

网络出版时间:2023-06-30 15:45 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2024.01.002  
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms2/detail/61.1390.S.20230629.1616.007.html

# 青海高原型牦牛 *GHR* 基因多态性与 生长发育的关联性

丁维芹<sup>1,2</sup>, 祁增源<sup>1,2,3</sup>, 刘亚倩<sup>1,2</sup>, 韩银仓<sup>1,2</sup>, 李文浩<sup>1,2</sup>, 孙永刚<sup>1,2</sup>

(1 青海大学 畜牧兽医科学院, 青海 西宁 810016;

2 青海省高原家畜遗传资源保护与创新利用重点实验室, 青海 西宁 810016;

3 甘肃农业大学 动物科学技术学院 甘肃省草食动物生物技术重点实验室, 甘肃 兰州 730070)

**[摘要]** **【目的】**探索青海高原型牦牛(*Bos grunniens*)生长激素受体(growth hormone receptor)基因 *GHR* 多态性及其与生长性状的关联性。**【方法】**以 440 头同等放牧条件下的 30~36 月龄健康牦牛为试验群体, PCR 扩增其 *GHR* 基因, 测序后用 DNASTAR 7.1 软件分析单核苷酸多态性(SNP)位点, 研究不同基因型及其合并基因型与生长发育指标(体质量、体高、体斜长、胸围和管围)的关联性。**【结果】**青海高原型牦牛 *GHR* 基因上存在 g.732091C>G、g.732195A>G 和 g.732373G>A 3 个 SNP 位点, 其中 g.732195A>G 上存在 2 种基因型(AA, AG), g.732091C>G 和 g.732373G>A 上各存在 3 种基因型(分别为 CC, CG, GG 和 GA, AA, GG); 卡方检验表明, g.732091C>G、g.732195A>G 和 g.732373G>A 均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态, 且 g.732195A>G 为低度多态(PIC<0.25), g.732091C>G 和 g.732373G>A 为中度多态(0.25<PIC<0.50)。与生长性状的关联性分析发现, g.732091C>G、g.732195A>G 和 g.732373G>A 能够显著或极显著影响高原型牦牛的体质量和胸围, 优势基因型分别为 g.732091C>G 和 g.732373G>A 的 GG 以及 g.732195A>G 的 AA。对合并基因型分析发现, 合并基因型 GG-AA-GG 个体的生长发育尤其是体斜长表现最佳。**【结论】**青海高原型牦牛 *GHR* 基因有 3 个 SNP 位点, 因其与青海高原型牦牛的部分生长性状相关, 可作为牦牛分子标记辅助选择的候选基因。

**[关键词]** 高原型牦牛; *GHR* 基因; SNP 位点; 基因多态性; 合并基因型

**[中图分类号]** S823.8<sup>+</sup>5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2024)01-0009-07

## Correlation between *GHR* gene polymorphism and growth traits in Qinghai plateau yaks

DING Weiqin<sup>1,2</sup>, QI Zengyuan<sup>1,2,3</sup>, LIU Yaqian<sup>1,2</sup>, HAN Yincang<sup>1,2</sup>,  
LI Wenhao<sup>1,2</sup>, SUN Yonggang<sup>1,2</sup>

(1 Academy of Animal Science and Veterinary Medicine, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China;

2 Key Laboratory of Plateau Livestock Genetic Resources Protection and Innovative Utilization of Qinghai Provincial, Xining,

Qinghai 810016, China; 3 Gansu Key Laboratory of Herbivore Biotechnology, College of Animal Science and Technology,

Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** **【Objective】**This study explored the relationship between *GHR* gene polymorphism and growth traits of Qinghai plateau yaks. **【Method】**The *GHR* gene was amplified by PCR in a test population of 440 healthy yaks at the ages of 30–36 months under same grazing conditions, before being sequenced

**[收稿日期]** 2022-09-24

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(32060750); 青海省科技计划项目(2019-SF-A3)

**[作者简介]** 丁维芹(1997—), 女, 山东济南人, 在读硕士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: dwq1154364054@163.com

**[通信作者]** 孙永刚(1983—), 男, 甘肃白银人, 副研究员, 博士, 硕士生导师, 主要从事牦牛遗传与育种研究。

E-mail: sunyg2009@qq.com

and analyzed for SNPs using DNASTAR 7.1 software. The association between different genotypes and their combined genotypes with growth and development indicators (body mass, body height, body slope length, chest circumference and tube circumference) was then analyzed. 【Result】 Three SNPs of g. 732091C>G, g. 732195A>G and g. 732373G>A existed on the *GHR* gene of Qinghai plateau yaks, where two genotypes (AA and AG) presented on g. 732195A>G and three genotypes presented on g. 732091C>G (CC, CG and GG) and g. 732373G>A (GA, AA and GG). The  $\chi^2$  test showed that g. 732091C>G, g. 732195A>G and g. 732373G>A were in Hardy-Weinberg extreme imbalance, g. 732195A>G was low polymorphic ( $PIC < 0.25$ ), g. 732091C>G and g. 732373G>A were moderately polymorphic ( $0.25 < PIC < 0.50$ ). The association analysis with growth traits revealed that g. 732091C>G, g. 732195A>G and g. 732373G>A could significantly or highly significantly affect body weight and chest circumference in plateau yaks, and the dominant genotype was GG for g. 732091C>G and g. 732373G>A and AA for g. 732195A>G. The combined genotype GG-AA-GG individuals showed the best growth and development, especially in body slope length. 【Conclusion】 There were three SNPs in the *GHR* gene of Qinghai plateau yaks. Because of the association with some growth traits, it could be used as candidate genes for molecular marker-assisted selection in yaks.

**Key words:** plateau yak; *GHR* gene; SNP site; gene polymorphism; combined genotype

青海高原型牦牛是青藏高原型牦牛中分布面积较广、数量较大、品质较好的一个地方良种,主要分布在高海拔、冷季长、气温低的青海冷区,对高寒严酷的生态条件有较强的适应能力,是青藏高原牧民不可缺少的生活资料<sup>[1]</sup>。牦牛为藏区牧民提供了肉、乳、毛绒等畜产品,是重要的生活和经济来源。但青海牦牛养殖以传统放牧为主,出栏周期长和商品率低成为制约牦牛产业发展的主要因素<sup>[2]</sup>。因此,开展牦牛生长性状选育工作对牦牛产业的发展具有重要意义。

生长激素(growth hormone, GH)是一种肽类激素,由垂体中的生长激素细胞合成、存储和分泌,是生长轴中最重要的组成部分<sup>[3]</sup>。在动物的生长发育过程中,GH 必须与生长激素受体(growth hormone receptor, GHR)结合才能发挥作用<sup>[3]</sup>。GHR 是包含 634 个氨基酸的蛋白激素,由脑下垂体前部合成并分泌,*GHR* 基因位于牛 20 号染色体,由 9 个内含子和 10 个外显子组成,其碱基序列的突变可能导致其结构及功能的改变,进而影响到信号传导及生长激素作用的生理效应,最终影响体质量、体高等生长性状<sup>[4]</sup>。牦牛 *GHR* 基因由 14 个外显子和 13 个内含子组成,染色体位置尚未确定。*GHR* 基因是第一个被证明与生长有关的基因,牛 *GHR* 对机体的生长发育、免疫和代谢有十分重要的影响<sup>[5]</sup>。因此,将牛 *GHR* 基因作为候选基因,研究其与生产性能的关系,对牛的育种有很大实践意义。研究表明,*GHR* 广泛分布于动物的肝脏、肌肉、心脏、脑、

脂肪、卵巢等多种组织中<sup>[6]</sup>,而 *GHR* 最早发现于兔的肝细胞膜上<sup>[7]</sup>。Parmentier 等<sup>[8]</sup>研究发现,*GH* 和 *GHR* 基因是家畜生长、胴体性状和泌乳性状的重要候选基因。Curi 等<sup>[9]</sup>发现,*GHR* 基因调节区 L/S 替代影响肉牛的生长,LL 型体质量明显增加。张浩<sup>[10]</sup>对甘肃肉羊的研究显示,*GHR* 基因的外显子 10 分为 AA、AB 2 种基因型,进一步的关联分析表明,处于不同生长阶段的甘肃肉羊的个体体质量和多态基因型无显著差异。

本试验构建青海高原型牦牛 DNA 池,筛选 *GHR* 基因的单核苷酸多态性(SNP)位点,并对 SNP 位点进行生物信息学分析,利用软件估算等位基因频率,研究 SNP 位点对生长激素受体结构的影响,并分析其与生长性状的关联性,以期青海高原型牦牛的选育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

在青海省祁连县随机选择 440 头同等放牧条件下的 30~36 月龄健康牦牛,尾静脉采血 15 mL/头,血样置于抗凝采血管中,−80 °C 保存备用。同时,现场测定所有试验牛的生长发育指标,包括体质量、体斜长、体高、管围以及胸围,各生长性状的测定严格按照蓝贤勇<sup>[11]</sup>报道的方法进行。

### 1.2 基因组 DNA 提取和检测

采用血液基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根)提取血液 DNA,然后使用 NanoDrop 2000 分光光度

计(赛默飞世尔科技,美国)检测 DNA 的浓度及纯度。样品 DNA 浓度大于 50 ng/ $\mu$ L,  $OD_{260}/OD_{280}$  为 1.8。

### 1.3 *GHR* 基因引物设计

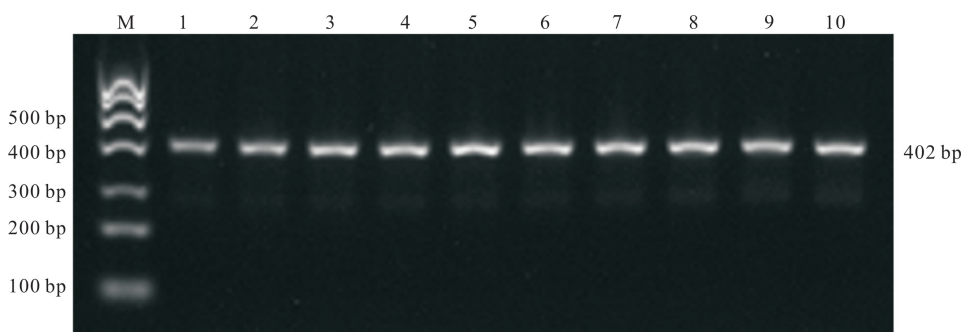
根据 GenBank 公布的牦牛 *GHR* 序列(ID: 102268311),利用 Primer 5.0 软件设计 *GHR* 引物,由上海生工生物工程技术有限公司负责合成。引物序列为:F:5'-AAAATACTCGTGTCTG-GTT-3',R:5'-AAGGAGACTTCCATCCACCC-3'。引物退火温度 50.9  $^{\circ}$ C,预期扩增片段长度为 402 bp。

### 1.4 *GHR* 基因的 PCR 扩增

PCR 反应体系 25.0  $\mu$ L,其中包括 12.5  $\mu$ L Mix 混合液(北京天根,含有核酸染料的 dNTPs、Taq DNA 聚合酶、10 $\times$ Buffer),ddH<sub>2</sub>O 10.1  $\mu$ L,上、下游引物(10  $\mu$ mol/L)各 0.7  $\mu$ L,DNA 1.0  $\mu$ L。反应程序为:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94  $^{\circ}$ C 变性 30 s,50.9  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s,34 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4  $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物用 0.8% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测。

### 1.5 *GHR* 基因 SNPs 突变位点检测

将检测合格的 PCR 产物送上海生工生物工程技术有限公司进行测序,使用 DNASTAR 7.1 软件对测序结果进行对比分析,寻找突变位点。



M. DNA Marker I (MD101);1~10. 牦牛个体

M. DNA Marker I (MD101);1-10. Yak samples

图 1 部分青海高原型牦牛 *GHR* 基因的 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification of *GHR* gene in Qinghai plateau yak

### 2.2 *GHR* 基因的 SNPs 分析

青海高原型牦牛 *GHR* 基因序列全长 760 579 bp,含有 14 个外显子和 13 个内含子。由图 2 可知,本试验获得了牦牛 *GHR* 基因的 3 个 SNPs,分别为位于第 9 内含子上的 g. 732091C>G、g. 732195A>G 及位于第 10 外显子上的 g. 732373G>A,其中 g. 732091C>G 上存在 3 种基因型,分别为 CC、CG 和 GG;g. 732195A>G 上存在 2 种基因型,分别为

### 1.6 数据统计与分析

根据基因型统计分析结果计算基因型、等位基因频率、遗传杂合度( $H_e$ )、有效等位基因数( $N_e$ )和多态信息含量(PIC)。采用 SPSS 21.0 软件对 *GHR* 基因多态性位点在牦牛群体中的基因型分布进行卡方检验,当  $\chi^2 < \chi^2_{0.05}$ ,说明该位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态; $\chi^2_{0.05} \leq \chi^2 < \chi^2_{0.01}$ ,位点处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态; $\chi^2_{0.01} \leq \chi^2$ ,位点处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态。使用 Haploview 3.32 软件对 *GHR* 基因的 SNP 位点进行合并基因型分析,并对不同基因型与生长性状间的关联性进行分析。由于环境和年龄因素的影响,采用固定模型分析基因型效应对生长性状的影响。

所采用的固定模型为:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + A_j + E_{ij}.$$

式中: $Y_{ij}$ 为个体表型记录, $\mu$ 为群体均值, $G_i$ 为标记基因型效应, $A_j$ 为年龄效应, $E_{ij}$ 为随机误差。

## 2 结果与分析

### 2.1 *GHR* 基因的 PCR 扩增

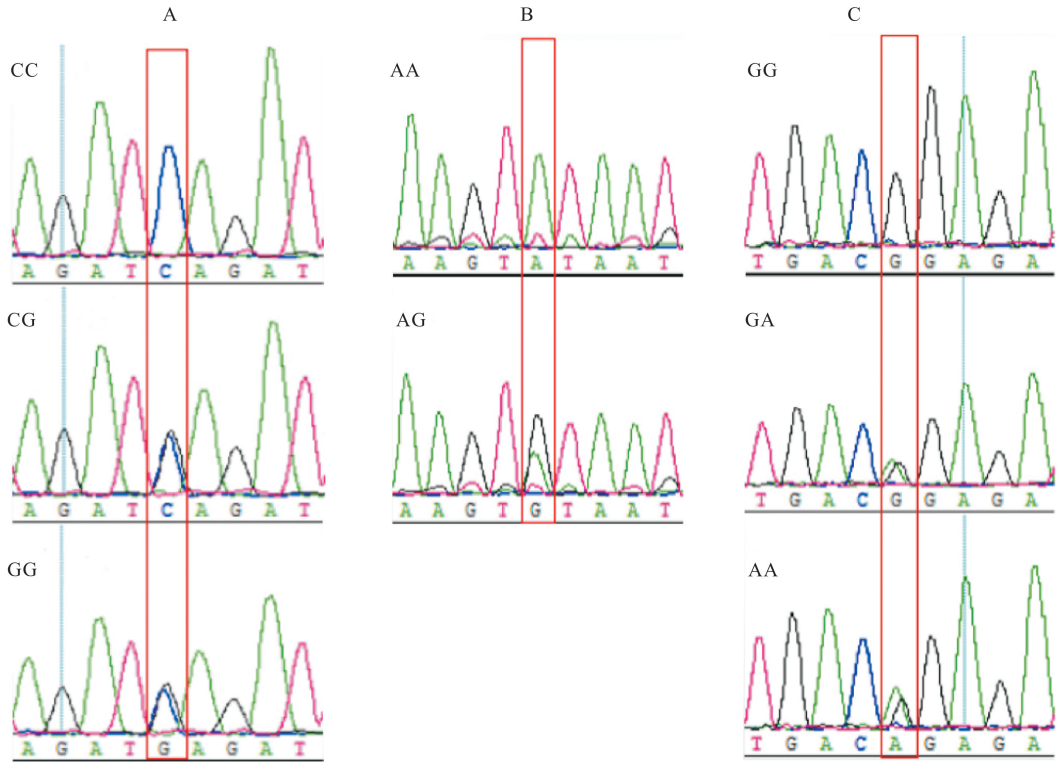
图 1 显示,青海高原型牦牛 *GHR* 基因经 PCR 扩增获得了 402 bp 的片段,扩增产物的大小与预期片段长度相符,条带清晰,特异性好,可直接用于后续测序。

AA 和 AG;g. 732373G>A 上存在 3 种基因型,分别为 GG、GA 和 AA。

青海牦牛 *GHR* 基因 SNPs 遗传多态性分析结果(表 1)显示,g. 732091C>G 位点 GG 为优势基因型,G 为优势等位基因;g. 732195A>G 位点 AA 为优势基因型,A 为优势等位基因;g. 732373G>A 位点 GG 为优势基因型,G 为优势等位基因。卡方检验表明,g. 732091C>G、g. 732195A>G 和

g. 732373G>A 均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态, 且 g. 732195A>G 为低度多态 (PIC <

0.25), g. 732091C>G 和 g. 732373G>A 为中度多态 (0.25 < PIC < 0.50)。



A. g. 732091C>G 位点; B. g. 732195A>G 位点; C. g. 732373G>A 位点

A. g. 732091C>G location; B. g. 732195A>G location; C. g. 732373G>A location

图 2 青海高原型牦牛 *GHR* 基因的 SNPs 位点

Fig. 2 SNPs location in *GHR* of Qinghai plateau yak

表 1 青海高原型牦牛 *GHR* 基因 SNPs 的遗传多态性分析

Table 1 Genetic polymorphism analysis of SNPs of *GHR* gene in Qinghai plateau yak

位点 Loci	基因型频率/% Genotypic frequencies			等位基因频率/% Allelic frequencies		$\chi^2$	PIC	$H_e$	$N_e$
g. 732091C>G	CC(152)	CG(91)	GG(197)	C	G	149.03	0.372 3	0.494 8	1.979 2
	34.55	20.68	44.77	44.89	55.11				
g. 732195A>G	AA(288)	AG(152)		A	G	19.18	0.244 9	0.285 8	1.400 1
	65.45	34.55		82.73	17.27				
g. 732373G>A	GG(269)	GA(73)	AA(98)	G	A	163.27	0.334 4	0.424 5	1.737 6
	61.14	16.59	22.27	69.73	30.57				

注: PIC > 0.50 为高度多态; 0.25 < PIC < 0.50 为中度多态; PIC < 0.25 为低度多态;  $\chi^2_{0.05} = 5.991$ ,  $\chi^2_{0.01} = 9.210$ 。

Note: PIC > 0.50 means high diversity, 0.25 < PIC < 0.50 means moderate diversity, and PIC < 0.25 means low diversity.  $\chi^2_{0.05} = 5.991$ ,  $\chi^2_{0.01} = 9.210$ .

### 2.3 *GHR* 基因 SNP 位点基因型与牦牛生长性状的关联性分析

将青海高原型牦牛的 5 个生长性状指标分别与 *GHR* 基因 SNPs 位点的基因型进行关联分析。结果(表 2)显示, g. 732091C>G 位点上 GG、CG 基因型的胸围极显著高于 CC 基因型 ( $P < 0.01$ ), 而其他生长性状在 3 种基因型之间差异不显著;

g. 732195A>G 位点上 AA 基因型的体质量极显著高于 AG 基因型 ( $P < 0.01$ ), 而胸围显著低于 AG 基因型 ( $P < 0.05$ ), 其他生长性状差异不显著; g. 732373G>A 位点上 GG 基因型的胸围极显著高于 GA 基因型 ( $P < 0.01$ ), 体质量、体高、体斜长和管围显著高于 GA 基因型 ( $P < 0.05$ ), 但与 AA 基因型差异均不显著。



表 2 青海高原型牦牛 *GHR* 基因不同基因型对牦牛生长性状的影响Table 2 Effect of different genotypes of *GHR* on growth traits in Qinghai plateau yak

位点 Loci	基因型 Genotype	体质量/(kg·头 <sup>-1</sup> ) Body weight	体高/cm Withers height	体斜长/cm Body length	胸围/cm Chest circumference	管围/cm Circumference
g. 732091C>G	CC(152)	134.79±18.36	97.93±5.73	103.17±7.94	132.94±14.58 B	14.88±1.18
	CG(91)	139.03±15.36	98.49±6.19	104.93±8.11	138.06±11.00 A	14.96±0.98
	GG(197)	138.47±18.50	98.83±5.85	105.16±10.47	136.26±13.45 A	15.03±0.86
g. 732195A>G	AA(288)	137.58±18.90 A	98.51±6.01	104.41±8.72	135.16±14.16 b	15.00±0.88
	AG(152)	136.82±15.88 B	98.34±5.66	104.45±10.12	136.11±12.21 a	14.89±1.20
g. 732373G>A	GA(73)	129.54±9.76 b	95.91±3.57 b	102.12±12.56 b	131.75±11.20 B	14.52±0.52 b
	AA(98)	136.04±20.02 a	98.50±5.88 ab	103.79±8.38 ab	134.17±15.32 AB	14.86±1.30 a
	GG(269)	139.89±18.17 a	99.12±6.20 a	105.28±8.30 a	136.97±13.17 A	15.11±0.93 a

注:同一位点同列数据后标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),标不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ), and different capital letters indicate highly significant differences. ( $P<0.01$ ).

#### 2.4 *GHR* 基因 SNP 位点的合并基因型分析

青海高原型牦牛 *GHR* 基因中 3 个 SNP 位点主要存在 18 种合并基因型,发生频率高于 5% 的合并基因型有 7 种,具体见表 3。表 3 显示,GG-AA-GG 发生频率最高,达到 18.86%,而 GG-AA-AA 发生频率最低,为 6.14%。利用合并基因型方差分析模型分析不同合并基因型对牦牛生长发育性状的影

响,结果(表 4)显示,合并基因型 GG-AA-GG 个体的体斜长显著高于 GG-AA-AA 和 CC-AA-GG 合并基因型( $P<0.05$ );在体质量、体高、管围和胸围方面,各合并基因型间差异不显著( $P>0.05$ )。因此,在本试验群体中,在青海高原型牦牛的体斜长方面,GG-AA-GG 是最为优秀的合并基因型。

表 3 青海高原型牦牛 *GHR* 合并基因型的分布情况Table 3 Distribution of combined genotypes of *GHR* in Qinghai plateau yak

合并基因型 Combined genotypes	个体数 Number	频率/% Frequency	合并基因型 Combined genotypes	个体数 Number	频率/% Frequency
CC-AA-AA	28	6.36	GG-AA-GG	83	18.86
CC-AA-GG	61	13.86	CC-AG-GG	31	7.05
CG-AA-GG	36	8.18	GG-AG-GG	38	8.64
GG-AA-AA	27	6.14			

表 4 青海高原型牦牛 *GHR* 合并基因型对牦牛生长发育性状的影响Table 4 Effect of different combined genotypes of *GHR* on growth traits in Qinghai plateau yak

合并基因型 Combined genotype	体质量/(kg·头 <sup>-1</sup> ) Body weight	体高/cm Withers height	体斜长/cm Body length	胸围/cm Chest circumference	管围/cm Circumference
CC-AA-AA	134.78±21.81	98.39±6.39	104.21±8.03 ab	133.00±17.10	14.98±0.93
GG-AA-AA	137.01±23.14	97.74±5.70	102.96±9.86 b	133.43±17.54	15.02±0.85
CC-AA-GG	136.77±19.80	98.45±6.03	103.82±8.47 b	133.61±15.49	15.15±0.87
CG-AA-GG	140.61±18.41	99.58±6.74	105.67±9.56 ab	137.27±13.57	14.93±0.99
GG-AA-GG	141.95±18.75	99.58±6.20	106.78±8.85 a	138.11±12.09	15.18±0.88
CC-AG-GG	138.86±15.36	98.19±6.21	103.32±7.50 ab	136.42±12.15	14.87±0.93
GG-AG-GG	138.71±18.64	100.16±5.87	105.34±6.87 ab	137.91±13.97	15.13±0.90

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ).

### 3 讨论

GH 可以调控哺乳动物的生长和代谢,通过调控细胞增殖、骨骼生长和蛋白质合成等来刺激组织代谢过程<sup>[12]</sup>。因此,为提高家畜的生产性能,人们对生长激素的研究颇为广泛,而 GH 发挥这些生理作用首先要与靶细胞表面特定的 GHR 结合,由

GHR 介导将信号传递到细胞内从而产生一系列的生理反应<sup>[13]</sup>。GHR 在不同个体、不同组织中的表达量和功能存在差异,这种差异会影响其与 GH 的结合,最终影响 GH 调控作用的正常发挥<sup>[14]</sup>。阎萍等<sup>[15]</sup>利用 PCR-SSCP 技术研究了牦牛品种的遗传变异,发现 *GHR* 基因突变对牦牛生长性能有显著影响。本试验通过 DNA 测序法对牦牛 *GHR* 基因

多态性进行了分析,发现第 9 内含子存在 2 个 SNPs,第 10 外显子存在 1 个 SNP,这 3 个 SNPs 位点均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态,可能是由于错义突变造成的表型变异经过人工选育而造成的结果。其中 g. 732195A>G 位点的多态信息含量为低度多态 ( $PIC < 0.25$ ), g. 732091C>G 和 g. 732373G>A 位点的多态性信息含量为中度多态 ( $0.25 < PIC < 0.50$ ),加之杂合度较低,说明所研究牦牛群体中 *GHR* 基因位点遗传多态丰富性一般,选择潜力较低,而 Hardy-Weinberg 非平衡状态则说明该位点正处于人工选育的压力当中。本研究中,青海高原牦牛 *GHR* 基因 g. 732091C>G 和 g. 732195A>G 位点处于内含子区域,基因的内含子区域序列无编码功能,但该区域可能在基因表达调控中发挥作用。汪琦等<sup>[16]</sup>研究发现,西藏牦牛 *IGF2* 基因内含子 8 的 BB 型在 307 位发生 G→C 转换,335 位发生 A→G 突变;帕里牦牛 BB 基因型个体体质量显著高于 AB、AA 基因型个体 ( $P < 0.05$ )。王丁科等<sup>[17]</sup>研究发现,新疆牦牛内含子 8 处于轻度 Hardy-Weinberg 不平衡状态,*IGF* 基因 AA 和 AB 型个体的体质量较 BB 型个体大 ( $P < 0.01$ )。本研究中,青海高原牦牛 *GHR* 基因第 9 内含子区域上的 2 个 SNPs 均与体质量相关,说明 *GHR* 基因会影响青海高原牦牛的生长发育。张森<sup>[18]</sup>利用 PCR-SSCP 技术在牦牛 *GHR* 基因第 5 外显子上发现 1 对等位基因 A2、B2,该多态位点是由于 147 939 bp 碱基 G→A 突变所形成;等位基因 B2 是大通牦牛、青海高原牦牛、甘南牦牛、天祝牦牛、新疆牦牛等 5 个群体的优势等位基因。王福彬<sup>[19]</sup>通过琼脂糖凝胶电泳对牦牛 *GHR* 基因进行检测,结果发现在阿什旦牦牛群体中,*GHR* 基因 246 bp 缺失变异存在 II、ID 和 DD 3 种基因型,该位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,且群体纯合度较高,杂合度较低,为中度多态;基因多态性与生长性状的相关性分析显示,该位点与 6 月龄阿什旦牦牛的体长性状显著相关 ( $P < 0.05$ ),说明该位点影响牦牛的生长发育。张润峰<sup>[20]</sup>在牦牛 *GHR* 基因第 10 外显子 257 bp 处发现 A→G 突变,该位点属于低度多态位点,符合 Hardy-Weinberg 平衡状态。金鑫燕<sup>[21]</sup>研究发现,泌乳牦牛第 5 外显子 SNP 位点形成 TT、TC 和 CC 3 种基因型,其中 CC 为优势基因型,且 TT 基因型个体的管围极显著高于 TC 和 CC 型 ( $P < 0.01$ ),TC 和 CC 型差异不显著 ( $P > 0.05$ )。海汀等<sup>[22]</sup>研究发现,麦洼牦牛存在 3 个与

管围极显著相关的 SNPs ( $P < 0.01$ ),均有较高的杂合度,等位基因在群体中分布较均匀。金鑫燕<sup>[23-25]</sup>的研究还表明,牦牛 *GHR* 基因第 10 外显子 SNPs 产生的不同基因型间泌乳性状差异不显著,说明这些 SNPs 可能为同义突变。本研究在青海高原型牦牛 *GHR* 基因上发现了 3 个 SNPs 位点,其中纯合基因型的体质量显著高于杂合基因型,这与王福彬<sup>[19]</sup>对阿什旦牦牛 *GHR* 基因的研究结果一致。

目前,基因聚合分析在植物分子育种中应用广泛,由于动物繁殖周期过长、成本较大等原因,基因聚合育种在动物方面,尤其是在反刍动物上进展缓慢<sup>[26]</sup>。王洪才等<sup>[27]</sup>对庄河大骨鸡 *GHR* 基因的研究发现,聚合基因型 GGTT、GGKT 和 GHTT 能显著提高产肉性能的表型值,对产肉性能有显著影响 ( $P < 0.05$ )。于吉英等<sup>[28]</sup>对 *ESR*、*NPY* 基因联合效应的分析表明,聚合基因型 AAAC 的 300 和 400 日龄产蛋数与平均连产时间均最高。张学余等<sup>[29]</sup>对白耳鸡群体 *PRL* 和 *POU1F1* 基因中的 9 种聚合基因型进行了分析,发现聚合基因型 AACCC 的 72 周龄产蛋数显著高于其他 8 组聚合基因型,较 *PRL* 单基因 AA 型的产蛋数提高了 3.76 个,较 *POU1F1* 单基因 CC 型的产蛋数提高了 2.84 个。以上研究均证实,基因聚合育种在动物上是切实可行的,且更有利于家畜的遗传改良。本研究通过聚合基因分析发现,合并基因型 GG-AA-GG 牦牛个体的生长发育,尤其是体斜长表现最佳。

## 4 结 论

本研究通过 DNA 检测技术在青海高原型牦牛 *GHR* 基因上发现了 3 个 SNP 位点,其与牦牛的部分生长性状显著相关。经聚合基因分析发现,GG-AA-GG 为优势合并基因型。因此,在青海高原型牦牛的分子标记辅助育种中,可以将 *GHR* 基因作为牦牛部分生长性状的分子遗传标记加以应用。

## [参考文献]

- [1] 刘 军. 青海高原型牦牛种质资源调查与分析 [J]. 养殖与饲料, 2011(12): 65-67.  
Liu J. Investigation and analysis of germplasm resources of Qinghai plateau yak [J]. Breeding and Feed, 2011(12): 65-67.
- [2] Xiong X R, Li J, Fu M, et al. Oocyte extract improves epigenetic reprogramming of yak fibroblast cells and cloned embryo development [J]. Theriogenology, 2013, 79(3): 462-469.
- [3] Cady G, Landeryou T, Garratt M, et al. Hypothalamic growth hormone receptor (GHR) controls hepatic glucose production

- in nutrient-sensing leptin receptor (LepRb) expressing neurons [J]. *Molecular Metabolism*, 2017, 6(5):393-405.
- [4] 张 森, 阎 萍, 梁春年, 等. 三个牦牛品种生长激素受体 (*GHR*) 基因 PCR-SSCP 分析 [J]. *中国草食动物*, 2008, 28(3): 18-20.
- Zhang S, Yan P, Liang C N, et al. PCR-SSCP analysis on the growth hormone receptor gene in yak [J]. *China Herbivore Science*, 2008, 28(3): 18-20.
- [5] 唐贤飞. *GH* 和 *GHR* 基因对贵州地方黄牛生长性能的影响 [J]. *畜禽业*, 2021, 32(9): 47, 49.
- Tang X F. Effects of *GH* and *GHR* genes on growth performance of Guizhou local yellow cattle [J]. *Livestock and Poultry Industry*, 2021, 32(9): 47, 49.
- [6] Ilkbahar Y N, Wu K, Thordarson G, et al. Expression and distribution of messenger ribonucleic acids for growth hormone (*GH*) receptor and *GH*-binding protein in mice during pregnancy [J]. *Endocrinology*, 1995, 136(2): 386-392.
- [7] Tushima T. Technics of growth hormone receptor assay [J]. *Nihon Rinsho*, 1976, 34(3): 461-465.
- [8] Parmentier I, Portetelle D, Gengler N, et al. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 1999, 17(2/3): 139-148.
- [9] Curi R A, Oliveira H N, Silveira A C, et al. Effects of polymorphic microsatellites in the regulatory region of *IGF1* and *GHR* on growth and carcass traits in beef cattle [J]. *Anim Genet*, 2000, 36(1): 58-62.
- [10] 张 浩. 甘肃肉羊新品种群 *GH*、*GHR* & Leptin 遗传变异及其与体重的相关分析 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010.
- Zhang H. Polymorphisms of *GH*, *GHR* & Leptin genes and their relationship with body weight in the Gansu meat sheep new breed population [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2010.
- [11] 蓝贤勇. 西农萨能奶山羊经济性状的 DNA 分子标记及 5 个山羊品种 DNA 多态性研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
- Lan X Y. Research on DNA molecular marker for economic traits in Xinong Saanen Dairy Goat and polymorphic DNA of five goat breeds [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2004.
- [12] 乌尼尔夫, 芒 来. 动物生长激素的研究现状 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2005(5): 37-39.
- Unerhu, Mang L. Research status of animal growth hormone [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2005(5): 37-39.
- [13] Burton J L, Mcbride B W, Block E, et al. A review of bovine growth hormone [J]. *Can J Anim Sci*, 1994, 74: 167-201.
- [14] 周 玮. *GHR*、*MSTN* 基因多态性与生长性能和屠宰性能的关联性分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- Zhou W. The correlation of polymorphism of *GHR*, *MSTN* genes with the performance of growth and slaughter in White King Pigeon [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.
- [15] 阎 萍, 张 森, 梁春年, 等. 牦牛生长激素基因及其受体基因的 PCR-SSCP 研究 [C]// 中国畜牧兽医学会畜禽遗传标记分会. 第十二次全国畜禽遗传标记研讨会论文集. 江苏南京, 2010: 141.
- Yan P, Zhang S, Liang C N, et al. PCR-SSCP study on growth hormone genes and their receptor genes in yaks [C]// Research Branch of Animal Genetic Markers Chinese Association of Animal and Veterinary Science. Proceedings of the 12th National symposium on genetic marker of livestock and poultry. Nanjing, Jiangsu, 2010: 141.
- [16] 汪 琦, 柴志欣, 钟金城. 西藏牦牛 *IGF2* 基因内含子 8 遗传多态性及其遗传效应分析 [J]. *西南农业学报*, 2016, 29(8): 1998-2003.
- Wang Q, Chai Z X, Zhong J C. Genetic polymorphisms and genetic effects of *IGF2* gene intron 8 in Tibet Yak [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 29(8): 1998-2003.
- [17] 王丁科, 阎 萍, 梁春年, 等. 牦牛 *IGF2* 内含子的遗传多态性及其遗传效应分析 [J]. *华北农学报*, 2009, 24(2): 107-111.
- Wang D K, Yan P, Liang C N, et al. Genetic polymorphisms and genetic effects of *IGF2* gene in yak [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2009, 24(2): 107-111.
- [18] 张 森. 牦牛 *GH* 基因和 *GHR* 基因的多态性及生长发育的性状标记 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2008.
- Zhang S. Polymorphism of yak growth hormone and growth hormone receptor gene and molecular maker of growth development [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2008.
- [19] 王福彬. 牦牛 *GHR* 基因启动子结构与功能研究 [D]. 兰州: 西北民族大学, 2022.
- Wang F B. Study on structure and function of yak *GHR* gene promoter [D]. Lanzhou: Northwest Minzu University, 2022.
- [20] 张润锋. 牛 *MRF* 家族、*MSTN*、*GHRH* 和 *GHR* 基因变异及其与生长性状的相关分析 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- Zhang R F. Genetic variation of *MRF* family, *MSTN*, *GHRH* and *GHR* genes, and their associations with growth traits in Chinese cattle [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2007.
- [21] 金鑫燕. 牦牛生长激素受体基因 exon 5 序列 SNP 多态性分析 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2020, 50(3): 8-11.
- Jin X Y. SNP polymorphism analysis on exon 5 of growth hormone receptor gene of yak [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2020, 50(3): 8-11.
- [22] 海 汀, 柴志欣, 钟金城. 麦洼牦牛 *GH*、*GHR*、*GHSR* 基因的 SNPs 检测及其与体尺性状的关联分析 [J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(4): 605-617.
- Hai T, Chai Z X, Zhong J C. Identification of SNPs in *GH*, *GHR* and *GHSR* genes and their association with body measurement traits in Maiwa Yak [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(4): 605-617.

- responses [J]. *Pediatric Research*, 2004, 56(6): 883-890.
- [27] 王姗姗,沈宜钊,李 妍,等. 柠檬酸对犊牛生长性能、养分表观消化率及血液生化指标的影响 [J]. *中国饲料*, 2022, 11(7): 57-63.
- Wang S S, Shen Y Z, Li Y, et al. Effects of citric acid on growth performance, apparent digestibility of nutrients and blood biochemical indexes of calves [J]. *Chinese Feed*, 2022, 11(7): 57-63.
- [28] Kehoe S I, Jayarao B M, Heinrichs A J. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(9): 4108-4116.
- [29] Sliwa E. 2-Oxoglutaric acid administration diminishes fundectomy-induced osteopenia in pigs [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2010, 94(5): 86-95.
- [30] Zhang X, Zhang L, Chen Z, et al. Exogenous spermine attenuates diabetic kidney injury in rats by inhibiting AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2021, 47(3): 27.

(上接第 15 页)

- [23] 金鑫燕. 牦牛 *GHR* 基因 exon 10-1 序列 SNP 多态性分析 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2020, 50(3): 39-43.
- Jin X Y. SNP polymorphism analysis on exon 10-1 of growth hormone receptor gene of yak [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2020, 50(3): 39-43.
- [24] 金鑫燕. 牦牛 *GHR* exon 10-2 序列 SNP 多态性分析 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2020, 50(4): 29-34.
- Jin X Y. SNP polymorphism analysis on exon 10-2 of growth hormone receptor gene of yak [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2020, 50(4): 29-34.
- [25] 金鑫燕. 牦牛 *GHR* 基因 exon 10 SNP 对乳成分影响的研究 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2021, 51(4): 13-19.
- Jin X Y. Effect of exon 10 SNP polymorphism of *GHR* gene on yak milk composition [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2021, 51(4): 13-19.
- [26] 曹斌云,李 广,安小鹏,等. 奶山羊多羔基因聚合育种研究 [J]. *中国草食动物科学*, 2012(S1): 191-194.
- Cao B Y, Li G, An X P, et al. Study on gene aggregation breeding of dairy goats with multiple lambing [J]. *China Herbivore Science*, 2012(S1): 191-194.
- [27] 王洪才,袁晓春,宋天玉. 庄河大骨鸡 *ghr*、*igf-1* 基因的 PCR-RFLP 分析及基因聚合与产肉性能的关联分析研究 [J]. *中国农学通报*, 2012, 28(23): 1-5.
- Wang H C, Yuan X C, Song T Y. PCR-RFLP analysis on *ghr*, *igf-1* gene and combination effects on meat performance in Zhuanghe Dagu chicken [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(23): 1-5.
- [28] 于吉英,陈宽维,肖小君,等. *ESR*、*NPY* 基因对文昌鸡繁殖性状的遗传效应分析 [J]. *畜牧与兽医*, 2008(4): 49-51.
- Yu J Y, Chen K W, Xiao X J, et al. Genetic effect analysis of *ESR* and *NPY* genes on breeding traits of Wenchang chicken [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2008(4): 49-51.
- [29] 张学余,李国辉,韩 威,等. *PRL* 和 *POU1F1* 基因及基因聚合对白耳鸡产蛋数的效应分析 [J]. *安徽农业大学学报*, 2010, 37(2): 249-252.
- Zhang X Y, Li G H, Han W, et al. Effects of *PRL* and *POU1F1* genes and gene aggregation on egg number of white ear chickens [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2010, 37(2): 249-252.