

DB61

陕西省地方标准

DB61/T 1521.3—2021

奶山羊养殖技术规范 第3部分：双基因良种选育

Technical Specifications for Dairy Goat Farming—
Part 3: Double-gene breeding

地方标准信息服务平台

2021-12-17 发布

2022-01-17 实施

陕西省市场监督管理局 发布

目 次

前 言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 选育方法.....	1
5 选择程序.....	2
附录 A（资料性） 扩充特异引物.....	3

地方标准信息服务平台

前 言

DB61/T 1521《奶山羊养殖技术规范》分为如下部分：

- 第1部分：关中奶山羊良种鉴定；
- 第2部分：引进奶山羊良种鉴定；
- 第3部分：双基因良种选育；
- 第4部分：种公羊饲养管理；
- 第5部分：后备羊培育；
- 第6部分：泌乳奶山羊健康养殖；
- 第7部分：人工授精；
- 第8部分：胚胎移植；
- 第9部分：苜蓿半干青贮；
- 第10部分：疫病防控；
- 第11部分：机器挤奶。

本部分为DB61/T 1521的第3部分。

本文件根据GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规则起草。

本部分由西北农林科技大学提出。

本部分由陕西省农业农村厅归口。

本部分起草单位：西北农林科技大学、杨凌职业技术学院、陕西省动物研究所、陕西省畜牧技术推广总站、陕西关中奶山羊产业研究院、陕西省奶山羊养殖工程技术研究中心、陕西省羊产业技术创新与产业发展战略联盟、陇县畜产局。

本部分主要起草人：安小鹏、侯金星、曹芳君、杨少华、李广、宋宇轩、田秀娥、付明哲、张磊。

本部分由西北农林科技大学负责解释。

本部分首次发布。

联系信息如下：

单位：西北农林科技大学

电话：029-87092102

地址：陕西杨凌示范区西农路22号

邮编：712100

奶山羊养殖技术规范 第3部分：双基因良种选育

1 范围

本部分规定了高产良种奶山羊选育方法、选育程序内容要求。

本部分适用于以催乳素受体和促黄体素beta亚基基因选育关中奶山羊、莎能奶山羊等良种奶山羊。

2 规范性引用文件

本部分无规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本部分。

3.1

基因 gene

位于细胞染色体上具有遗传效应的DNA片段，是调控生物性状的基本遗传单位。

3.2

催乳素 prolactin

为动物垂体分泌的一种蛋白质激素，由199个氨基酸残基组成。

3.3

受体 receptor

可与细胞外专一信号分子（配体）结合引起细胞反应的蛋白质，分为细胞表面受体和细胞内受体。

3.4

催乳素受体 prolactin receptor

催乳素受体位于山羊的16号染色体上，分为长受体(LF)、中受体(IF)及短受体(SF1a及SF1b)。不同催乳素受体由同一基因编码，经转录后选择性剪接而生成。PRLR是调控山羊产奶性能和产羔性能的重要候选基因。

4 选育方法

4.1 筛选高产个体

筛选头胎产羔数达到2只以上的奶山羊，以及产奶第3个月日均产奶量达到4kg以上的高产个体作为功能基因检测的对象。

4.2 检测高产个体基因型

采用基因测序的方法对高产个体中的催乳素受体基因（PRLR）和促黄体素beta 亚基（LH β ）基因进行基因分型。

5 选择程序

5.1 血液采集

从山羊的颈静脉采取1 mL的血样或从耳部采取0.5 g的耳组织。

5.2 DNA 提取

利用DNA提取试剂盒从血液或耳组织中提取基因组DNA。

5.3 扩增目的片段

根据催乳素受体基因（PRLR）和促黄体素beta 亚基（LH β ）基因的DNA序列分别设计扩增PRLR基因外显子9和LH β 基因5'非翻译区的特异引物（附录A）。

5.4 检测目的片段

利用2 %的琼脂糖凝胶电泳检测扩增的目的片段。

5.5 DNA 测序

利用DNA测序技术检测基因的分型和统计不同个体的基因型。

5.6 基因型选配

从5.5中检测的个体中筛选具有催乳素受体基因（PRLR）的GG基因型以及促黄体素beta 亚基（LH β ）基因的CC基因型的优秀个体进行杂交或者选同交配。

5.7 基因型的横交固定

在不同基因型杂交后代中筛选同时具有GG和CC基因型的个体进行横交固定。

5.8 纯合基因型个体组群

在横交固定的个体中检测和筛选基因型聚合纯化在一起的个体组群。

5.9 稳定基因型

采用基因型选同交配的方法稳定基因型，从而形成产羔率和产奶量高的奶山羊核心群。

5.10 选育高产奶山羊新品种（系）

对含有以上2 个基因型的个体进行遗传稳定性和生产性能稳定性的检测，结合常规育种方法，选育出高产奶山羊新品系或新品种。

附 录 A
(资料性)
扩充特异引物

A.1 双基因型聚合育种技术用的分子生物学技术

聚合酶链式反应 (PCR), DNA测序, 基因克隆, 琼脂糖凝胶电泳。

A.2 双基因型聚合育种技术用统计方法

多因素方差分析和线性回归模型。

A.3 双基因型聚合育种技术所需仪器设备

PCR扩增仪 (可设定温度梯度);
电子天平 (精度为0.0001 g);
常温高速离心机 (最大转速为15300 rpm);
低温冷冻离心机 (能设定为4 °C);
移液器 (通用标准吸头有6个规格:10ul、20ul、100ul、200ul、1000ul、5000ul);
高压灭菌锅 (工作蒸气压力 0.5 MPa);
凝胶成像仪 (提供白光和紫外光以及蓝光光源进行拍摄凝胶);
水浴锅 (可设定恒定温度);
垂直电泳槽 (用于蛋白样品的电泳);
稳压稳流电泳仪 (用于 DNA样品的电泳);
超低温冰箱 (能设定-80 °C);
脱色摇床 (能设定恒定速率摇动);
恒温培养箱 (设置为37 °C);
超净工作台;
纯水仪。

A.4 特异引物

PCR扩增引物见表A.1

表 A.1 PCR 扩增引物

基因位点	引物序列	退火温度 (°C)	片段大小 (bp)
PRLR 基因外显子 9	F: 5'-CTTACCACAACATTGCTGAC-3'	57	465
	R: 5'-CCTTGGCTGGATTCTATGG-3'		
LHβ基因 5'非翻译区	F: 5'-ACCAGATCTTGGCCCTTG-3'	57	291
	R: 5'-CAAAGCCTGAGTCCAAC-3'		

A.5 PCR体系

A.5.1 15 μ L的PCR 反应体系包括 DNA模板50ng，7.5 μ L 2 \times Taq MasterMix，上下游引物(10 μ M)各0.3 μ L，加灭菌水至15 μ L。

A.5.2 PCR反应条件：95 $^{\circ}$ C预变性 5min，94 $^{\circ}$ C 30s。退火温度57 $^{\circ}$ C，退火 30s，72 $^{\circ}$ C延伸 35s，35个循环，最后72 $^{\circ}$ C延伸10min。10 μ L酶切反应体系：10 \times Buffer 1 μ L，内切酶0.3 μ L，灭菌水3.7 μ L，PCR产物5 μ L。

A.6 目的片段测序

PCR产物测序，根据测序结果对奶山羊个体进行基因分型，其中催乳素受体基因的GG基因型为高产基因型，促黄体素beta亚基基因的CC基因型为高产基因型。

地方标准信息服务平台