

3个绵羊群体 *INHA* 基因的遗传多态性及对产羔数的影响

田秀娥, 孙红霞, 王永军

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】**比较滩羊、蒙古羊和小尾寒羊 *INHA* 基因的多态性, 分析不同基因型对产羔数的影响, 为绵羊繁殖力标记的辅助选择提供理论依据。**【方法】**利用 PCR-SSCP 方法检测和分析 3 个绵羊品种 *INHA* 基因的多态性, 通过最小二乘分析方法研究不同基因型对产羔数的影响。**【结果】**(1) 滩羊和蒙古羊 *INHA* 基因在 5' 调控区 282 核苷酸处发生 1 处 A→G 突变(P_1 位点), 在第 2 外显子的第 470 核苷酸处发生 1 处 A→T 突变(P_2 位点), 3 个绵羊品种在第 2 外显子第 903 核苷酸处发生 G→A 突变(P_3 位点)。(2) 滩羊、蒙古羊和小尾寒羊 P_1 位点 C、D 基因频率分别为 0.840 和 0.160, 0.852 和 0.148 及 0.162 和 0.838, 均处于中度多态; P_2 位点 E、F 基因频率分别为 0.784 和 0.216, 0.787 和 0.213 及 1.000 和 0.000, 滩羊和蒙古羊在该位点均处于中度多态; 引物 P_3 扩增片段中, 滩羊和蒙古羊表现为 A、B 和 C 3 种单倍体基因型, 而小尾寒羊仅表现出 A 和 B 2 种基因型。滩羊、蒙古羊和小尾寒羊的 A、B、C 基因型频率分别为 0.136, 0.037 和 0.147; 0.800, 0.926 和 0.853 及 0.064, 0.037 和 0.000, B 基因在 3 品种中均为优势基因型。(3) P_1 位点 DD 型小尾寒羊产羔数较 CD 型提高 0.636 只, CD 型滩羊产羔数较 CC 型提高 0.332 只, 差异均显著 ($P < 0.05$), CD 型蒙古羊产羔数较 CC 型有提高的趋势; P_2 位点 EF 型滩羊产羔数较 EE 型降低 0.387 只, 差异显著 ($P < 0.05$), EF 型蒙古羊产羔数较 EE 型提高 0.053 只, 差异不显著 ($P > 0.05$); P_3 位点, 滩羊 B 基因型平均产羔数较 A、C 基因型分别多 0.215 只和 0.200 只, 蒙古羊 B 基因型平均产羔数较 C 基因型多 0.250 只, 小尾寒羊 B 基因型平均产羔数较 A 基因型多 0.620 只, 差异均显著 ($P < 0.05$)。**【结论】**3 个绵羊群体在 *INHA* 基因 P_1 、 P_2 位点均表现一定的多态性; 滩羊和蒙古羊 P_2 位点可能为控制产羔数的“不利”突变位点, 3 个绵羊群体 *INHA* 基因 P_1 、 P_3 位点可能为控制产羔数的“有利”突变位点。

【关键词】 滩羊; 蒙古羊; 小尾寒羊; *INHA* 基因; 产羔数

【中图分类号】 S826.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)01-0023-07

Genetic polymorphism of *INHA* gene and its effect on litter size in three sheep breeds

TIAN Xiu-e, SUN Hong-xia, WANG Yong-jun

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The research compared the gene polymorphism of *INHA* gene in Tan sheep, Mongolian sheep and Small Tailed Han sheep, analyzed the effect of different genotypes on the litter size, which will provide a theoretical basis for marker-assisted selection for high prolificacy in sheep. **【Method】** The gene polymorphism of *INHA* gene was measured by PCR-SSCP and the effect of different genotypes on litter size was analyzed by least squares mean. **【Result】** (1) There was one single nucleotide mutation (A→G) at promoter 282 nucleotide of P_1 locus in three sheep breeds, A→T mutation at the second exon

* [收稿日期] 2009-05-12

[基金项目] 宁夏回族自治区畜牧工作站“宁夏滩羊选育及养殖配套技术与示范推广”资助项目

[作者简介] 田秀娥(1964—), 女, 陕西泾阳人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事动物繁殖学研究。E-mail: txs82@yahoo.com.cn

[通信作者] 王永军(1964—), 男, 陕西礼泉人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事动物营养学研究。
E-mail: dkxywj2008@yahoo.com.cn

470 nucleotide of P_2 locus, G→A mutation at the second exon 903 nucleotide of P_3 locus. (2) For P_1 locus, gene frequencies were 0.840 and 0.160, 0.852 and 0.148 as so as 0.162 and 0.838 of C and D genes in Tan sheep, Mongolian sheep and Small Tailed Han sheep respectively, showing moderate polymorphic. For P_2 locus, gene frequencies were 0.784 and 0.216, 0.787 and 0.213 as so as 1.000 and 0.000 of E and F gene respectively in three sheep; Tan sheep and Mongolian sheep showed moderate polymorphic. For P_3 locus, Tan sheep and Mongolian sheep showed three haploid genotype A, B, C resp. Genotype frequencies were 0.136 and 0.037, 0.800 and 0.926, 0.064 and 0.037. Small Tailed Han sheep showed two haploid genotype A and B, genotype frequencies were 0.147 and 0.853. Haploid genotype B was the dominant one of the three breeds. (3) For P_1 locus, the average litter size of Small Tailed Han sheep with genotype DD was 0.636 lambs ($P < 0.05$) more than CD genotype, and genotype was 0.332 lambs ($P < 0.05$) CD more than CC of Tan sheep, CD genotype tended to increase litter size compared with CC genotype. For P_2 locus, the average litter size of Tan sheep with genotype EF was 0.387 lambs ($P < 0.05$) less than EE genotype; on the contrary, genotype EF had 0.053 lambs ($P > 0.05$) more than EE of Mongolian sheep. For P_3 locus, the average litter size of Small Tailed Han sheep with genotype B was 0.620 lambs ($P < 0.05$) more than A genotype, genotypes B had 0.215, 0.200 lambs ($P < 0.05$) more than A and C genotype of Tan sheep, genotypes B had 0.250 lambs ($P < 0.05$) more than C genotype of Mongolian sheep. 【Conclusion】 P_1 , P_2 locus show some polymorphism of *INHA* gene in three sheep breeds. P_2 mutation locus is possible adverse mutation of the litter size in Tan sheep and Mongolian sheep, P_1 and P_3 mutation locus are possible benefit mutation of the litter size in three sheep breeds.

Key words: Tan sheep; Mongolian sheep; Small Tailed Han sheep; *INHA* gene; litter size

抑制素(Inhibin, Ibn)是一种性腺分泌的糖蛋白激素,是由 α 和 β 2 个亚基通过二硫键连接而成的二聚体^[1],其 α 亚基上有糖基化位点, β 亚基有 A、B 2 种类型,故 Ibn 有 A、B 2 种存在形式。Ibn 的保守性很强,不同种属动物 Ibn 氨基酸序列差异很小,人与猪、牛、羊等家畜的 α -亚基氨基酸序列有 82% 以上是相同的,与 β -亚基氨基酸序列的同源性则更高^[2]。Ibn 主要由睾丸支持细胞和卵巢颗粒细胞分泌,对动物生殖机能具有重要调节作用。Ibn 对雌性动物最基本的生物学作用是抑制 FSH 的合成和分泌,是 FSH 分泌的主要抑制因子之一。Ibn 对雌性动物卵泡发育的作用随着卵泡的逐渐成熟而增强,这种作用具有剂量依赖关系。因此,人们认为 Ibn 是确定单胎和多胎动物种属特异性排卵数最重要的激素之一^[3-7]。

在对绵羊和山羊的研究中发现,调节 A 型 Ibn 分泌的 *INHA* 基因 5' 调控区、外显子 1、外显子 2 和内含子均具有遗传多态性,这些突变对繁殖性能具有重要影响^[8-10]。但有关我国地方品种滩羊及蒙古羊的相关研究尚未见报道。本研究以单胎的滩羊及蒙古羊及多胎的小尾寒羊为研究对象,利用 PCR-SSCP 技术检测了 3 个绵羊品种 *INHA* 基因的多态性,并分析了不同基因型对产羔数的影响,以

期为绵羊繁殖力标记的辅助选择和绵羊的遗传资源保护及品种培育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及血样采集

分别以 68 只小尾寒羊(由陕西唯康养殖场提供)、250 只滩羊(由宁夏回族自治区盐池县滩羊繁育基地提供)和 54 只蒙古羊(由内蒙古鄂托克旗三北斯奶麒麟羊场提供)成年母羊(试验羊常规饲养与管理,体况适中,至少有连续两胎产羔记录)为研究对象,每只羊通过颈静脉采集血液 8 mL,装在预先加有 1.5 mL ACD 抗凝剂的 10 mL Ep 管中,盖严,快速振荡混匀,低温下带回实验室,于 -80 °C 冷冻保存备用。

1.2 主要仪器及试剂

1.2.1 仪 器 台式低温离心机(美国 Sigma 公司),水浴振荡培养器(哈尔滨东联电子技术开发有限公司),PE2400 PCR 扩增仪(国 Bio-Rad 公司),MDF-382 超低温冰箱(日本 SANY 公司),Bio-Rad GDXRS 全自动凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司),DYCZ-28D 型电泳槽(北京市六一仪器厂)。

1.2.2 试 剂 Taq DNA 聚合酶和内切酶(MBI 公司),Markers: PBR322 DNA/*Msp* I 和 DL2000

(天根生化科技有限公司),dNTPs(北京鼎国生物工程有限公司)。

1.3 绵羊血样中 DNA 的提取

采用常规的酚-氯仿抽提法提取基因组 DNA,于一 20 ℃ 保存备用。

1.4 绵羊 *INHA* 基因的扩增

1.4.1 引物设计与合成 参考 GenBank 数据库中绵羊序列(登录号:NM001009458),及与绵羊同源性高的人类(登录号:NM002191)和小鼠(登录号:NM010564)*INHA* 基因的 mRNA 序列,在 5'调控

区和外显子 2 设计 3 对引物,送北京三博远志有限责任公司合成,引物信息见表 1。

1.4.2 PCR 扩增 PCR 反应总体积为 12 μL,其中 10× Buffer (25 mmol/L Mg²⁺) 2.4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 0.75 μL, *Taq* DNA 聚合酶 (1 U/μL) 1.0 μL, 上、下游引物 (10 pmol/μL) 各 0.25 μL, 模板 DNA (50 ng/μL) 1.5 μL, 加双蒸水至 12 μL。PCR 反应程序为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,61.1 ℃/65 ℃/61.1 ℃ 复性 30 s,72 ℃ 延伸 45 s,共 35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。

表 1 绵羊 *INHA* 基因 PCR-SSCP 特异性引物信息及其优化反应条件

Table 1 Primers with relative reaction conditions used for PCR-SSCP analysis in sheep <i>INHA</i> gene			
引物 Primer	引物序列 Primer sequence	退火温度/℃ T _m	产物长度/bp Size
P ₁	F:5'-CTCCTGTCCCATCTGGTGTC-3' R:5'-ACCACCGCCCTCTTCTAC-3'	61.1	300
P ₂	F:5'-GCGGGGATGAGCCAGATG-3' R:5'-GGGCGGAGCAGGAACAGA-3'	65	320
P ₃	F:5'-GCGTTGTCTCTCTGTTTCCT-3' R:5'-GGTTGGGCACCATCTCATAC-3'	61.1	500

1.5 绵羊 *INHA* 基因的 PCR-SSCP 分析

3 个绵羊群体基因组 DNA 经 3 对特异性引物 P₁、P₂ 和 P₃ 扩增后,用 100 g/L 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 *INHA* 基因的多态性。

1.5.1 *INHA* 基因的 SSCP 多态性分析 按照常规方法分别计算 *INHA* 基因多态位点的基因型频率、基因频率、群体多态信息含量(*PIC*)、有效等位基因数(*Ne*)、位点杂合度(*He*)和位点纯合度(*H_o*)^[11]。

1.5.2 *INHA* 基因不同基因型对产羔数的遗传效应分析 在本研究中,影响母羊产羔性能的因素主要包括遗传效应(*INHA* 基因各基因型效应)、环境效应(胎次效应和年际效应)和随机效应(随机残差效应),据此构建产羔性能的统计模型如下:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \epsilon;$$

式中:*Y_{ijk}* 为不同基因型个体在不同胎次、不同年度的实际产羔数,μ 为群体平均产羔数,α_{*i*} 为 *INHA* 基因各基因型效应,β_{*j*} 为胎次效应,τ_{*k*} 为年际效应,ε 为随机残差效应。

根据上述统计模型估计的 *INHA* 基因各基因型效应值,分别计算该位点加性效应(*a*)、显性效应

(*d*)和显性度(*D*),其中 $a = (\alpha_{\text{突变纯合子}} - \alpha_{\text{野生型}})/2$, $d = \alpha_{\text{突变杂合子}} - (\alpha_{\text{突变纯合子}} + \alpha_{\text{野生型}})/2$, $D = d/a$ 。

1.6 数据处理

试验数据采用 SPSS(13.0)软件 ANOVA 进行显著性分析,结果以“平均值±标准误”表示。

2 结果与分析

2.1 绵羊 *INHA* 基因 3 对特异性引物的 PCR 扩增

用 3 对特异性引物 P₁、P₂ 和 P₃ 对 3 个绵羊基因组 DNA 进行扩增,扩增产物用 100 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,得到长度分别为 300,320 和 500 bp 的特异性条带,与预期结果相符,且目的 DNA 条带清晰,特异性好,可直接用于 SSCP 分析。

2.2 绵羊 *INHA* 基因的 PCR-SSCP 分析

经 100 g/L 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测后发现,3 个绵羊群体基因组的 DNA 扩增产物全部表现出 SSCP 多态性(如图 1、图 2 和图 3),其中引物 P₁ 扩增片段有 3 种基因型,定义为 CC、CD、DD;引物 P₂ 扩增片段有 2 种基因型,定义为 EE 和 EF;引物 P₃ 扩增片段表现出 3 种单倍体基因型,定义为 A、B、C。

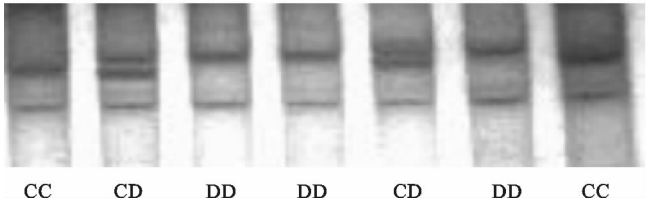
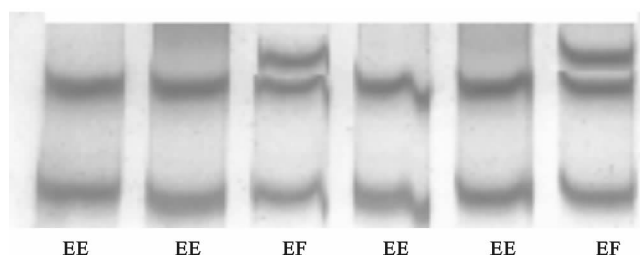
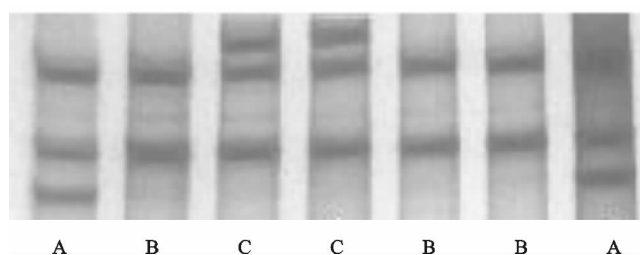


图 1 绵羊 *INHA* 基因引物 P₁ 扩增产物的 SSCP 检测

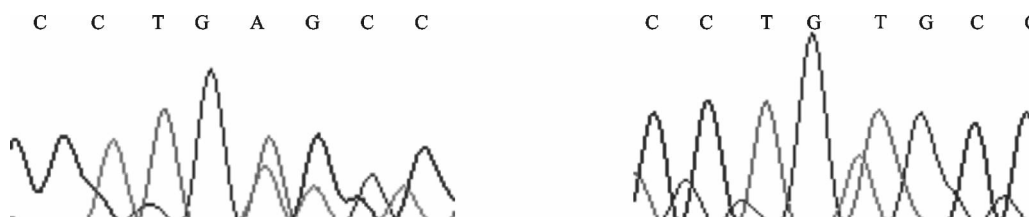
Fig. 1 SSCP detection of PCR amplification using primer P₁ of *INHA* gene

图 2 绵羊 *INHA* 基因引物 P_2 扩增产物的 SSCP 检测Fig. 2 SSCP detection of PCR amplification using primer P_2 of *INHA* gene图 3 绵羊 *INHA* 基因引物 P_3 扩增产物的 SSCP 检测Fig. 3 SSCP detection of PCR amplification using primer P_3 of *INHA* gene

2.3 绵羊 *INHA* 基因突变位点的测序结果及序列分析

绵羊 *INHA* 基因的 3 个位点全部表现出 SSCP

多态性,为此,对不同 SSCP 类型的 DNA 片段进行测序分析,结果发现有 3 个突变位点,其原始测序结果如图 4—图 6 所示。

图 4 绵羊 *INHA* 基因 P_1 位点不同基因型序列比较Fig. 4 Sequence comparison of different genotypes at primer 1 of *INHA* gene in sheep图 5 绵羊 *INHA* 基因 P_2 位点不同基因型序列比较Fig. 5 Sequence comparison of different genotypes at primer 2 of *INHA* gene in sheep图 6 绵羊 *INHA* 基因 P_3 位点不同基因型序列比较Fig. 6 Sequence comparison of the different genotypes at primer 3 of *INHA* gene in sheep

经 NCBI 中 Blast 比对和软件 Biox2.6 分析,发现 *INHA* 基因的遗传变异位点如下:(1)引物 P₁ 位点测序结果显示:*INHA* 基因有 1 个突变位点,其中滩羊和蒙古羊 *INHA* 基因在 5'调控区第 282 处核苷酸均发生 1 处 A→G 突变,但小尾寒羊在测序结果中没有表现出突变。(2)引物 P₂ 位点测序结果显示:滩羊和蒙古羊在 *INHA* 基因第 2 外显子的第 470 处核苷酸发生 1 处 A→T 突变,但小尾寒羊没有发生此突变。(3)滩羊、蒙古羊和小尾寒羊在引物 P₃ 位点均发现 1 处变异,即 *INHA* 基因外显子 2 第 903 处核苷酸发生 1 处 G→A 突变。但上述突变均没有导致氨基酸的改变。

2.4 绵羊 *INHA* 基因的 SSCP 遗传多态性分析

3 个绵羊品种 *INHA* 基因多态位点基因型频率、基因频率、群体多态信息含量(*PIC*)、有效等位基因数(*Ne*)、位点杂合度(*He*)和位点纯合度(*Ho*)计算结果见表 2。由表 2 可知:(1)在引物 P₁ 的扩增片段中,滩羊和蒙古羊表现有 CC 和 CD 2 种基因

型,而小尾寒羊表现为 CD 和 DD 2 种基因型;C 基因为滩羊和蒙古羊的优势等位基因,D 基因为小尾寒羊的优势等位基因;滩羊、蒙古羊和小尾寒羊在该位点均处于中度多态;3 品种在该位点均处于平衡状态。(2)在引物 P₂ 的扩增片段中,滩羊和蒙古羊有 EE 和 EF 2 种基因型,而小尾寒羊仅表现 EE 1 种基因型;E 基因在 3 品种中均为优势等位基因;滩羊和蒙古羊在该位点均处于中度多态;滩羊在该位点处于不平衡状态,蒙古羊在该位点处于平衡状态。(3)在引物 P₃ 的扩增片段中,滩羊和蒙古羊表现为 A、B 和 C 3 种单倍体基因型,而小尾寒羊仅表现 A 和 B 2 种单倍体基因型;B 单倍体基因型在 3 品种中均为优势基因型,由于出现的是单倍体变异,因此无其他统计指标。3 个绵羊群体在 *INHA* 基因 P₁、P₂ 位点均表现出一定的多态性,P₃ 位点也产生了突变,表明该基因遗传变异较大,可作为性状与标记间连锁分析的候选主效基因,用于提高绵羊繁殖力的辅助选择。

表 2 3 个绵羊群体在 *INHA* 基因 3 个座位上的多态性

Table 2 Polymorphism of three pairs of primers about *INHA* gene in three sheep groups

座位 Locus	品种 Breed	样本数 Sample size	基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Gene frequency		<i>Ho</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	<i>He</i>	χ^2
			CC	CD	DD	C	D					
P ₁	TY	250	0.680	0.320	0.000	0.840	0.160	0.565	0.435	0.341	1.771	9.070
	MG	54	0.704	0.296	0.000	0.852	0.148	0.583	0.417	0.330	1.715	1.633
	HY	68	0.000	0.324	0.676	0.162	0.838	0.562	0.438	0.342	1.780	2.532
座位 Locus	品种 Breed	样本数 Sample size	基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Gene frequency		<i>Ho</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	<i>He</i>	χ^2
			EE	EF	FF	E	F					
P ₂	TY	250	0.568	0.432	0.000	0.784	0.216	0.509	0.491	0.370	1.964	18.976
	MG	54	0.574	0.426	0.000	0.787	0.213	0.511	0.489	0.369	1.957	3.954
	HY	68	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	/
座位 Locus	品种 Breed	样本数 Sample size	基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Gene frequency		<i>Ho</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	<i>He</i>	χ^2
			EE	EF	FF	E	F					
P ₃	TY	250	0.136	0.800	0.064							
	MG	54	0.037	0.926	0.037							
	HY	68	0.147	0.853	0.000							

注:TY 为滩羊, MG 为蒙古羊, HY 为小尾寒羊(下表同); $PIC \geq 0.5$ 为高度多态, $0.25 \leq PIC < 0.5$ 为中度多态, $PIC < 0.25$ 为低度多态。
Note: TY is Tan sheep breed, MG is Mongolian sheep breed, HY is Small Tail Han sheep breed(below is same); $PIC \geq 0.5$ means high diversity, $0.25 \leq PIC < 0.5$ means moderate diversity, $PIC < 0.25$ means low diversity.

2.5 绵羊 *INHA* 基因位点不同基因型对绵羊产羔数的影响

通过最小二乘分析方法估计的滩羊、蒙古羊和小尾寒羊 *INHA* 基因位点不同基因型个体平均产羔数(基因型效应)见表 3。由表 3 可知:(1)在 *INHA* 基因 P₁ 位点,滩羊 CD 基因型平均产羔数较 CC 基因型多 0.332 只,差异显著($P < 0.05$);蒙古羊 CD 基因型平均产羔数较 CC 基因型仅多 0.013

只,差异不显著($P > 0.05$);小尾寒羊 DD 基因型平均产羔数较 CD 基因型多 0.636 只,差异显著($P < 0.05$)。 (2)在 *INHA* 基因 P₂ 位点,滩羊 EE 基因型产羔数较 EF 基因型多 0.387 只,差异显著($P < 0.05$);蒙古羊 EE 基因型产羔数较 EF 基因型少 0.053 只,差异不显著($P > 0.05$);小尾寒羊在该位点无多态性。(3)在 *INHA* 基因 P₃ 位点,滩羊 B 单倍体基因型平均产羔数较 A、C 单倍体基因型分别

多 0.215 只和 0.200 只,蒙古羊 B 单倍体基因型平均产羔数较 C 单倍体基因型多 0.250 只,小尾寒羊 B 单倍体基因型平均产羔数较 A 单倍体基因型多 0.620 只,差异均显著($P<0.05$)。

上述结果表明,滩羊和蒙古羊 *INHA* 基因 P_2 突变位点可能为控制产羔数的“不利”突变位点;3

个绵羊群体 *INHA* 基因 P_1 、 P_3 突变位点可能为控制产羔数的“有利”突变位点,其突变纯合子和杂合子可以显著提高产羔数或具有增加产羔数的趋势,该突变基因可能是控制绵羊多胎性能的主效基因或者是与之存在紧密连锁的遗传标记,可用于提高繁殖力的标记辅助选择和育种研究。

表 3 3 个绵羊群体 *INHA* 基因不同位点不同基因型对产羔数的遗传效应

Table 3 Effect of the different locus between *INHA* genotypes in three sheep groups on litter size

引物 Primer	基因型 Genotype	品种 Breed					
		TY		MG		HY	
		N	LSM $\pm$ SE	N	LSM $\pm$ SE	N	LSM $\pm$ SE
P_1	CC	170	1.068 $\pm$ 0.015 a	38	0.987 $\pm$ 0.023	0	/
	CD	80	1.400 $\pm$ 0.389 b	16	1.000 $\pm$ 0.000	22	2.386 $\pm$ 0.074 a
	DD	0	/	0	/	46	3.022 $\pm$ 0.034 b
P_2	EE	142	1.394 $\pm$ 0.333 a	31	0.968 $\pm$ 0.226	68	2.816 $\pm$ 0.000
	EF	108	1.007 $\pm$ 0.100 b	23	1.021 $\pm$ 0.217	0	/
	FF	0	/	0	/	0	/
P_3	A	34	1.000 $\pm$ 0.000 a	2	1.000 $\pm$ 0.000 b	10	2.278 $\pm$ 0.109 a
	B	200	1.215 $\pm$ 0.021 b	50	1.000 $\pm$ 0.014 b	58	2.898 $\pm$ 0.041 b
	C	16	1.015 $\pm$ 0.026 a	2	0.750 $\pm$ 0.250 a	0	/

注: N 为总样本数, LSM 为最小二乘中的平均产羔数, SE 为标准误。

Note: N means test number, LSM means lsmean, SE means standard error.

3 结论与讨论

在绵羊和山羊中已经发现, 调节 A 型 Ibm 分泌的 *INHA* 基因具有遗传多态性, 目前已在 *INHA* 基因 5' 调控区、外显子及内含子等位置分别发现 1~5 处碱基突变, 这些突变对繁殖性能具有重要影响^[8-10]。本研究发现, 滩羊和蒙古羊引物 P_1 的扩增片段在 5' 调控区 282 处核苷酸均发生 1 处 A→G 突变, 引物 P_2 的扩增片段在第 2 外显子的第 470 处核苷酸发生 1 处 A→T 突变, 但小尾寒羊没有上述突变发生; 滩羊、蒙古羊和小尾寒羊在引物 P_3 扩增片段第 2 外显子的第 903 处核苷酸发生 1 处 G→A 突变。滩羊、蒙古羊和小尾寒羊在 P_1 位点的 C、D 基因频率分别为 0.840 和 0.160, 0.852 和 0.148 及 0.162 和 0.838, 均处于中度多态; 在 P_2 位点的 E、F 基因频率分别为 0.784 和 0.216, 0.787 和 0.213 及 1.000 和 0.000, 滩羊和蒙古羊在该位点均处于中度多态。说明 3 个绵羊群体在 *INHA* 基因 P_1 和 P_2 位点均表现一定的多态性, 存在的遗传变异较大, P_3 位点也有突变发生, 因此可将 *INHA* 基因作为性状与标记间连锁分析的候选主效基因, 用于提高绵羊繁殖力的辅助选择。

鉴于 Ibm 在 FSH 反馈调节中的作用以及在卵巢内起生长因子的作用, 其基因被认为是繁殖性能的候选基因。Hiendleder 等^[12]报道, Ibm*INHA* 基

因对绵羊产羔数有显著影响, 对 391 只 Meriolandschafe 母羊的 1 585 窝产羔数动物模型进行分析显示, 该基因替代效应达到 0.08 只羔羊。Hiendleder 等^[13]报道, *INHBA* 基因对绵羊产羔数有显著影响, 对 389 只 Merinolandschafe 母羊的 1 562 窝产羔数动物模型进行分析显示, 该基因替代效应达到 0.04 只羔羊($0.25\sigma_A$); 对 155 只东弗里生乳用绵羊的 620 窝产羔数动物模型进行分析显示, 该基因替代效应达到 0.09 只羔羊。Jaeger 等^[14]对 1 000 次产羔记录的初步统计分析表明, *INHAA*、*INHBA* 和 *INHBB* 对绵羊产羔数都有显著的基因效应。Leyhe 等^[15]报道, 绵羊 *INHBA* 基因座 *TaqIA* 等位基因频率随品种平均产羔数的增加而增加。Hiendleder 等^[16]报道, *INHBA* 基因座等位基因 A 的频率与绵羊品种平均产羔数呈正相关, A 基因频率在野生绵羊 (平均产羔数为 1.1) 中为 0.0, 在 Romanov 绵羊 (平均产羔数为 3.0) 中为 0.65, *INHBA* 基因座对东弗里生绵羊产羔数的影响非常显著。在本研究中, P_1 位点 DD 型小尾寒羊产羔数较 CD 型提高 0.636 只, CD 型滩羊产羔数较 CC 型提高 0.332 只, 差异均显著 ($P<0.05$), CD 型蒙古羊产羔数较 CC 型有提高的趋势; P_2 位点 EF 型滩羊产羔数较 EE 型降低 0.387 只, 差异显著 ($P<0.05$), 蒙古羊产羔数提高 0.053 只, 差异不显著 ($P>0.05$); P_3 位点 B 单倍体基因型小尾寒羊产羔数较 A 单倍体

基因型提高 0.620 只,B 单倍体基因型滩羊产羔数较 A 单倍体基因型、C 单倍体基因型分别提高 0.215 和 0.200 只,B 单倍体基因型蒙古羊产羔数较 C 单倍体基因型提高 0.250 只,差异均显著 ($P < 0.05$)。上述结果表明,滩羊和蒙古羊 *INH A* 基因 P_2 突变位点可能为控制产羔数的“不利”突变位点;3 个绵羊群体 *INH A* 基因 P_1 突变位点可能为控制产羔数的“有利”突变位点,其突变纯合子和杂合子以及 P_3 位点的 B 单倍体基因型可以显著提高产羔数或具有增加产羔数的趋势,该突变基因可能是控制绵羊多胎性能的主效基因或者是与之存在紧密连锁的遗传标记,可以用于提高繁殖力的标记辅助选择和育种研究。

[参考文献]

- [1] Burger H G. Inhibin: definition and no menclature including related substance [J]. J Endocr, 1998, 117: 159-160.
- [2] 杨利国. 动物繁殖学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 66-68. Yang L G. Animal reproduction science [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2003: 66-68. (in Chinese)
- [3] 马勇江, 马毅. 抑制素及其对动物繁殖的影响 [J]. 甘肃畜牧兽医, 2000(5): 38-40. Ma Y J, Ma Y. Effect of inhibin on animal breeding [J]. Gansu Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2000(5): 38-40. (in Chinese)
- [4] 李晓丽, 郭志云, 曾宪垠. 抑制素的研究进展及其在动物繁殖中的应用 [J]. 四川畜牧兽医, 2003(11): 30-32. Li X L, Guo Z Y, Zeng X Y. Inhibin research progress and application on animal breeding [J]. Sichuan Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2003(11): 30-32. (in Chinese)
- [5] Engelhardt H, Smith K B, McNeilly A S, et al. Expression of messenger ribonucleic acid for inhibin subunits and ovarian secretion of inhibin and estradiol at various stages of the sheep estrous cycle [J]. Biol Reprod, 1993, 49: 281-294.
- [6] Palta P, Bansal N, Prakash B S, et al. Follicular fluid immunoreactive-inhibin concentrations in relation to follicular diameter and estradiol-17 beta, progesterone and testosterone concentrations in individual ovarian follicles in buffalo, *Bubalus-bubalis* [J]. Indian J Exp Biol, 1998, 36: 768-774.
- [7] Guilbault L A, Rouillier P, Matton P, et al. Relationships between the level of atresia and inhibin contents (alpha subunit and alpha-beta dimer) in morphologically dominant follicles during their growing and regressing phases of development in cattle [J]. Biol Reprod, 1993, 48: 268-276.
- [8] 吴伟生. 抑制素基因作为山羊多胎性候选基因的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007. Wu W S. Studies of inhibin gene as candidate genes for fecundity in goat [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- [9] 周文然, 储明星, 孙少华, 等. 小尾寒羊高繁殖力候选基因 *INH A* 的研究 [J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(1): 32-36. Zhou W R, Chu M X, Sun S H, et al. High fecundity candidate gene *INH A* about Small Tailed Han Sheep [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2007, 15(1): 32-36. (in Chinese)
- [10] 庄海滨, 储明星, 李学伟, 等. 绵羊抑制素 βA 基因多态性及其与产羔数关系的研究 [J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(1): 52-57. Zhuang H B, Chu M X, Li X W, et al. The polymorphism of βA -(*INHBA*) gene associated with litter size in sheep [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2007, 15(1): 52-57. (in Chinese)
- [11] 柳淑芳, 姜运良, 杜立新. *BMPR-IB* 和 *BMP15* 基因作为小尾寒羊多胎性能候选基因的研究 [J]. 遗传学报, 2003, 30(8): 755-760. Liu S F, Jiang Y L, Du L X. Studies of *BMPR-IB* and *BMP15* as candidate genes for fecundity in Small Tailed Han Sheep [J]. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(8): 755-760. (in Chinese)
- [12] Hiendleder S, Lewalski H, Jaeger C, et al. Nucleotide sequence of ovine inhibin (*INH A*) genes and evaluation of RFLP marker effects on reproductive performance [J]. Anim Genet, 1996, 27(Suppl. 2): 91-92.
- [13] Hiendleder S, Lewalski H, Jaeger C, et al. Genomic cloning and comparative sequence analysis of different alleles of the ovine BA-inhibin/activin (*INHBA*) gene as a potential QTL for litter size [J]. Anim Genet, 1996, 27(Suppl. 2): 119.
- [14] Jaeger C, Hiendleder S. Cosmid cloning and characterization of the coding regions and regulatory elements of the ovine α -(*INH A*), βA -(*INHBA*) and βB -inhibin (*INHBB*) genes [J]. Animal Genetics, 1994, 25 (Suppl. 2): 33.
- [15] Leyhe B, Hiendleder S, Jaeger C, et al. Pronounced differences in the frequency of *Taq I* beta A-inhibin alleles between sheep breeds with different reproductive performance [J]. Animal Genetics, 1994, 25: 41-43.
- [16] Hiendleder S, Leyhe B, Jaeger C, et al. Molecular characterization of ovine α -, βA - and βB -inhibin/activin alleles [J]. Anim Breed Genet, 1996, 113: 363-372.