

新型改性 PAMAM 树状大分子的 合成及其转染效率初探*

刘军安¹ 魏晓磊¹ 江洪¹ 钟文忠^{2**}

1. 华中农业大学理学院, 武汉 430070; 2. 湖北南星化工总厂, 枝江 443200

关键词 树状大分子; PAMAM; 合成; 基因载体; 转染效率

Preparation and Transfer Efficiency of Modified PAMAM Dendrimer Gene Delivery

LIU Jun-an¹ WEI Xiao-lei¹ JIANG Hong¹ ZHONG Wen-zhong²

1. College of Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Hubei Nanxing Chemical General Factory, Zhijiang 443200, China

Key words dendrimer; PAMAM; synthesis; gene delivery; transfer efficiency

中图分类号 R318.08 文献标识码 A 文章编号 1000-2421(2010)03-0333-02

聚酰胺-胺(polyamidoamine, 简称 PAMAM) 树状大分子是一类新型聚合物^[1-2], 具有大量的端基官能团, 通过对端基官能团的改性可以得到具有不同用途的树状大分子。PAMAM 树状大分子作为基因转染载体具有良好的稳定性和溶解性, 其端基官能团中的氨基在生理条件下易质子化而带正电荷, 能够与带负电荷的 DNA 通过静电作用结合, 形成稳定的 PAMAM-DNA 纳米级复合物; 由于该复合物是通过胞内吞作用进入细胞, DNA 要对抗溶酶体的降解, 树状大分子内部的多级胺具有良好的缓冲能力, 可保护 DNA, 并在酸性条件下释放 DNA 达到转染的目的^[3-7]。王薇等^[8]将聚乙二醇(PEG)修饰在树状大分子的外围, 得到载药量高、基因转染效率高的 PAMAM 衍生物。

笔者通过在 3.0 G 树状大分子外围修饰十八碳酰长链, 以获得外围疏水、内核亲水的新型树状大分子, 考察其作为基因载体的转染效率。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1) 试验材料。1, 3-丙二胺、丙烯酸甲酯、甲醇、乙酸乙酯、十八碳酰氯等均为分析纯, 上海医药试剂公司产品。大肠杆菌 DH5 α , 笔者所在实验室自行扩增; Hela 细胞购自武汉大学细胞典藏中心。

2) 试验仪器。FT-IR, KBr 涂层, 美国 Perkin-Elmer 公司产品; Varian Mercury VX300 型核磁共振波谱仪, 美国瓦里安公司产品; 倒置荧光显微镜, 日本奥林巴斯公司产品; 无菌超净台, 苏州净化设备厂产品; 1 mL、200 μ L、100 μ L、10 μ L 移液枪, 上海大龙医疗器械有限公司产品。

1.2 化合物合成

1) PAMAM 树状大分子化合物参考文献^[9]的方法合成。

2) 十八碳酰修饰的 3.0 G PAMAM 的合成。在 N₂ 保护下, 将 1.7 g (0.5 mmol) 3.0 G PAMAM 加入到三颈烧瓶中, 加入 20 mL 无水 CH₂Cl₂; 冰浴

收稿日期: 2010-02-28; 修回日期: 2010-04-15

* 湖北省自然科学基金项目(2009CDB279)资助

** 通讯作者. E-mail: zhongwenzhong@126.com

刘军安, 男, 1974 年生, 博士, 讲师, 研究方向: 树状大分子的合成及其生物活性研究. E-mail: liujunan@126.com

条件下,将 4.8 g(0.016 mol) $C_{17}H_{35}COCl$ 滴入 3.0 G PAMAM 的 CH_2Cl_2 溶液中,滴加完毕后,加入过量的三乙胺;室温搅拌 2 h,过滤,滤液脱溶,得到目标产物,产率 86.1%。

1.3 细胞培养

将 HeLa 细胞置于 DMEM 培养液中,于 37 °C, 5% CO_2 恒温培养箱中培养。

1.4 体外细胞转染

HeLa 细胞经消化、计数后接入 24 孔板中, 3×10^4 个/孔,在完全培养基中培养过夜。每孔加入不同质量分数的十八碳酰修饰后的 PAMAM-DNA 复合物,4 h 后更换完全培养基,培养 24~48 h,于倒置荧光显微镜下观察转染效率并拍照。对样品 3.0 G PAMAM-DNA 复合物的转染试验平行进行。

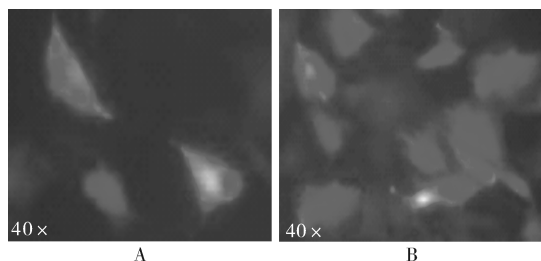
2 结果与分析

2.1 红外光谱和 1H NMR 解析

十八碳酰修饰的 3.0 G PAMAM 的红外光谱中,在 2918.25 cm^{-1} 和 2850.03 cm^{-1} 处的峰为 $-CH_2CH_3$ 上的甲基和亚甲基峰, 1637.66 cm^{-1} 处的峰为 $-CONH_2$ 的酰胺特征吸收峰。 1H NMR(ppm),在 $\delta=1.252$ 的单峰是 $-CH_3$ 峰, $\delta=2.004\sim 2.249$ 是 $-CH_2CH_2-$ 的峰,在 $\delta=2.817\sim 2.858$ 是 $-CH_2CONH$ 的亚甲基峰, $\delta=3.281\sim 3.396$ 是 $-CONHCH_2-$ 的峰。

2.2 体外细胞转染试验

以绿色荧光蛋白质粒基因作为模型基因药物,制备不同比例的十八碳酰修饰的 PAMAM-DNA 纳米粒,并考察其基因转染性能,结果见图 1。



A. 3.0 G PAMAM-DNA; B. 十八碳酰修饰的 3.0 G PAMAM-DNA 18 carbonyl modify PAMAM.

图 1 十八碳酰修饰前后的 PAMAM 对 HeLa 细胞的转染效果

Fig.1 The transfer of 18 carbonyl modify PAMAM nanoparticles as gene delivery into HeLa cells

倒置荧光显微镜观察结果显示,转染后 HeLa 细胞样品孔中能观察到绿色荧光点,表明绿色荧光蛋白质粒基因能被十八碳酰修饰后的 PAMAM 递送

到细胞内并开始表达产生绿色荧光蛋白。从图 1 可知,在基因转染试验中,十八碳酰修饰后的 PAMAM 的转染效率高于未修饰的 3.0 G PAMAM。十八碳酰修饰后的 PAMAM 基因载体能够很好与 DNA 结合,可能是复合基因载体的表面积增加,加大了与 DNA 结合的空腔面积,提高了载体与 DNA 结合的能力,因此转染效率高于单纯的 3.0 G PAMAM。

3 讨论

酰胺化反应一般容易进行,通过控制十八碳酰氯的用量,将十八碳酰修饰在树状大分子外围;应用红外光谱和 1H NMR 对目标产物进行表征,结果表明树状大分子外围能够接上十八碳酰长链。通过在 3.0 G 树状大分子外围修饰上十八碳酰长链,形成外围疏水、内核亲水的新型树状大分子,在基因转染过程中能够更好的结合 DNA,从而提高基因转染效率。

参 考 文 献

- [1] 柯涛,胡凡,石晴芳,等.一种用于高效筛选极端酶突变基因的质粒营救法[J].华中农业大学学报,2009,28(1):54-57.
- [2] MASOOD E. Pressure grows for inquiry into welfare of transgenic animals[J]. Nature,1997,388:311-312.
- [3] SASAKI E, SUEMIZU H, SHIMADA A, et al. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission [J]. Nature,2009,459:523-527.
- [4] ZERMANN D H, ISHIGOOKA M, DOGGWEILER W R, et al. Central autonomic innervation of the kidney. What can we learn from a transneuronal tracing study in an animal model? [J]. J Urol,2005,173(3):1033-1038.
- [5] KIM T, SEO H J, CHOI J S. PAMAM-PEG-PAMAM; novel triblock copolymer as a biocompatible and efficient gene delivery carrier[J]. Biomacromolecules,2004,5(6):2487-2492.
- [6] XIAO Y, SHAO L, CHUNG T S, et al. Effects of thermal treatments and dendrimers chemical structures on the properties of highly surface cross-linked polyimide films[J]. Ind Eng Chem Res, 2005,44(9):3059-3067.
- [7] TONO Y, KOJIMA C, HABA Y, et al. Thermosensitive properties of poly(amidoamine) dendrimers with peripheral phenylalanine residues[J]. Langmuir,2006,22(11):4920-4922.
- [8] 王薇. PEG 修饰对 PAMAM 树状大分子导致细胞损伤的保护作用及其机理[D]. 武汉:华中科技大学生命科学与技术学院,2009.
- [9] TOMALIA D A, BAKER H, DEWALD J, et al. A new class of polymers: starburst-dendritic macromolecules [J]. Polym J, 1985,17(1):117-132.

瘦肉型猪早期生长发育规律的拟合模型研究*

刘望宏¹ 胡军勇¹ 倪德斌¹ 潘晚平² 熊远著^{1**}

1. 华中农业大学动物科学技术学院, 武汉 430070; 2. 湖北省原种猪场, 鄂州 436000

摘要 以杜洛克猪、长白猪和大约克猪 3 个典型瘦肉型猪种为研究对象, 进行了早期(30~50 kg)性能连续测定和全期(30~100 kg)性能测定, 探索最适拟合模型, 研究早期生长性状发育规律。以湖北省 5 个代表性种猪场 3 个品种共计 678 头种猪的测定数据为基础, 采用 Logistic、Gompertz、Saturation、Quadratic 及 Polynomial 等多种非线性模型和线性模型, 分别对早期日龄与体质量、体质量与背膘的发育规律进行了多种条件下的回归分析。结果显示, Logistic、Gompertz 和 Saturation 模型在一定范围都适合瘦肉型猪日龄与体质量生长发育规律的研究, 从生物学意义上讲 Gompertz 模型优于 Logistic 模型, 而 Saturation 模型不仅拟合度高, 且简单无次型变化, 具有制定校正公式的优势, 是最适的拟合模型。Logistic 和 Gompertz 模型不适合体质量与背膘发育规律的研究, Saturation 模型在体质量与背膘发育规律拟合中有很好的生物学意义, 对猪极限生长体质量范围内任一体质量阶段背膘发育具有连续点预测的功能。线性模型在研究体质量与背膘发育规律时拟合度高且简单实用, 阶段性发育特征明显, 是制定目标性状校正公式的最适模型。

关键词 猪; 早期生长性状; 模型拟合

中图分类号 S 828.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)03-0335-06

近年不少研究者对动物的生长发育规律进行研究, 以寻求不同生长阶段的性能发育特点和生物学意义^[1-2]。Fisher 等^[3]研究发现长白、皮特兰和梅山猪胴体组成和组织分布的生长发育相对增长率存在显著差异。郑华等^[4]利用 Gompertz 方程拟合猪的生长拐点, 认为杜洛克性成熟早于长白和大约克。章胜乔等^[5]报道, 长白猪 Logistic 方程回归相关指数 R^2 达到 0.998 6~0.999 9, 陶志伦等^[6]研究金华猪 Logistic 和 Gompertz 方程回归 R^2 分别达到 0.992 和 0.998, 但其研究群体较小或采用单头数据进行。回归方程拟合度高低与数据的离均性密切相关, 郑华等采用 Logistic 方程拟合, 杜洛克公猪(样本 45 头) R^2 为 0.930 5, 长白公猪(样本 49 头)为 0.922 9, 大约克公猪(样本 50 头)为 0.901 7; Gompertz 方程拟合 R^2 杜洛克公猪为 0.929 9, 长白公猪为 0.922 0, 大约克公猪为 0.901 3^[4]。背膘是猪体脂构成最稳定的组成部分, Hornicke 于 1962 年对猪体总成分在活体生长中的相对量变化作了研

究, 结果显示随着活体质量的不断增加, 脂肪的下降曲线近似直线^[7]。楼平儿^[8]研究认为倒数第 3~4 肋骨处膘厚变化规律最稳定并近似直线。以此为基础, 笔者应用多种模型对瘦肉型猪早期生长性状进行拟合研究, 探索最适模型, 研究其生长发育规律, 旨在为制定科学的早期目标性状校正公式奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以杜洛克、长白和大约克 3 个瘦肉型猪品种为研究对象, 选择湖北省浠水长流畜牧公司(A 场), 武汉花果山畜牧有限公司(B 场), 湖北龙王畜牧有限公司(C 场), 湖北省原种猪场(D 场)和湖北天种畜牧股份有限公司(E 场)5 个种猪场, 在统一规范条件下进行种猪的早期性能连续测定和全期性能测定工作, 测定规模根据各场生产实际和品种结构确定, 尽量保持各品种和性别的数量平衡, 具体分布如表 1。

收稿日期: 2010-01-17; 修回日期: 2010-03-16

* 国家“973”项目(2006CB102102)和农业部公益性(农业)科技专项(nyhyzx07-034)资助

** 通讯作者. E-mail: xiongyzh@mail.hzau.edu.cn

刘望宏, 男, 1974 年生, 畜牧师. 研究方向: 猪的遗传育种. E-mail: whliu@mail.hzau.edu.cn

表 1 测定种猪数量分布表

Table 1 Distributing of the testing swines in five farms

场家 Farm	杜洛克 Duroc		长白 Landrace		大约克 Yorkshire	
	公猪 Boar	母猪 Gilt	公猪 Boar	母猪 Gilt	公猪 Boar	母猪 Gilt
A 场 A farm	0	6	5	20	0	70
B 场 B farm	52	31	0	0	0	28
C 场 C farm	50	53	0	0	0	0
D 场 D farm	0	0	38	49	72	53
E 场 E farm	36	35	0	0	31	49
合计 Total	138	125	43	69	103	200

1.2 测定技术

选择系谱清晰,健康、发育正常、无外形缺陷和遗传疾患,体质量 25~30 kg 的同一品种同批断奶种仔猪。固定在一栋相对独立的猪舍,公母分开,每栏 10~15 头,个体标识明确。饲养管理和疫病防控不作单独处理,依各场实际进行,固定 1 名饲养员负责饲养管理。仔猪日粮(每千克风干饲料)营养指标:消化能 13 807.2 kJ,粗蛋白 18.50%,赖氨酸 1.05%,蛋氨酸 0.30%,总钙 0.75%,总磷 0.63%。

猪群平均体质量 30~35 kg 时入试,并称质量,准确记录入试日期、品种、栏号、个体编号、入试日龄、入试体质量。约 35~38 kg 开始首次测定,每间隔 2 d 称质量 1 次。记录个体质量、日龄、活体膘厚。采用 A 超仪测定活体膘厚,测定部位统一规定在左侧的第 10 肋至 11 肋之间(或倒数第 3~4 肋间),35~45 kg 体质量时距背中线的 2.5~3.0 cm,45~60 kg 体质量时约 3.0~3.5 cm,此点测 2 次,2 次平均值为平均膘厚(mm)。至体质量约 60 kg 左右停止测定,此为早期测定。猪只个体质量平均达 90 kg 左右时进行结束测定,记录结束体质量,结束日龄,活体膘厚。测定部位同前,要求测定点距背中线约 5 cm,结合入试测定资料,此为全期测定。称质量和测膘人员经培训合格后固定 1 人,记录准确、规范。

1.3 数据统计处理方法

首先对各类测定数据进行简单描述性统计,少数个体测定异型值和不完整的数据予以去除。采用 SAS 软件研究所(SAS Institute Inc.)开发的 SAS 8.0 软件的 NLIN(Nonlinear regression)和 REG(Regression)程式进行回归分析,使用 CurveExpert 1.3 版共享软件(Daniel Hyams 开发)进行图型拟合与分析。具体方法如下:

1)非线性拟合(non-linear fitting)。按照品种、性别对数据分场分群。研究生长速度时,以日龄为

变量,体质量为依变量进行日龄与体质量的关系拟合,先分场进行数据拟合,再合并进行数据拟合,然后进行分段拟合和全程拟合,找寻最适拟合条件和模型。背膘的发育研究则以体质量为变量,背膘为依变量进行关系的拟合。为避免重复,首先对杜洛克的公母猪按照以上方法进行全面的分析,确定最适方式后再进行长白猪和大约克猪拟合研究。以体质量与日龄的关系拟合为例,采用的非线性模型有:

① Logistic 模型(逻辑斯特生长模型)

$w = k / (1 + ae^{-at})$,其中 w 为体质量, t 为对应的日龄, k 、 a 、 b 为参数, k 表示极限累计生长量。

② Gompertz 模型(S 型曲线模型)

$w = ae^{-e^{-(b-a)t}}$,其中 w 为体质量, t 为对应的日龄, a 、 b 、 c 为参数, a 表示极限累计生长量。

③ Quadratic(二次型)和 Polynomial(多项式)模型

$w = b_0 + b_1t + b_2t^2 + \dots$,其中 w 为体质量, t 为对应的日龄, b_0 、 b_1 、 $b_2 \dots$ 为参数。

④ Saturation 模型(饱和生长模型)

$w = t / (a + bt)$,其中 w 为体质量, t 为对应的日龄, a 、 b 为参数。

2)线性拟合(linear fitting)。 $w = a + bt$,其中 w 为体质量, t 为对应的日龄, a 、 b 为参数。

3)回归方程显著性检验与比较。采用最小二乘法,即剩余平方和 Q 达到最小值, $Q = \sum (u_i - \bar{u}_i)^2$,记作 SSE,回归偏差记作 SSR,构成统计量 $F = (SSR/df_1) / (SSE/df_2)$,进行显著性检验。线性方程之间以决定系数(复相关系数)进行比较,记作 r^2 。非线性方程之间以相关指数进行比较,记作 R^2 , $R^2 = 1 - (Q/l_{yy})$,其中 l_{yy} 为总平方和, $l_{yy} = \sum (u_i - \bar{u}_i)^2$, R^2 越大方程拟合度越高。

2 结果与分析

2.1 杜洛克猪拟合分析

以 Logistic 模型为例,选用杜洛克公猪的数据在多种条件下进行拟合分析,结果如表 2。结果表明,研究猪日龄与体质量关系时采用多场合并的全程数据拟合度最好,剪代表性,在样本量增加情况下其拟合 R^2 仍达到 0.935。体质量与背膘的拟合采用全程抽样数据效果最好, R^2 均在 0.95 以上,合并后由于样本量的增加其相关指数有所下降(0.938),但回归方程仍达到极显著。因此,为保

表 2 Logistic 模型对杜洛克公猪生长性状多种条件下的拟合 R² 值¹⁾

Table 2 The fitting R² values of Duroc boars growth performance using Logistic model under multi-condition

项目 Item	单场测定数据 Single farm testing data						多场测定数据 All farms testing data		
	B 场阶段 Phase data of B farm	B 场全程 Whole data of B farm	B 场全程抽样 Sample data of B farm	C 场阶段 Phase data of C farm	C 场全程 Whole data of C farm	C 场全程抽样 Sample data of C farm	阶段 Phase data	全程 Whole data	全程抽样 Sample data
日龄与体质量 Age and weight	0.836	0.944	/	0.918	0.927	/	0.837	0.935	/
体质量与背膘 Weight and back fat	0.801	0.924	0.950	0.879	0.929	0.957	0.776	0.900	0.938

1) 抽样数据是指每头种猪早期测膘数据采用每 9 d 的活体膘厚测定数据。The sampling data means that the early measurement data were drew out once every 9 days from the the backfat data of living pigs.

障拟合模型的代表性,宜选择多场合并的数据进行拟合分析。

为验证线性模型是否适合研究猪生长发育规律,表 3 列出杜洛克猪多场数据合并后在阶段、全程与阶段抽样数据等几种条件下线性拟合结果。显然,

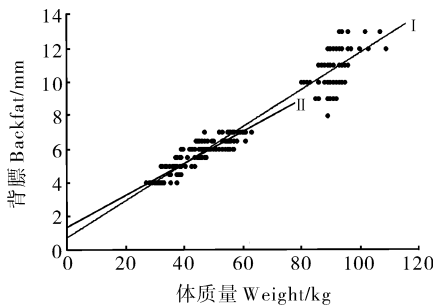
采用线性模型回归方程尽管达到极显著,但不适合研究日龄与体质量的相关性,因为无论是阶段还是全程测定数据情形下,其截距均不可能是负数,也进一步证明两者的相关性是非线性的关系。而在研究体质量与背膘关系时则宜采用线性模型进行拟合分析。

表 3 杜洛克公猪生长性状多种条件下的线性拟合

Table 3 The linear fitting of Duroc boars growth performance under multi-condition

项目 Item		多场合并测定数据 Combination testing data of all farms		
		阶段 Phase data	全程 Whole data	阶段抽样 Sample data of phase
日龄与体质量 Age and weight	公猪 Boar	$w = -18.3079 + 0.6667t$ $r^2 = 0.8426$	$w = -26.8574 + 0.7586t$ $r^2 = 0.8977$	/
	母猪 Gilt	$w = -20.1268 + 0.6860t$ $r^2 = 0.8556$	$w = -24.1540 + 0.7294t$ $r^2 = 0.9014$	/
体质量与背膘 Weight and back fat	公猪 Boar	$bf = 0.4213 + 0.1081w$ $r^2 = 0.8991$	/	$bf = 1.1915 + 0.0901w$ $r^2 = 0.9252$
	母猪 Gilt	$bf = 0.2756 + 0.1167w$ $r^2 = 0.8657$	/	$bf = 0.6439 + 0.1032w$ $r^2 = 0.9124$

对杜洛克公猪体质量与背膘全程及阶段数据作线性拟合,经比较早期阶段数据线性回归方程的斜率小于全程数据的斜率(图 1)。因此,在进行日龄与背膘线性回归时宜采用阶段性的抽样数据,否则会偏离早期背膘生长发育规律。Saturation 模型虽是生长家族的成员,但其不具备 S 型的特点,拟合曲线在研究体质量与背膘发育规律时近似直线(图 2),



I. 全程拟合直线 Fitting line of fully data;
II. 阶段拟合直线 Fitting line of phase data.

图 1 杜洛克公猪体质量与背膘全程与阶段数据线性拟合图
Fig. 1 Linear fitting plot of weight and backfat of duroc boars with fully and phase data

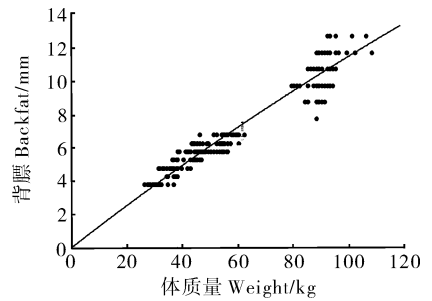


图 2 杜洛克公猪体质量与背膘 Saturation 全程拟合曲线
Fig. 2 Fitting curve of weight and backfat of duroc boars with Saturation model by fully data

且拟合度很高,相关指数公猪为 0.930 0,母猪为 0.914 3(表 4)。

为避免赘述,根据以上结果,其他模型均采用最佳数据条件下进行拟合分析,并将几种模型的拟合结果汇总。经比较分析发现,在猪的一定发育阶段, Saturation 模型是研究日龄与体质量关系的最适方程,回归拟合度高,程式简单实用。Saturation 模型和线性模型同样适合体质量与背膘关系的研究,其

表 4 几种模型在杜洛克猪生长性状的拟合结果

Table 4 The fitting results of Duroc growth performance with multi-model

项目 Item	模型 Model								
	Logistic	Gompertz	Quadratic	Polynomial	Saturation	Linear			
日龄与体质量 Age and weight	公猪 Boar	$R^2=0.934\ 9$ $k=146.2$ $a=18.063\ 5$ $b=0.021\ 8$	$R^2=0.934\ 7$ $a=245.9$ $b=1.374\ 9$ $c=0.008\ 9$	$R^2=0.930\ 0$ $b_0=-5.58$ $b_1=0.39$ $b_2=0.001\ 5$	$R^2=0.930\ 0$ $b_0=43.85$ $b_1=-1.00$ $b_2=0.014\ 1$ $b_3=-0.000\ 04$	$R^2=0.932\ 7$ $a=2.876\ 5$ $b=-0.007\ 913$	/		
		母猪 Gilt	$R^2=0.931\ 6$ $k=138.8$ $a=18.881\ 7$ $b=0.023\ 1$	$R^2=0.931\ 0$ $a=218.1$ $b=1.393\ 7$ $c=0.009\ 8$	$R^2=0.880\ 0$ $b_0=29.22$ $b_1=-0.24$ $b_2=0.004\ 2$	$R^2=0.900\ 0$ $b_0=62.71$ $b_1=-1.54$ $b_2=0.019\ 1$ $b_3=-0.000\ 05$	$R^2=0.925\ 6$ $a=2.787\ 6$ $b=-0.007\ 04$	/	
			公猪 Boar	/	/	/	/	$R^2=0.930\ 0$ $a=8.520\ 1$ $b=0.000\ 12$	$r^2=0.925\ 2$ $a=1.191\ 5$ $b=0.090\ 1$
				母猪 Gilt	/	/	/	/	$R^2=0.914\ 3$ $a=8.499\ 6$ $b=0.000\ 53$

中线性模型有制定目标体质量背膘校正公式的明显优势。Logistic 和 Gompertz 模型在研究猪日龄与体质量生长发育关系上有较高拟合度,具有一定的生物学意义,从累计生长量来看(a 值和 k 值),Gompertz 模型优于 Logistic 模型,但模型复杂均不适合制定校正公式。在研究猪体质量与背膘之间的关系时,其累计生长量出现偏小或异常值现象,说明二者均不适合体质量与背膘关系的研究。Quadratic 和 Polynomial 模型在 2 次型以上都能达较高水平的拟合度,增加次型无实际改进量,且不具备动物

生长的实际生物学意义,因此仅作模型间比较分析,不参与后续拟合研究。

2.2 长白猪和大约克猪拟合分析

长白猪和大约克猪以杜洛克猪拟合结果为基础,选择最适方程和最适条件进行拟合分析,即日龄与体质量采用 Saturation 模型对全程数据进行拟合,体质量与背膘则采用线性模型对早期生长抽样数据进行拟合,其拟合结果如表 5。相关指数和决定系数均达到高度相关,回归方程达到极显著。

表 5 长白猪和大约克猪生长性状最适模型拟合结果

Table 5 The fitting results of Duroc and Yorkshire growth performance with only model

项目 Item		长白猪 Landrace		大约克猪 Yorkshire	
		Saturation	Linear	Saturation	Linear
日龄与体质量 Age and weight	公猪 Boar	$R^2=0.926\ 8$ $a=2.691\ 6, b=-0.006\ 8$	/	$R^2=0.947\ 2$ $a=2.611\ 6, b=-0.006\ 1$	/
	母猪 Gilt	$R^2=0.928\ 9$ $a=2.857\ 3, b=-0.007\ 39$	/	$R^2=0.885\ 6$ $a=2.537\ 1, b=-0.005\ 4$	/
体质量与背膘 Weight and back fat	公猪 Boar	/	$r^2=0.904\ 6$ $a=1.130\ 3, b=0.097\ 7$	/	$r^2=0.918\ 4$ $a=0.571\ 8, b=0.107\ 4$
	母猪 Gilt	/	$r^2=0.899\ 5$ $a=0.899\ 5, b=0.104\ 6$	/	$r^2=0.893\ 5$ $a=0.505\ 2, b=0.109\ 6$

综上所述, Logistic、Gompertz 和 Saturation 模型在一定范围均适合猪日龄与体质量生长发育规律研究,其中 Gompertz 模型从生物学意义上讲优于 Logistic 模型,而最适为 Saturation 模型,不仅拟合度高,且简单实用,具有制定目标性状校正公式的优势,但不具备明确的生物学意义。在研究体质量与背膘发育规律时, Logistic 和 Gompertz 模型均不适合, Saturation 模型较适合,拟合度高,因无次型变化而具有制定校正公式的优势。线性模型不适合研

究日龄与体质量生长发育规律,而适合研究体质量与背膘发育规律,是制定目标体质量活体膘厚校正公式的最适模型。

3 讨论

3.1 Logistic 和 Gompertz 模型拟合日龄与体质量生长发育规律的生物学意义

日龄与体质量的发育规律是较明确的非线性关系,适合 Logistic、Gompertz 和 Saturation 3 种生长

模型拟合。笔者随机选择单头杜洛克种猪测定数据分别选择做了 Logistic、Gompertz 及 Saturation 模型的回归拟合试验, R^2 分别为 0.999 7、0.999 7 和 0.996 0。与章胜乔等^[3]报道一致, 长白猪 Logistic 方程回归 R^2 达到 0.998 6~0.999 9; 陶志伦等^[4]报道, 金华猪 Logistic 和 Gompertz 方程回归 R^2 分别达到 0.992 和 0.998。另外, 张力等^[7]进行了杜长大杂交猪生长发育性能的性别差异性研究, 郑华等^[2]进行不同品种公猪连续日称质量记录的生长曲线拟合, 均获得很好回归效果, 为研究猪不同品种和性别的生长性状发育规律奠定了一定基础。Saturation 模型在动物日龄与增重生长研究中暂不具备明确的生物学意义。如果以累计采食量为自变量, 累计体质量为依变量建立方程, 建立体质量与采食量的 Saturation 经济函数模型, 可能对猪场经济成本控制具有应用价值。Logistic 和 Gompertz 模型在研究生长曲线时具有明确的生物学意义。笔者认为, Gompertz 方程更适合对日龄与体质量的生物学研究, 回归拟合结果如表 6。

表 6 各品种 Gompertz 方程回归拟合结果

Table 6 Regress results of the Gompertz equation for all breeds

品种 Breed	性别 Sex	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	拐点 (<i>t</i> , ω) Inflexion
杜洛克	公猪 Boar	245.9	1.374 9	0.008 9	154.48, 90.46
Duroc	母猪 Gilt	218.1	1.393 7	0.009 8	142.21, 80.23
长白	公猪 Boar	216.3	1.437 8	0.010 6	135.64, 79.57
Landrace	母猪 Gilt	199.7	1.452 6	0.010 9	133.27, 73.47
大约克	公猪 Boar	226.9	1.367 0	0.095 7	142.84, 83.47
Yorkshire	母猪 Gilt	282.2	1.317 8	0.007 7	170.92, 103.82

结果显示, 各品种的生长发育规律有所不同, 其中长白猪的极限体质量最小, 拐点最早, 即长白猪的性成熟应早一些, 在拐点之后, 相对生长速度下降。大约克猪的拐点最大, 累计极限体质量也最大, 说明大约克猪的性成熟晚一些。另外, 杜洛克和长白猪的母猪相对于公猪拐点都小, 说明此 2 个品种母猪性成熟早一些, 极限体质量也略小。大约克母猪却大于公猪的拐点, 意味着公猪的性成熟会早一些, 同时晚于长白公母猪及杜洛克母猪。长白猪累计生长量(*a* 值) 最小, 公母猪分别为 216.3 kg 和 199.7 kg, 大约克猪最大, 公母猪(*a* 值) 分别为 226.9 kg 和 282.2 kg, 与实际平均生产数据相符。本研究采用了大群测定数据, 累计生长量参数值为预测平均值, 实际生产中部分个体值会大于或小于此值。

3.2 Saturation 模型和线性模型拟合体质量与背膘生长发育规律的生物学意义

早期生长发育中背膘的生长是具有其特点的, 背膘是体脂含量的一个重要代表, 因其具有一定规律性和稳定性, 且与瘦肉率相关程度高, 已成为人们评价胴体组成或估计瘦肉率的重要性状^[8-9]。猪瘦肉组织和脂肪的生长是随着体质量的不断增长不断变化的, 早期生长猪的背膘很薄, 发育速度较低, 绝对增长量小, 只是随着体质量的不断增加而缓慢增加, 所以在现有仪器精度条件下连续测定(每间隔 2 d 一次)的时间内变化不大, 本研究采用间隔 9 d 的抽样数据进行分析, 结果显示是可行的。笔者研究认为: Saturation 模型和线性模型均适合体质量与背膘发育规律的研究, 而 Saturation 模型具有较好的生物学意义。猪体质量是有生长极限的, 一般体质量累积最大生长量平均在 300 kg 以内, 则可在一定范围内预测背膘的饱和累计厚度。以杜洛克母猪为例, 设体质量 100 kg, 可预测其达 100 kg 体质量膘厚为 11.7 mm, 体质量为 200 kg 时, 则可预测其背膘累积生长量为 23.2 mm, 如体质量达到最大 300 kg, 则可预测其饱和背膘厚为 34.7 mm, 期间任一质量均可以连续预测。因此, Saturation 模型在研究背膘生长发育规律中具有潜在的应用价值。

3.3 模型选择和数据利用的探讨

本文选择回归模型是在前人基础上进行的, 应用于早期生长性状发育规律研究。郑华、章胜乔等研究者与本文采用同一方法, 在模型中均未考虑随机效应^[2,4-7,9]。随机效应回归模型主要用于研究个体差异, 特别是遗传差异, 如在研究家系间 QTL 标记连锁分析宜采用随机效应模型来研究^[12]。本文研究生长发育规律是同一种群群体性的, 不需要考虑环境等随机效应因素(对群体影响非常小), 同时, 笔者采用多场数据合并的方法在一定程度上极大地消除了随机效应的影响, 因此, 在本文中采用固定效应的回归模型是适合研究变量与依变量之间内在关系的。而采用单场、多场, 阶段和全程的多种情况在不同模型间进行拟合分析, 其目的是为探寻在什么条件下哪种模型能获得最适回归方程。研究表明, 场间拟合差异来源于数据不平衡性, 而阶段与全程拟合差异则来源于数据离均性。因此在多场数据合并前提下, 研究日龄与体质量关系时宜采用全程数据进行回归拟合, 而研究体质量与背膘关系时则宜采用阶段性数据进行分析, 这也充分说明性状间

发育规律具有较大差别。由于数据合并利用具有代表性,其拟合结果在不同场间应用会有较好的重复性。

参 考 文 献

- [1] LORENZO B J, ROEHE R, RAVE G, et al. Comparison of linear and nonlinear functions and covariance structures to estimate feed intake pattern in growing pigs[J]. *Livestock Production Science*, 2003, 82: 15-26.
- [2] 毛永江, 杨章平, 王杏龙, 等. 中国荷斯坦牛早期生长曲线拟合研究[J]. *遗传育种*, 2009, 45(3): 1-4.
- [3] FISHER A V, GREEN D M, WHITTEMORE C T, et al. Growth of carcass components and its relation with conformation in pigs of three types[J]. *Meat Science*, 2003, 65: 639-650.
- [4] 郑华, 刘小红, 吴常信, 等. 不同品种公猪连续日称质量记录的生长曲线拟合[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(11): 2406-2407, 2409.
- [5] 章胜乔, 徐宁迎, 许苏虹, 等. 长白猪的生长曲线分析[J]. *浙江农业科学*, 2001(1): 44-46.
- [6] 陶志伦, 项云. 金华猪生长曲线探讨[J]. *浙江农业学报*, 2004, 16(2): 99-101.
- [7] DEENIS B, DANIEL S. Modelling the mechanisms of pig growth[J]. *Livestock Production Science*, 1997(51): 97-107.
- [8] 楼平儿. 不同超声波测膘仪的准确性和相关性的研究[D]. 雅安: 四川农业大学动物科学技术学院, 2002.
- [9] 张力, 邵良平. 杜长大杂交猪生长发育性能的性别差异性研究[J]. *家畜生态学报*, 2005, 26(2): 49-50.
- [10] 倪德斌, 熊远著, 雷明刚, 等. 猪胴体瘦肉率活体估测的研究[J]. *华中农业大学学报*, 1999, 18(5): 466-468.
- [11] 周丽, 陈宏权. 皖南花猪的背膘厚度与胴体组成之相关分析[J]. *畜牧与兽医*, 2009, 41(1): 56-58.
- [12] 殷宗俊, 张勤. 随机效应模型下标记——QTL连锁分析方法[J]. *中国农业大学学报*, 2005, 10(4): 93-96.

Fitting Models Research of Development Law on Early Growth Traits of Lean-Type Pigs

LIU Wang-hong¹ HU Jun-yong¹ NI De-bin¹ PAN Wan-ping² XIONG Yuan-zhu¹

1. *College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;*

2. *The Former Pig Farm, Hubei Province, Ezhou 436000, China*

Abstract In this paper, the authors carried out continuous measurements on the growth performance of three lean-type breeds, Duroc, Landrace and Yorkshire (30~50 kg and 30~100 kg), and explored the optimal fitting model to study the early development. The regression analysis in variety conditions, between the early age and weight, weight and back fat, with non-linear model and linear models, such as Logistic, Gompertz, Saturation, Quadratic and Polynomial etc, were analyzed based on the testing data of 678 pigs in five typical pig farms of Hubei Province. The results showed that, the three models (Logistic, Gompertz, and Saturation) in a certain range are all suitable for researching on the growth development on age and weight of lean pigs. In meaning of the biological sense, Gompertz model is better than the Logistic model. While the Saturation model can get a good and simple fit. And this model didn't change transformation of metatype, with the advantages of developing revision formula. Logistic and the Gompertz model is not suitable for study on weight and backfat development law, while Saturation model has good biological sense in the development law of weight and back fat, and within the limits of the growth phase of any weight, has continuous point forecast function about the back fat. So, the Saturation model is the most suitable fitting model.

Key words pig; early growth traits; model fitting