

中国荷斯坦牛 *SLC35A3*-66 基因 SNP 突变与奶牛疾病及泌乳性能的相关性分析

王梦琦,倪 炜,郭译蔚,张慧敏,杨章平,毛永江* (扬州大学 动物科学与技术学院,江苏 扬州 225009)

摘要:旨在研究中国荷斯坦牛 *SLC35A3*-66 基因 SNP 突变与疾病及泌乳性能的相关性,为加快奶牛的育种进程提供理论基础。通过对 866 头中国荷斯坦牛 *SLC35A3* 基因编码区进行直接测序和飞行质谱分析,检测 *SLC35A3* 基因 DNA 序列第 559 位上核苷酸突变 G>T,同时收集采样牛只疾病与泌乳性能等信息,用 Logistic 回归分析其与流产的相关关系,用方差分析法分析 *SLC35A3*-66 G>T 突变与各胎次临床乳房炎病例数和蹄病发生次数、生产寿命及泌乳性能的相关关系,用 Cox 回归分析不同基因型奶牛的生存曲线。结果表明:中国荷斯坦牛 *SLC35A3* 基因编码区 SNP 存在 1 个 SNP 突变位点 c.66 G>T;*SLC35A3*-66 G>T 与乳脂率、蛋白率、脂蛋白比和总固体极显著性相关 ($P<0.01$),与体细胞评分(SCS)和乳糖含量显著性相关 ($P<0.05$),GT 型个体各项指标均显著高于 GG 型个体;*SLC35A3*-66 G>T 与各胎次流产、临床乳房炎发生次数和蹄病发生次数之间无显著性相关 ($P>0.05$);*SLC35A3*-66 G>T 与离群月龄显著性相关 ($P<0.05$),GT 型个体的离群月龄显著高于 GG 型个体,与生产月龄和离群胎次无显著性相关 ($P>0.05$)。Cox 回归分析表明,*SLC35A3*-66 G>T 与荷斯坦牛生产寿命显著性相关 ($P<0.05$),GT 型个体的离群月龄显著高于 GG 型纯合子个体;*SLC35A3*-66 G>T 与乳脂率、蛋白率、脂蛋白比和总固体极显著性相关 ($P<0.01$),与乳糖、SCS 和奶牛生产寿命显著性相关 ($P<0.05$)。该结果为中国荷斯坦牛泌乳性能和乳房炎抗性的分子标记辅助选择提供参考。

关键词:中国荷斯坦牛;*SLC35A3* 基因;SNP;奶牛乳房炎;蹄病;流产;泌乳性状;生产寿命

中图分类号:S823.91;S857.26;S856.1;S813.3

文献标志码:A

文章编号:1005-4545(2017)12-2418-07

DOI:10.16303/j.cnki.1005-4545.2017.12.30

Correlation analysis between diseases and milking traits and SNP of *SLC35A3*-66 for Chinese Holstein cows

WANG Meng-qi, NI Wei, GUO Yi-wei, ZHANG Hui-min, YANG Zhang-ping, MAO Yong-jiang*

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: To explore the correlation between *SLC35A3*-66 G>T and the disease and milking traits of Chinese Holstein cows, and to provide the basis for the improvement of breeding. The mutation G>T at 559th in coding region of *SLC35A3* gene was detected by directly sequencing and flight mass spectrometry in 866 Chinese Holstein cows from a large dairy farm. The milking traits, clinical mastitis and lameness of tested cows were collected from the management system of dairy farm. The correlations between *SLC35A3*-66 G>T and the abortion, disease and milking traits of Chinese Holstein cows were analyzed using Logistic regression, multivariate analysis of variance and Cox regression analysis. The results showed that: only *SLC35A3*-66 G>T mutation was found in the 559th position of *SLC35A3* gene nucleotide sequence; the *SLC35A3*-66 G>T was extremely significantly related to the FC, PC, FPR and TS ($P<0.01$) and significantly related to SCS and LC ($P<0.05$). The FC, PC, FPR, TS and LC for the individuals with GT genotypes were

收稿日期:2016-10-26

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31372286);江苏省优势学科资助项目(PAPD);江苏省企业研究生工作站资助项目

作者简介:王梦琦(1993—),女,硕士。

* 通讯作者, E-mail: cattle@yzu.edu.cn

higher than GG genotypes significantly, and the SCS for the individuals with GT genotypes was lower than GG genotypes. *SLC35A3*-66 G>T was not related to abortion, the number of dairy cows suffered from clinical mastitis and lameness ($P>0.05$). The *SLC35A3*-66 G>T was significantly related to culling month of cows ($P<0.05$), and the culling month for individual with GT genotype was higher than that of GG genotype ($P<0.05$). *SLC35A3*-66 G>T was not related to productive months and culling parity of cows. Cox regression analysis showed that *SLC35A3*-66 G>T was significantly related to productive life ($P<0.05$), the culling months for individuals with GT genotype were significantly higher than that with GG genotype. Conclusion: *SLC35A3*-66 G>T had extremely significant correlation with FC, PC, FPR and TS ($P<0.01$) and significant correlation with LC, SCS and productive lifetime ($P<0.05$). These results provided basis for the molecular marker assisted selection of milking traits and mastitis resistance in Chinese Holstein cows.

Keywords: Chinese Holstein cows; *SLC35A3*; SNP; mastitis; lameness; abortion; milking traits; lifetime

* Corresponding author, E-mail: cattle@yzu.edu.cn

乳房炎是奶牛生产养殖过程中最为常见、也是经济损失最大的疾病,对奶牛生产造成严重影响。乳房炎会致使患病牛产奶量降低,所产的牛奶中体细胞数增加,甚至会危害到奶牛的生命安全。有调查显示,美国每头奶牛每年由于乳房炎所造成的损失达到 184 美金,每年全美国因为乳房炎会产生高达 20 亿美元的经济损失^[1]。亚洲、非洲和南美洲等热带和亚热带国家奶牛乳房炎发病率更高,造成的损失也更大^[2-3]。据统计,我国奶牛乳房炎的发病率达 20%~70%,个别牛群发病率更高^[4-5],我国每年因乳房炎造成的经济损失高达 150~450 亿元^[6]。奶牛乳房炎的发病原因有很多,如日粮、年龄、胎次、泌乳量、泌乳期、乳区等因素都会对乳房炎的发生造成影响^[7]。遗传对奶牛乳房炎疾病的发生也有一定程度的影响,如果上一代母牛乳房炎发病率较高,则下一代也具有较高的发病几率^[8]。

奶牛蹄病也是牛场常见的疾病,主要症状有跛行、红肿、发生炎症反应等。有关资料表明,舍饲牛群中蹄病的发病率达到 30%~40%^[9]。奶牛肢蹄病是不孕不育和乳房炎后又一个导致奶牛过早淘汰的重要原因^[10],与乳房炎和子宫内膜炎一起称为奶牛最常见的“三大病”。在奶牛乳品行业中,奶牛肢蹄病造成的经济损失和奶牛福利问题已经引起广泛的关注^[11]。奶牛流产是由于各种因素,奶牛的胎儿和母体之间的关系遭到破坏,致使奶牛妊娠中断,表现为胚胎在子宫内被吸收、排出不足月的胎儿或排出死胎^[12]。流产的危害不仅仅是会导致胎儿夭折或发育不正常,并且会对奶牛的健康状况造成负面影响,导致奶牛产奶量减少、繁殖率降低等,给奶牛

养殖业造成严重的经济损失。

牛脊柱畸形综合征 (complex vertebral malformation, CVM) 多见于妊娠 260 d 前的流产,严重影响荷斯坦牛的繁殖力,延长产犊间隔,增加母牛淘汰率。CVM 的分子遗传学机制是位于奶牛第 3 号染色体 (BTA3) 上的溶质载体家族 35 成员 A3 (solute carrier family 35 member A3, *SLC35A3*) 第 4 外显子 559 处发生 G>T 突变,导致编码区第 180 位氨基酸由缬氨酸突变为苯丙氨酸。KOTIKALAPUDI 等^[13]以 60 头印度荷斯坦奶牛为试验动物,发现在 *SLC35A3* 基因第 4 外显子的第 554, 555, 559 位发生突变,但没发现这些突变与生产和繁殖性能之间的关系。YATHISH 等^[14]发现 *SLC35A3* 基因的第 559 位突变会引发一种叫做复杂脊椎畸形的遗传性常染色体隐性遗传病。初芹等^[15]以北京地区的 38 头种公牛为试验动物,研究发现 CVM 致病基因 *SLC35A3* 可能与 3 号染色体上影响产奶性状的 QTL 或基因连锁。梁若冰等^[16]对北京地区的 500 头荷斯坦牛 *SLC35A3* 基因采用引入酶切位点聚合酶链式反应 (PIRA-PCR) 检测,并未发现 *SLC35A3* 基因上 559 位的致病突变。国内关于 *SLC35A3* 基因的研究样本较少且多以北京等北方奶牛为试验动物,尚未见南方地区奶牛群体的相关报道。因此,为进一步探索 *SLC35A3* 基因对奶牛疾病、产奶性能等指标的影响,本试验以东南沿海地区 866 头中国荷斯坦牛为试验群体,利用直接测序和飞行质谱法检测 *SLC35A3* 基因外显子 4 第 559 位上核苷酸的突变,并用 Logistic 回归、多因素方差分析、Cox 回归分析等方法分析 *SLC35A3*-66 基因 G>T 突变与

流产、临床乳房炎和蹄病、泌乳性能和生产寿命的相关关系,为提高奶牛养殖经济效益提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 分别于 2011 年 8 月和 2012 年 7 月采集江苏省某大型奶牛场来自 78 个公牛家系的 905 头中国荷斯坦牛血样,每个公牛后代数 5~60 不等。尾静脉采血 10 mL,肝素钠抗凝,−20℃ 冷冻保存备用。同时,所有试验奶牛饲养管理条件相同,均参加奶牛群体改良计划(dairy herd improvement, DHI)。根据泌乳阶段进行日粮配方,全混合日粮(total mixed ration, TMR)饲喂。同时收集采样牛只 2010—2014 年度 DHI 测定记录及相关系谱信息,主要信息包括牛号、父号、测定日期、测定日产奶量、乳脂率、乳蛋白率、乳糖、乳中干物质质量、乳中尿素氮及体细胞数等。由于提取 DNA 中损失、基因型判定和数据不完整等原因,最后用于分析的样本量为 866 头。

1.2 基因组 DNA 的提取 采用常规苯酚-氯仿抽提法提取基因组 DNA, TE 溶解,用紫外分光光度计测定基因组 DNA 质量浓度和纯度,−20℃ 贮存备用。取部分 DNA 样品稀释至 50 mg/L,用于基因型分析。

1.3 SNP 位点筛查及分析 根据 *SLC35A3* 基因的序列(GenBank 登录号:AY160683),针对基因突变位点设计 1 对引物。上游引物:5'-TCAGTGGC-CCTCAGATTCTC-3';下游引物:5'-CCAAGTT-GAATGTTTCTTATCCA-3'。PCR 扩增体系参照文献^[17],稍作修改。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳 0.5 h 后,紫外灯下观察结果,并拍照。

从所采样本中选择 20 个流产牛样本和 20 个正常产犊样本,进行常规 PCR 扩增,经琼脂糖凝胶电泳检测其扩增效果,后送至上海生物公司正反测序。用 DNAMAN 软件对测序所得结果进行比对,找出突变位点。

经对 40 个样本的初步分析,*SLC35A3* 编码区第 4 外显子只发现 1 个 SNP 位点:即 559 位 G>T 突变。随后对大样本 *SLC35A3*-66 G>T 突变检测采用飞行时间质谱法(MassARRAY® MALDI-TOF System, Sequenom, Inc., USA)。同时,为保证 SNP 分析结果可靠性,其中 40 个样本重复测定 2 次(测试员并不知道这 40 个是重复样本)。结果表明该方法 SNP 分型结果准确性为 100%。

1.4 流产、临床乳房炎和蹄病的记录 根据奶牛场

信息管理系统,查询采样牛只各胎次是否流产,以产科记录为准。奶牛临床乳房炎以可以看到明显的乳房红肿、触摸有疼痛感和硬块或乳样呈豆腐样等症状为判断条件,以兽医治疗记录为准。如果某奶牛在治愈后 10 d 内又发病,则算 1 次病例;治愈后 10 d 以上又发病的,则算为新发病例。奶牛蹄病的判定以跛行、奶牛患病肢负重困难及站立姿势不稳为判断条件^[18]。蹄病发病次数是根据相邻 2 次发病的时间间隔来判定的,相邻 2 次发病的间隔在 1 个月内定义为 1 次发病,间隔时间大于 1 个月则定义为 2 次。根据该原则记录每头奶牛 2010 年 1 月至 2014 年 12 月 5 年内 1~3 胎次奶牛是否流产、发生临床乳房炎和蹄病的次数。

1.5 生产寿命的记录 奶牛生产寿命是指奶牛从第 1 次产犊到死亡或者被淘汰之间的时间,它能够反映奶牛避免被淘汰的能力,它与奶牛的生产性能、繁殖性能以及健康状况等紧密相关。本试验用生产月龄、离群月龄和离群胎次 3 个指标作为生产寿命的度量指标。

1.6 统计分析

1.6.1 遗传学分析 用遗传学软件 Shesis 进行常规群体遗传学统计分析(包括基因频率、基因型频率、Hardy-Weinberg 平衡检测等)^[19]。

1.6.2 *SLC35A3* 基因与奶牛流产的相关关系 用 Logistic 回归分析 *SLC35A3* 基因不同基因型相对于频率较高的纯合子基因型,在不同胎次是否发生奶牛临床乳房炎和肢蹄病的概率,模型如下: $\log [p/(1-p)] = \beta_0 + \beta_1 H_e + \beta_2 V_a$, 式中, p 代表各胎次发生乳房炎和肢蹄病的概率, H_e 表示杂合子, V_a 表示频率较低的纯合子, β_0 是常数项, β_1 和 β_2 是偏回归系数。

1.6.3 对乳房炎及肢蹄病发生次数和生产寿命的分析 用多因素方差分析模型分析 *SLC35A3* 基因不同基因型与奶牛各胎次乳房炎及肢蹄病发生次数和生产寿命的相关性,模型如下: $Y = \mu + S + M + G + e$, 式中: Y 为各胎次临床乳房炎和肢蹄病发病次数及生产寿命指标的观察值, μ 为群体均值, S 为初产季节的效应值, M 为初产月龄的效应值, G 为基因型的效应值, e 为随机误差。根据当地气候特点,初产季节划分如下:3—5 月为春季,6—8 月为夏季,9—11 月为秋季,12—次年 2 月为冬季。

由于部分牛只记录不完整,只选择同时具有 1~3 胎次临床乳房炎和肢蹄病发病次数记录的牛只进行方差分析。经筛选,最终有 722 头奶牛进入分析。具有完整生产寿命相关指标的样本数为 647 头。

1.6.4 对泌乳性能的分析 利用一般线性模型分析 *SLC35A3* 基因 $G>T$ 突变与泌乳性状的相关性,模型如下: $Y = \mu + YS + P + L + CS + G + e$, 其中: Y 为测定日产奶量等泌乳性状的观察值, μ 为群体均值, YS 为年季效应, P 为胎次效应, L 为泌乳阶段效应(每 100 d 划分为一个泌乳阶段), CS 为泌乳牛本胎次产犊季节效应, G 为 $G>T$ 基因型效应, e 为残差效应。统计分析采用 SPSS 软件(Ver 16.0)完成。根据当地气候特点,初产季节划分如下:3—5 月为春季,6—8 月为夏季,9—11 月为秋季,12—次年 2 月为冬季。

1.6.5 生产寿命的生存分析 用 Cox 回归模型计算 *SLC35A3-66* 不同基因型与生产寿命相关指标的相关性,并制作生存曲线,由统计学软件 SPSS (Ver 16.0)完成,模型如下: $h(t/X) = h_0(t) \exp(\beta_1 X_1)$, 式中: $h_0(t)$ 为基准风险函数,即所有变量取零

时的 t 时刻的风险函数; X_1 为 *SLC35A3-66* $G>T$ 位点变量; β_1 为 *SLC35A3-66* $G>T$ 位点变量的回归系数。

2 结果

2.1 中国荷斯坦牛 *SLC35A3* 基因 SNP 检测及基因分型 用所设计的引物经扩增、测序和比对分析,仅发现 *SLC35A3* 基因第 4 外显子第 559 位核苷酸突变 $G>T$, 导致编码区第 180 位氨基酸由缬氨酸突变为苯丙氨酸。等位基因 G 的基因频率为 0.964, T 的基因频率为 0.036。GG 型个体的基因型频率为 0.928, GT 型为 0.072, 未发现 TT 型个体。经 χ^2 检验,基因型分布处于哈代温伯格(Hardy-Weinberg)平衡(表 1)。

表 1 *SLC35A3-66* $G>T$ 等位基因、基因型频率及 H-W 平衡检验

SNPs	基因型	基因型频率	个体数	等位基因	基因频率	平衡检验 χ^2 值
<i>SLC35A3-66</i>	TT	0.000	0	T	0.036	1.19
	TG	0.072	62	G	0.964	
	GG	0.928	804			

2.2 *SLC35A3-66* $G>T$ 与流产的相关性 Logistic 分析结果表明: *SLC35A3-66* $G>T$ 突变与各胎次是否发生流产无显著性相关($P>0.05$), GT 型个

体的流产概率是 GG 型个体的 0.82 倍,但两者间无显著性差异($P>0.05$)(表 2)。

表 2 *SLC35A3-66* $G>T$ 不同基因型对荷斯坦奶牛的流产 Logistic 分析

SNPs	基因型	总计	流产	非流产	危险值(95% CI)	P 值
<i>SLC35A3-66</i>	GG	804	250(91.9%)	554(93.3%)	1	0.48
	GT	62	22(8.1%)	40(6.7%)	0.82(0.48~1.41)	

2.3 *SLC35A3-66* $G>T$ 与临床乳房炎及蹄病发生次数的相关性分析 方差分析表明: *SLC35A3-66* $G>T$ 与各胎次临床乳房炎和蹄病发生次数的关系均未达到显著性水平($P>0.05$)。从表 3 可以

看出, GG 型个体的 1 胎和 2 胎以及 1~3 胎的平均临床乳房炎发病次数均小于 GT 型个体, 只在 3 胎高于 GT 型个体, 且差距很小。

表 3 *SLC35A3-66* $G>T$ 不同基因型各胎次的临床乳房炎及蹄病次数

<i>SLC35A3-66</i>	基因型	样本量	1 胎	2 胎	3 胎	1~3 胎合计
临床乳房炎	GG	665	0.01±0.01	0.51±0.03	0.91±0.05	1.43±0.07
	GT	57	0.02±0.02	0.63±0.13	0.89±0.19	1.54±0.26
	F		0.112	1.042	0.007	0.363
	P		0.739	0.308	0.933	0.547
蹄病	GG	665	0.02±0.13	0.05±0.29	0.22±0.63	0.28±0.73
	GT	57	0.02±0.13	0.04±0.19	0.23±0.63	0.28±0.65
	F		0.02	0.17	0.02	0.00
	P		0.89	0.68	0.89	0.98

2.4 *SLC35A3-66 G>T* 突变与泌乳性能的相关性分析 方差分析表明:*SLC35A3-66 G>T* 突变与乳脂率、蛋白率、脂蛋白比和总固体极显著性相关 ($P<0.01$),与乳糖和体细胞评分(SCS)显著性相关 ($P<0.05$)(表 4)。GT 型个体的乳脂率、蛋白率、脂

蛋白比和总固体均极显著高于 GG 型个体,GT 型个体的乳糖显著高于 GG 型个体,GT 型个体 SCS (1.93 ± 0.04)显著低于 GG 型个体 (2.03 ± 0.01)。*SLC35A G>T* 与日产奶量和尿素氮这 2 个指标无显著性相关 ($P>0.05$)。

表 4 *SLC35A3-66 G>T* 不同基因型的泌乳性能

<i>SLC35A3-66</i>	DHI 记录数	日产奶量/kg	乳脂率/%	蛋白率/%	脂蛋白比	SCS	乳糖/%	总固体/%	尿素氮/($\times 10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)
GG	18 989	32.17 ± 0.08	4.24 ± 0.01^b	3.34 ± 0.00^b	1.27 ± 0.00^b	2.03 ± 0.01^a	4.95 ± 0.00^b	13.76 ± 0.01^b	12.17 ± 0.02
GT	1 510	32.54 ± 0.27	4.36 ± 0.02^a	3.40 ± 0.01^a	1.29 ± 0.01^a	1.93 ± 0.04^b	4.96 ± 0.01^a	13.98 ± 0.04^a	12.17 ± 0.10
合计	20 499	32.2 ± 0.074	4.25 ± 0.01	3.35 ± 0.00	1.27 ± 0.00	2.02 ± 0.01	4.95 ± 0.00	13.77 ± 0.01	12.17 ± 0.02
<i>F</i>		1.86	35.93	36.12	8.22	5.20	3.91	46.18	0.02
<i>P</i>		0.17	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.00	0.90

注: SCS:体细胞评分(somatic cell score)

2.5 *SLC35A3-66 G>T* 突变与生产寿命的相关性分析 *SLC35A3-66 G>T* 突变与离群月龄显著性相关 ($P<0.05$),GT 型个体的离群月龄 (67.12 ± 7.99)显著高于 GG 型个体 (63.99 ± 8.29)(表 5)。*SLC35A3-66 G>T* 与生产月龄和离群胎次无显著性相关 ($P>0.05$),但是 GT 型个体的生产月龄 ($38.$

79 ± 1.30)高于 GG 型个体 (36.73 ± 0.33)。Cox 回归分析表明:*SLC35A3-66 G>T* 与荷斯坦奶牛的生产寿命显著性相关 ($P<0.05$),GG 型个体累积生存概率在各个离群月龄阶段均显著低于 GT 型个体(图 1)。

表 5 *SLC35A3-66 G>T* 不同基因型的生产寿命

<i>SLC35A3-66</i>	样本量	生产月龄/月	离群月龄/月	离群胎次
GG	605	36.73 ± 0.34	63.99 ± 8.29^b	3.03 ± 0.79
GT	42	38.79 ± 1.30	67.12 ± 7.99^a	3.19 ± 0.63
合计	647	36.86 ± 0.33	64.19 ± 8.3	3.04 ± 0.78
<i>F</i>		2.31	5.63	1.64
<i>P</i>		0.13	0.02	0.20

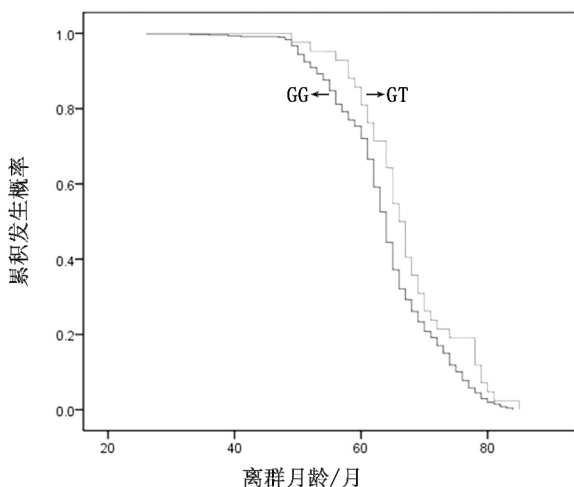


图 1 *SLC35A3-66 G>T* 不同基因型个体荷斯坦牛生存曲线

3 讨论

3.1 中国荷斯坦奶牛 *SLC35A3* 基因 SNP 检测及基因分型 本研究中,突变发生的频率为 0.072,也就是说 GT 基因型的携带频率为 7.2%。而在李艳华等^[20]的研究中,公牛对该基因的携带频率为 11.3%,母牛的携带频率为 12.1%,明显比本研究高,原因可能是该试验样本量较少。根据统计,在丹麦的顶级公牛中,31.0%是脊柱畸形综合征(CVM)携带者,美国 2005 年公布的测定结果显示,CVM 阳性种公牛占测定群体的 19.9%,日本为 32.5%,瑞典为 23.0%,德国为 13.2%,英国为 16.0%^[21],都明显比本研究高,可能是由于地域、品种及样本量等差异导致的。

3.2 *SLC35A3-66 G>T* 与流产的相关性 AGER-

HOLM 等^[22]研究发现 CVM 的致病基因 *SLC35A3* 是隐性遗传缺陷基因,其隐性纯合体会导致母牛妊娠流产或者产死胎等病症发生,因此 TT 型个体均会被淘汰或者死亡。李艳华等^[23]对北京地区 242 头公牛以及 403 头荷斯坦奶牛 CVM 检测结果也显示无 TT 型个体,只有 23 头 GT 型奶牛为 CVM 携带者。本试验对是否流产的 Logistic 分析结果表明:GG 和 GT 型个体流产概率无显著性差异,GT 型杂合子可以正常繁殖,这为奶牛针对 CVM 选育工作提供参考依据。

3.3 *SLC35A3-66 G>T* 与临床乳房炎及蹄病次数的相关性 在本试验中,*SLC35A3-66 G>T* 与各胎次临床乳房炎发生次数的相关性均未达到显著性水平($P>0.05$),其中 GG 型个体的 1 胎和 2 胎以及 1~3 胎的平均临床乳房炎发病次数均小于 GT 型个体,只在 3 胎高于 GT 型个体且差距很小;因此,可以推断 *SLC35A3-66 G>T* 并不与临床乳房炎的发生次数相关。

前人研究表明,奶牛的遗传性状也是导致变形蹄和蹄病的因素之一。黑白花奶牛的蹄部性状遗传系数为 0.6,且与生产性能呈高度正相关,因此肢蹄的遗传性状是一个必须考虑的因素^[24]。GG 基因型个体与 GT 基因型个体蹄病发生次数无显著性差异,这说明 *SLC35A3* 基因与奶牛蹄病无显著性相关。

3.4 *SLC35A3-66 G>T* 与泌乳性能的相关性 初芹等^[15]以 482 头荷斯坦奶牛为试验动物研究发现,CVM 致病基因携带者即 GT 基因型个体泌乳性能极显著优于 GG 型个体。本研究结果中除 SCS 以外的产奶量等泌乳性能与上述结果一致,GT 基因型个体乳脂率、蛋白率、脂蛋白比、乳糖和总固体均显著高于 GG 基因型个体。同时,*SLC35A3-66 G>T* 与 SCS 也显著性相关($P<0.05$),GT 型个体 SCS 显著低于 GG 型个体,与初芹等^[15]的结果相反。另外,在本研究中 *SLC35A3-66 G>T* 与临床乳房炎发生次数无显著性相关($P>0.05$),与和 SCS 的相关结果不一致,这可能与牛场 DHI 采样制度有一定关系。一般来说,牛场为降低 DHI 测试过程中 SCS 含量,只采那些表现正常的奶牛,而一旦发现临床乳房炎或疑似临床乳房炎症状,立即给予隔离,在进行 DHI 采样时,就不再采样进行检测。因此,在实际生产中,只有结合 DHI 报告中 SCS 值与临床乳房炎发生情况,才能全面评价乳房炎的发生情况。

3.5 *SLC35A3-66 G>T* 与生产寿命的相关性 本

研究中,*SLC35A3-66 G>T* 与离群月龄显著性相关($P<0.05$),GT 型个体离群月龄(67.12 ± 7.99)显著高于 GG 型个体(63.99 ± 8.29),而 *SLC35A3-66 G>T* 与生产月龄和离群胎次无显著性相关($P>0.05$),但 GT 型个体的生产月龄和离群胎次均高于 GG 型个体。有研究表明,高产奶牛比低产奶牛的生产寿命长^[25],并在意大利荷斯坦牛群中也得到了类似结果^[26]。同时,乳脂率和乳蛋白率高的奶牛不容易遭到淘汰^[27]。本研究中,GT 基因型奶牛日产奶量高于 GG 基因型个体,同时 GT 基因型奶牛乳脂率和乳蛋白率显著高于 GG 基因型,与上述结论是相符的。

综上所述,本研究结果表明:*SLC35A3-66 G>T* 与乳脂率、蛋白率、脂蛋白比和总固体极显著性相关($P<0.01$),与乳糖、SCS 和奶牛生产寿命显著性相关($P<0.05$)。GT 型个体乳脂率、蛋白率、脂蛋白比、总固体、乳糖和离群月龄均显著高于 GG 型个体,SCS 显著低于 GG 型个体,GT 型个体和 GG 型个体各胎次流产率、临床乳房炎和肢蹄病发生次数间无显著性差异。该结果为中国荷斯坦牛泌乳性能和乳房炎抗性的分子标记辅助选择提供了参考。

参考文献:

- [1] MIDDLETON J R, SAEMAN A, FOXL K, et al. The national mastitis council; A global organization for mastitis control and milk quality, 50 years and beyond [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2014, 19(3/4): 241-251.
- [2] BOUJENANE I, AIMANI J E, BY K. Effects of clinical mastitis on reproductive and milk performance of Holstein cows in Morocco [J]. Trop Anim Health Prod, 2015, 47(1): 207-211.
- [3] ELHAIG M M, SELIM A. Molecular and bacteriological investigation of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in domestic bovids from Ismailia, Egypt [J]. Trop Anim Health Prod, 2014, 47(2): 271-276.
- [4] ZHOU Y L, REN Y H, FAN C, et al. Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China [J]. Trop Anim Health Prod, 2013, 45: 1709-1714.
- [5] YANG F L, SHEN C, HE B X, et al. The prevalence of heifer mastitis and its associated risk factors in Huanggang, Central China [J]. Trop Anim Health Prod, 2015, 47: 87-92.
- [6] 宋亚攀, 杨利国. 中国奶牛乳房炎防治研究进展 [J]. 中国奶牛, 2010(12): 48-53.

- [7] 王 华,王晓宁,刘一鹤,等.奶牛隐性乳房炎发病因素的研究[J].中国牛业科学,2010,36(5):30-32.
- [8] 曹 志,何生虎.奶牛乳房炎防治技术研究进展[J].农业科学研究,2011,32(1):76-81.
- [9] KAUSCHE F M,ROBB E J.A comprehensive review of ceftiofur sodium and hydrochloride, formulations for treatment of acute bovine foot rot[J].Vet Ther, 2003,4(1):83-93.
- [10] BOETTCHER P,DEKKERS J,WARNICK K L,et al. Genetic analysis of clinical lameness in dairy cattle[J]. J Dairy Sci,1998,81(4):1148-1156.
- [11] RAJKONDAWAR P G,LIU M,DYERR M,et al. Comparison of models to identify lame cows based on gait and lesion scores and limb movement variables [J].J Dairy Sci,2006,89:4267-4275.
- [12] 田修治.常见奶牛流产的原因与防治[J].畜牧与饲料科学,2011,32(4):87.
- [13] KOTIKALAPUDI R,PATEL K R,SUNKARAP S S,et al.Detection of silent homozygous polymorphism in exon 4 of *SLC35A3* gene in a Holstein cattle carrier for complex vertebral malformation[J].Int J Vet Sci,2013,2(2):61-64.
- [14] YATHISH H M,SHARMA A,KUMAR V,et al.Genetic polymorphism of *SLC35A3* gene in Karan Fries bull calves[J].Indian J Anim Sci,2011,81(9):951-953.
- [15] 初 芹,张 毅,孙东晓,等.中国荷斯坦牛 CVM 的基因检测及其与产奶性状的关联分析[J].遗传,2010,32(7):732-736.
- [16] 梁若冰,赵晓琳,孙东晓,等.北京密云地区荷斯坦母牛脊椎畸形综合征(CVM)遗传缺陷检测[J].中国奶牛,2015(19/20):15-18.
- [17] 陈仁金,杨章平,毛永江,等.中国荷斯坦牛 IL8 基因遗传多态性与泌乳性状以及体细胞评分的关联[J].遗传,2010,32(12):1256-1262.
- [18] 杨克礼,滕茂平,陈明新,等.奶牛蹄病发生规律及综合防控措施[J].中国奶牛,2012(18):35-38.
- [19] SHI Y Y,HE L.SHEsis a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci[J].Cell Res,2005,15(2):97-98.
- [20] 李艳华,张胜利,赵兴波,等.荷斯坦牛脊椎畸形综合征分子诊断方法的建立与应用[J].中国奶牛,2010(3):3-5.
- [21] 王 帅,王 栋,杜卫华,等.荷斯坦奶牛脊柱畸形综合征的研究进展[J].遗传,2007,29(9):1049-1054.
- [22] AGERHOLM J S,BENDERSEN C,ANDERSEN O, et al. Complex vertebral malformation in Holstein calves[J].J Vet Diagn Invest,2001,23:283-289.
- [23] 李艳华,乔 绿,张胜利,等.北京地区荷斯坦牛脊椎畸形综合征的调查研究[J].中国奶牛,2011(8):4-6.
- [24] 蔡 涛,骆梁涛,赵 泽,等.奶牛蹄变形和蹄病的原因分析[J].中国畜牧兽医文摘,2015,31(11):107-108.
- [25] VUKASINOVIC N,MOLL J,KUN Z I N. Analysis of productive life in swiss brown cattle[J].J Dairy Sci, 1997,80:2372-2579.
- [26] SAMORE A B,DEL SCHNEIDER M P,CANAVESI F,et al. Relationship between somatic cell count and functional longevity assessed using survival analysis in Italian Holstein-Friesian cows[J].Livest Prod Sci, 2003,80:211-220.
- [27] GÁBOR M,CHRISTIAN F,BIRGIT F,et al. Genetic evaluation for length of productive life in Slovak Pinzgau cattle[J].Arch Tierz,2008,51:438-448.