平均拷贝数分别为 2.65、2.70,但均低于正常产仔数公猪拷贝数(3.01)。该结果也表明,相对其他物种多拷贝数而言,公猪 3 个较低拷贝数的 TSPY 基因可维持基础繁殖力。

4 小结

综上所述,精浆蛋白质、精子蛋白质与生殖道蛋白涉及精子一系列的功能活动,在生殖过程中影响精子功能,包括精子超活化与获能、顶体反应及精卵结合等,这些蛋白质不可或缺,与公猪繁殖力高低密切相关^[18-19],最终影响与配母猪产仔数。

近年来的研究尽管揭示了一些蛋白分子与公猪精子功能及产仔数的相关性,但由于公猪品种及研究群体的差异,导致试验的重复性和实际的应用性存在一定差异,因此这些分子标记还不足以客观地评价公猪的繁殖力^[18]。例如,同一研究小组 Kwon 等对长白猪^[11]和杜洛克^[3]公猪高、低产仔数精子蛋白质分别进行蛋白组学研究,获得了不同的差异表达蛋白。此外,不同长白猪公猪群体研究结果也存在差异,Kwon 等(2015)^[11]对高、低产仔数的公猪精子功能检测表明两者间无显著差异;而 Kwon 等(2015)^[14]结果表明,精子顶体反应率 AR 值与产仔数相关。这些结果的差异可能与品种及不同群体有关。除此之外,Kwon 等^[3-4,11]系列文献对公猪的评估采用与配母猪平均产仔数,其结果的差异亦可能受环境效应与母猪繁殖力差异影响。

因此,深入挖掘与公猪繁殖力相关的信息,有助于进一步了解公猪对母猪产仔数影响的分子机制及调控机理,以寻找与之相关的分子遗传标记,并建立简便、客观、高效的评估方法,促进遗传标记在猪遗传改良中的应用。同时,精子常规分析与精子功能分析相结合,可为公猪繁殖力提供更加准确的评估从而指导辅助育种工作,提高种公猪生产效率。

参考文献

[1] 彭中镇,曹胜炎,刘志富. BLUP 法在公猪产仔数遗传评估上的应用[J]. 华中农业大学学报, 1990(1): 30-36.

- [2] 侯振平,蒋思文. 猪产仔数的遗传改良研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2003(4): 26-28.
- [3] Kwon W S, Oh S A, Kim Y J, *et al.* Proteomic approaches for profiling negative fertility markers in inferior boar spermatozoa[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13821.
- [4] Kwon W S, Rahman M S, Lee J S, *et al.* Improving litter size by boar spermatozoa: application of combined H33258/CTC staining in field trial with artificial insemination[J]. *Andrology*, 2015, 3(3): 552-557.
- [5] Jonakova V, Manaskova P, Ticha M. Separation, characterization and identification of boar seminal plasma proteins[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 849(1-2): 307-314.
- [6] Rodriguez-Martinez H, Kvist U, Ernerudh J, *et al.* Seminal plasma proteins: what role do they play? [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 66: 11-22.
- [7] Perez-Patino C, Barranco I, Parrilla I, *et al.* Characterization of the porcine seminal plasma proteome comparing ejaculate portions[J]. *J Proteomics*, 2016, 142: 15-23.
- [8] Barranco I, Ruber M, Perez-Patino C, *et al.* The seminal plasma of the boar is rich in cytokines, with significant individual and intra-Ejaculate variation [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2015, 74(6): 523-532.
- [9] Barranco I, Tvarijonaviute A, Perez-Patino C, *et al.* The activity of paraoxonase type 1 (PON-1) in boar seminal plasma and its relationship with sperm quality, functionality, and in vivo fertility[J]. *Andrology*, 2015, 3(2): 315-320.
- [10] Barranco I, Tvarijonaviute A, Perez-Patino C, *et al.* High total antioxidant capacity of the porcine seminal plasma (SP-TAC) relates to sperm survival and fertility [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 18538.
- [11] Kwon W S, Rahman M S, Lee J S, *et al.* Discovery of predictive biomarkers for litter size in boar spermatozoa [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14(5): 1230-1240.
- [12] Kwon W S, Rahman M S, Lee J S, *et al.* A comprehensive proteomic approach to identifying capacitation related proteins in boar spermatozoa[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 897.
- [13] Oh J N, Hwang J Y, Choi K H, *et al.* Treatment of aromatase (CYP19A1) inhibitor reduces fertility in porcine sperm [J]. *Zygote*, 2016, 24(1): 98-106.
- [14] Revay T, Quach A T, Maignel L, *et al.* Copy number variations in high and low fertility breeding boars[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 280.
- [15] Redon R, Ishikawa S, Fitch K R, *et al.* Global variation in copy number in the human genome[J]. *Nature*, 2006, 444(7118): 444-454.
- [16] Krausz C, Giachini C, Forti G. TSPY and male fertility[J]. *Genes (Basel)*, 2010, 1(2): 308-316.
- [17] Quach A T, Oluwole O, King W A, *et al.* The porcine TSPY gene is tricopy but not a copy number variant[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e131745.
- [18] 陈志林,冯美莹,陈预明,等. 精子功能相关的蛋白质调控受精过程的研究进展[J]. 遗传, 2014(8): 747-755.
- [19] 李鸿岩,赵兴绪,张勇,等. 精子功能相关精浆蛋白质的蛋白组学研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2010(11): 110-114.

(编辑 郭玉翠)