

山羊 *ESR1* · *TENM1* 和 *THEM4* 多态性及其与繁殖性状相关性研究李昆谕^{1,2}, 刘玉芳², 陶林³, 江炎庭¹, 欧阳依娜¹, 储明星^{3*}, 洪琼花¹

(1. 云南省畜牧兽医科学院, 云南昆明 650224; 2. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北邯郸 056001; 3. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所/农业农村部动物遗传育种与繁殖重点实验室, 北京 100193)

摘要 [目的]分析 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 单核苷酸多态性(SNPs)与山羊繁殖性状的相关性。[方法]采用 MassARRAY®SNP 分型技术对 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* SNPs 位点进行分型,检测其在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊 3 个群体中的遗传学特征,并对其多态性与山羊繁殖性状(产羔数、初生窝重、断奶窝重)进行相关性分析。[结果]群体遗传学分析结果表明, *ESR1* g. 76097125C>T 位点在济宁青山羊和辽宁绒山羊中为低度多态(PIC<0.25),在云上黑山羊中为中度多态(0.25<PIC<0.50); *ESR1* g. 76139051A>G 在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊中为中度多态(0.25<PIC<0.50)。 *TENM1* g. 17333655C>T 和 g. 17372494A>G 位点在 3 个山羊群体中表现为低度多态(PIC<0.25); *TENM1* g. 17236451G>C 和 g. 17586866T>C 位点在 3 个山羊群体中的多态性(PIC)为 0.05~0.36。 *THEM4* g. 101275605G>A 位点在 3 个山羊群体中为低度多态(PIC<0.25)。卡方检验结果表明, *ESR1* g. 76139051A>G、*THEM4* g. 101275605G>A 位点在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊中处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P>0.05$)。相关分析结果表明, *ESR1* g. 76097125C>T 位点 CT 和 TT 型山羊的初生窝重显著高于 CC 型($P<0.05$); *TENM1* g. 17236451G>C 位点 GC 型山羊的产羔数和断奶窝重显著高于 GG 型($P<0.05$), g. 17333655C>T 位点 CC 型山羊产羔数显著高于 CT 型($P<0.05$); 其余位点多态性与云上黑山羊产羔数、初生窝重和断奶窝重无显著相关($P>0.05$)。[结论] *TENM1* g. 17236451G>C 位点可作为云上黑山羊产羔数和断奶窝重选择的潜在分子标记; *TENM1* g. 17333655C>T 位点可作为云上黑山羊产羔数选择的潜在分子标记; *ESR1* g. 76097125C>T 位点可作为云上黑山羊初生窝重选择的潜在分子标记。该研究结果可为山羊分子育种和标记辅助选择提供理论基础。

关键词 山羊; SNPs; 繁殖性状; *ESR1*; *TENM1*; *THEM4*

中图分类号 S827 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)01-0079-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.01.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Study on the Polymorphism of *ESR1*, *TENM1* and *THEM4* and Their Correlation with the Reproductive Traits of Goats**

LI Kun-yu^{1,2}, LIU Yu-fang², TAO Lin³ et al (1. Yunnan Academy of Animal Husbandry and Veterinary Sciences, Kunming, Yunnan 650224; 2. School of Life Sciences and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056001; 3. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction of Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

Abstract [Objective] To analyze correlation between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *ESR1*, *TENM1* and *THEM4* and the reproductive traits of goats. [Method] SNPs loci of *ESR1*, *TENM1* and *THEM4* were typed by using MassARRAY®SNP typing technology, and their genetic characteristics in three populations (Yunshang Black Goat, Jining Grey Goat and Liaoning Cashmere Goat) were detected. The correlation between their polymorphism and the reproductive traits (litter size, litter weight at birth, litter weight at weaning) of goats were analyzed. [Result] The population genetic results showed that *ESR1* g. 76097125C>T locus was low polymorphic (PIC<0.25) in Jining Grey Goat and Liaoning Cashmere Goat, and it was moderately polymorphic (0.25<PIC<0.50) in Yunshang Black Goat. *ESR1* g. 76139051A>G was moderately polymorphic (0.25<PIC<0.50) in Yunshang Black Goat, Jining Grey Goat and Liaoning Cashmere Goat. *TENM1* g. 17333655C>T and g. 17372494A>G loci were low polymorphic (PIC<0.25) in the three goat populations. The polymorphism of *TENM1* g. 17236451G>C and g. 17586866T>C loci was 0.05-0.36 in the three goat populations. *THEM4* g. 101275605G>A locus was low polymorphic (PIC<0.25) in the three goat populations. The chi-square test showed that *ESR1* g. 76139051A>G and *THEM4* g. 101275605G>A loci were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$) in Yunshang Black Goat, Jining Grey Goat and Liaoning Cashmere Goat. The results of correlation analysis showed that the litter weight at birth of the goats with CT and TT genotypes in *ESR1* g. 76097125C>T locus was significantly higher than that with CC genotype ($P<0.05$). The litter size and litter weight at weaning of the goats with GC genotype in *TENM1* g. 17236451G>C locus were significantly higher than those with GG genotype ($P<0.05$), the litter size of the goats with CC genotype in g. 17333655C>T locus was significantly higher than that with CT genotype ($P<0.05$). The polymorphism of the other loci had no significant correlation with the litter size, litter weight at birth, litter weight at weaning in Yunshang Black Goat ($P>0.05$). [Conclusion] *TENM1* g. 17236451G>C locus could be used as a potential molecular marker for selecting the litter size and litter weight at weaning in Yunshang Black Goat. *TENM1* g. 17333655C>T locus could be used as a potential molecular marker for the selection of the litter size in Yunshang Black Goat. *ESR1* g. 76097125C>T locus could be used as a potential molecular marker for selecting the litter weight at birth in Yunshang Black Goat. The results of this study could provide the theoretical basis for the molecular breeding and marker-assisted selection in goats.

Key words Goat; SNPs; Reproductive traits; *ESR1*; *TENM1*; *THEM4*

产羔性状对于山羊的生产尤其重要,而提高单胎产羔数

是提高产羔性状最主要的途径。山羊产羔数是一个极其复杂的性状,且产羔性状遗传力较低(约为 0.1),因此如何快速提高山羊产羔数是养羊业一个亟待解决的难题。与传统育种手段相比,分子遗传育种具有准确度高、可操作性强、育种成本低等优点,能更加高效、快速地对山羊产羔性状进行改良。利用分子标记技术有利于高繁殖力山羊的筛选,从而加快育种进程,可为山羊的选育工作提供更多便利^[1]。*ESR1* (estrogen receptor 1) 基因定位于 9 号染色体,拥有 12 个外显

基金项目 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-38); 云南省重大科技专项计划项目(202102AE090039); 云南省万人计划——产业技术领军人才项目; 中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ZDRW202106, ASTIP-IAS13); 河北省自然科学基金青年项目(C2019402293)。

作者简介 李昆谕(1996—),男,甘肃定西人,硕士研究生,研究方向:动物遗传育种。*通信作者,研究员,博士,博士生导师,从事羊优异繁殖性状分子机理研究。

收稿日期 2021-11-29

子。雌激素受体 α 由 *ESR1* 编码,通过与靶基因上的特异性效应元件结合,从而调节靶基因的表达^[2]。雌激素受体 α 为雌激素的受体,与雌激素结合后,对胚胎、乳腺和雌性繁殖周期中卵泡的生长发育都发挥着重要作用^[3]。研究表明,*ESR* 基因是调控猪高产仔数的主效基因之一^[4]。Tao 等^[5]通过 GWAS、ROH 分析和选择特征检测发现 *ESR1* 是参与山羊卵巢功能的一个重要候选基因。*TENM1* 和 *THEM4* 基因分别定位于山羊 X 号和 3 号染色体,分别拥有 35 个和 6 个外显子。Lai 等^[6]通过对奶山羊进行全基因组测序发现 *THEM4* 在高繁殖力组中被特异性选择,*TENM1* 在低繁殖力组中被特异性选择。*TENM1* 属于 *Tenn/Odz* 基因家族。研究表明,Ten-M 参与胚胎早期发育的调节,并在神经系统发育后期发挥作用^[7-8]。

该研究所用候选基因来自实验室前期重测序数据,通过 GWAS 分析(显著性阈值为 0.05)所得的在云上黑山羊(云上黑山羊是以云岭山羊为母本、努比山羊为父本培育而成的我国第一个肉用黑山羊品种^[9-10])全基因组中的正选择基因(positively selected genes,PSG)。结合文献资料推测 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 可能对山羊繁殖性状有一定的影响,在前期数据中筛选出与产羔数相关的 7 个 SNPs 位点,其中 *ESR1* 为 g.76097125C>T 和 g.76139051A>G 位点,*TENM1* 为 g.17236451G>C、g.17333655C>T、g.17372494A>G 和 g.17586866T>C,*THEM4* 为 g.101275605G>A 位点。采用 MassARRAY®SNP 分型技术,在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊群体中对候选基因的基因型进行检测。MassARRAY®SNP 分型技术是 Agena 公司推出的一个基因分析工具,通过引物延伸或切割反应与灵敏、可靠的 MALDITOF 质谱技术相结合,实现基因分型检测,实验设计非常灵活,分型结果准

确性高^[11]。分型后分析其多态性与山羊繁殖性状的相关性,以期山羊的高繁殖力分子标记辅助选择育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验样品 试验用山羊饲养条件和生长环境一致,年龄 2~5 岁,共采集 768 只山羊(云上黑山羊 544 只、济宁青山羊 133 只、辽宁绒山羊 91 只)的血液。该试验将济宁青山羊视为高繁殖力群体,将辽宁绒山羊视为低繁殖力群体^[9-10]。云上黑山羊有至少 1 胎产羔记录,部分有初生窝重和断奶窝重(3 月龄)记录。所有山羊均采用颈静脉采血(10 mL/只),使用 EDTA-K₂ 抗凝,-20 °C 下保存。试验山羊品种及其采样信息见表 1。

表 1 试验山羊品种及其采样信息

Table 1 The breeds of test goats and their sampling information

品种 Breed	采样地点 Sampling site	样本量 Sample size/只
云上黑山羊 Yunshang Black Goat (YS)	云南红河哈尼族彝族自治州	544
济宁青山羊 Jining Grey Goat (JN)	农业农村部济宁青山羊保种基地(山东省嘉祥县)	133
辽宁绒山羊 Liaoning Cashmere Goat (LN)	辽宁绒山羊育种中心(辽宁省辽阳市)	91

1.2 血液 DNA 的提取 使用酚氯仿法提取基因组 DNA,采用 Nano Drop2000 检测 DNA 样本浓度,利用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

1.3 基因分型 采用 Sequenom MassARRAY®SNP 分型技术对 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 基因突变位点进行检测,相关引物信息见表 2。

表 2 引物序列

Table 2 Sequences of the primers

序号 No.	位点 Loci	引物序列 Sequences of the primers(5'—3')
1	<i>ESR1</i> g.76097125C>T	F 为 ACGTTGGATGGCAAGAACAACAACTATTACC, R 为 ACGTTGGATGACTTGGCCGATGATGTTGTC
2	<i>ESR1</i> g.76139051A>G	F 为 ACGTTGGATGGCAAGAACAACAACTATTACC, R 为 ACGTTGGATGAAATGGTCCATCCCTTGTCC
3	<i>TENM1</i> g.17236451G>C	F 为 ACGTTGGATGTAATCTCTGACGTGCTGTGG, R 为 ACGTTGGATGCTGGACAGCACCTACAGTTC
4	<i>TENM1</i> g.17333655C>T	F 为 ACGTTGGATGTCGTGGCTATTCACTGAAG, R 为 ACGTTGGATGTGATCAGTGCCTGCCCCTTTG
5	<i>TENM1</i> g.17372494A>G	F 为 ACGTTGGATGAACCACTTCTGTGAGTCCG, R 为 ACGTTGGATGCGGATCCCTTCTAACACATTC
6	<i>TENM1</i> g.17586866T>C	F 为 ACGTTGGATGCCAACCACTAGACACATGAC, R 为 ACGTTGGATGGACTGCTTAGACCCCATGTG
7	<i>THEM4</i> g.101275605G>A	F 为 ACGTTGGATGTTTAGGAAGTCCGGGTTAG, R 为 ACGTTGGATGGAAGAAGCAGTTGTCTCCAG

1.4 数据统计与分析 使用 Microsoft Excel 2021 软件统计山羊 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 突变位点的基因型频率、等位基因频率、多态信息含量(PIC)、杂合度(H_e)和有效等位基因数(N_e),并进行 Hardy-Weinberg 平衡检验。使用 SPSS 25 软件进行单因素方差分析,采用 Tukey 法进行多重比较,对

山羊基因型与产羔表型数据进行相关性分析。试验数据均以平均值±标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 *ESR1* 多态性分析 利用 Sequenom MassARRAY®SNP 对 768 只山羊血液 DNA 进行基因分型。结果显示,*ESR1*

g. 76097125C>T 和 *g.* 76139051A>G 位点在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊中存在多态性,其中 *g.* 76097125C>T 位

点基因型为 CC、CT、TT 型,*g.* 76139051A>G 位点基因型为 AA、AG、GG 型(图 1)。

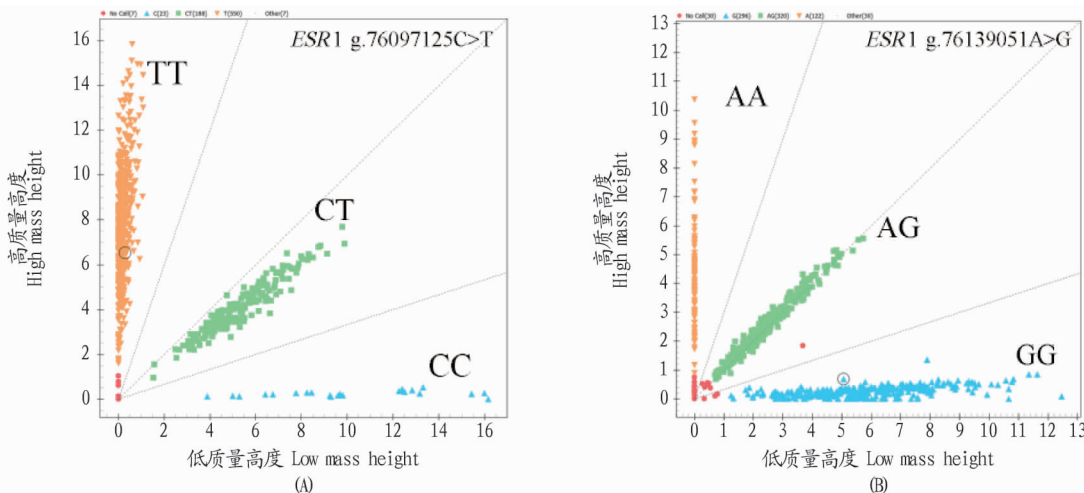


图 1 *ESR1* 位点分型结果

Fig. 1 The locus typing results of *ESR1* gene

统计济宁青山羊(高繁)和辽宁绒山羊(低繁)中 *ESR1* 2 个位点的基因型频率和基因频率,结果见表 3~4。*ESR1 g.* 76097125C>T 位点的基因型频率和基因频率在高繁山羊和低繁山羊群体之间差异极显著($P < 0.01$)。*g.* 76097125C>T 位点在高繁群体和低繁群体的优势基因型为 CC,优势等位基因为 C;*g.* 76139051A>G 位点的基因型频率和基因频率在

高繁山羊和低繁山羊群体之间差异不显著($P > 0.05$)。

表 4 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 7 个多态位点在高繁、低繁山羊品种中的基因频率

Table 4 The allele frequency of 7 polymorphic loci of *ESR1*, *TENM1* and *THEM4* genes in high-fecundity and low-fecundity goat breeds

表 3 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 7 个多态位点在高繁、低繁山羊品种中的基因型频率

位点 Loci	基因型 Genotype	基因型频率 Genotype frequency		P 值 P value
		高繁殖 力群体 High fertility population	低繁殖 力群体 Low fertility population	
		<i>ESR1 g.</i> 76097125C>T	CC	
<i>ESR1 g.</i> 76139051A>G	CT	0.05	0.23	0.57
	TT	0.01	0.01	
	AA	0.38	0.32	
<i>TENM1 g.</i> 17236451G>C	AG	0.44	0.52	0.19
	GG	0.18	0.16	
	CG	0.96	0.89	
<i>TENM1 g.</i> 17333655C>T	GC	0.03	0.10	0.42
	CC	0.01	0.01	
	CC	0.77	0.77	
<i>TENM1 g.</i> 17372494A>G	CT	0.16	0.20	0.04
	TT	0.07	0.03	
	AA	0	0.05	
<i>TENM1 g.</i> 17586866T>C	AG	0	0.02	0.04
	GG	1.00	0.93	
	TT	0.59	0.40	
<i>THEM4 g.</i> 101275605G>A	TC	0.28	0.40	0.04
	CC	0.13	0.20	
	CG	0.91	0.98	
	GA	0.09	0.02	0.04
	AA	0	0	

位点 Loci	等位 基因 Allele	基因频率 Gene frequency		P 值
		高繁殖 力群体 High fertility population	低繁殖 力群体 Low fertility population	
<i>ESR1 g.</i> 76097125C>T	C	0.96	0.88	1.76×10^{-5}
	T	0.04	0.12	
<i>ESR1 g.</i> 76139051A>G	A	0.60	0.58	0.78
	G	0.40	0.42	
<i>TENM1 g.</i> 17236451G>C	G	0.98	0.94	0.57
	C	0.02	0.06	
<i>TENM1 g.</i> 17333655C>T	C	0.85	0.87	0.70
	T	0.15	0.13	
<i>TENM1 g.</i> 17372494A>G	A	0	0.06	8.51×10^{-5}
	G	1.00	0.94	
<i>TENM1 g.</i> 17586866T>C	T	0.73	0.60	0.01
	C	0.27	0.40	
<i>THEM4 g.</i> 101275605G>A	G	0.96	0.99	0.04
	A	0.04	0.01	

注: $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。
Note: $P < 0.05$ indicated significant difference, $P < 0.01$ indicated extremely significant difference.

群体遗传学统计表明,*ESR1 g.* 76097125C>T 位点在济宁青山羊和辽宁绒山羊中为低度多态 ($PIC < 0.25$),在云上黑山羊中为中度多态 ($0.25 < PIC < 0.50$);*g.* 76139051A>G 在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊中为中度多态 ($0.25 < PIC < 0.50$)。卡方检验结果表明,*ESR1 g.* 76097125C>T 位点在济宁青山羊中处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态 ($P < 0.05$),在辽宁绒山羊和云上黑山羊中处于 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P > 0.05$);*g.* 76139051A>G 在云上黑山羊、济宁青山

注: $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。
Note: $P < 0.05$ indicated significant difference, $P < 0.01$ indicated extremely significant difference.

羊和辽宁绒山羊中均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P>0.05$) (表 5)。

2.2 *TENM1* 基因多态性分析 基因分型结果表明, *TENM1* 4 个候选 SNPs 位点在 3 个群体中均存在多态性(图 2)。如表 3~4 所示, *TENM1* g. 17372494A>G、g. 17586866T>C 位点

的基因型频率和基因频率在高繁和低繁山羊群体之间差异显著($P<0.05$), 但 *TENM1* g. 17236451G>C 和 g. 17333655C>T 位点的基因型频率和基因频率在高繁和低繁山羊群体间差异不显著($P>0.05$)。

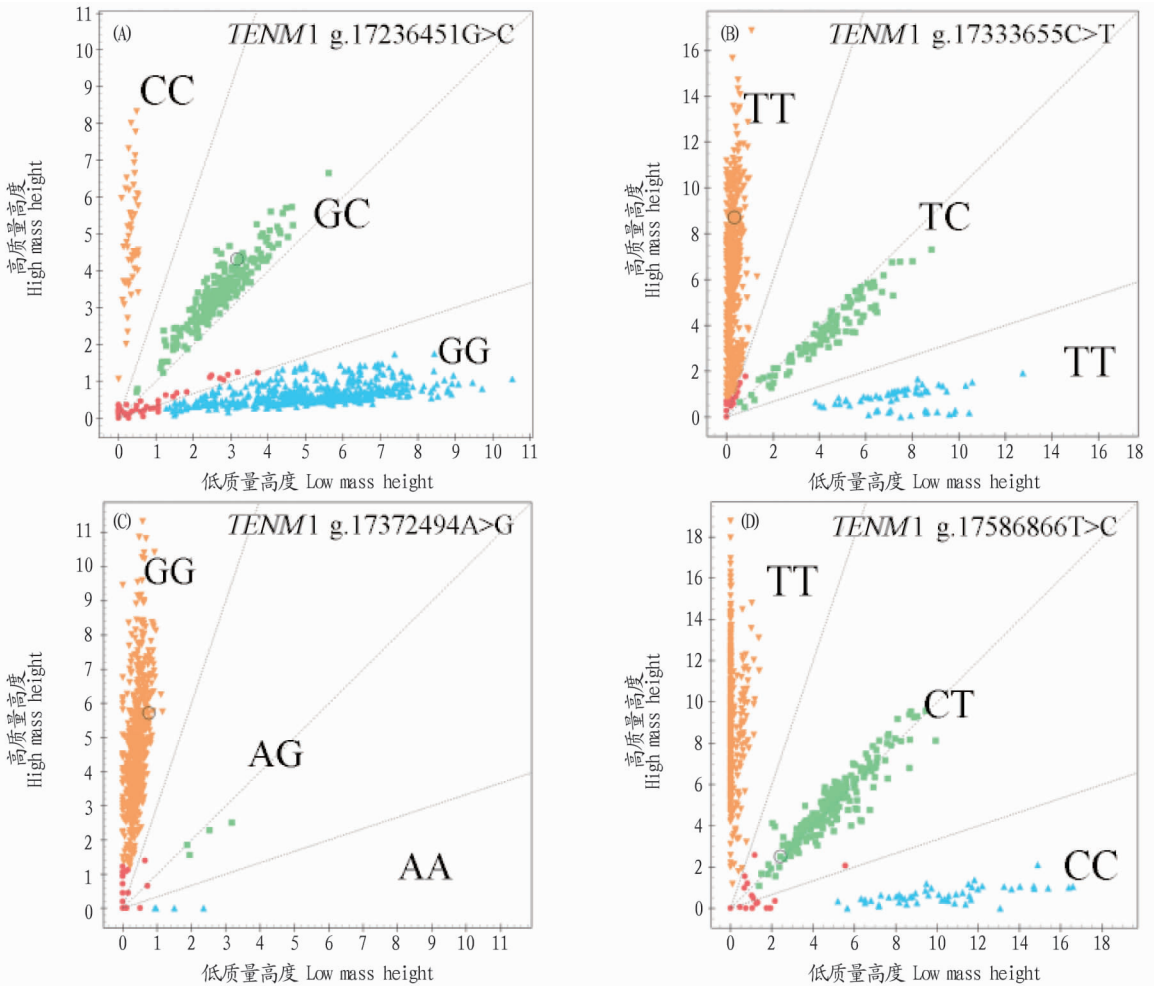


图 2 *TENM1* 位点分型结果

Fig. 2 The locus typing results of *TENM1* gene

群体遗传学统计表明, *TENM1* g. 17333655C>T 位点在云上黑山羊、济宁青山羊和辽宁绒山羊中为低度多态($PIC<0.25$), *TENM1* 基因其余位点多态性为 0.01~0.36。卡方检验结果表明, *TENM1* g. 17236451 G>C 和 g. 17586866 T>C 位点在云上黑山羊和辽宁绒山羊中处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P>0.05$) (表 5)。

2.3 *THEM4* 多态性分析 基因分型结果表明, *THEM4* g. 101275605 G>A 位点在 3 个群体中均存在多态性(图 3)。如表 3~4 所示, *THEM4* g. 101275605 G>A 位点的基因型频率和基因频率在高繁和低繁山羊群体之间差异均达到显著水平($P<0.05$), g. 101275605 G>A 位点在 3 个群体中只有 GG 和 GA 2 个基因型, 其中 GG 为优势基因型, G 为优势基因。

群体遗传学统计分析表明, *THEM4* g. 101275605 G>A 位点在云上黑山羊、济宁青山羊、辽宁绒山羊中均为低度多态($PIC<0.25$)。卡方检验结果表明, *THEM4* g. 101275605 G>A 在云上黑山羊、济宁青山羊、辽宁绒山羊中均处于 Hardy-

Weinberg 平衡状态($P>0.05$) (表 5)。

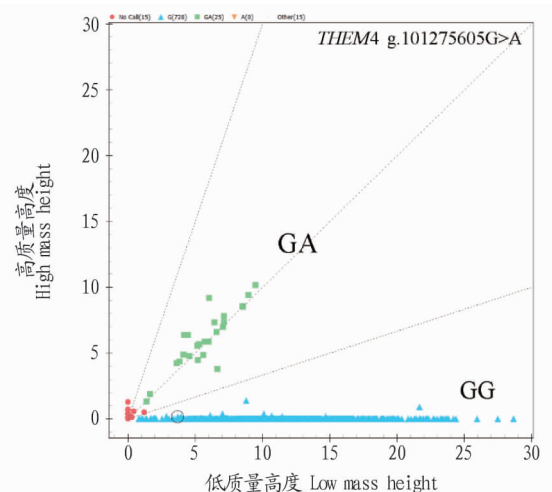


图 3 *THEM4* 位点分型结果

Fig. 3 The locus typing results of *THEM4* gene

2.4 候选 SNPs 位点与云上黑山羊繁殖性状的相关性分析 由表 6 可知, *ESR1* g. 76097125C>T 位点 CT 和 TT 型山羊的初生窝重显著高于 CC 型 ($P < 0.05$); *TENM1* g. 17236451G>C 位点 GC 型山羊的产羔数和断奶窝重显著高

于 GG 型 ($P < 0.05$); *TENM1* g. 17333655C>T 位点 CC 型山羊的产羔数显著高于 CT 型 ($P < 0.05$)。其余 SNPs 位点多态性与云上黑山羊产羔数、初生窝重和断奶窝重之间无显著相关 ($P > 0.05$)。

表 5 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 7 个多态位点在不同山羊品种中的群体遗传学分析

Table 5 The population genetic analysis of 7 polymorphic sites of *ESR1*, *TENM1* and *THEM4* genes in different goat breeds

位点 Loci	品种 Breeds	基因型 Genotype			基因频率 Allele frequency		PIC	H_e	N_e	P
		TT	CT	CC	<i>T</i>	<i>C</i>				
<i>ESR1</i> g. 76097125C>T	YS ($n=540$)	0.66	0.30	0.04	0.81	0.19	0.26	0.31	1.44	0.59
	JN ($n=130$)	0.94	0.05	0.01	0.96	0.04	0.07	0.07	1.07	0.01
	LN ($n=91$)	0.76	0.23	0.01	0.88	0.12	0.19	0.22	1.28	0.66
<i>ESR1</i> g. 76139051A>G	YS ($n=533$)	0.49	0.42	0.09	0.70	0.30	0.33	0.42	1.72	0.89
	JN ($n=122$)	0.18	0.44	0.38	0.40	0.60	0.36	0.48	1.92	0.38
	LN ($n=83$)	0.16	0.52	0.32	0.42	0.58	0.37	0.49	1.95	0.54
<i>TENM1</i> g. 17236451G>C	YS ($n=535$)	0.53	0.38	0.09	0.72	0.28	0.32	0.40	1.68	0.18
	JN ($n=97$)	0.96	0.03	0.01	0.98	0.02	0.05	0.05	1.05	0.00
	LN ($n=73$)	0.89	0.10	0.01	0.94	0.06	0.11	0.11	1.13	0.14
<i>TENM1</i> g. 17333655C>T	YS ($n=523$)	0.80	0.11	0.09	0.86	0.14	0.22	0.25	1.33	1.89×10^{-35}
	JN ($n=132$)	0.77	0.16	0.07	0.85	0.15	0.22	0.26	1.34	2.33×10^{-5}
	LN ($n=89$)	0.77	0.20	0.03	0.87	0.13	0.20	0.23	1.29	0.21
<i>TENM1</i> g. 17372494A>G	YS ($n=532$)	0.99	0.01	0	0.99	0.01	0.01	0.01	1.01	0.97
	JN ($n=122$)	1.00	0	0	1	0	0.00	0.00	1.00	—
	LN ($n=81$)	0.93	0.02	0.05	0.94	0.06	0.11	0.11	1.13	1.43×10^{-12}
<i>TENM1</i> g. 17586866T>C	YS ($n=539$)	0.70	0.26	0.04	0.83	0.17	0.24	0.28	1.39	0.14
	JN ($n=126$)	0.59	0.28	0.13	0.73	0.27	0.32	0.39	1.65	0.00
	LN ($n=77$)	0.40	0.40	0.20	0.60	0.40	0.36	0.48	1.92	0.16
<i>THEM4</i> g. 101275605G>A	YS ($n=540$)	0.98	0.02	0	0.99	0.01	0.02	0.02	1.02	0.79
	JN ($n=128$)	0.91	0.09	0	0.96	0.04	0.08	0.09	1.09	0.93
	LN ($n=86$)	0.98	0.02	0	0.99	0.01	0.02	0.02	1.02	0.96

注: H_e 为杂合度; PIC 为多态信息含量; N_e 为有效等位基因数; YS 代表云上黑山羊; JN 代表济宁青山羊; LN 代表辽宁绒山羊; $P > 0.05$ 表示位点在该品种中处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。

Note: H_e : Heterozygosity; PIC: Polymorphic information content; N_e : Number of effective alleles; YS: Yunshang Balck Goat; JN: Jining Grey Goat; LN: Liaoning Cashmere Goat; $P > 0.05$ indicated that the locus in this breed was in Hardy-Weinberg equilibrium state.

表 6 *ESR1*、*TENM1* 和 *THEM4* 基因对云上黑山羊产羔性能的影响

Table 6 Effects of *ESR1*, *TENM1* and *THEM4* genes on the lambing performance of Yunshang Black Goat

位点 Loci	基因型 Genotype	产羔数 Litter size//只	初生窝重 Litter weight at birth//kg	断奶窝重 Litter weight at weaning//kg
<i>ESR1</i> g. 76097125C>T	CC	1.917±0.113	6.146±0.375 a	33.134±1.958
	CT	2.073±0.041	6.946±0.097 b	37.142±0.740
	TT	2.026±0.027	7.197±0.142 b	35.588±0.506
<i>ESR1</i> g. 76139051A>G	AA	2.051±0.074	7.014±0.254	35.969±1.332
	AG	2.033±0.035	7.105±0.123	35.980±0.646
	GG	2.024±0.032	6.848±0.113	35.780±0.592
<i>TENM1</i> g. 17236451G>C	GG	1.977±0.030 a	6.998±0.120	35.115±0.662 a
	GC	2.108±0.036 b	7.019±0.120	37.037±0.622 b
	CC	2.061±0.074 ab	6.910±0.232	35.367±1.200 ab
<i>TENM1</i> g. 17333655C>T	CC	2.052±0.025 b	7.012±0.087	35.806±0.451
	CT	1.862±0.067 a	6.821±0.318	35.887±1.653
	TT	2.001±0.075 ab	6.623±0.341	36.860±1.773
<i>TENM1</i> g. 17372494A>G	GG	2.035±0.022	7.003±0.080	36.033±0.418
	AG	2.125±0.365	7.215±1.076	35.775±1.598
	TT	2.013±0.027	6.982±0.098	35.650±0.512
<i>TENM1</i> g. 17586866T>C	TC	2.064±0.043	6.941±0.145	36.150±0.756
	CC	2.155±0.115	6.994±0.369	37.242±1.922
	GG	2.034±0.022	6.964±0.079	35.855±0.413
<i>THEM4</i> g. 101275605G>A	GA	1.952±0.149	7.015±1.511	36.123±1.223

注: 同一位点同一指标不同基因型间标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters marked in the same locus of the same index indicated significant differences among different genotypes ($P < 0.05$).

3 讨论

ESR1 编码的雌激素受体 1 与雌激素结合后,在雌性繁殖周期中卵泡的生长发育发挥着重要的作用。研究表明,*ESR* 基因与小尾寒羊和湖羊的多羔性状密切相关^[12-14]。刘欣^[15]研究发现卵泡期成年母牛 *ESR1* 在卵巢中表达量最高、在子宫中表达量最低。白淑等^[16]使用免疫组织和荧光定量技术检测济宁青山羊出生后发育过程中雌激素受体在子宫的定位及表达,发现 *ESR1* 在子宫腔上皮、腺上皮、基质、血管内皮和平滑肌细胞胞核中均有表达,证实了 *ESR1* 参与调节子宫内膜与肌层的增殖和分化。将雌性小鼠的 *ESR* 基因敲除后,*ESR* 缺陷雌性小鼠出现促黄体生成素调节紊乱、卵巢不排卵等现象,进而影响了小鼠的生育能力^[17]。将 *ESR1* 过表达可能导致卵泡闭锁^[18]。总体来看,*ESR1* 可能对山羊的繁殖有一定的影响。该研究结果发现云上黑山羊群体中 *ESR1* g. 76097125C>T 位点 TT 型和 CT 型山羊的初生窝重高于 CC 型,因此推测该位点 C>T 突变可能对于云上黑山羊群体而言是一个优良的突变,可能会导致羔羊初生窝重增加。*TENM1* 属于 *Tenm/Odz* 基因跨膜蛋白家族,目前关于 *TENM1* 对山羊繁殖的影响研究较少。研究表明,*TENM1* 的缺失可能影响生殖系统的发育,在线虫中 *TENM1* 被证实是早期胚胎发生、生殖细胞发育、性腺迁移和表皮形态发生所必需的^[19-20]。该研究结果表明,*TENM1* g. 17236451G>C 和 g. 17333655C>T 位点的多态性与云上黑山羊的产羔数显著相关,其中 g. 17236451G>C 位点 GC 型山羊的产羔数比 GG 型高 0.131,G>C 的突变为有利于产羔的突变;g. 17333655C>T 位点 CC 型山羊产羔数比 CT 型高 0.190,C>T 的突变导致产羔数的下降,为不利的突变。综上所述,*TENM1* 基因 g. 17236451G>C 和 g. 17333655C>T 位点可作为云上黑山羊产羔数选择的潜在分子标记。

4 结论

该研究结果表明,*TENM1* 基因 g. 17236451G>C 和 g. 17333655C>T 位点与云上黑山羊产羔数存在显著相关,可作为云上黑山羊产羔数选择的潜在分子标记。*ESR1* 基因 g. 76097125C>T 位点与云上黑山羊初生窝重存在显著相关,可作为云上黑山羊初生窝重选择的潜在分子标记。

参考文献

[1] 田志龙,汤继顺,孙庆,等. 绵羊 *SMAD1* 基因组织表达及其多态性与产

- 羔数关联分析[J]. 中国农业科学,2019,52(4):755-766.
- [2] PATERNI I,GRANCHI C,KATZENELLENBOGEN J A,et al. Estrogen receptors alpha (ER α) and beta (ER β):Subtype-selective ligands and clinical potential[J]. Steroids,2014,90:13-29.
- [3] GÁRRIZ Á,MENÉNDEZ-HELMAN R J,MIRANDA L A. Effects of estradiol and ethinylestradiol on sperm quality, fertilization, and embryo-larval survival of pejerrey fish (*Odontesthes bonariensis*) [J]. Aquat Toxicol, 2015,167:191-199.
- [4] FINDLAY J K,BRITT K,KERR J B,et al. The road to ovulation;The role of oestrogens[J]. Reprod Fertil Dev,2001,13(7/8):543-547.
- [5] TAO L,HE X Y,JIANG Y T,et al. Combined approaches to reveal genes associated with litter size in Yunshang black goats[J]. Anim Genet,2020,51(6):924-934.
- [6] LAI F N,ZHAI H L,CHENG M,et al. Whole-genome scanning for the litter size trait associated genes and SNPs under selection in dairy goat (*Capra hircus*) [J]. Sci Rep,2016,6(1):1-12.
- [7] ALKELAI A,OLENDER T,HAFFNER-KRAUSZ R,et al. A role for *TENM1* mutations in congenital general anosmia[J]. Clin Genet,2016,90(3):211-219.
- [8] BAUMGARTNER S,MARTIN D,HAGIOS C,et al. Tenm, a *Drosophila* gene related to tenascin, is a new pair-rule gene [J]. EMBO J,1994,13(16):3728-3740.
- [9] 陶林,杨红远,江炎庭,等. 云上黑山羊体尺性状对体重影响的通径分析[J]. 家畜生态学报,2020,41(7):18-22.
- [10] 陶林,杨红远,江炎庭,等. 云上黑山羊体重与成年性状的典型相关分析[J]. 中国农学通报,2020,36(11):108-112.
- [11] ELLIS J A,ONG B. The MassARRAY[®] system for targeted SNP genotyping[J]. Methods Mol Biol,2017,1492:77-94.
- [12] 毕晓丹,储明星,金海国,等. 小尾寒羊高繁殖力候选基因 *ESR* 的研究[J]. 遗传学报,2005,32(10):1060-1065.
- [13] 董文艳. 湖羊 *ESR* 基因的检测及基因型与多胎性能的关系[D]. 杭州:浙江大学,2009.
- [14] LI X,LI H,JIA L,et al. Oestrogen action and male fertility:Experimental and clinical findings[J]. Cell Mol Life Sci,2015,72(20):3915-3930.
- [15] 刘欣. 母牛生殖系统雌、孕激素受体变化及输卵管上皮细胞制备[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2014.
- [16] 白淑,同海妮,石运芝,等. 济宁青山羊子宫内 ER α 、ER β 和 PR 的分布及其 mRNA 表达的增龄性变化[J]. 畜牧兽医学报,2013,44(10):1539-1546.
- [17] HEWITT S C,KORACH K S. Oestrogen receptor knockout mice;Roles for oestrogen receptors alpha and beta in reproductive tissues[J]. Reproduction,2003,125(2):143-149.
- [18] PAULOSE T,HANNON P R,PERETZ J,et al. Estrogen receptor alpha overexpressing mouse antral follicles are sensitive to atresia induced by methoxychlor and its metabolites[J]. Reprod Toxicol,2012,33(3):353-360.
- [19] DRABIKOWSKI K,TRZEBIATOWSKA A,CHIQUET-EHRISMANN R. TEN-1,an essential gene for germ cell development, epidermal morphogenesis, gonad migration, and neuronal pathfinding in *Caenorhabditis elegans* [J]. Dev Biol,2005,282(1):27-38.
- [20] TUCKER R P,KENZELMANN D,TRZEBIATOWSKA A,et al. Tenenins;Transmembrane proteins with fundamental roles in development [J]. Int J Biochem Cell Biol,2007,39(2):292-297.