

# 基于基因组重测序技术筛选小尾寒羊高繁基因的研究

方文文<sup>1</sup>, 缪立生<sup>1</sup>, 刘宇<sup>1</sup>, 王维婷<sup>2</sup>, 刘昭华<sup>2</sup>, 杨少滢<sup>1,3</sup>, 王可<sup>2\*</sup>, 曹阳<sup>1\*</sup>  
(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 山东省农业科学院畜牧兽医研究所, 济南 250100; 3. 中国农业科学院特产研究所, 长春 130117)

**摘要:** 本研究旨在筛选影响小尾寒羊高繁殖力的相关基因, 为小尾寒羊的品种选育及杂交改良提供理论依据。试验选取 21 只具有稳定系谱的经产纯种小尾寒羊, 其中, 11 只来自吉林地区(高产羔率组 6 只, 低产羔率组 5 只)、10 只来自山东地区(高产羔率组、低产羔率组各 5 只), 采集血液样本进行全基因组重测序, 进行差异等位基因频率检测及全基因组选择信号分析。分析结果显示, 基于差异等位基因频率共筛选到两个地区共有的候选基因 3 074 个; 基于群体分化指数筛选到两个地区共有的候选基因 16 个; 基于核苷酸多样性比值筛选到两个地区共有的候选基因 511 个。以上三种方法取交集, 获得共享基因 6 个, 分别是 *CPNE4*、*CTNNA2*、*LOC114114249*、*LOC132659407*、*MBD5* 和 *SLC6A15*, 预期可作为影响小尾寒羊高繁殖力的候选基因。

**关键词:** 小尾寒羊; 基因组重测序; 高繁殖力; 基因; 遗传改良

中图分类号: S826

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2024)05-0055-08

## Research on Screening High Fecundity Genes of Small-Tailed Han Sheep Based on the Genome Resequencing Technology

FANG Wenwen<sup>1</sup>, MIAO Lisheng<sup>1</sup>, LIU Yu<sup>1</sup>, WANG Weiting<sup>2</sup>, LIU Zhaohua<sup>2</sup>, YANG Shaoying<sup>1,3</sup>, WANG Ke<sup>2\*</sup>, CAO Yang<sup>1\*</sup>

(1. *Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033*; 2. *Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100*; 3. *Institute of Special Animal and Plant Sciences, CAAS, Changchun 130117, China*)

**Abstract:** The purpose of the research is to screen the genes that affect the high fecundity of small-tailed Han sheep, and to provide theoretical basis for breeding improvement and crossbreeding improvement of small-tailed Han sheep. In this study, a total of 21 purebred and pluriparous small-tailed Han sheep with stable pedigree were selected in which 11 sheep (6 in the high-yield lambing group and 5 in the low-yield lambing group) from Jilin and 10 sheep (5 in each of the high-yield lambing group and low-yield lambing group) from Shandong, and blood samples were collected for the whole genome resequencing. The results showed that a total of 3,074 candidate genes shared by the two regions were screened based on the difference in allele frequency, 16 candidate genes shared by the two regions were screened based on the population differentiation index, and 511 candidate genes shared by the two regions were screened based on the nucleotide diversity ratio. Six shared genes were obtained by the intersection of the above three methods, namely *CPNE4*, *CTNNA2*, *LOC114114249*, *LOC132659407*, *MBD5* and *SLC6A15*, which are expected to be candidate genes affecting high fecundity of small-tailed Han sheep.

**Key words:** Small-tailed Han sheep; Genome resequencing; High fecundity; Genes; Genetic improvement

收稿日期: 2024-07-24

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-38); 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2024ZY027); 山东省羊产业技术体系项目(SDAIT-10-01)

作者简介: 方文文(1996-), 女, 研究实习员, 主要从事反刍动物生物信息学研究。

通信作者: 王可, 女, 博士, 研究员, E-mail: sduwangke@163.com

曹阳, 男, 博士, 研究员, E-mail: caoyang003@163.com

小尾寒羊作为我国优良地方绵羊品种之一,原产地为山东,现分布我国20多个省、自治区、直辖市。因繁殖性能突出而备受欢迎<sup>[1-2]</sup>。小尾寒羊性成熟早、四季发情,发情周期为15~21 d,平均为18 d,平均产羔率180%~270%<sup>[3]</sup>。目前对于高繁殖力基因的研究主要集中于*FecB*基因,仍有一些重要基因尚未挖掘出来<sup>[4]</sup>。

随着测序技术不断发展,最早的第一代Sanger测序法因耗时长、费用高逐渐淡出了基因组研究视野中,取而代之的则是通量大、费用低的第二代测序技术,主要包括全基因组测序与重测序、转录组测序和DNA甲基化测序等技术<sup>[5]</sup>。全基因组重测序技术可以与公开的参考基因组进行比对从而获得较为全面的遗传变异信息,通常与全基因组选择信号分析相结合,为解析与物种重要经济性状相关的遗传机制提供新见解<sup>[6-8]</sup>。

本研究以吉林、山东两个地区小尾寒羊群体为研究对象,按照产羔数量分组进行全基因组重测序、全基因组选择信号分析和差异等位基因频率检测,挖掘影响小尾寒羊高繁殖力的候选基因,为小尾寒羊提高繁殖力、扩大种群、增加养殖效益提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及分组

从吉林、山东两地挑选具有产羔记录的健康纯种小尾寒羊经产母羊21只,均具有稳定的系谱,按照产羔数量分为低产羔率组和高产羔率组,其中吉林低产羔率组5只、高产羔率组6只,山东低产羔率组5只、高产羔率组5只(表1)。

### 1.2 建库、测序

每只羊采集5 mL血液送至石家庄博瑞迪生物技术有限公司进行全基因组重测序,采用Geno-Baits® DNA Library Prep Kit试剂盒对质检合格的DNA构建文库,利用华大DNBSEQ-T7测序平台进行测序,测序模式为PE150,深度约10<sub>x</sub>。

### 1.3 数据质控及变异数据集的构建

下机fastq数据利用BWA mem(版本:0.7.17-r1188)进行比对获得BAM文件<sup>[9]</sup>,使用Samtools sort(版本:1.6)对BAM文件进行排序<sup>[10]</sup>,利用sam-bamba(版本:0.8.2)的markdup-r程序对BAM文件去重<sup>[11]</sup>。使用GATK的HaplotypeCaller、Combine-GVCFs程序进行变异数据集构建<sup>[12]</sup>。利用BCFtools(版本:1.17)对变异数据集进行硬过滤和质控,具体参数为:-e'QD<2.0||QUAL<30.0||SOR>

表1 小尾寒羊样本信息表

样本序号	平均产羔数/只	产羔次数/次	采样地
1	1.25	4	吉林
2	1	3	吉林
3	1	3	吉林
4	1	3	吉林
5	1	2	吉林
6	3	2	吉林
7	4	2	吉林
8	3	3	吉林
9	3	3	吉林
10	2.5	2	吉林
11	2.5	2	吉林
12	1.33	3	山东
13	1.33	3	山东
14	1.25	4	山东
15	1.33	3	山东
16	1.25	4	山东
17	2.33	3	山东
18	2.33	3	山东
19	2	3	山东
20	2.25	4	山东
21	2	3	山东

3.0||FS> 60.0||MQ< 40.0||MQRankSum< -12.5||Read-PosRankSum<-8.0'(硬过滤常用参数),-v snps(只保留SNP),-m2-M2(只保留双等位变异位点),-i'F\_MISSING<0.1&MAF>0.01'(基因型缺失率小于10%且等位基因频率大于0.01)<sup>[10]</sup>。

### 1.4 已知高繁殖力基因突变在小尾寒羊群体中的检测

利用BCFtools(版本:1.17)分别提取不同地区低产羔率组与高产羔率组群体高繁基因*BMPRI1*、*GDF9*、*FSHR*和*ESR2*的VCF集合,具体参数为:view-S-R-Oz-o。使用VCFtools(版本:0.1.16)--freq计算低产羔率组与高产羔率组群体中以上基因区间内的SNP变异频率<sup>[13]</sup>。

### 1.5 小尾寒羊差异等位基因频率筛选

利用VCFtools(版本:0.1.16)对不同地区低产羔率组与高产羔率组小尾寒羊基因进行全基因组等位基因频率计算,以在高产羔率组中突变频率不低于0.7、低产羔率组中突变频率不高于0.2为阈值,筛选二者差异的SNP位点。

### 1.6 全基因组选择信号分析

#### 1.6.1 群体分化指数(Fst)

利用VCFtools对全基因组数据以50 kb为窗口、20 kb为步长进行群体分化指数(Fst)计算,具

体参数为:--fst-window-size 50 000,--fst-window-step 20 000。

### 1.6.2 核苷酸多样性比值(Pi Ratio)

利用 VCFtools 对全基因组数据以 50 kb 为窗口、20 kb 为步长进行核苷酸多样性(pi)计算,具体参数为:--window-pi 50 000,--window-pi-step 20 000。利用 Python 脚本计算低产群体核苷酸多样性与高产群体核苷酸多样性比值并取对数作为 Pi Ratio。

### 1.7 基因注释

使用 ANNOVAR 软件对候选的受选择区域进

行基因注释<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 数据产出统计

对 21 只来自不同地区的小尾寒羊样本进行全基因组重测序,平均深度为 11.34 x,共获得 690 802 289 700 bp 的原始数据,经过滤后得到 676 960 819 500 bp 的干净读数,各样本比对率均达到 99% 以上(表 2),数据质量良好,可进行后续分析。

表 2 21 只小尾寒羊样本测序数据统计表

样本编号	原始读数/bp	过滤后读数/bp	比对率/%	平均深度/x
21	32 441 718 900	32 031 873 600	99.18	11.07
30	30 604 080 000	30 192 246 000	99.15	10.43
34	31 173 608 700	30 718 155 000	99.16	10.61
79	30 520 269 000	30 073 567 800	99.13	10.39
80_1	32 119 730 100	31 674 219 600	99.15	10.94
11	32 518 983 900	32 049 954 300	99.13	11.07
16	30 799 193 400	30 361 722 300	99.11	10.49
22	31 191 184 500	30 758 861 700	99.16	10.63
26	32 535 449 700	32 086 856 100	99.16	11.09
32	32 559 114 000	32 096 436 900	99.16	11.09
33	31 265 771 100	30 799 609 500	99.15	10.64
7178	36 335 809 800	35 330 289 000	99.96	12.68
7215	35 940 165 900	35 162 140 200	99.95	12.55
7368	35 723 507 100	35 101 716 000	99.94	12.41
7369	33 622 517 100	32 868 794 400	99.94	11.84
7375	32 092 592 100	31 490 197 200	99.95	11.33
143	34 900 938 600	33 544 289 700	99.96	12.06
7095	34 565 883 900	33 482 055 900	99.95	11.97
7234	35 832 009 900	35 063 330 700	99.95	12.49
7372	31 245 535 200	30 288 843 600	99.93	10.91
80_2	32 814 226 800	31 785 660 000	99.96	11.47
总计	690 802 289 700	676 960 819 500	-	-
平均	32 895 347 129	32 236 229 500	99.53	11.34

### 2.2 已知高繁殖力基因突变在小尾寒羊群体中的检测

由表 3 可知,高繁殖力基因突变在小尾寒羊群体中的检测情况。

#### 2.2.1 BMP1B 突变频率检测

对 21 只小尾寒羊高繁殖力基因 BMP1B 进行变异频率检测,在吉林地区小尾寒羊中筛选

到 3 843 个 SNPs,在山东地区小尾寒羊群体中筛选到 4 025 个 SNPs,其中位于外显子上的突变有 5 个,包括 1 个错义突变 T/C,即高繁基因 *FecB* (Q249R)<sup>[15]</sup>。结果显示,吉林地区低产羔率组与高产羔率组在 *FecB* 突变中都是高频的,其中高产羔率组 0.75、低产羔率组 0.8。山东地区的高产羔率组小尾寒羊中检测到 *FecB* 突变频率为 0.7,低

表3 *BMPRI1B*、*GDF9*、*FSHR*和*ESR2*基因在小尾寒羊群体中的外显子突变信息

基因	物理位置	碱基突变	吉林地区		山东地区		突变类型	氨基酸变异
			高产羔率组	低产羔率组	高产羔率组	低产羔率组		
<i>BMPRI1B</i>	6: 30032296	G/T	0.08	0	0.4	0.1	同义突变	T490T
	6: 30037912	T/G	0	0.1	0.1	0.4	同义突变	R371R
	6: 30049496	G/A	1	0.9	1	0.8	同义突变	Y288Y
	6: 30050621	T/C	0.75	0.8	0.7	0.2	错义突变	Q249R
	6: 30050770	C/T	1	0.9	1	0.4	同义突变	T199T
<i>GDF9</i>	5: 42114705	G/A	0.17	0	0.1	0.1	错义突变	A261V
	5: 42115010	T/C	0.75	1	0.9	0.8	同义突变	L159L
<i>FSHR</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>ESR2</i>	7:74487244	G/C	0.08	0.1	0	0.2	错义突变	L511V
	7:74487249	C/T	0.25	0.2	0.2	0.1	错义突变	R509H
	7:74487287	C/T	0	0.1	0.2	0.1	同义突变	T496T
	7:74490023	C/T	0.08	0	0.1	0.2	错义突变	V430M
	7:74490071	A/G	0.25	0.2	0.1	0.1	错义突变	S414P
	7:74516581	A/C	0.42	0.5	0.2	0.5	同义突变	T268T
	7:74530527	G/A	0.08	0.1	0.2	0.1	错义突变	P137L
	7:74530577	T/C	0.33	0.2	0	0.3	同义突变	T120T
	7:74532230	G/T	0	0.1	0.1	0.1	错义突变	L94I

产羔率组为0.2,表现出一定的差异。

### 2.2.2 *GDF9* 突变频率检测

对21只小尾寒羊高繁殖力基因*GDF9*进行突变频率检测,在吉林地区小尾寒羊中筛选到10个SNPs,在山东地区小尾寒羊群体中筛选到3个SNPs,其中位于外显子上的突变有2个,包括1个错义突变,并且该错义突变无论在哪个地区任何群体中都是低频的。

### 2.2.3 *FSHR* 突变频率检测

对21只小尾寒羊高繁殖力基因*FSHR*进行突变频率检测,在吉林地区小尾寒羊中筛选到20个SNPs,在山东地区小尾寒羊中筛选到21个SNPs,对上述SNPs进行注释,均位于基因间区,并未发现位于外显子的突变。

### 2.2.4 *ESR2* 突变频率检测

对21只小尾寒羊高繁殖力基因*ESR2*进行突变频率检测,在吉林地区小尾寒羊中筛选到682个SNPs,在山东地区小尾寒羊中筛选到542个SNPs,其中位于外显子上的突变有9个,包括6个错义突变,以上突变在小尾寒羊高产和低产群体中均以低频出现,无明显差异。

## 2.3 小尾寒羊全基因组选择信号分析

### 2.3.1 群体分化指数(*F<sub>st</sub>*)计算

对吉林地区11只高产羔率和低产羔率小尾寒羊进行群体遗传分化指数(*F<sub>st</sub>*)计算,筛选*F<sub>st</sub>*值位于前1%(*F<sub>st</sub>*>0.2487)的区域作为候选区域,

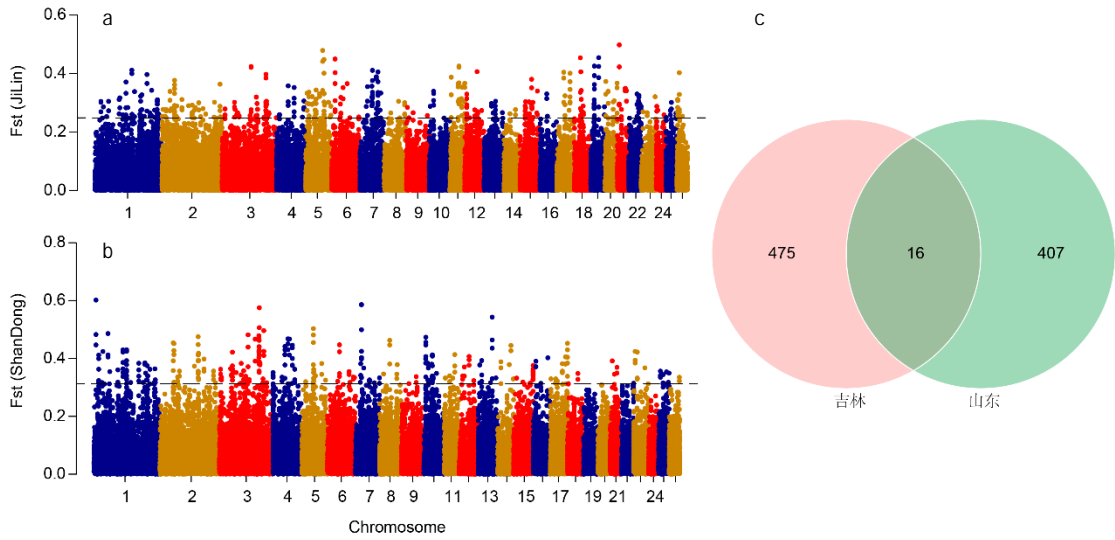
最终获得440个候选窗口491个候选基因(图1a)。对山东地区10只高产羔率和低产羔率小尾寒羊同样进行以上分析,筛选到位于前1%(*F<sub>st</sub>*>0.3004)的434个候选窗口423个候选基因(图1b)。对上述两个地区基于*F<sub>st</sub>*筛选得到的候选基因取交集,共获得16个共有差异基因(图1c)。

### 2.3.2 核苷酸多样性比值计算

对11只吉林地区小尾寒羊进行核苷酸多样性比值(*Pi Ratio*)计算,取*Pi Ratio*值位于前1%的区间作为多羔候选基因的受选择区域,共得到495个受选择区间21609个基因(图2a)。对10只山东地区小尾寒羊进行以上分析并按上述同样标准共筛选到位于前1%的649个受选择区间660个基因(图2b)。对上述两个地区基于*Pi Ratio*筛选得到的候选基因取交集,共获得511个共有差异基因(图2c)。

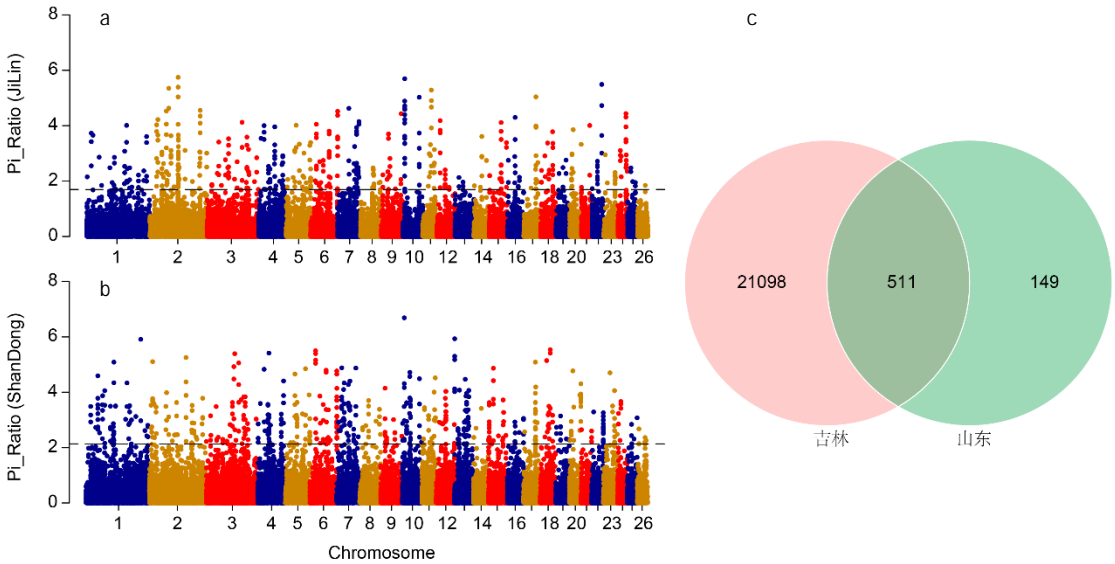
## 2.4 小尾寒羊差异等位基因频率筛选

为进一步筛选影响小尾寒羊产羔率的关键基因,本研究基于以上全基因组重测序数据,全面检测该群体中的遗传变异信息。结果显示,在吉林地区小尾寒羊群体中,共获得高产和低产差异等位基因频率的SNP位点18334个,注释得到基因4780个。在山东地区小尾寒羊群体中,共获得高产和低产差异等位基因频率的SNP位点75701个,注释得到8314个基因。对上述两个地区筛选得到的候选基因取交集,共获得3074个共有差异



注:a. 吉林地区, b. 山东地区, c. 两地交集

图1 小尾寒羊群体分化指数



注:a. 吉林地区, b. 山东地区, c. 两地交集

图2 小尾寒羊核苷酸多样性比值

基因,可作为小尾寒羊多羔性状的候选基因集合(图3a)。

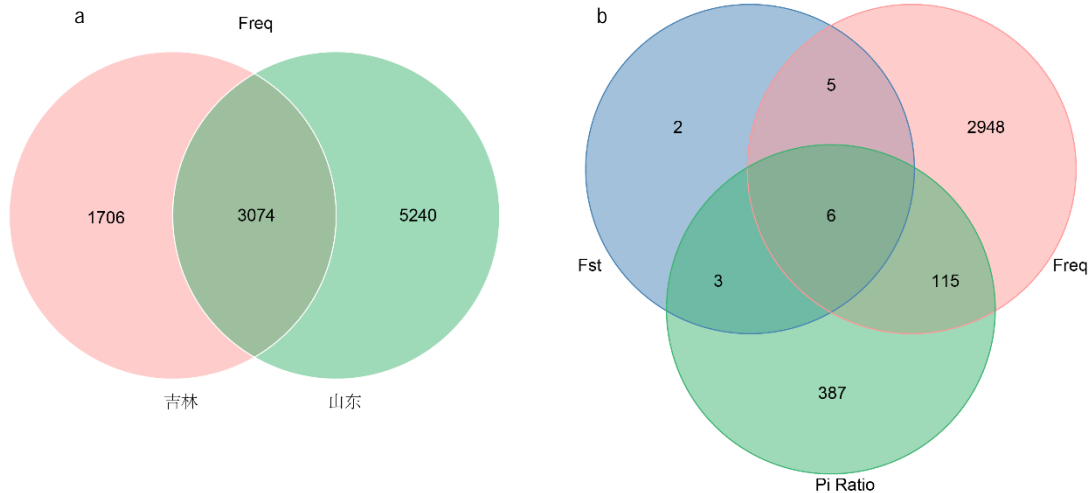
### 2.5 小尾寒羊高繁殖力候选基因集合筛选

对两个地区不同方法筛选到的候选基因取交集,共获得6个可作为小尾寒羊高繁殖力的候选基因,分别是 *CPNE4*、*CTNNA2*、*LOC114114249*、*LOC132659407*、*MBD5* 和 *SLC6A15*(图3b)。

## 3 讨论

小尾寒羊是著名的高繁品种,其繁殖力受多种基因控制。目前已知的绵羊高繁殖力基因主要有 *BMPRI1*、*GDF9*、*FSHR* 和 *ESR2* 等。骨形态发生蛋白 I 型受体(*BMPRI1*)是绵羊高繁殖力的主效基因

之一,位于绵羊6号染色体的30 028 547~30 482 585(参考基因组版本:ARS-UI\_Ramb\_v3.0)区间,共有16个外显子,其中一个编码区突变A746G导致第249位氨基酸从谷氨酰胺变为精氨酸(Q249R),从而增加绵羊的产羔数和排卵率,该突变最开始是在Booroola美利奴绵羊中发现的,因此被命名为*FecB*基因<sup>[6]</sup>。此后,在国外的部分绵羊品种如印度的Kendrapada绵羊、伊朗的Kaleh-koohi绵羊等以及国内的湖羊、小尾寒羊、策勒黑羊、多浪羊和中国美利奴羊等多羔绵羊品种中也发现了*FecB*的这一突变<sup>[17]</sup>。本研究由于比对的参考基因组为ARS-UI\_Ramb\_v3.0,因此鉴定到的*FecB*突变为T/C,与已有研究报道的A/G突变互



注: a. 等位基因频率 Freq, b. 三种方法交集

图3 不同方法筛选到的小尾寒羊高繁殖力候选基因

补。统计 *FecB* 突变在小尾寒羊群体中的变异频率,结果发现山东地区高产的小尾寒羊群体中 *FecB* 突变频率明显高于低产组,而吉林地区低产群体的 *FecB* 突变频率与该地区高产群体相差不多,一方面可能是由于本次研究样本量太少,导致该突变在低产组和高产组差异不明显,另一方面也说明影响小尾寒羊高繁殖力性状的基因不仅仅是 *FecB*,仍有其他基因共同决定小尾寒羊的高繁性状,仅靠检测 *FecB* 突变并不足以完全支撑多羔性状这一结论。

生长和分化因子9(*GDF9*)是转化生长因子 $\beta$ (*TGF- $\beta$* )超家族成员之一,位于绵羊5号染色体的42 113 878~42 116 604区间,共有2个外显子,是绵羊多羔的主效基因之一,在绵羊早期卵泡发生过程中起重要作用<sup>[18]</sup>。研究证实,在*GDF9*缺失的雌性小鼠中,卵泡发育在单层初级卵泡阶段停止,导致不育。在绵羊中发现*GDF9*的*FecG<sup>H</sup>*、*FecG<sup>T</sup>*、*FecG<sup>E</sup>*、*FecG<sup>F</sup>*和*FecG<sup>V</sup>*杂合突变会导致高繁殖率,而突变的纯合子不育<sup>[19-24]</sup>。本研究发现*GDF9*的错义突变在小尾寒羊低产和高产群体中都是低频的,说明该突变与小尾寒羊高繁殖力性状相关性不显著。

卵泡刺激素受体(*FSHR*)位于绵羊3号染色体的42 113 878~42 116 604区间,共有11个外显子。最早在大鼠睾丸的支持细胞中被发现,可能影响促卵泡激素(Follicle stimulating hormone, *FSH*)信号转导,并在窦卵泡发育中起重要作用<sup>[25]</sup>。已有研究发现,该基因5'区存在多种突变,与澳大利亚羊、湖羊和小尾寒羊产羔数显著相

关<sup>[26-28]</sup>。本研究未鉴定到小尾寒羊*FSHR*基因外显子突变,说明*FSHR*作为高繁基因可能有其他区域的突变影响小尾寒羊的产羔率。

雌激素受体(*ESR2*)位于绵羊7号染色体的74 481 859~74 545 624区间,共有10个外显子。据报道,*ESR2*可以调节绵羊卵泡发育和排卵,提高绵羊产羔数,并作为影响绵羊产羔数的重要分子标记<sup>[29-30]</sup>。本研究发现*ESR2*的6个错义突变在小尾寒羊高产和低产群体中均以低频出现,无显著差异,说明*ESR2*与小尾寒羊高繁殖力性状相关性不显著,可能通过其他机制协同参与影响绵羊的高繁殖力。

基于全基因组重测序数据对不同地区小尾寒羊多羔和单羔群体进行差异等位基因频率检测、群体分化指数和核苷酸多样性比值计算,分别获得了不同地区共有的基因3 074个、16个和511个。通过以上结果可以发现,基于群体分化指数筛选到的共享基因最少,可能是由于群体分化指数是根据两个群体的分化程度进行计算导致的,本研究所用群体均为小尾寒羊,不同的是产羔数量,种群分化程度相对较低,因此筛选到的可用选择信号最少。基于上述三种方法筛选到共有基因有6个,分别是*CPNE4*、*CTNNA2*、*LOC114114249*、*LOC132659407*、*MBD5*和*SLC6A15*,可能与小尾寒羊高繁殖力性状相关,但目前未见相关报道。*CPNE4*(*CPNE4 copine 4*)能编码一种钙依赖性磷脂结合蛋白,可能参与膜运输、有丝分裂发生和发育,与糖代谢相关,*CPNE4*可视是影响鸡肌肉肌糖原的候选基因<sup>[31]</sup>。另有报道指出

*CPNE4* 可调节肌糖原,并在妊娠早期上调<sup>[32]</sup>。*CTNNA 2*(Catenin Alpha 2)是一个蛋白质编码基因,其调控途径包括发育生物学和黏附连接,与结构分子活性和细胞骨架的结构组成相关<sup>[33]</sup>。另有报道指出 *CTNNA2* 与宫内大脑发育以及几种精神疾病和心血管疾病有关<sup>[34]</sup>。*MBD5*(Methyl-CpG Binding Domain Protein 5)与多种人类疾病有关,但其作用机制尚不清楚。有报道指出 *Mbd5* 在调节小鼠体细胞生长和葡萄糖稳态中具有重要作用<sup>[35]</sup>。*SLC6A15*(Solute Carrier Family 6 Member 15),是编码转运中性氨基酸的溶质载体家族6蛋白家族的成员,其编码的蛋白质被认为在神经元氨基酸转运中发挥作用。这些基因暂无报道可以证明其与小尾寒羊繁殖能力相关,后期仍需要大量的工作进行验证。

## 4 结 论

本研究统计了四种绵羊高繁殖力基因 *BMP1B*、*GDF9*、*FSHR* 和 *ESR2* 在小尾寒羊群体中的突变频率,除 *FecB* 外,未发现以上基因的错义突变与小尾寒羊高繁殖力性状表现极强的相关性。此外,研究基于差异等位基因频率检测和全基因组选择信号分析筛选到了6个与小尾寒羊高繁殖力相关的候选基因,为深入解析小尾寒羊多羔遗传机制提供理论基础,同时为小尾寒羊多羔选育提供新的方向,以期增加养殖场的经济效益。

## 参考文献:

- [ 1 ] 闫秋良,张云影,宋玉贵,等.杜寒羊杂交效果研究报告[J].东北农业科学,2018,43(4):32-35.
- [ 2 ] 彭洪洋,李玉梅,赵中利,等.小尾寒羊与双乾肉羊的瘤胃菌群差异分析[J].东北农业科学,2023,48(1):50-53,107.
- [ 3 ] Bai M, Sun L, Jia C, et al. Integrated Analysis of miRNA and mRNA Expression Profiles Reveals Functional miRNA-Targets in Development Testes of Small Tail Han Sheep[J]. G3 (Bethesda, Md.), 2019, 9(2): 523-533.
- [ 4 ] 曹阳,金海国,张立春,等. *FecB* 基因对多胎品系绵羊培育的影响[J].东北农业科学,2016,41(3):77-80.
- [ 5 ] 方文文.东佛里生种公羊重要性状分子标记挖掘及育种应用[D].杨凌:西北农林科技大学,2023.
- [ 6 ] Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt S C, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms[J]. Nature, 2001, 409(6822): 928-933.
- [ 7 ] Whiteford N, Haslam N, Weber G, et al. An analysis of the feasibility of short read sequencing[J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33(19): 1-6.
- [ 8 ] Winters-Hilt S, Vercoutere W, Deguzman V S, et al. Highly accurate classification of Watson-Crick basepairs on termini of single DNA molecules[J]. Biophysical journal, 2003, 84(2 Pt 1): 967-976.
- [ 9 ] Kendig K I, Baheti S, Bockol M A, et al. Sentieon DNASEq Variant Calling Workflow Demonstrates Strong Computational Performance and Accuracy[J]. Frontiers in Genetics, 2019, 10: 736: 1-7.
- [ 10 ] Danecek P, Bonfield J K, Liddle J, et al. Twelve years of SAM-tools and BCFtools[J]. GigaScience, 2021, 10(2): 1-4.
- [ 11 ] Tarasov A, Vilella A J, Cuppen E, et al. Sambamba: fast processing of NGS alignment formats[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2015, 31(12): 2032-2034.
- [ 12 ] Mckenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data[J]. Genome research, 2010, 20(9): 1297-1303.
- [ 13 ] Danecek P, Auton A, Abecasis G, et al. The variant call format and VCF tools[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2011, 27(15): 2156-2158.
- [ 14 ] Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data [J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(16): 1-7.
- [ 15 ] Souza C J, MacDougall C, MacDougall C, et al. The Booroola (*FecB*) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (*BMP1B*) gene[J]. The Journal of Endocrinology, 2001, 169(2): 1-6.
- [ 16 ] 曹春娜.基于全基因组数据的绵羊繁殖相关基因挖掘及功能研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2023.
- [ 17 ] 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.
- [ 18 ] Pan Z Y, Wang X Y, Di R, et al. A 5-Methylcytosine Site of Growth Differentiation Factor 9 (*GDF9*) Gene Affects Its Tissue-Specific Expression in Sheep[J]. Animals, 2018, 8(11): 1-12.
- [ 19 ] Nicol L, Bishop S C, Pong-Wong R, et al. Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific *GDF9* gene results in sterility in Thoka sheep[J]. Reproduction (Cambridge, England), 2009, 138(6): 921-933.
- [ 20 ] Silva B D M, Castro E A, Souza C J H, et al. A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (*GDF9*) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep[J]. Animal Genetics, 2011, 42(1): 89-92.
- [ 21 ] Våge D I, Husdal M, Kent M P, et al. A missense mutation in growth differentiation factor 9 (*GDF9*) is strongly associated with litter size in sheep[J]. BMC Genetics, 2013, 14(1): 1-8.
- [ 22 ] Souza C J H, McNeilly A S, Benavides M V, et al. Mutation in the protease cleavage site of *GDF9* increases ovulation rate and litter size in heterozygous ewes and causes infertility in homozygous ewes[J]. Animal Genetics, 2014, 45(5): 732-739.
- [ 23 ] Hanrahan J P, Gregan S M, Mulsant P, et al. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors *GDF9* and *BMP15* are associated with both increased ovulation rate and sterility in

- Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*)[J]. *Biology of Reproduction*, 2004, 70(4): 900–909.
- [24] Chen Y, Shan X, Jiang H, et al. Regulation of litter size in sheep (*Ovis aries*) by the *GDF9* and *BMP15* genes[J]. *Annals of Agricultural Sciences*, 2023, 68(2): 148–158.
- [25] Weimin W, Shijia L, Fadi L, et al. Polymorphisms of the Ovine *BMP1B*, *BMP15* and *FSHR* and Their Associations with Litter Size in Two Chinese Indigenous Sheep Breeds[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(5): 11385–11397.
- [26] Sairam M R, Subbarayan V S. Characterization of the 5' flanking region and potential control elements of the ovine follitropin receptor gene[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 1997, 48(4): 480–487.
- [27] Liu S F, Du L X, Wang A H. Biological characteristics of the 5' regulatory region of *FSHR* gene in sheep[J]. *Hereditas*, 2006, 28(4): 427–431.
- [28] Chu M X, Guo X H, Feng C J, et al. Polymorphism of 5' regulatory region of ovine *FSHR* gene and its association with litter size in Small Tail Han sheep[J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(4): 3721–3725.
- [29] Zhang C L, Zhang J, Tuersuntuoheti M, et al. Landscape genomics reveals adaptive divergence of indigenous sheep in different ecological environments of Xinjiang, China[J]. *The Science of the Total Environment*, 2023, 904: 1–17.
- [30] Xu S S, Gao L, Xie X L, et al. Genome-Wide Association Analyses Highlight the Potential for Different Genetic Mechanisms for Litter Size Among Sheep Breeds[J]. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 1–14.
- [31] Liu X, Liu L, Wang J, et al. Genome-Wide Association Study of Muscle Glycogen in Jingxing Yellow Chicken[J]. *Genes*, 2020, 11(5): 497–509.
- [32] George L, Alex R, Sukhija N, et al. Genetic improvement of economic traits in Murrah buffalo using significant SNPs from genome-wide association study[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2023, 55(3): 1–33.
- [33] Malik A, Lee E J, Jan A T, et al. Network analysis for the identification of differentially expressed hub genes using myogenin knock-down muscle satellite cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): 1–19.
- [34] Eszlari N, Bagyura Z, Millinghoff A, et al. Catenin alpha 2 may be a biomarker or potential drug target in psychiatric disorders with perseverative negative thinking[J]. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 2021, 14(9): 850–871.
- [35] Du Y, Liu B, Guo F, et al. The essential role of *Mbd5* in the regulation of somatic growth and glucose homeostasis in mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): 1–10.

(责任编辑:范杰英)