DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2023.09.008
宋德荣，吴瑛，林如涛，等. 毕节地区 6 个绵羊品种 *FecB* 基因微卫星座位多态性研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版)，2023，45(9)：76-84.

毕节地区 6 个绵羊品种 *FecB* 基因微卫星座位多态性研究

宋德荣[1]，　吴瑛[1]，　林如涛[2]，　单春兰[2]，　马金萍[1]，
孙忠鑫[2]，　熊艳玲[2]，　刘勇庆[2]，　胡飞飞[2]

1. 毕节市畜牧兽医科学研究所，贵州 毕节 551700；2. 贵州大学 动物科学学院，贵阳 550025

摘要：*FecB*(Fecundity Booroola)是羊繁殖性状的主效基因，该文旨在探讨贵州毕节地区 6 个绵羊品种 *FecB* 基因微卫星座位多态性及与湖羊和威宁绵羊杂交品系繁殖性状的相关性. 首先采集 6 个品种绵羊血浆，提取基因组 DNA，选择位于 *FecB* 基因中的 6 个微卫星座位，设计引物，运用聚合酶链式反应扩增微卫星基因序列，以聚丙烯酰胺凝胶电泳-银染技术施以微卫星分型. 比较各组之间 *FecB* 微卫星基因型与等位基因分布，并进行多态性分析. 结果显示：6 对微卫星引物均能在 6 个羊群组中稳定扩增. 微卫星座位 *LSCV043*，*BMS2508*，*300U*，*GC101*，*Bulge5* 和 *471U* 均能检测到 3～6 个等位基因. 其中等位基因 114 bp 在微卫星座位 *LSCV043* 中频率最高；等位基因 162 bp 在微卫星 *BMS2508* 中频率最高；等位基因 164 bp 在微卫星座位 *300U* 中频率最高；等位基因 200 bp 在微卫星座位 *GC101* 中频率；等位基因 136 bp 在微卫星座位 *Bulge5* 中频率最高；等位基因 200 bp 在微卫星座位 *471U* 中频率最高. 多态信息含量(*PIC*)结果显示：*300U*，*GC101* 两个微卫星座位在各组羊群中均属于高度多态水平(*PIC*＞0.5)，而 *471U* 座位在各组羊群中均为中度和低度多态基因座. 微卫星座位 *300U* 在湖羊与威宁绵羊杂交品系中等位基因数为 5 个，其中基因型 148/160 bp 对应的最小二乘平均值最高，达到了 1.81 只；微卫星座位 *GC101* 基因型 200/238 bp 对应的最小二乘平均值最高，达到了 1.74 只，可用于高繁绵羊的初步辅助选择.

关　键　词：绵羊；*FecB*；微卫星；繁殖性状
中图分类号：S826　　**文献标志码**：A
文 章 编 号：1673-9868(2023)09-0076-09
开放科学(资源服务)标识码(OSID)：

Study on Microsatellite Polymorphism of *FecB* Gene of Six Sheep Breeds in Bijie

SONG Derong[1]，　WU Ying[1]，　LIN Rutao[2]，
SHAN Chunlan[2]，　MA Jinping[1]，　SUN Zhongxin[2]，
XIONG Yanling[2]，　LIU Yongqing[2]，　HU Feifei[2]

收稿日期：2023-03-27
基金项目：贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2019]2277 号)；贵州省草食家畜高效养殖人才基地项目(黔人领发[2018]3 号)；贵州省科研机构创新能力建设专项(黔科合服企[2021]12 号)；毕节市科学技术“揭榜挂帅”项目(毕科合重大专项字[2021]2 号)；财政部和农业农村部国家绒毛用羊产业技术体系项目(CARS-39).
作者简介：宋德荣，研究员，主要从事羊遗传育种与繁殖研究.
通信作者：马金萍，高级兽医师.

1. *Bijie Animal Husbandry and Veterinary Research Institute*, *Bijie Guizhou 550017*, *China*;
2. *College of Animal Science*, *Guizhou University*, *Guiyang 550025*, *China*

Abstract: *FecB* is a negative regulator of muscle development. The purpose of this study was to investigate the microsatellite polymorphism of *FecB* gene in six sheep breeds in Bijie, Guizhou, and its correlation with reproductive traits of Hu sheep and Weining sheep hybrids group. Firstly, plasma of six breeds of sheep was collected, genomic DNA was extracted, six microsatellite sites located in *FecB* gene were selected, primers were designed, microsatellite sequences were amplified by polymerase chain reaction, and microsatellite typing was performed by polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining technology. The distribution of *FecB* microsatellite genotype and allele among groups was compared, and the polymorphism was analyzed. The results showed that 6 pairs of microsatellite primers could be stably amplified in 6 sheep groups. A total of 3-6 alleles were detected from *LSCV043*, *BMS2508*, *300U*, *GC101*, *Bulge5* and *471U* microsatellites. The frequency of 114 bp allele was the highest among *LSCV043* microsatellites. The frequency of 162 bp allele was the highest in microsatellite *BMS2508*. The frequency of 164 bp allele was the highest in microsatellite *300U*. The frequency of 200 bp allele was the highest in microsatellite *GC101*. The 136 bp allele has the highest frequency in the microsatellite Bulge5. The frequency of allele 200 bp was the highest in microsatellite *471U*. The results of polymorphism information content (*PIC*) showed that *300U* and *GC101* microsatellite loci were highly polymorphic (*PIC*>0.5) in each group of sheep, while *471U* loci were moderate and low polymorphic loci in each group of sheep. The number of alleles of microsatellite loci *300U* in Hu sheep and Weining sheep hybrid line is 5, among which the least squares mean value corresponding to genotype 148/160 bp is the highest, reaching 1.81. The least-squares mean corresponding to the 200/238 bp genotype of microsatellite loci *GC101* was the highest, reaching 1.74, which can be used for preliminary marker-assisted selection.

Key words: sheep; *FecB*; microsatellite; reproduction trait

贵州省位于我国西南地区，省内绵羊养殖历史悠久[1]，其中绵羊主产区有毕节市威宁县、纳雍县等. 贵州省养殖的绵羊主要为地方品种威宁绵羊、小尾寒羊、湖羊等. 虽品种较多，有适应性能优良、抗逆性强等特点，但大多数地方品种生长速度慢、繁殖能力低，已然成为制约地方绵羊养殖产业发展的重要因素. 因此，对省内地方品种进行改良，培育更加优良的新品系，加快发展肉羊产业，对促进现代畜牧业技术进步、提高农民收入和改善居民肉类消费结构具有重要意义.

微卫星 DNA 是一类广泛分布于真核及原核生物基因组中的短串联重复序列(1～5 bp)，又称为简单重复序列(Short tandem repeats, STRs)或短串联重复序列(Simple sequence repeat, SSR)，约占真核基因组的 5%，多存在于基因编码区附近，也存在于基因组中的间隔区及基因内的外显子、内含子和调控区域. 由于重复单位的重复数量在个体间呈高度变异性且变异数量丰富，因此微卫星座位的应用非常广泛，已经发展成为畜牧业经济动物育种领域中常用的分子标记之一[2]. 王婷等[3]在四川省凉山地区 6 个绵羊群体的遗传多样性研究中，利用 12 个微卫星座位计算绵羊群体的基因频率、有效等位基因数、杂合度及多态信息含量，评估了群体内遗传多样度，进而通过遗传距离聚类图、群体结构推测图、主成分分析及群体间分子方差分析等评估群体间遗传关系. 周建设[4]利用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术，对猪 *BMP7* 外显子及内含子区域的 6 个微卫星座位多态性进行检测，并对它们的遗传变异特性及与猪繁殖性状的相关性进行了分析，发现 STC,STA 与猪繁殖性状密切相关. 这些研究为开展贵州省毕节市羊群体微卫星座位遗传多样性与繁殖性的相关分析提供了参考.

羊 *FecB*(Fecundity Booroola, *FecB*)基因于 1989 年被命名，最明显的生理效应是增加卵巢中的卵泡数量

和排卵数量. 前人研究发现，一个拷贝的 *FecB* 基因可增加母羊排卵数 1.65 个[5]. 在表型上，该基因纯合的 Booroola 母羊(BB 型)平均排卵数能达到 4.65 个，极显著高于对照组[2]. 鉴于 *FecB* 基因的主要遗传效应是增加排卵数，因此国内外学者广泛关注 *FecB* 基因研究. Davis 等[6]在中国湖羊和小尾寒羊两个品种羊基因组中发现 *FecB* 基因突变. 我国学者已对很多地方绵羊品种进行了 *FecB* 检测，发现湖羊、小尾寒羊、多浪羊和中国美利奴羊也存在 *FecB* 基因[7]，同时至少发现 9 个品种存在 *FecB* 突变[8-9].

关于 *FecB* 基因突变与羔羊出生质量之间的关系已有部分研究. 然而关于 *FecB* 微卫星座位及与贵州省毕节市羊群实际产子数的关联分析尚不清楚. 因此，本试验通过检测毕节地区 6 个绵羊品种 *FecB* 基因 6 个微卫星座位的多态性，分析它们在 6 种羊品种中的多态分布情况，并探讨微卫星座位与羊产羔性能的关系，以期为 *FecB* 基因在贵州省毕节市羊品种的分子标记辅助育种中提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 样品

湖羊与威宁绵羊杂交品系(HW)55 头、威宁绵羊(W)30 头、湖羊(HY)30 头、萨福克羊与威宁绵羊杂交品系(SW)20 头、萨福克羊(SFK)30 头、萨福克羊与半细毛羊杂交品系(SB)20 头的血液及耳组织样品采自贵州省毕节市威宁县、赫章县，并记录其年产羔羊数；每只羊无菌采集血液和耳组织样品后低温保存带回实验室，−20 ℃保存备用.

1.1.2 引物设计与合成

根据 GenBank 中的 *FecB* 序列，选择位于绵羊 2 号染色体 *FecB* 区域可能与繁殖性能相关性较大的 6 个微卫星座位(*LSCV043*，*GC101*，*471U*，*Bulge5*，*BMS2508*，*300U*)，引物由上海生工生物工程技术服务公司合成(表 1).

表 1 微卫星引物名称及序列

微卫星座位	引物序列(5'-3')	*Tm* 值/℃
LSCV043	F-CCAGAATATAGAGTTTTGTCAAG	
	R-GCCTGATTTGTATTTGTATGAG	52.5
BMS2508	F-AGGTTGACTTCTGTGTCTTTTC	
	R-GTTTCTTAGGGGAGTGTTGATT	54.0
300U	F-GGGGGTTCCTTGTAGGTTTGTG	
	R-GGAAGTGCAGAGAGTCCCATAC	60.0
GC101	F-ATCCTCACCCTTCAAACAG	50.0
	R-CTGGGGAGTTTTCTCTGAC	
Bulge5	F-CACAAACATTCGGACATGACC	54.5
	R-TGAGGAGGGCACATCCATTG	
471U	F-CTACAATAAATAATGAGGTGAAA	52.0
	R-TGAGTAGAGACAAAGCTATAAA	

1.2 方法

1.2.1 基因组的提取

耳组织 50 mg 或者静脉血 200 μL 用于抽提 DNA，提取方法参照天根血液/组织/细胞 DNA 提取试剂盒说明书进行. 提取样品 DNA 后，TE(Tris 和 EDTA 配置而成)溶解，用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度

计检测 DNA 的纯度和体积质量分数，随后－20 ℃保存备用.

1.2.2　PCR 反应体系

PCR 反应体系为 20 μL，包含 Tiangen PCR mix 2×buffer 10 μL，两侧引物各 0.5 μL，DNA 模板 1 μL，用 ddH_2O 补足 20 μL. PCR 反应程序为：94 ℃预变性 5 min，94 ℃变形 30 s，退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，共计 30 个循环；再延伸 72 ℃ 5 min；4 ℃保存备用.

1.2.3　聚丙烯酰胺凝胶电泳

扩增产物用 8%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，电泳条件：在恒压 220 V，1.0×TBE 缓冲液中电泳 7～10 h，硝酸银染色法显色后，用凝胶成像系统拍照并保存.

1.2.4　微卫星检测方法

将染色后的凝胶用凝胶成像系统复制保存，并利用 Kadak Digitial Science ID Image 分析软件根据标准 PBR322/MspI Maker 计算片段大小.

1.3　统计分析

等位基因频率(Allele frequencies)：微卫星座位呈等显性遗传状态，其等位基因频率根据电泳图谱统计后获得；利用 Cervus 3.0 软件(Cervus 公司)统计 6 个群体不同位点的等位基因数、期望杂合度、观测杂合度和多态信息含量. 利用 SPSS 22.0 软件的线性回归对不同微卫星座位与繁殖性状进行关联分析，初步确定与繁殖性状存在显著差异的位点，$p<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2　结果与分析

2.1　6 个羊品种微卫星多态位点的等位基因及频率分析

6 对微卫星座位引物均能在 6 个羊群组中稳定扩增. 微卫星座位的等位基因片段数量及大小如表 2 所示，其中微卫星座位 *LSCV043* 共检测到 4 个等位基因，片段大小为 114～160 bp；微卫星座位 *BMS2508* 共检测到 6 个等位基因，片段大小为 150～190 bp；微卫星座位 *300U* 共检测到 5 个等位基因，片段大小为 148～178 bp；微卫星座位 *GC101* 共检测到 4 个等位基因，片段大小为 196～238 bp；微卫星座位 *Bulge5* 共检测到 4 个等位基因，片段大小为 136～160 bp；微卫星座位 *471U* 共检测到 3 个等位基因，片段大小为 196～204 bp.

表 2　不同微卫星座位的等位基因

微卫星座位	等位基因数	等位基因片段大小/bp
LSCV043	4	114，120，140，160
BMS2508	6	150，156，162，174，176，190
300U	5	148，160，164，168，178
GC101	4	196，200，210，238
Bulge5	4	136，138，146，160
471U	3	196，200，204

表 3 列出了每个微卫星座位在 6 个群体中的等位基因频率. 所谓优势等位基因，就是指某特定品种在特定的基因座位上相对集中的等位基因，优势等位基因集中可能说明该位点为大多数绵羊所共有，有可能是起源进化最早、最原始的基因. 从表 3 中可以看出，每个位点都占有一定优势的等位基因.

各个微卫星座位等位基因频率在不同绵羊群体中具有明显差异，对 6 个绵羊群体 6 个微卫星座位基因频率的统计结果见表 3. 结果显示，在微卫星座位 *LSCV043* 中，等位基因 114 bp 在 6 个绵羊群体中的频率最高(10.00%～70.00%)，160 bp 出现的频率最低，且仅在萨福克羊及萨福克与半细毛羊杂交品系中出现；在微卫星座位 *BMS2508* 中，等位基因 162 bp 在 6 个绵羊群体中出现的频率最高(16.67%～60%)，156 bp 出现的频率最低，且未能在湖羊与威宁绵羊杂交品系、萨福克与威宁绵羊杂交品系及萨福克羊中

检测到；在微卫星座位 *300U* 中，等位基因 160 bp 在 6 个绵羊群体中的频率最高(41.67%～50.00%)，168 bp 出现的频率最低，且仅在萨福克羊与威宁绵羊杂交品系中检测到；在微卫星座位 *GC101* 中，等位基因 200 bp 在 6 个绵羊群体中的频率最高(10.00%～50.00%)，238 bp 出现的频率最低，且未能在威宁绵羊品系中检测到；在微卫星座位 *Bulge5* 中，等位基因 136 bp 在 6 个绵羊群体中的频率最高(55.00%～63.33%)，146 bp 出现的频率最低，且未能在萨福克羊品系中检测到；在微卫星座位 *471U* 中，等位基因 200 bp 在 6 个绵羊群体中的频率最高(60.00%～90.00%)，196 bp 出现的频率最低，且未能在威宁绵羊和湖羊品系中检测到.

表 3　6 个微卫星座位在 6 个绵羊群体中的等位基因频率

微卫星座位	HW		W		HY		SW		SFK		SB	
	等位基因/bp	频率/%	等位基因/bp	频率/%	等位基因/bp	频率/%	等位基因/bp	频率/%	等位基因/bp	频率/%	等位基因/bp	频率/%
LSCV043	114	23.33	114	15.00	114	10.00	114	58.33	114	70.00	114	50.00
	120	36.67	120	35.00	120	65.00	120	0.00	120	10.00	120	0.00
	140	40.00	140	50.00	140	25.00	140	41.67	140	10.00	140	11.11
	160	0.00	160	0.00	160	0.00	160	0.00	160	10.00	160	38.89
BMS2508	150	30.00	150	20.00	150	25.00	150	8.33	150	0.00	150	0.00
	156	0.00	156	20.00	156	10.00	156	0.00	156	0.00	156	5.56
	162	23.33	162	40.00	162	35.00	162	16.67	162	60.00	162	44.44
	174	30.00	174	5.00	174	15.00	174	8.33	174	0.00	174	11.11
	176	6.67	176	10.00	176	0.00	176	58.33	176	0.00	176	22.22
	190	10.00	190	5.00	190	10.00	190	8.33	190	40.00	190	16.67
300U	148	6.67	148	15.00	148	10.00	148	8.33	148	30.00	148	16.67
	160	46.67	160	50.00	160	50.00	160	41.67	160	50.00	160	44.44
	164	16.67	164	20.00	164	10.00	164	16.67	164	20.00	164	33.33
	168	0.00	168	0.00	168	0.00	168	8.33	168	0.00	168	0.00
	178	20.00	178	15.00	178	30.00	178	25.00	178	0.00	178	5.56
GC101	196	33.33	196	45.00	196	40.00	196	16.67	196	20.00	196	16.67
	200	16.77	200	35.00	200	10.00	200	50.00	200	30.00	200	33.33
	210	36.77	210	20.00	210	35.00	210	00.00	210	10.00	210	33.33
	238	13.33	238	0.00	238	15.00	238	33.33	238	40.00	238	16.67
Bulge5	136	63.33	136	65.00	136	55.00	136	58.33	136	60.00	136	55.56
	138	23.33	138	25.00	138	20.00	138	16.77	138	0.00	138	0.00
	146	3.33	146	05.00	146	10.00	146	8.33	146	0.00	146	16.67
	160	10.00	160	05.00	160	15.00	160	16.77	160	40.00	160	27.78
471U	196	3.33	196	0.00	196	0.00	196	8.33	196	10.00	196	11.11
	200	73.33	200	65.00	200	60.00	200	75.00	200	90.00	200	66.67
	204	23.33	204	35.00	204	40.00	204	16.67	204	0.00	204	22.22

2.2　6 个羊群组微卫星预期杂合度值(*He*)、有效等位基因数(*Ne*)和多态信息含量(*PIC*)

6 个微卫星座位的遗传指标见表 4、表 5、表 6. 微卫星座位在群体内多态性信息含量有一定的差异，各群体有效等位基因数(*Ne*)的范围在 1.7～4.01 之间，其中湖羊与威宁绵羊杂交品系在微卫星座位

BMS2508 有最高的有效等位基因数量(4.017 9)；萨福克羊在微卫星座位 *471U* 有最低的有效等位基因数量(1.219 5)，表明贵州省毕节市绵羊群体存在等位基因差异，但差异并不明显.

6 个微卫星位点的香农指数如表 5 所示，其数值越大表明群体间多样性越高. 微卫星座位 *BMS2508* 在湖羊品系中最高(1.608 9)，*LSCV043* 座位在湖羊与威宁绵羊杂交品系中多态性更好(1.074 0)，*300U* 座位在萨福克羊与威宁绵羊杂交品系中最高(1.424 1)，*GC101* 座位在萨福克羊与半细毛羊杂交品系中最高(1.329 7). *Bulge5* 座位在湖羊品系中最高(1.165 5)，*471U* 座位在萨福克羊与半细毛羊杂交品系中最高(0.848 7)，该结果进一步提示各羊群品系在 6 个微卫星座位间存在多态性差异.

表 4　6 个微卫星座位在 6 个羊群体中的有效等位基因数(*Ne*)

微卫星座位	HW	W	HY	SW	SFK	SB
LSCV043	2.866 2	2.531 6	2.020 2	1.945 9	1.923 1	2.417 9
BMS2508	4.017 9	3.921 6	4.347 8	2.571 4	1.923 1	3.446 8
300U	3.333 3	2.985 1	2.777 8	3.600 0	2.631 6	2.945 5
GC101	3.435 1	2.739 7	3.174 6	2.571 4	3.333 3	3.600 0
Bulge5	2.142 9	2.040 8	2.666 7	2.482 8	1.923 1	2.417 9
471U	1.685 4	1.834 9	1.923 1	1.674 4	1.219 5	1.975 6

表 5　6 个微卫星座位在 6 个羊群体中的香农指数

微卫星座位	HW	W	HY	SW	SFK	SB
LSCV043	1.074 0	0.998 6	0.856 8	0.679 2	0.940 4	0.958 0
BMS2508	1.472 7	1.540 1	1.608 9	1.234 3	0.673 0	1.398 0
300U	1.387 0	1.237 6	1.168 3	1.424 1	1.029 7	1.185 8
GC101	1.301 4	1.048 7	1.248 8	1.011 4	1.279 9	1.329 7
Bulge5	0.972 5	0.926 2	1.165 5	1.118 7	0.673 0	0.980 1
471U	0.680 4	0.647 4	0.673 0	0.721 5	0.325 1	0.848 7

6 个微卫星座位的预期杂合度值(*He*)如表 6 所示，*LSCV043* 座位在湖羊与威宁绵羊杂交品系中期最高(0.651 1)，在萨福克羊品系中最低(0.48)；*BMS2508* 座位在湖羊品系中最高(0.77)，在萨福克羊品系中最低(0.48)；*300U* 座位在萨福克和威宁绵羊杂交品系中最高(0.722 2)，在萨福克羊品系中最低(0.62)；*GC101* 座位在萨福克与半细毛羊杂交品系中最高(0.722 2)，在萨福克羊与威宁绵羊杂交品系中最低(0.611 1)；*Bulge5* 座位在湖羊品系中最高(0.625)，在萨福克羊品系中最低(0.48)；*471U* 座位在萨福克羊与半细毛羊品系中最高(0.493 8)，在萨福克羊品系中最低(0.18). 表 6 结果提示贵州地方品种及杂交后代遗传多态性较高，而萨福克羊的遗传多态性较低，基因保守型较好.

表 6　6 个微卫星座位在 6 个羊群体中的预期杂合度值(*He*)

微卫星座位	HW	W	HY	SW	SFK	SB
LSCV043	0.651 1	0.605 0	0.505 0	0.486 1	0.480 0	0.586 4
BMS2508	0.751 1	0.745 0	0.770 0	0.611 1	0.480 0	0.709 9
300U	0.700 0	0.665 0	0.640 0	0.722 2	0.620 0	0.660 5
GC101	0.708 9	0.635 0	0.685 0	0.611 1	0.700 0	0.722 2
Bulge5	0.533 3	0.510 0	0.625 0	0.597 2	0.480 0	0.586 4
471U	0.406 7	0.455 0	0.480 0	0.402 8	0.180 0	0.493 8

用多态信息含量(*PIC*)可以描述微卫星座位的变异程度. 当 $PIC>0.5$ 时为高度多态基因座位; $0.25<PIC\leqslant 0.5$ 时为中度多态基因座位; $PIC\leqslant 0.25$ 时为低度多态基因座位. 由表7可知, *300U*, *GC101* 两个微卫星座位在各组羊群中均属于高度多态水平($PIC>0.5$); *BMS2508* 座位在除萨福克品系的其他品系中, 均属于高度多态水平($PIC>0.5$); *LSCV043* 座位在各组羊群中均属于中度多态基因座位($0.25<PIC\leqslant 0.5$); *Bulge5* 座位仅在湖羊和萨福克与威宁绵羊杂交品系中为高度多态基因座位($PIC>0.5$); *471U* 座位在各组羊群中均为中度和低度多态基因座位.

表7 6个微卫星座位在6个羊群体中的多态信息含量(*PIC*)

微卫星座位	HW	W	HY	SW	SFK	SB
LSCV043	0.576	0.527	0.442	0.368	0.450	0.501
BMS2508	0.708	0.709	0.737	0.577	0.365	0.668
300U	0.660	0.618	0.581	0.680	0.548	0.597
GC101	0.656	0.559	0.627	0.535	0.645	0.671
Bulge5	0.480	0.452	0.578	0.552	0.365	0.517
471U	0.337	0.351	0.424	0.363	0.164	0.438

2.3 6个羊群遗传距离分析

遗传距离是指两个群体间的遗传差异(基因组差异), 但也常用等位基因频率的函数来度量遗传差异. 从表8中可知, 湖羊和威宁绵羊杂交品系与湖羊、威宁绵羊遗传距离较近, 分别为0.908 8和0.923 5; 萨福克羊、半细毛羊与湖羊、湖羊和威宁绵羊杂交品系及威宁绵羊等遗传距离较远.

表8 6个种群标准遗传距离结果(*Nei*)

种群	HW	W	HY	SW	SFK	SB
HW	* * * *	0.908 8	0.923 5	0.822 4	0.793 9	0.791 4
W	0.095 7	* * * *	0.904 4	0.801 2	0.780 0	0.823 1
HY	0.079 6	0.100 5	* * * *	0.739 2	0.772 2	0.742 0
SW	0.195 5	0.221 6	0.302 2	* * * *	0.827 1	0.823 4
SKF	0.230 8	0.248 4	0.258 5	0.189 9	* * * *	0.870 6
SB	0.233 9	0.194 7	0.298 5	0.194 3	0.138 5	* * * *

2.4 微卫星座位 *300U*,*GC101* 的不同基因型与湖羊和威宁绵羊杂交品系(HW)产羔羊数的关系

微卫星座位 *300U* 各基因型与湖羊和威宁绵羊杂交品系(HW)产羔羊数的最小二乘平均值±标准误见表9. 从表9中可以看出, 基因型148/160 bp对应的最小二乘平均值最高, 达到了1.81只, 且与其他基因型差异显著($p<0.05$), 其次是160/164 bp, 也达到了1.53只, 而基因型160/168 bp对应的最小二乘平均值最低, 为1.17只($p<0.05$). 从表10中可以看出, 微卫生座位 *GC101* 基因型200/238 bp对应的最小二乘平均值最高, 达到了1.74只, 显著高于196/196 bp、210/238 bp和200/210 bp($p<0.05$), 其次是196/210 bp, 也达到了1.55只, 而基因型200/210 bp对应的最小二乘平均值最低, 为1.27只($p<0.05$).

表9 HW微卫星座位 *300U* 各基因型与产羔羊数的最小二乘平均值

基因型	个体数	最小二乘平均值±标准误
148/160	8	1.81±0.13a
160/164	20	1.53±0.12b
160/168	4	1.17±0.09d
160/178	24	1.24±0.09c
168/168	4	1.31±0.11bc

注: 不同小写字母表示 $p<0.05$ 水平差异具有统计学意义. 下同.

表 10　HW 微卫星座位 *GC101* 各基因型与产羔羊数的最小二乘平均值

基因型	个体数	最小二乘平均值±标准误
196/196	4	1.31±0.09c
196/210	32	1.55±0.11ab
200/210	8	1.27±0.09c
200/238	11	1.74±0.13a
210/238	5	1.37±0.13b

3　讨论

微卫星 DNA 广泛分布于真核生物基因组中，具有随机性、呈共显性遗传、遵循孟德尔遗传规律的特点. 同一个体不同年龄段、不同组织器官、皮肤、毛发等产生的 DNA 指纹图完全一致，微卫星等位基因的差异主要来自核心区重复单位数目的变化[10]. 本研究涉及的贵州省毕节市 6 个品种绵羊共检测到 13 个微卫星等位基因和 40 种基因型，其中 *BMS2508* 座位、*LSCV043* 座位、*Bulge5* 座位均为中度或高度多态位点，而 *471U* 座位在各组羊群中均为中度和低度多态基因座位，提示 *BMS2508* 座位、*LSCV043* 座位、*Bulge5* 座位可作为筛选羊群基因型的潜在分子标记. 群体多态信息含量(*PIC*)和预期杂合度值(*He*)都能反映群体内个体遗传变异的程度，数值高说明遗传变异大，反之则群体内的遗传变异小. 在本研究的 6 个绵羊群体中湖羊与威宁绵羊、萨福克与半细毛羊杂交品系的多态信息含量(*PIC*)、预期杂合度值(*H*e)较高，而湖羊、威宁绵羊、萨福克羊品系相对较低，说明贵州省毕节市杂交羊群较本地纯种威宁绵羊的遗传变异大. 近年来，不断有研究者通过杂交选育手段将 *FecB* 基因导入繁殖能力较低的羊群中，以提高经济效益. 王伟霞等[11]以不含有 *FecB* 基因的美利奴羊为父本，以小尾寒羊公羊与东北细毛羊母羊杂交品系为母本进行杂交，结果发现 *FecB* 基因对提升后代的产羔性能发挥重要作用. 张也等[12]以白头杜泊羊为父本，以湖羊为母本进行杂交，结果表明 *FecB* 基因对杜湖杂交品系后代母羊的产羔率有影响. 综上所述，*FecB* 基因总体上对绵羊繁殖性能产生良性影响.

FecB 基因是绵羊高繁殖力的一个主效基因，1993 年 Montgomery 等[13]首先报道 *FecB* 基因与微卫星基因座位 *OarAE101* 和 *OarHH55* 紧密连锁，遗传距离分别为 13 cM 和 20 cM. 等位基因数是群体遗传多样性分析的重要参数之一，其数量与样本含量和研究涉及的座位数有关. 在基因座位数相同的条件下，样本量越大，可检测到的等位基因数越多. 张林等[14]报道，*LSCV043* 微卫星座位 98 bp 等位基因与小尾寒羊 *FecB* 基因 B 等位基因之间存在一定的连锁不平衡关系，证明其是与小尾寒羊多羔主效基因紧密连锁的一个遗传标记. 吴舒洁等[15]报道，小尾寒羊 *FecB* 基因 B 等位基因与 *471U* 微卫星座位 200 bp 等位基因之间存在一定的连锁不平衡关系. 本研究开展了贵州省毕节市 *FecB* 基因微卫星座位多态性和繁殖性状统计，并就二者的相关性进行了分析. 研究发现，微卫星座位 *300U* 在湖羊与威宁绵羊杂交品系中等位基因数为 5 个，其中基因型 148/160 bp 对应的最小二乘平均值最高，达到了 1.81 只；微卫星座位 *GC101* 基因型 200/238 bp 对应的最小二乘平均值最高，达到了 1.74 只，可用于初步辅助选择，但这部分基因型个体在群体中的比例并不高，同时产羔羊数在一定程度上还受到环境、营养状况和饲养管理水平的影响. 因此，微卫星座位 *300U* 和 *GC101* 作为湖羊与威宁绵羊杂交品系繁殖力的分子标记，尚需要扩大样本进一步研究.

4　结论

本研究检测了 6 种绵羊群体中 *FecB* 基因上 6 个微卫星座位的多态性，*300U* 和 *GC101* 可作为筛选羊

群繁殖性状的分子标记，其中微卫星座位 *300U* 基因型 148/160 bp，微卫星座位 *GC101* 基因型 200/238 bp 与湖羊和威宁绵羊杂交品系产羔羊数的关联性最强，提示其可作为筛选羊群繁殖力的分子标记.

参考文献：

[1] 王元素，李莉，孔玲. 贵州草地绵羊产业发展研究 [J]. 贵州畜牧兽医，2013，37(6)：11-13.

[2] 罗文永，胡骏，李晓方. 微卫星序列及其应用 [J]. 遗传，2003，25(5)：615-619.

[3] 王婷，吴登俊. 微卫星分子标记分析四川绵羊群体遗传多样性 [J]. 中国畜牧杂志，2018，54(4)：36-41.

[4] 周建设. 猪 BMP7 基因外显子和内含子多态性检测及其与繁殖性状关系的研究 [D]. 郑州：河南农业大学，2011.

[5] 陈晓勇，敦伟涛，田树军，等. *FecB* 基因对绵羊生产性能影响的研究进展 [J]. 中国草食动物科学，2012，32(4)：59-65.

[6] DAVIS G H，BALAKRISHNAN L，ROSS I K，et al. Investigation of the Booroola (*FecB*) and Inverdale ($FecX^I$) Mutations in 21 Prolific Breeds and Strains of Sheep Sampled in 13 Countries [J]. Animal Reproduction Science，2006，92(1/2)：87-96.

[7] HUA G H，YANG L G. A Review of Research Progress of *FecB* Gene in Chinese Breeds of Sheep [J]. Animal Reproduction Science，2009，116(1/2)：1-9.

[8] 潘章源，狄冉，刘秋月，等. 绵羊多羔主效基因 BMPR1B 的研究进展 [J]. 家畜生态学报，2015，36(5)：1-6.

[9] 孙红霞，田秀娥，王永军. BMPR-IB、BMP15 和 GDF9 基因作为滩羊繁殖性状主效候选基因的研究 [J]. 西北农业学报，2009，18(5)：17-21，70.

[10] 成述儒，王华，樊庆山，等. 甘肃高山细毛羊 DRB1 基因内含子 2 微卫星多态性与生长速度的关联分析 [J]. 浙江农业学报，2016，28(12)：2021-2027.

[11] 王伟霞，佟桂芝，刘学峰，等. 多胎基因 *FecB* 对德×寒×细三元杂交羊产羔性能的影响 [J]. 畜牧与饲料科学，2020，41(4)：32-35，59.

[12] 张也，艾日夏提·地里夏提，刘志强，等. *FecB* 基因对杜泊羊和湖羊杂交后代产羔率与生长性能的影响 [J]. 中国草食动物科学，2021，41(2)：69-72.

[13] MONTGOMERY G W，CRAWFORD A M，PENTY J M，et al. The Ovine Booroola Fecundity Gene (*FecB*) is Linked to Markers from a Region of Human Chromosome 4q [J]. Nature Genetics，1993，4(4)：410-414.

[14] 张林，李春苗，储明星，等. 小尾寒羊微卫星座位 LSCV043 与 *FecB* 基因的连锁分析 [J]. 农业生物技术学报，2009，17(4)：621-628.

[15] 吴舒洁，张宝云，储明星，等. 绵羊微卫星 471U 和 *FecB* 基因多态性及连锁分析 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版)，2014，35(2)：38-43.

[16] PIPER L R，BINDON B M，DAVIS G H. The Single Gene Inheritance of the High Litter Size of the Booroola Merino [M]//Genetics of Reproduction in Sheep. Amsterdam：Elsevier，1985.

责任编辑 夏娟