

网络出版时间:2015-12-02 14:25

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2016.01.002

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20151202.1425.004.html

绵羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子多态性与产羔性状的相关性研究

贾建磊,张利平,丁 强,杨志文

(甘肃农业大学 动物科学技术学院,甘肃 兰州 730070)

[摘 要] 【目的】探索绵羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子多态性与产羔数的相关性,寻找控制绵羊繁殖力的分子标记位点。【方法】以相同饲养管理条件下同龄已有产羔记录的蒙古羊(单胎母羊和双胎母羊)、无角陶赛特羊(单胎母羊和双胎母羊)、小尾寒羊(多胎母羊)为试验材料,采用 PCR-SSCP 结合 DNA 直接测序的方法,对 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子进行多态性检测与分析。【结果】试验羊只存在 AA 型和 AB 型 2 种基因型;AB 型个体在 *BMPR-IB* 基因第 864 位点发生 C→T 突变,出现 T/C 的杂合,所有试验样本的优势基因型均为 AA 型,优势等位基因均为 A 基因。 χ^2 适合性检验表明,无角陶赛特羊、蒙古羊和小尾寒羊均处于 Hardy-weinberg 平衡状态,*BMPR-IB* 基因第 7 外显子不同基因型在不同产羔类型绵羊中的分布差异显著,最小二乘法分析表明,绵羊 *BMPR-IB* 第 7 外显子多态性与产羔数有一定的相关性。【结论】*BMPR-IB* 基因第 7 外显子第 864 位点的突变在不同繁殖力母羊群体中分布不同,表明绵羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子多态性与绵羊产羔数相关,可以作为控制绵羊繁殖力的潜在遗传标记位点进行下一步研究。

[关键词] 绵羊;*BMPR-IB* 基因第 7 外显子;PCR-SSCP;DNA 直接测序;多态性;产羔数

[中图分类号] S826.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2016)01-0007-07

Correlation between polymorphism of *BMPR-IB* gene exon7 and lambing performance of sheep

JIA Jian-lei, ZHANG Li-ping, DING Qiang, YANG Zhi-wen

(Faculty of Animal Sci-Tech, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to explore the correlation between polymorphism of *BMPR-IB* gene exon7 and lambing performance in sheep and find locus to control reproduction of sheep. 【Method】 The breeding ewes including Mongolia ewes, Small Tail Han ewes and Poll Dorest ewes with different lambing performances (e. g. multiples, twins and singletons) were selected for studying polymorphism of *BMPR-IB* gene exon7 detected by PCR-SSCP and DNA sequencing. 【Result】 AA and AB genotypes were found in tested ewes. AB genotype had C→T mutation in coding region of 864 with heterozygous T/C. Genotype AA was dominant genotype and allele A was dominant allele in all samples. All sheep were in Hardy-weinberg equilibrium based on χ^2 test. There were significant differences in distribution of different genotypes of *BMPR-IB* gene exon7 in different sheep types. Least squares analysis showed that there was correlation between polymorphism of *BMPR-IB* gene exon7 and lambing performance. 【Conclusion】 There was correlation between polymorphism of *BMPR-IB* gene exon7 and lambing performance of sheep. The

[收稿日期] 2014-04-25

[基金项目] 甘肃省农牧厅生物技术专项(GNSW-2012~24);国家自然科学基金(地方基金)项目(31260547)

[作者简介] 贾建磊(1987—),男,山东莱州人,在读博士,主要从事羊遗传育种与繁殖研究。E-mail:jianlei_1@sina.com

[通信作者] 张利平(1962—),女,甘肃陇南人,教授,博士,主要从事羊遗传育种与繁殖研究。E-mail:zhangliping@gsau.edu.cn

mutation in locus 846 of *BMPR-IB* gene exon7 could be considered as a potential locus to control reproduction of sheep.

Key words: sheep; *BMPR-IB* gene exon7; PCR-SSCP; DNA sequencing; polymorphism; lambing performance

我国是世界绵羊主要生产国,绵羊饲养数量和绵羊品种遗传资源均居世界第一位。在我国农牧区,肉羊业已成为重要产业和主要经济来源。繁殖性能是绵羊重要的经济性性状,其中产羔性能是影响生产效率的最主要因素,直接影响到养羊业生产的效率和成本,对养羊业的发展起到了关键性的作用^[1]。产羔性状分为单羔性状、双羔性状和多羔性状 3 种,不同品种间的产羔率差异较大。绵羊产羔性状选育最有效的方法是,从 DNA 分子角度寻找到产羔性状的主效基因和分子标记进行分子选育^[2]。

骨形态蛋白受体 IB(Bone morphogenetic protein receptor IB, *BMPR-IB*) 基因是编码转移生长因子 β 亚基(TGF- β)受体家族的成员之一,存在于许多类型细胞中,在绵羊卵巢的卵母细胞和颗粒细胞中有特异性表达,具有影响颗粒细胞分化和卵泡发育、促进排卵数的作用^[3-4]。*BMPR-IB* 基因编码区共存在 22 个突变位点, G192A、A746G、G922T、T1043C 等 4 个位点的突变造成了氨基酸的变化^[5], 其中编码区第 746 位点上发生 A→G 突变后,导致突变体 BB 对配体生长分化因子 5(Growth differentiation factor 5, GDF5)和骨形态发生蛋白 4(Bone morphogenetic protein 4, BMP4)不敏感,从而使高剂量的 GDF5 抑制了孕酮的分泌,促使排卵率上升^[6-7],这称为 FECB 突变。目前研究表明, *BMPR-IB* 基因的 FECB 突变位点是 Booroola Merino 羊、剑桥羊^[8]、小尾寒羊^[9]等的多胎主效基因。有研究证实, *BMPR-IB* 基因的 mRNA 表达水平与蒙古羊双羔有关,但并非蒙古羊双羔的主效基因,可能与双羔性状的主效基因或 QTL 相连锁^[10]。另有研究证明, *BMPR-IB* 基因突变与绵羊的繁殖性状密切相关^[9]。目前对于 *BMPR-IB* 基因 4 个造成氨基酸变化的突变位点研究较多,而对于 18 个未造成氨基酸变化的突变位点报道较少。

本试验以相同饲养管理条件下同龄已有产羔记录的蒙古羊(单胎母羊和双胎母羊)、无角陶赛特羊(单胎母羊和双胎母羊)、小尾寒羊(多胎母羊)为试验材料,采用 PCR-SSCP 技术结合 DNA 直接测序的方法,对 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子多态性进行检测与分析,运用有互作的最小二乘模型对该基因

多态性与不同产羔数绵羊(单羔蒙古羊、双羔蒙古羊、单羔无角陶赛特羊、双羔无角陶赛特羊和多羔小尾寒羊)进行相关性分析,以期在该基因中找到与产羔性状相关的遗传标记位点,为绵羊产羔性状标记的辅助选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所需无角陶赛特羊(单胎、双胎母羊各 60 只)由甘肃省兰州市榆中县奉特科技有限公司种羊场提供,小尾寒羊(多胎母羊 62 只)和蒙古羊(单胎母羊 57 只,双胎母羊 55 只)由甘肃临洮华嘉牧业有限公司提供,供试羊只年龄均为 3~4 岁、产羔胎次 2~3 胎的成年经产母羊。颈静脉采集试验羊血样, ACD 抗凝, -20 ℃ 保存备用。试验中所需要的主要试剂包括:蛋白酶 K、PCR *Taq* 预混酶、dNTP、PCR 产物回收试剂盒、琼脂糖、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、过硫酸铵等,均由上海生工生物工程公司提供。

1.2 方法

1.2.1 绵羊基因组 DNA 的提取 参照文献[11]以及本课题组改进的常规酚-氯仿抽提法提取绵羊血液基因组 DNA。

1.2.2 引物设计和 PCR 扩增 参照 GenBank 中绵羊 *BMPR-IB* 基因序列(登录号: NM_001009431.1),利用 Primer 5.0 设计引物,扩增 *BMPR-IB* 基因外显子 7 序列,预期产物长度为 304 bp。引物由上海生工生物工程公司合成,序列如下: F 5'-TCTTGGGCTTCATTGCTGCCGAT-3', R 5'-TAAACTTAACAGCCAAGCCCAGGTC-3'。

PCR 扩增体系为 25 μ L,包括 PCR *Taq* 预混酶 0.5 μ L, ddH₂O 19.0 μ L, 10 pmol/L 引物 1.0 μ L (上、下游各 0.5 μ L), dNTP 1.0 μ L, 10 $\times$ PCR Loading Buffer 2.5 μ L, 100 ng/ μ L 的 DNA 模板 1.0 μ L。PCR 扩增条件为: 94 ℃ 预变性 3 min; 94 ℃ 变性 30 s, 56.0 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 72 ℃ 延伸 10 min, 30 个循环; 4 ℃ 保存。取 PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 SSCP 分析 取 3 μ L PCR 产物和 7 μ L 上样缓冲液(购于 SIGMA 公司)振荡混匀, 98 ℃ 变性

10 min,冰浴 10 min,然后于 110 V 电压下在 14% 非变性聚丙烯酰胺 Acr:bis(39:1)凝胶中电泳 80 min,电泳结束后凝胶银染。

1.2.4 产物回收与测序 根据 SSCP 分析结果,挑选出不同带型的 PCR 产物各 4 个,用 2%的琼脂糖凝胶进行检测,利用 PCR 产物回收试剂盒回收,并将回收后的产物送至上海生工生物工程公司进行测序。

1.3 统计与分析

BLAST 网站 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 结合 BioEdit、Chromas2 和 MEGA 5.05 软件进行序列翻译及比对分析;Popgene Ver-

sion 1.32 生物软件计算多态信息含量(*PIC*)、等位基因频率、基因型频率、遗传杂合度(*He*)、有效等位基因数(*Ne*);利用 SAS 9.0 软件对绵羊 *BMPRI-IB* 基因第 7 外显子的多态性与产羔数进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 绵羊 *BMPRI-IB* 基因第 7 外显子的 PCR 扩增

图 1 结果表明,扩增产物片段与目标片段长度一致(304 bp),且特异性良好,可直接用于 SSCP 分析。

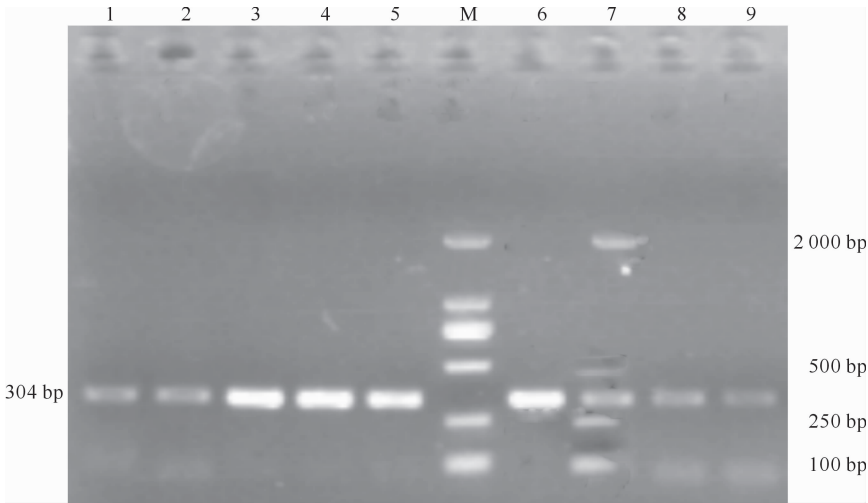


图 1 绵羊 *BMPRI-IB* 基因第 7 外显子的 PCR 扩增结果(304 bp)
M. DNA Marker DL2000;1~9. PCR 扩增产物

Fig.1 PCR products of *BMPRI-IB* gene exon7(304 bp)
M. DNA Marker DL2000;1-9. PCR products

2.2 绵羊 *BMPRI-IB* 基因第 7 外显子的 SSCP 分析

对扩增产物进行 SSCP 分析,结果(图 2)出现 2

种带型(基因型),分别定义为野生型 AA 型和突变型 AB 型。

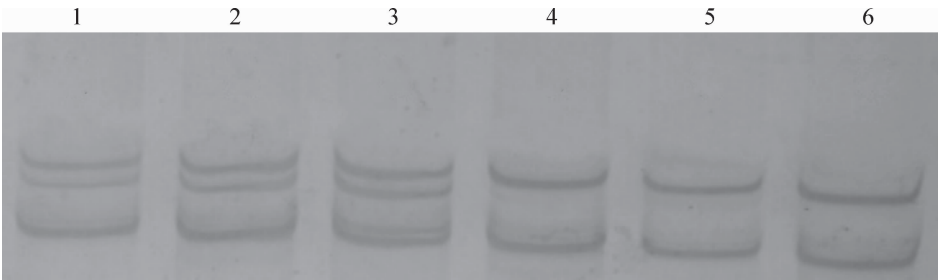


图 2 绵羊 *BMPRI-IB* 基因第 7 外显子扩增片段的 SSCP 分析
1~3. AB 型;4~6. AA 型

Fig.2 PCR-SSCP of *BMPRI-IB* gene exon7
1-3. AB;4-6. AA

2.3 绵羊 *BMPRI-IB* 基因第 7 外显子的测序分析

根据 PCR-SSCP 结果,挑选不同带型的 PCR 产

物各 4 份,经回收纯化后进行测序。结果发现,与野生型(AA 型)相比,突变型(AB 型)个体中 *BMPRI-*

IB 基因第 864 位点出现 T 和 C 的杂合,密码子由 UCA 变为 UCG(两者均编码丝氨酸)(图 3)。

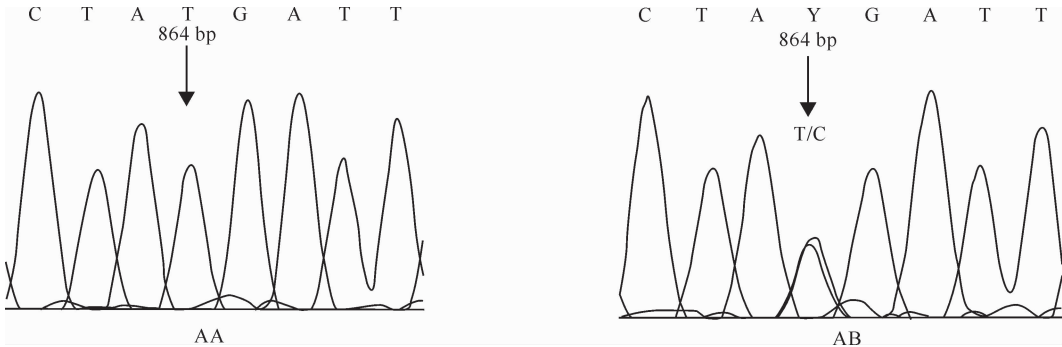


图 3 绵羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子 AA 型和 AB 型测序结果比较

Fig. 3 Sequencing map for genotypes AA and AB of *BMPR-IB* gene exon7

2.4 绵羊 *BMPR-IB* 基因外显子 7 的群体遗传学分析

供试的 294 个样本的 PCR-SSCP 检测结果(表 1)表明,无角陶赛特羊(单胎母羊和双胎母羊)、蒙古羊(单胎母羊和双胎母羊)和小尾寒羊(多胎母羊)的优势基因型均为 AA 型,优势等位基因均为 A 基因。群体遗传多样性计算结果(表 2)表明,无角陶

赛特单胎母羊和蒙古羊(单胎母羊和双胎母羊)属于中度多态($0.25 < PIC < 0.5$),无角陶赛特双胎母羊和小尾寒羊(多胎母羊)属于低度多态($PIC < 0.25$)。 χ^2 适合性检验结果显示,无角陶赛特羊(单胎母羊和双胎母羊)、蒙古羊(单胎母羊和双胎母羊)和小尾寒羊(多胎母羊)的 P 值均大于 0.05,表明其均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P > 0.05$)。

表 1 绵羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子的基因型和基因型频率

Table 1 Genotypes and allele frequencies of *BMPR-IB* gene exon7 in sheep

品种 Breed	样本量 Number of samples	基因型 Genotype		基因型频率 Genotype frequency		等位基因频率 Allele frequency	
		AA	AB	AA	AB	A	B
无角陶赛特羊单胎母羊 Singletons Dorset ewes	60	39	21	0.65	0.35	0.81	0.19
无角陶赛特羊双胎母羊 Twins Dorset ewes	60	43	17	0.72	0.28	0.85	0.15
蒙古羊单胎母羊 Singletons Mongolia ewes	57	31	26	0.54	0.46	0.73	0.27
蒙古羊双胎母羊 Twins Mongolia ewes	55	29	26	0.53	0.47	0.76	0.24
小尾寒羊多胎母羊 Multiples Small Tail Han ewes	62	53	9	0.85	0.15	0.92	0.08

注: AA 型为野生型,AB 型为突变型;突变型等位基因为 B,野生型等位基因为 A。
Note: AA is wild-type of *BMPR-IB* gene exon7, AB is mutation-type of *BMPR-IB* gene exon7; Mutant allele for *BMPR-IB* gene (B), wild type allele for *BMPR-IB* gene (A).

表 2 绵羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子的遗传多样性指数

Table 2 Genetic diversity index of *BMPR-IB* gene exon7 in sheep

品种 Breeds	多态信息含量 <i>PIC</i>	遗传杂合度 <i>He</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	χ^2 适合性检验 P 值 <i>P</i> value of χ^2 test
无角陶赛特羊单胎母羊 Singletons Dorset ewes	0.26	0.31	1.47	0.09
无角陶赛特羊双胎母羊 Twins Dorset ewes	0.22	0.27	1.33	0.16
蒙古羊单胎母羊 Singletons Mongolia ewes	0.32	0.41	1.62	0.11
蒙古羊双胎母羊 Twins Mongolia ewes	0.32	0.41	1.61	0.13
小尾寒羊多胎母羊 Multiples Small Tail Han ewes	0.14	0.15	1.18	0.78

2.5 不同产羔类型绵羊基因型分布的显著性检验

采用 SAS 9.0 软件对 *BMPR-IB* 基因第 7 外显

子 AB 基因型在不同产羔类型绵羊中的分布差异进行显著性检验,结果(表 3)表明:AB 基因型分布在

无角陶赛特羊单胎母羊与无角陶赛特羊双胎母羊之间、无角陶赛特羊双胎母羊与蒙古羊单胎母羊之间以及蒙古羊单胎母羊与小尾寒羊多胎母羊之间差异显著($P<0.05$),在无角陶赛特羊单胎母羊与蒙古羊双胎母羊之间、无角陶赛特羊单胎母羊与小尾寒羊多胎母羊之间以及蒙古羊单胎母羊与蒙古羊双胎

母羊之间差异极显著($P<0.01$);在无角陶赛特羊单胎母羊与蒙古羊单胎母羊之间、无角陶赛特羊双胎母羊与蒙古羊双胎母羊之间、无角陶赛特羊双胎母羊与小尾寒羊多胎母羊之间以及蒙古羊双胎母羊与小尾寒羊多胎母羊之间差异不显著($P>0.05$)。

表 3 AB 基因型在不同产羔类型绵羊中分布差异的 T 检验结果

产羔性状 Laming trait	无角陶赛特羊 双胎母羊 Twins Dorset ewes	蒙古羊单胎母羊 Singletons Mongolia ewes	蒙古羊双胎母羊 Twins Mongolia ewes	小尾寒羊多胎母羊 Multiples Small Tail Han ewes
无角陶赛特羊单胎母羊 Singletons Dorset ewes	4.261 4(0.039 0) ^{ab}	0.298 5(0.584 8) ^{aa}	24.523 8(<0.000 1) ^{ac}	26.166 3(<0.000 1) ^{ac}
无角陶赛特羊双胎母羊 Twins Dorset ewes	—	6.366 4(0.011 6) ^{ab}	0.162 7(0.686 7) ^{aa}	0.102 7(0.748 6) ^{aa}
蒙古羊单胎母羊 Singletons Mongolia ewes	—	—	8.256 3(0.004 1) ^{ac}	5.022 9(0.025 0) ^{ab}
蒙古羊双胎母羊 Twins Mongolia ewes	—	—	—	0.522 4(0.469 8) ^{aa}

注:aa 代表差异不显著($P>0.05$),ab 代表差异显著($0.01<P<0.05$),ac 代表差异极显著($P<0.01$)。括号中数字代表 P 值。下同。
Note:aa indicates no significant difference ($P>0.05$),ab indicates significant difference ($0.01<P<0.05$),ac indicates extremely significant difference ($P<0.01$). Numbers in parentheses are P value. The same below.

2.6 绵羊 *BMPR-IB* 第 7 外显子多态性与产羔数
的相关性

2.6.1 方差分析 就绵羊品种、基因型及品种与基因型互作对绵羊产羔数的影响进行方差分析,结果表明,不同品种个体之间 $F=238.82,P<0.000 1$,差异极显著($P<0.01$);不同基因型个体之间 $F=9.07,P=0.000 6<0.01$,差异极显著($P<0.01$);不同品种与基因型互作的 $F=2.19,P=0.113 4>0.05$,差异不显著($P>0.05$)。说明绵羊品种和基因型均对产羔数有显著影响,而二者的互作效应对产羔数影响不显著。

2.6.2 最小二乘分析 (1)不同品种间最小二乘分析结果。无角陶赛特羊、蒙古羊和小尾寒羊的产羔数之间最小二乘均数(标准误)分别为 1.549 7

(0.044 9),1.580 1(0.046 4)和 3.000 0(0.057 2)。多重比较结果显示,无角陶赛特羊与蒙古羊之间产羔数差异不显著($P=0.638 5>0.05$),无角陶赛特羊与小尾寒羊之间、蒙古羊与小尾寒羊之间产羔数差异极显著($P<0.01$)。另外,小尾寒羊产羔数最多,蒙古羊次之,无角陶赛特羊最低。

(2)不同基因型间最小二乘分析结果。AA 型和 AB 型个体产羔数的最小二乘均数(标准误)分别为 1.956 7(0.031 6)和 2.129 9(0.048 1)。多重比较结果显示,不同基因型个体间 $P=0.002 8$,差异极显著($P<0.01$)。

(3)不同品种与基因型互作效应的最小二乘分析结果和多重比较结果(表 4)。

表 4 品种与基因型互作效应在不同产羔类型绵羊中分布差异的 T 检验结果

品种×基因型 Breed×gerotype	D×AB	M×AA	M×AB	S×AA	S×AB
D×AA	2.478 3(0.018 3) ^{ab}	0.244 1(0.806 7) ^{aa}	3.144 5(0.001 8) ^{ac}	18.995 7(<0.000 1) ^{ac}	12.140 6(<0.000 1) ^{ac}
D×AB	—	2.403 9(0.011 9) ^{ab}	0.695 7(0.486 1) ^{aa}	14.452 9(<0.000 1) ^{ac}	10.053 4(<0.000 1) ^{ac}
M×AA	—	—	3.291 2(0.001 1) ^{ac}	13.120 1(<0.000 1) ^{ac}	19.019 2(<0.000 1) ^{ac}
M×AB	—	—	—	2.521 9(0.012 2) ^{ab}	14.399 3(<0.000 1) ^{ac}
S×AA	—	—	—	—	4.341 2(0.000 7) ^{ac}

注:D×AA.无角陶赛特羊×AA 型;D×AB.无角陶赛特羊×AB;M×AA.蒙古羊×AA 型;M×AB.蒙古羊×AB 型;S×AA.小尾寒羊×AA 型;S×AB.小尾寒羊×AB。

Note:D×AA indicates Dorset ewes and AA genotype;D×AB indicates Dorset ewes and AB genotype;M×AA indicates Mongolia ewes and AA genotype;M×AB indicates Mongolia ewes and AB genotype;S×AA indicates Small Tail Han ewes and AA genotypes;S×AB indicates Small Tail Han ewes and AB genotype.

3 个绵羊品种(无角陶赛特羊、蒙古羊和小尾寒羊)和 2 种基因型(AA 型和 AB 型)共有 6 种互作效

应, 互作效应的最小二乘均数分别为: 无角陶赛特羊 $\times$ AA 型(D $\times$ AA, 下同)为 1.443 2, 无角陶赛特羊 $\times$ AB(D $\times$ AB)为 1.656 3, 蒙古羊 $\times$ AA 型(M $\times$ AA)为 1.426 8, 蒙古羊 $\times$ AB 型(M $\times$ AB)为 1.733 3, 小尾寒羊 $\times$ AA 型(S $\times$ AA)为 3.000 0, 小尾寒羊 $\times$ AB(S $\times$ AB)为 3.000 0。不同品种与基因型互作效应的多重比较结果(表 4)表明, D $\times$ AA 与 D $\times$ AB、D $\times$ AB 与 M $\times$ AA、M $\times$ AB 与 S $\times$ AA 间差异显著($P < 0.05$); D $\times$ AA 与 M $\times$ AA、D $\times$ AB 与 M $\times$ AB、M $\times$ AA 与 M $\times$ AB、D $\times$ AA 与 S $\times$ AA、D $\times$ AB 与 S $\times$ AA、M $\times$ AA 与 S $\times$ AA、D $\times$ AA 与 S $\times$ AB、D $\times$ AB 与 S $\times$ AB、M $\times$ AA 与 S $\times$ AB、M $\times$ AB 与 S $\times$ AB、S $\times$ AA 与 S $\times$ AB 间差异极显著($P < 0.01$)。

3 讨 论

3.1 *BMPR-IB* 基因群体的遗传学分析

近年来, 国内外学者对于绵羊 *BMPR-IB* 基因在编码区第 746 位点(A $\rightarrow$ G)突变与绵羊多胎性状的相关性进行了大量的研究, 并且确定 *FECB* 基因为 Booroola Merino 羊、剑桥羊、小尾寒羊等的多胎主效基因^[6]; 也有学者以绵羊 *FECB* 基因为双羔候选基因, 从单核苷酸多态性、mRNA 的表达差异方面对蒙古羊和滩羊产羔性状进行了研究^[12-13]; 而对于绵羊其他突变位点多态性与繁殖性状相关性的研究报道比较少。本试验利用 PCR-SSCP 技术结合 DNA 直接测序的方法, 分析单羔蒙古羊、双羔蒙古羊、单羔无角陶赛特羊、双羔无角陶赛特羊和多羔小尾寒羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子多态性与绵羊产羔性状的关联性, 结果发现供试的 294 个样本只检测到 AA 型和 AB 型 2 种基因型, 即 AB 基因型在 *BMPR-IB* 基因第 864 位点出现了 T 和 C 的杂合, 没有发现突变纯合体(BB 型个体)。造成这种情况的原因可能是: ①羊只中存在 BB 基因型, 但是 RCR-SSCP 和 DNA 测序不适用于无角陶赛特羊、蒙古羊和小尾寒羊 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子的检测, 或者是 B 等位基因频率过低, 所检测羊只数量少, 没有能够检测到 BB 型个体; ②羊只中不存在 BB 基因型, 可能是 B 等位基因为隐形致死基因, BB 型个体不能存活。这与 Davis^[14]的研究结果相似。

通过 χ^2 适合性检验表明, 无角陶赛特羊、蒙古羊和小尾寒羊均处于 Hardy-weinberg 平衡状态($P > 0.05$), 说明试验羊只已经形成了适应各自生

存环境的遗传特性, 该突变位点在所在群体内能够稳定遗传。所有羊只 *PIC* 值均低于 0.5, 说明 *BM-PR-IB* 基因第 7 外显子多态性不高, 遗传变异不大, 其中在无角陶赛特羊单胎母羊、蒙古羊单胎母羊和蒙古羊双胎母羊中, *PIC* 值大于 0.25, 而无角陶赛特羊双胎母羊和小尾寒羊多胎母羊的 *PIC* 值小于 0.25, 说明此位点作为性状与标记间连锁分析的候选标记位点, 对提高绵羊繁殖力的标记辅助选择和育种工作有一定的可能性。

3.2 不同基因型与母羊产羔数的相关性

本试验在绵羊 *BMPR-IB* 基因第 864 位点发现了 T 和 C 的杂合, 虽然该位点突变没有造成氨基酸序列的变化, 但该位点突变后, AB 型个体在无角陶赛特羊单胎母羊与无角陶赛特羊双胎母羊、无角陶赛特羊双胎母羊与蒙古羊单胎母羊、蒙古羊单胎母羊与小尾寒羊多胎母羊之间差异显著($P < 0.05$), 在无角陶赛特羊单胎母羊与蒙古羊双胎母羊、小尾寒羊多胎母羊, 蒙古羊单胎母羊与蒙古羊双胎母羊之间差异极显著($P < 0.01$)。本试验中 *BMPR-IB* 基因第 864 位点的突变没有造成氨基酸序列的变化, 但不同基因型在不同繁殖力母羊群体中的分布有一定的差异。造成这种现象的原因可能是: ①*BMPR-IB* 基因 864 位点的突变虽然为同义突变, 但是密码子由 UCA 变成了 UCG, UCG 为稀有密码子, 由于稀有密码子的使用会影响翻译速度, 进而影响蛋白质的折叠, 从而影响其功能的发挥; ②*BMPR-IB* 基因 864 位点的突变导致 mRNA 表达量减少, 或者是在 mRNA 修饰时特定等位基因差异影响氨基酸的拼接、处理或者翻译调控; ③*BM-PR-IB* 基因 864 位点的突变可能使供体本来的剪切位点失活, 从而导致过早终止密码子或外显子遗漏, 形成多个剪切变异体, 从而在特定条件下影响颗粒细胞的分化或者卵泡的发育; ④*BMPR-IB* 基因 864 位点的同义突变可能与常规不同义突变位点连锁不平衡, 这与 Kimchi-Sarfaty 等^[15]的研究结果相似。因此, *BMPR-IB* 基因第 864 位点的突变是否可以作为控制绵羊繁殖力的潜在遗传标记位点, 需要进一步加大样本量及绵羊品种数量进行深入研究。

4 结 论

1) 对试验绵羊共 294 个样本的 *BMPR-IB* 基因第 7 外显子进行多态性检测, 在 *BMPR-IB* 基因第 864 位点发现有 T 和 C 的杂合出现, 但没有发现突变纯合体(BB 型个体)。

2)*BMPR-IB* 基因编码区第 864 位点的突变在不同产羔性状绵羊中的分布存在显著差异,其是否可以作为控制绵羊繁殖力的潜在遗传标记位点,需进一步探索。

[参考文献]

[1] Piter L R, Bindon B M, Davis G H. The single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino [M]//Land R B, Robinson D W. Genetics of reproduction in sheep. London: Butterworths, 1985: 115-125.

[2] 田秀娥, 孙红霞, 王永军. 3 个绵羊群体 *BMPR-IB* 基因的遗传多态性及其对产羔数的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(11): 31-36.

Tian X E, Sun H X, Wang Y J. Genetic polymorphism of *BM-PR-IB* gene and effect on litter size in three sheep breeds [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2009, 37(11): 31-36. (in Chinese)

[3] 赵有璋. 羊生产学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.

Zhao Y Z. Yang Shengchanxue [M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural University Press, 2011. (in Chinese)

[4] Kumar D, Joshi A, Naqvi S M K, et al. Sperm motion characteristics of Garole×Malpura sheep evolved in a semi-arid tropical environment through introgression of *FecB* gene [J]. Anim Reprod Sci, 2007, 100(1/2): 51-60.

[5] Chu M X, Jia L H, Zhang Y J, et al. Polymorphisms of coding region of *BMPR-IB* gene and their relationship with litter size in sheep [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38: 4071-4076.

[6] Asadpour R, Jafari-joozani R, Alijani S, et al. Detection of polymorphism in Booroola gene (*FecB*) and its association with litter size in zel sheep breed in iran [J]. Slovak J Anim Sci, 2012, 45(2): 63-66.

[7] Fabre S, Pierre A, Mulsant P, et al. Monniaux D regulation of ovulation rate in mammals: Contribution of sheep genetic models [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2006, 4: 20.

[8] Galloway S M, McNatty K P, Cambridge L M, et al. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (*BMP15*) cause in-

creased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner [J]. Nat Genet, 2000, 25(3): 279-283.

[9] 储明星, 狄 冉, 叶素成, 等. 绵羊多胎主效基因 *FecB* 分子检测方法的建立与应用 [J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(1): 52-58.

Chu M X, Di R, Ye S C, et al. Establishment of molecular detection methods for high prolificacy major gene *FecB* in sheep and its application [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2009, 17(1): 52-58. (in Chinese)

[10] 何小龙. 蒙古羊 *BMPR-IB*、*FSHβ* 基因克隆与表达及卵巢组织差异表达基因研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.

He X L. Study on cloning and expression of *BMPR-IB*, *FSHβ* gene and differentially expressed genes of ovary in Mongolian sheep [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2010. (in Chinese)

[11] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2003.

Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2003. (in Chinese)

[12] 杨燕燕, 邵 凯, 达 来, 等. *BMP15* 基因作为影响蒙古羊双羔性状候选基因的研究 [J]. 华北农业学报, 2010, 25(1): 44-49.

Yang Y Y, Shao K, Da L, et al. Study on the *BMP15* gene as candidate genes for fecundity in Mongolian sheep double-lambs group [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(1): 44-49. (in Chinese)

[13] 何小龙, 刘永斌, 王 峰, 等. 蒙古羊 *FSHβ* 基因 cDNA 克隆与序列分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010, 39(3): 39-41.

He X L, Liu Y B, Wang F, et al. Mongolian sheep *FSHB* gene cDNA cloning and sequence analysis [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2010, 39(3): 39-41. (in Chinese)

[14] Davis G H. Fecundity genes in sheep [J]. Animal Reproduction Science, 2004, 82-83: 247-253.

[15] Kimchi-Sarfaty C, Oh J M, Kim I W, et al. A “Silent” polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity [J]. Animal Science, 2007, 315(5811): 525-528.

(上接第 6 页)

[18] Mohr U, Koczan D, Linder D, et al. A single point mutation results in a allele-specific exon skipping in the bovine α s1-casein mRNA [J]. Gene, 1994, 143(2): 187-192.

[19] 高建斌, 咎林森, 杨 宁, 等. 秦川牛 *DKK1* 基因 SNPs 检测及其与体尺、肉质性状的关联分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44

(3): 81-82.

Gao J B, Zan L S, Yang N, et al. Polymorphisms of *DKK1* gene and its association with body measurement and meat quality traits in Qinchuan cattle [J]. Animal Husbandry and Veterinary Science, 2013, 44(3): 81-82. (in Chinese)