

## FSH $\beta$ 基因外显子 2 的多态性及其与两个山羊品种繁殖性能的相关性研究

安小鹏, 韩丹, 侯金星, 李广, 王娅娜, 李玲, 朱广琴, 王建刚, 宋宇轩, 曹斌云

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 【目的】寻找与产羔数相关的遗传标记, 为山羊高繁殖力标记辅助选择提供依据。【方法】根据绵羊 FSH $\beta$  基因序列设计 2 对引物, 采用 PCR-SSCP 技术检测山羊 FSH $\beta$  基因外显子 2 的多态性, 利用最小二乘均数法对其与产羔数的关系进行分析, 同时对多态位点的遗传方差进行分析, 通过标记位点与产羔性状的遗传相关预测选择反应。【结果】在引物 ( $P_2$ ) 扩增片段中检测到 1 个多态位点, 出现 3 种基因型 (EE、EF 和 FF)。对于西农萨能奶山羊, 在 1~4 胎和平均产羔数中, EE 型个体产羔数显著高于 EF 和 FF 型个体 ( $P < 0.05$ ), EF 型个体的第 2 胎和平均产羔数显著高于 FF 型个体 ( $P < 0.05$ ); 对于波尔山羊, 在 2~3 胎和平均产羔数中, EE 型个体产羔数极显著高于 EF 和 FF 型个体 ( $P < 0.01$ ), EF 型个体平均产羔数显著高于 FF 型个体 ( $P < 0.05$ )。在西农萨能奶山羊和波尔山羊两个群体中, 产羔性状的遗传主要受基因加性效应的影响。【结论】对于西农萨能奶山羊和波尔山羊, 多态位点 EE 基因型可作为产羔性状上的标记基因型。

**关键词:** 山羊; 卵泡刺激素  $\beta$  亚基; 多态性; 产羔数

## Polymorphism of Exon 2 of FSH $\beta$ Gene and Its Relationship with Reproduction Performance in Two Goat Breeds

AN Xiao-peng, HAN Dan, HOU Jin-xing, LI Guang, WANG Ya-na, LI Ling, ZHU Guang-qin, WANG Jian-gang, SONG Yu-xuan, CAO Bin-yun

(College of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, Shaanxi)

**Abstract:** 【Objective】 The objectives of the present study were to detect the polymorphism in follicle stimulating hormone beta (FSH $\beta$ ) and investigate the relationship between FSH $\beta$  gene and high prolificacy in goats. 【Method】 According to the sequence of ovine FSH $\beta$  gene, two pairs of primers were designed to detect single nucleotide polymorphism of exon 2 of FSH $\beta$  gene in two goat breeds by PCR-SSCP. The least square mean and genetic variance of different genotypes at polymorphic loci were analyzed, and the selection reaction was forecasted by genetic correlation between marker locus and genetic variance of litter size traits. 【Result】 There was one polymorphic locus occurring in exon2 ( $P_2$ ) with three genotypes (EE, EF and FF). In Xinong Saanen dairy goat, EE genotype had significantly higher ( $P < 0.05$ ) litter size than EF and FF genotype in the first to fourth parity and average parity; EF genotype had significantly higher ( $P < 0.05$ ) litter size than FF genotype in the second and average parity. In Boer goat, EE genotype had significantly higher ( $P < 0.01$ ) litter size than EF and FF genotype in the second to fourth parity and average parity; EF genotype had significantly higher ( $P < 0.05$ ) litter size than FF genotype in average parity. In Xinong Saanen dairy and Boer goat, the heredity of litter size was mainly influenced by genetic additive effect. 【Conclusion】 In Xinong Saanen dairy and Boer goat, the EE genotype is a favorable marker genotype for litter size.

**Key words:** goat; FSH $\beta$ ; polymorphism; litter size

收稿日期: 2009-05-13; 接受日期: 2009-07-12

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (“863”) 项目 (2007AA10Z167)、国家“十一五”奶业重大科技支撑项目 (2006BAD04A11)

作者简介: 安小鹏 (1984—), 男, 陕西周至人, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖。Tel: 13474687936; E-mail: anxiaopengdky@163.com。  
通信作者曹斌云 (1955—), 男, 陕西周至人, 教授, 研究方向为动物遗传育种与繁殖。Tel: 13384911456; E-mail: caobinyun@yahoo.com.cn

## 0 引言

【研究意义】多羔性状是山羊选育的重要目标之一，多羔性状是由微效多基因决定的数量性状，遗传力很低（约 0.23），采用常规育种在较短时期内难以取得明显进展，在很大程度上限制了中国山羊业的发展。标记辅助选择通过影响选择时间、选择强度以及准确性而极大地提高低遗传力性状的选择功效，而找到与数量性状基因座相连锁的分子遗传标记，是实现标记辅助选择的先决条件。【前人研究进展】卵泡刺激素（follicle stimulating hormone, FSH）是下丘脑-垂体-性腺轴中的主要糖蛋白激素之一，主要作用是促进子宫内膜生长、产生雌激素、刺激卵泡发育和成熟、促进排卵等，FSH 作用的信号转导途径是通过 FSHR 介导的腺苷酸环化酶→环磷酸腺苷（cAMP）途径。FSH 由  $\alpha$ 、 $\beta$  两个亚基组成，在同一物种中， $\alpha$  亚基是一致的， $\beta$  亚基是参加受体结合的特异的功能亚基<sup>[1-2]</sup>。研究发现， $\alpha$ 、 $\beta$  均参与受体结合与信号转录作用。 $\alpha$  亚基基因包括 3 个外显子和 3 个内含子， $\beta$  亚基基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成。牛  $\beta$  亚基位于 15 号染色体上，总长度 6 610 bp<sup>[3]</sup>。初生雌性哺乳动物血液中 FSH 含量很，之后随年龄的增长而缓慢上升，初情后垂体大量分泌并释放 FSH，使血液中 FSH 的浓度大幅度升高。在猪<sup>[4]</sup>和羊<sup>[5-6]</sup>等家畜同种属一些高产仔数品种的个体血液中 FSH 浓度较高，对牛、羊的研究也证实抑制素引起排卵率的提高与 FSH 浓度升高有关<sup>[7]</sup>。研究发现约克夏、长白和杜拉克猪 FSH $\beta$  基因内含子 1 的一段插入序列导致 AA 型个体平均产仔数比 BB 型个体高 1.5 头<sup>[8]</sup>。通过对猪和牛 FSH $\beta$  基因突变研究，发现 FSH $\beta$  基因存在多态位点，可能是控制繁殖性能的一个主效基因或是与之存在紧密遗传连锁的一个标记<sup>[9-12]</sup>。目前，有关山羊 FSH $\beta$  基因多态性与繁殖性能相关研究报道很少。【本研究切入点】推测 FSH $\beta$  基因具有作为山羊产羔数候选基因的可能性，采用 PCR-SSCP 技术，对 FSH $\beta$  基因进行多态性检测，

分析其多态性与产羔数的关系，同时对多态位点的遗传方差进行分析，确定其作为分子遗传标记的可行性和准确性。【拟解决的关键问题】找到与产羔性状相关联的标记位点，进一步提高山羊繁殖性能，为山羊产羔性状的早期标记辅助选择提供理论依据和技术储备。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

西农萨能奶山羊血样 418 份，采自陕西省千阳萨能羊种羊场。波尔山羊血样 271 份，采自陕西省麟游县波尔山羊种羊场。颈静脉采血，柠檬酸葡萄糖抗凝剂（ACD）抗凝，低温带回， $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。试羊均为成年母羊，至少有连续 4 胎的产羔记录。

### 1.2 主要试剂和仪器

TaqDNA 聚合酶、上、下游引物、 $10\times$ buffer（内含  $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Mg}^{2+}$ ）、dNTPs 均购自北京鼎国生物技术有限公司。 $10\times$ TBE 缓冲液、pBR322DNA/ MspI marker 购自华美生物工程公司。PCR 仪（PTC-1148，美国 BIO2RAD），小型高速离心机（5415D，德国 Eppendorf），电泳仪和垂直电泳槽（DYY-6C 型、DYCZ-24DN 型，北京六一），脱色摇床（TY-80S，南京新校园），凝胶成像仪及分析系统（JD801，江苏捷达）。

### 1.3 引物设计

根据绵羊 FSH $\beta$  基因序列（GenBank: S64745）利用 Primer5.0 设计 2 对引物（表 1），由上海生工合成。

### 1.4 PCR 扩增

PCR 反应体系（ $15\ \mu\text{l}$ ）： $10\times$ PCR 缓冲液（ $\text{Mg}^{2+}$ ） $1.5\ \mu\text{l}$ ，dNTPs mix（ $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ） $1.2\ \mu\text{l}$ ，上游引物（ $10\text{ pmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ ） $1\ \mu\text{l}$ ，下游引物（ $10\text{ pmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ ） $1\ \mu\text{l}$ ，TaqDNA 聚合酶（ $0.5\text{ U}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ ） $1.2\ \mu\text{l}$ ，模板 DNA（ $100\text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ ） $1.0\ \mu\text{l}$ ，加灭菌双蒸水至  $15\ \mu\text{l}$ 。PCR 反应程序： $94^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min；35 个循环（ $94^{\circ}\text{C}$  变性 30 s，退火 30 s，

表 1 引物序列、扩增区域及产物大小

Table 1 Primer sequence, amplified region and product sizes

位点 Sites	序列 Sequence size (bp)	退火温度 $T_m$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	扩增区域 Amplified region	产物大小 Product size (bp)
P <sub>1</sub>	F: GATGAAGTCCGTCCAGTT	59	第 1 外显子 First exon	202
	R: TAGACCCTCAGCACCCCTC			
P <sub>2</sub>	F: ACTCAGGACTTGGTGTAC	48	第 2 外显子 Second exon	247
	R: CTGCTGCTCTTTATTCTC			

72℃ 延伸 45 s); 72℃ 终延伸 10 min; 4℃ 保存。

### 1.5 SSCP 分析

取 5  $\mu$ l 的 PCR 产物与 5  $\mu$ l 的上样缓冲液混合, 98℃ 变性 10 min, 然后迅速放入冰水混合物中作用 15 min, 最后点样于 10 g·L<sup>-1</sup> 的非变性聚丙烯酰胺凝胶溶液中, 于 4℃、180 V 电压条件下电泳 4 h。电泳结束后, 加入 1 g·L<sup>-1</sup> 的硝酸银溶液中, 于摇床上轻摇 15 min, 然后用蒸馏水洗涤凝胶 1~2 次, 加入显色液, 拍照保存。

### 1.6 数据分析

**1.6.1 基因多态性与产羔数的相关分析** 统计多态位点的基因频率和基因型频率, 并进行  $\chi^2$  适合性检验, 分析各群体在该位点是否偏离 Hardy-Weinberg 平衡。采用 SPSS (Version 16.0) 的 GLM 程序对 FSH $\beta$  基因多态性与产羔数进行相关分析, 不同基因型对应的产羔数用最小二乘均数 $\pm$ 标准误 (LSM $\pm$ SE) 来表示, 其线性模型如下:

$$Y_{ijk} = \mu + FT_i + G_j + E_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  为个体表型,  $\mu$  为群体平均值,  $FT_i$  为胎次效应,  $G_j$  为基因型效应,  $E_{ijk}$  为随机误差。

**1.6.2 多态位点的方差分析** 设  $p$  和  $q$  分别为 E 和 F 的基因频率,  $a=1/2$  (EE 的 LSM-FF 的 LSM),  $d=EF$  的 LSM-1/2 (EE 的 LSM+FF 的 LSM), 则基因型的加性方差 ( $V_A$ ) =  $2pq[a+d(q-p)]^2$ ; 显性方差 ( $V_D$ ) =  $(2pqd)^2$ ; 遗传方差 ( $V_G$ ) =  $V_A + V_D$ 。

**1.6.3 预测多态位点与产羔性状间的选择反应 ( $R_{AG}$ )**

$$R_{AG} = i_A \sigma_G r_{AG}$$

由于:  $r_{AG} = \text{COV}_{AG} / (V_A V_G)^{1/2}$ ;  $\text{COV}_{AG} = \text{COV}_{AP} = V_A$ ;  $V_G = V_D + V_A$ ;  $V_D = (2pqd)^2$ ;  $V_A = 2pq[a+d(q-p)]^2$

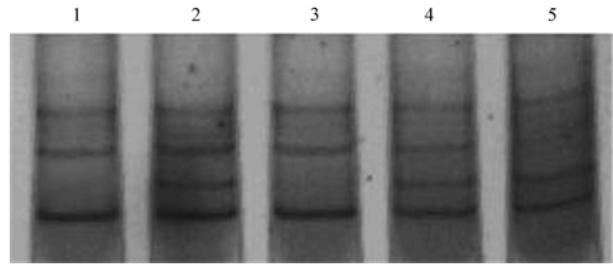
所以:  $r_{AG} = (V_A / V_G)^{1/2}$  式中,  $V_A$  为标记性状的加性方差;  $V_D$  为标记性状的显性方差。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSCP 检测结果

两对引物扩增的 PCR 产物分别进行 SSCP 分析,

结果显示: 第 2 外显子存在多态位点, 在西农萨能奶山羊和波尔山羊中都检测到 3 个基因型, 分别定义为: EE、EF 和 FF (图 1)。



1 和 3: EE 基因型; 2 和 4: EF 基因型; 5: FF 基因型  
1 and 3: EE genotype; 2 and 4: EF genotype; 5: FF genotype

图 1 引物 P<sub>2</sub> 对两种山羊品种扩增片段的 SSCP 分析

Fig. 1 SSCP analysis of PCR products using primer P<sub>2</sub> in two goat breeds

将引物 P<sub>2</sub> 的 PCR 产物进行回收测序, 利用 DNASTAR 软件 (Version 7.0) 对测序结果进行比对, 结果显示: 第 2 外显子 40 bp 位点碱基发生 G $\rightarrow$ A 的替代, 在 148 bp 位点处碱基发生 T $\rightarrow$ C 的替代 (图 2)。利用 DNASTAR 软件将多态位点所在的外显子核苷酸序列翻译为氨基酸序列, 对突变前后的氨基酸序列进行比对, 结果表明: G $\rightarrow$ A 突变, 引起氨基酸改变 (丙氨酸 $\rightarrow$ 苏氨酸), T $\rightarrow$ C 的突变为沉默突变。

### 2.2 基因频率及基因型频率的统计分析

在 PCR-SSCP 方法进行多态性检测分型后, 利用聚类分析软件 (Version 1.2) 计算多态位点的基因型频率、基因频率、杂合度和多态信息含量 (表 2)。由统计结果可知, 在西农萨能奶山羊和波尔山羊中, 多态位点均以 E 为优势等位基因, 基因频率分别为 0.78 和 0.75, 经  $\chi^2$  检验得出: 在西农萨能奶山羊和波尔山羊中, 多态位点位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P < 0.05$ )。

表 2 FSH $\beta$  基因多态位点的基因频率和基因型频率

Table 2 The gene and genotype frequencies of polymorphism of FSH $\beta$  gene

品种 Breeds	基因分布 Genotype distribution			基因型频率 Genotype frequencies			基因频率 Allele frequencies		杂合度 He	多态信息含量 PIC	$\chi^2$ 值 $\chi^2$ -value
	EE	EF	FF	EE	EF	FF	E	F			
SG	264	120	34	0.63	0.29	0.08	0.78	0.22	0.34	0.28	1.94 ( $P < 0.05$ )
BG	156	95	20	0.58	0.35	0.07	0.75	0.25	0.38	0.30	1.03 ( $P < 0.05$ )

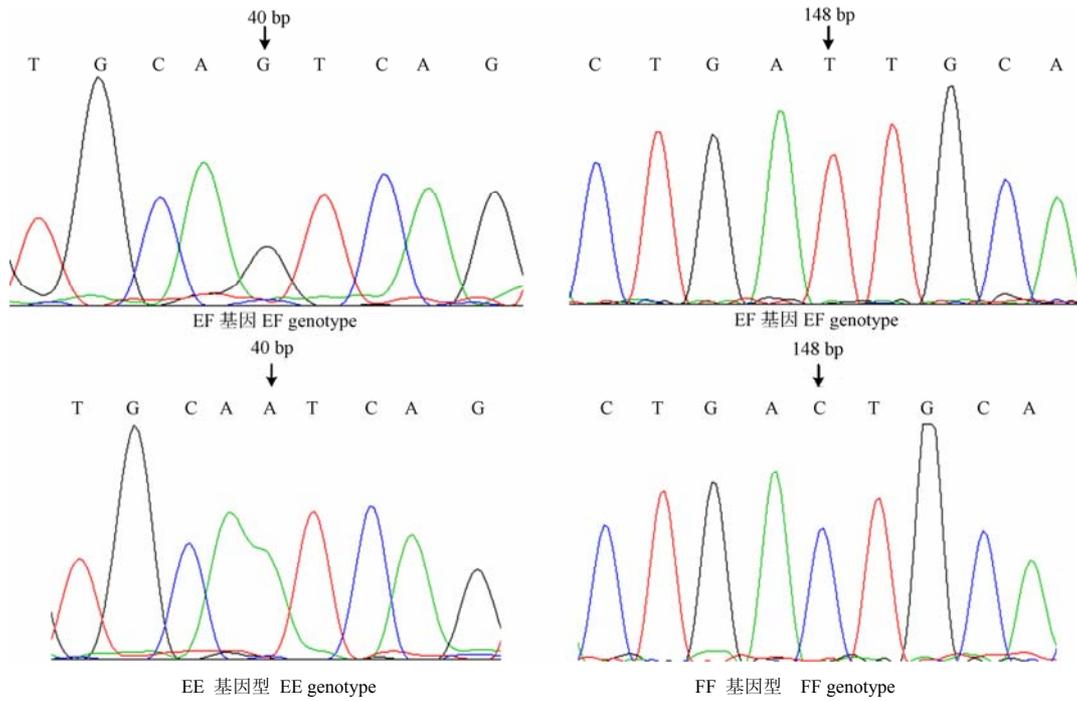


图 2 EF、EE 和 FF 基因型的部分序列比较

Fig. 2 Partial sequence comparison of EF, EE and FF genotypes

2.3 基因多态性与产羔数的相关分析

用 SPSS 的 GLM 程序对 FSH $\beta$  基因多态性与产羔数进行相关分析,见表 3。对西农萨能奶山羊,在 1~4 胎和平均产羔数中,EE 型个体的产羔数显著高于 EF 和 FF 型个体 ( $P<0.05$ ) ; EF 型个体的第 2 胎和平均产羔数显著高于 FF 型个体 ( $P<0.05$ ) ,其它差异不显著。对波尔山羊,在 2~3 胎和平均产羔数中,EE 型个体极显著高于 EF 和 FF 型个体 ( $P<0.01$ ) ;

EF 型个体的平均产羔数显著高于 FF 型个体,其它差异不显著。在西农萨能奶山羊和波尔山羊 2 个群体中,3 种基因型个体的平均产羔数的总体趋势为:EE>EF>FF。

2.4 多态位点的方差分析和选择反应的预测

对多态位点的加性遗传方差进行分析(表 4),对西农萨能奶山羊和波尔山羊,在 1~4 的平均产羔数中,多态位点加性方差分别占基因型方差的 98.23%和

表 3 FSH $\beta$  基因多态位点与产羔数的相关分析

Table 3 Statistical analysis of FSH $\beta$  gene polymorphism with litter size

品种 Breeds	基因型 Genotype	平均值 $\pm$ 标准误 Mean $\pm$ SE				
		第 1 胎产羔数 1st fetus litter size	第 2 胎产羔数 2nd fetus litter size	第 3 胎产羔数 3rd fetus litter size	第 4 胎产羔数 4th fetus litter size	平均产羔数 Average litter size
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	EE(264)	1.58 $\pm$ 0.03a	2.00 $\pm$ 0.03a	2.11 $\pm$ 0.03a	2.22 $\pm$ 0.03a	1.96 $\pm$ 0.02a
	EF(120)	1.37 $\pm$ 0.05b	1.77 $\pm$ 0.04b	1.88 $\pm$ 0.04b	2.04 $\pm$ 0.04c	1.76 $\pm$ 0.03b
	FF(34)	1.38 $\pm$ 0.09b	1.59 $\pm$ 0.08c	1.76 $\pm$ 0.08b	1.88 $\pm$ 0.08c	1.65 $\pm$ 0.05c
波尔山羊 Boer goat	EE(156)	1.47 $\pm$ 0.04a	1.87 $\pm$ 0.04A	1.99 $\pm$ 0.03A	2.14 $\pm$ 0.03A	1.87 $\pm$ 0.02A
	EF(95)	1.39 $\pm$ 0.05a	1.73 $\pm$ 0.05B	1.79 $\pm$ 0.04C	2.00 $\pm$ 0.04B	1.72 $\pm$ 0.02Bb
	FF(20)	1.30 $\pm$ 0.11a	1.55 $\pm$ 0.11B	1.60 $\pm$ 0.09C	1.90 $\pm$ 0.09B	1.59 $\pm$ 0.05Bc

括号内数字为样本数;同一列中不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )  
The numbers in the brackets are the individuals that belong to the respective genotypes. Values with different letters within the same column differ significantly at  $P<0.05$ (a, b, c) and  $P<0.01$  (A, B, C)

表 4 多态位点的方差分析和选择反应

Table 4 The variance analysis and selection reaction of polymorphic locus

品种 Breeds	方差分析 Variance analysis			$R_A$	$R_D$	$R_{AG}$	遗传相关 Genetic correlation $R_{AG}$
	$V_A$	$V_D$	$V_G$				
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	0.0111	0.0002	0.0113	0.9823	0.0177	0.1053	0.9911
波尔山羊 Boer goat	0.0079	0.00001	0.00791	0.9982	0.0018	0.0889	0.9991

表中  $R_A$  和  $R_D$  分别代表加性效应和显性效应在遗传方差中的比例,  $R_{AG}$  代表选择反应

$R_A$  and  $R_D$  represent the percentage of additive and dominance effect from genetic variance, respectively,  $R_{AG}$  represents selective response

99.82%, 说明多态位点平均产羔数的遗传主要受基因加性效应的影响。对于西农萨能奶山羊和波尔山羊, 多态位点的遗传相关分别为 0.9911 和 0.9991, 同时对多态位点在标记选择强度 ( $i_A$ ) 等于 1 时的选择反应进行了估计, 选择反应分别为 0.1053 和 0.0889。

### 3 讨论

#### 3.1 FSH $\beta$ 基因多态位点与繁殖性能的关系

糖蛋白激素家族是控制动物繁殖性能的关键调节因子<sup>[11]</sup>, FSH 属于糖蛋白激素家族, 是动物繁殖所必需的因子, 起着中心调控作用。FSH 促进雌性动物子宫内膜生长、排卵、刺激多卵泡发育及刺激雄性动物精子发生<sup>[13-17]</sup>, 因此可将 FSH 基因作为繁殖性能的候选基因。梁琛等<sup>[18]</sup>研究 FSH $\beta$  基因 PCR-SSCP 多态性及其与济宁青山羊高繁殖力关系时发现, 济宁青山羊和辽宁绒山羊中存在 AA、AB 和 AC 3 种基因型, 在波尔山羊中检测到 AA、CC 和 AC 3 种基因型, AA 基因型济宁青山羊的产羔数显著高于其它 2 种基因型。本试验波尔山羊 FSH $\beta$  基因外显子 2 的多态位点与其相似, 同时发现多态位点与产羔数存在显著相关 ( $P < 0.05$ )。而滑国华<sup>[19]</sup>的研究表明, 海门山羊和马头山羊 FSH $\beta$  基因的外显子 1 和 2 中未发现多态。本试验结果与其存在差异, 可能是山羊品种不同造成的。葛燕<sup>[20]</sup>对 FSH $\beta$  基因 5'调控区 193 bp 长度的一段序列进行 PCR-SSCP 分析, 发现在大足黑山羊、川东白山羊、南江黄羊、金堂黑山羊和板角山羊 5 个山羊品种 (种群) 中存在 3 种基因型 (AA、BB 和 AB), 其中 BB 型为几个品种的共同优势基因型。陈杰等<sup>[9]</sup>研究结果表明, 二花脸猪 FSH $\beta$  亚基位点与产仔数性状显著相关, 贡献率达到 10% 以上。曲亮等<sup>[21]</sup>研究证实, FSH $\beta$  基因第 1 内含子靠近第 2 外显子上游的插入突变导致 AB 型母猪总产仔数显著高于 BB 型母猪, AB 型母猪产活仔数显著高于 BB 型母猪。柳淑芳等<sup>[22]</sup>研究发现, FSH $\beta$  基因优势基因型 AA 纯合子比 BB

纯合子母猪平均多产 1.2 头/窝, 认为 A 等位基因具有增加产仔数的作用。但也有相反的研究结果, 徐宁迎等<sup>[23]</sup>研究表明 FSH $\beta$  基因对金华猪产仔数和初生重无影响。李婧等<sup>[24]</sup>研究表明 FSH $\beta$  基因各基因型对民猪产仔数无显著影响。Linville 等<sup>[25]</sup>研究发现, FSH $\beta$  基因对外周血液 FSH 浓度、排卵数等繁殖性状无显著影响。韩厚明等<sup>[26]</sup>研究证实, 鸡 FSH $\beta$  基因 5'调控区 SNPs 位点与早期产蛋性能显著相关。任春明等<sup>[27]</sup>研究证实, 在麦洼牦牛 FSH $\beta$  基因的 5'端侧翼区存在 AA、AB 和 BB 型共 3 种基因型, 九龙牦牛 FSH $\beta$  基因的 5'端侧翼区只存在 AA 和 AB 共 2 种基因型。梁宏伟等<sup>[11]</sup>研究表明, 秦川牛 FSH $\beta$  基因 5'端侧翼区有 AA、BB 和 AB 共 3 种基因型。以上结果表明, FSH $\beta$  基因存在多态位点, 并且部分多态位点与繁殖性能显著相关, 推测 FSH $\beta$  基因可能是控制繁殖性能的一个主效基因或是与之存在紧密的遗传连锁。

目前, 有关山羊 FSH $\beta$  基因的研究报道较少, 尤其是在基因突变与产羔数相关性方面的报道。本试验利用 SSCP 和基因测序的方法对 FSH $\beta$  基因外显子 2 进行了检测, 结果显示该区域存在 1 个 SNP 位点, 发现第 2 外显子 40 bp 处碱基发生 G $\rightarrow$ A 替代, 在 148 bp 处碱基发生 T $\rightarrow$ C 替代, 在西农萨能奶山羊和波尔山羊 2 个群体中, EE 基因型个体的平均产羔数显著高于 EF 和 FF 个体 ( $P < 0.05$ )。结合前人的研究结果可以进一步证实 FSH $\beta$  基因多态位点与繁殖性能显著相关。

#### 3.2 多态位点作为分子遗传标记的可行性分析

对山羊产羔性状进行标记选择时, 首先重点考虑标记的基因型值, 基因型值不仅包含基因的加性效应, 又包含基因的显性效应, 真实遗传给后代的只有基因的加性效应, 因此加性效应是标记辅助选择的重点, 可以通过标记性状的育种值 (加性效应值) 和产羔性状的遗传方差<sup>[28-29]</sup>之间的遗传相关预测选择反应。本试验在对标记信息的分析中, 注重基因位点与产羔性

状间的遗传相关以及选择反应,通过对基因型值的剖分,研究加性效应及加性方差在遗传方差中所占的比例,推断多态位点作为山羊产羔性状分子遗传标记的可行性。对西农萨能奶山羊和波尔山羊而言,该位点基因型方差中加性遗传方差的比例分别达到 98.23% 和 99.11%,突变 EE 型个体具有较高的产羔数,主要由基因的加性效应所致,因此该位点具有作为产羔性状分子遗传标记的可能性。突变 FF 型个体的总产仔数较低,同样主要受基因加性效应的影响,因此 FF 基因型可以用于标记辅助选择,淘汰那些具有突变 FF 基因型的产羔数较低的个体。

## 4 结 论

对西农萨能奶山羊和波尔山羊而言,多态位点 EE 基因型个体产羔数显著高于 EF 和 FF 型个体,通过方差分析可知主要由基因的加性效应所致,因此 EE 基因型可作为产羔性状的标记基因型,应用于产羔数的标记辅助选择。

## References

- [1] Rannik I A S, Zhang F P, Huh Taniem I I T. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene-expression in the rat testis and ovary. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1995, 107: 199-208.
- [2] Jameson J L, Carolyn B B, Christine M L, Joel F H. Human follicular-stimulating hormone  $\beta$ -subunit gene encodes multiple messenger ribonucleic acids. *Molecular Endocrinology*, 1988, 2: 808-815.
- [3] Womack J E. Comparative gene mapping: a valuable new tool for mammalian developmental studies. *Developmental Genetics*, 1987, 8: 281-293.
- [4] Prunier A, Chopineau M. Sexual maturation of Meishan gilt. *Chinese Pig Symposium Toulous France*, 1990: 37-40.
- [5] Wikins J F. Method of stimulating ovulation rate in ewes may affect conception but not embryo survival. *Animal Reproduction Science*, 1997, 47: 31-42.
- [6] Fleming T S, Greenwood P J, Heath D A, Hudson N L, Lun S, Shaw L, McNatty K P. Expression of gonadotrophin subunit genes in sheep that were homozygous carrier and non-carrier of the Booroola fecundity gene FecB. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1996, 103: 315-321.
- [7] Al-Obaidi S A R, Bindon B M, Findlay J K. Plasma follicle stimulating hormone in Merino ewes immunized with an inhibin-enriched fraction from bovine follicular fluid. *Animal Reproduction Science*, 1987, 14: 39-51.
- [8] Zhao Y F, Li N, Xiao L, Cao G S, Chen Y Z, Zhang S, Chen Y F, Wu C X, Zhang J S, Sun S Q, Xu X Q. FSH  $\beta$  subunit gene is associated with major gene controlling litter size in commercial pig breeds. *Science in China (C)*, 1998, 41: 665-668.
- [9] 陈 杰, 姜志华, 刘红林, 李齐贤, 方美英, 吴彦宁. 二花脸猪 FSH $\beta$  亚基位点 PCR-SSCP 标记与产仔数关系初探. *南京农业大学学报*, 1999, 22(2): 55-58.  
Chen J, Jiang Z H, Liu H L, Li Q X, Fang M Y, Wu Y N. Relationship between PCR-SSCP at FSH $\beta$  subunit locus and litter size in the Erhualian pigs. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1999, 22(2): 55-58. (in Chinese)
- [10] Zi X. Reproduction in female yaks (*Bos grunniens*) and opportunities for improvement. *Theriogenology*, 2003, 59: 1303-1312.
- [11] 梁宏伟, 管林森, 孟 彦, 方 平, 田万强. 秦川牛和中国荷斯坦奶牛 FSH $\beta$  基因 SSCP 多态性分析. *中国农学通报*, 2005, 21(5): 81-83.  
Liang H W, Zan L S, Meng Y, Fang P, Tian W J. Study on the FSH $\beta$  genes 5' flank region of the Qinchuan cattle and China Holstein by PCR-SSCP. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(5): 81-83. (in Chinese)
- [12] Baccetti B, Piomboni P, Bruni E, Capitani S, Gambera L, Moretti E, Sterzik K, Strehler E. Effect of follicle-stimulating hormone on sperm quality and pregnancy rate. *Asian Journal of Andrology*, 2004, 6(2): 133-137.
- [13] Tong Y, Liao W X, Chye S. Association of AccI polymorphism in the follicle-stimulating hormone  $\beta$  gene with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 2000, 74: 1233-1236.
- [14] Lin C L, Ponsuksili S, Tholen E, Jennen D G, Schellander K, Wimmers K. Candidate gene markers for sperm quality and fertility of boar. *Animal Reproduction Science*, 2006, 92: 349-363.
- [15] Liu J J, Ran X Q, Li S, Feng Y, Wang J F. Polymorphism in the first intron of follicle stimulating hormone beta gene in three Chinese pig breeds and two European pig breeds. *Animal Reproduction Science*, 2009, 111: 369-375.
- [16] Lamminen T, Jokinen P, Jiang M, Pakarinen P, Simonsen H, Huhtaniemi I. Human FSH beta subunit gene is highly conserved. *Molecular Human Reproduction*, 2005, 11: 601-605.
- [17] Meduri G, Bachelot A, Cocca M P, Vasseur C, Rodien P, Kuttann F, Touraine P, Misrahi M. Molecular pathology of the FSH receptor: New insights into FSH physiology. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2008, 282: 130-142.
- [18] 梁 琛, 储明星, 张建海, 刘文忠, 方 丽, 叶素成. FSH $\beta$  基因

- PCR-SSCP 多态性及其与济宁青山羊高繁殖力关系的研究. 遗传, 2006, 28: 1071-1077.
- Liang C, Chu M X, Zhang J H, Liu W Z, Fang L, Ye S C. PCR-SSCP polymorphism of FSH $\beta$  gene and its relationship with prolificacy of Jining Grey goats. *Hereditas*, 2006, 28: 1071-1077. (in Chinese)
- [19] 滑国华. 山羊繁殖性状 5 个候选基因多态性及其与产羔性状的关联分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- Hua G H. Polymorphism analysis of five candidate genes related to reproduction traits and their effects on litter size in four goat breeds[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [20] 葛 燕. 山羊多胎候选基因的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- Ge Y. Research of candidate genes related to prolific character on the goats[D]. Chongqing: Southwest University, 2007. (in Chinese)
- [21] 曲 亮, 李开桢, 汪秀星, 于传军, 邱新深, 周 波, 王钧顺, 黄瑞华. FSH $\beta$  基因多态性对苏淮猪繁殖性能的影响. 畜牧与兽医, 2008, 140(12): 24-27.
- Qu L, Li K Z, Wang X X, Yu C J, Qiu X S, Zhou B, Wang J S, Huang R H. Effects of polymorphisms of FSH $\beta$  gene on reproductive performances in Suhuai pigs. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2008, 140(12): 24-27. (in Chinese)
- [22] 柳淑芳, 闫艳春, 杜立新. 莱芜黑猪 FSH $\beta$  亚基基因的多态性分析. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 33: 403-408.
- Liu S F, Yan Y C, Du L X. Analysis on polymorphisms at FSH $\beta$  subunit gene in Laiwu pigs. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2002, 33: 403-408. (in Chinese)
- [23] 徐宁迎, 章胜乔, 彭淑红. 金华猪 3 个繁殖性状主基因的分布及其效应研究. 遗传学报, 2003, 30: 1090-1096.
- Xu N Y, Zhang S Q, Peng S H. Investigation on the distribution and their effects on reproduction traits of three major genes in Jinhua pigs. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30: 1090-1096. (in Chinese)
- [24] 李 婧, 杨润清, 孟 和, 潘玉春. 民猪产仔数性状四个候选基因效应分析. 上海交通大学学报(农业科学版), 2004, 22(1): 74-77.
- Li J, Yang R Q, Meng H, Pan Y C. Study on four candidate genes of litter size in Min pig. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agriculture Science)*, 2004, 22(1): 74-77. (in Chinese)
- [25] Linville R C, Pomp D, Johnson R K, Rothschild M F. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(1): 60-67.
- [26] 韩厚明, 耿照玉, 姜润深, 陈 燕. 鸡 FSH $\beta$  基因 5'调控区单核苷酸多态性分析. 激光生物学报, 2008, 17: 634-635.
- Han H M, Geng Z Y, Jiang R S, Cheng Y. Analysis of the Single nucleotide polymorphisms of the 5' regulating region of chicken FSH $\beta$  gene. *Acta Laser Biology Sinica*, 2008, 17: 634-635. (in Chinese)
- [27] 任春明, 字向东, 张重庆, 杨其沅. 麦洼牦牛和九龙牦牛 FSH $\beta$  基因的 PCR-SSCP. 西南民族大学学报(自然科学版), 2007, 33(1): 89-90.
- Ren C M, Zi X D, Zhang C Q, Yang Q Y. Study on the FSH $\beta$  gene of Maiwa yak and Jiulong yak by PCR-SSCP. *Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2007, 33(1): 89-90. (in Chinese)
- [28] 张亚妮, 张恩平, 吴 迪, 陈玉林. KAP 基因的多态性与辽宁绒山羊经济性状的关系研究. 中国农业科学, 2007, 40: 2062-2067.
- Zhang Y N, Zhang E P, Wu D, Chen Y L. Studies of the relationship between polymorphism of KAP gene and economic traits for Liaoning Cashmere Goat. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40: 2062-2067. (in Chinese)
- [29] 马喜山, 王爱国, 刘桂芬, 傅金恋. 猪 HB-EGF 基因多态性与产仔数的关联性分析. 中国农业科学, 2009, 42: 274-282.
- Ma X S, Wang A G, Liu G F, Fu J L. Analysis of the association between polymorphisms of HB-EGF gene and litter size in pigs. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42: 274-282. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)