

张凤, 廖正军, 杨晓培, 等. 山羊 3BHS D 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (3): 11-18.

ZHANG F, LIAO Z J, YANG X P, et al. Polymorphism of 3BHS D gene and its association with reproductive traits in goats [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (3): 11-18.

## 山羊 3BHS D 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析

张凤<sup>1</sup>, 廖正军<sup>2</sup>, 杨晓培<sup>3</sup>, 杨务军<sup>4</sup>, 刘建霞<sup>5</sup>, 马开宇<sup>1,6</sup>, 张年<sup>1</sup>, 熊琪<sup>1\*</sup>

(1. 湖北省农业科学院畜牧兽医研究所/动物胚胎工程及分子育种湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430064;

2. 郧西县畜牧技术推广站, 湖北 郧西 442600; 3. 武汉市动物疫病预防控制中心, 湖北 武汉 430014;

4. 郧西县畜牧兽医服务中心, 湖北 郧西 442600; 5. 武汉市农业学校, 湖北 武汉 430043;

6. 华中农业大学动物科技学院, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 旨在探究 3 $\beta$  羟类固醇脱氢酶 (3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, 3BHS D) 基因单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 及其与繁殖性状的相关性。以 500 只黑头山羊母羊为研究对象, 采集颈静脉血提取基因组 DNA, 利用全基因组重测序技术筛选山羊 3BHS D 基因 SNPs 位点, 分析 3BHS D 基因的遗传多样性, 并与山羊头胎、第二胎、第三胎和平均胎次产羔数, 以及羔羊初生重进行关联分析。结果: 共筛选到与产羔数相关的 SNPs 位点 5 个 (g. 96842543C>T, g. 96846699T>C, g. 96846704T>C, g. 96847162T>C, g. 96848096C>T), 与初生重相关的 SNPs 位点 4 个 (g. 96841899C>T, g. 96844274A>G, g. 96844478G>A, g. 96846360T>A), 上述全部 SNPs 位点均符合哈代-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡状态 ( $P>0.05$ ); 关联分析显示, g. 96842543C>T 及 g. 96846704T>C 位点与山羊头胎产羔数显著相关, g. 96846699T>C 位点与二胎产羔数显著相关, g. 96847162T>C 位点与头胎、三胎及平均胎次产羔数显著相关, g. 96848096C>T 位点与二胎及平均胎次产羔数显著相关; 连锁不平衡结果显示, g. 96842543C>T, g. 96846704T>C 及 g. 96847162T>C, g. 96841899C>T 与 g. 96844478G>A 处于紧密连锁不平衡, 但组合基因型间与性状关联分析差异不显著。本研究筛选出 3BHS D 基因中 5 个 SNPs 位点与山羊产羔数显著相关, 4 个 SNPs 位点与初生重显著相关, 上述 SNPs 位点可作为山羊繁殖性状遗传改良的分子标记。

**关键词:** 山羊; 3BHS D 基因; 繁殖性状; 产羔数; 初生重

中图分类号: S827 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)03-0011-08

## Polymorphism of 3BHS D gene and its association with reproductive traits in goats

ZHANG Feng<sup>1</sup>, LIAO Zhengjun<sup>2</sup>, YANG Xiaopei<sup>3</sup>, YANG Wujun<sup>4</sup>, LIU Jianxia<sup>5</sup>, MA Kaiyu<sup>1,6</sup>,

ZHANG Nian<sup>1</sup>, XIONG Qi<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Hubei Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Animal Embryo Engineering and Molecular Breeding of Hubei Province, Wuhan 430064, China;

2. Yunxi County Animal Husbandry Technology Extension Station, Yunxi 442600, China;

3. Wuhan Animal Disease Prevention and Control Center, Wuhan 430014, China;

4. Yunxi County Animal Husbandry and Veterinary Service Center, Yunxi 442600, China;

5. Wuhan Agricultural School, Wuhan 430043, China;

6. College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** In order to explore the single nucleotide polymorphisms (SNP) of 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (3BHS D) gene and its correlation with reproductive traits, a total of 500 Black Head goats were selected as subjects. Cervical venous blood samples were collected from the goats and DNA was extracted. The SNPs of 3BHS D gene were screened using the whole genome resequencing technology, the genetic diversity of 3BHS D gene was analyzed, and the correlations between 3BHS D gene SNPs and the first, second, third litters, the average litter size and birth weight of lambs were analyzed. The results showed that five SNPs loci related to litter size (g. 96842543C>T, g. 96846699T>C)

收稿日期: 2024-04-18; 修回日期: 2025-01-25

基金项目: 湖北省尖刀项目 (2023BAA029); 湖北省支持种业高质量发展资金项目 (HBZY2023B008); 湖北省重点研发计划项目 (2023BBB132)

第一作者: 张凤, 女, 博士, 副研究员

\* 通信作者: 熊琪, 博士, 研究员, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: phenixxq@163.com.

C, g. 96846704T>C, g. 96847162T>C, and g. 96848096C>T), and four SNPs loci related to birth weight (g. 96841899C>T, g. 96844274A>G, g. 96844478G>A, and g. 96846360T>A) were screened in the goat population. The Chi-square fitness test results showed that all the above 9 SNPs loci were in line with the Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ). The correlation analysis results showed that g. 96842543C>T and g. 96846704T>C were significantly correlated with the first litter size; g. 96846699T>C was significantly correlated with the second litter size; and g. 96847162T>C the first, third, and average litter sizes; and g. 96847162T>C was significantly correlated with the second and average litter sizes. The Linkage disequilibrium results showed that g. 96842543C>T, g. 96846704T>C and g. 96847162T>C were in strong linkage disequilibrium; and g. 96841899C>T and g. 96844478G>A were in strong chain imbalance; but there was no significant difference between the combined genotypes and the correlation analysis of traits. In conclusion, five SNPs loci of 3BHSD gene were significantly correlated with the quantity of lamb births, and four SNPs loci were significantly correlated with birth weight; these SNPs loci might be used as molecular markers for genetic improvement of reproductive traits in goats.

**Keywords:** goats; 3BHSD gene; reproductive traits; litter size; birth weight

随着经济的发展和水平的提高,我国居民的饮食观念发生转变。从“吃得饱”到“吃得好”,正逐步向“吃得对”转变,健康理念不断升级<sup>[1]</sup>。羊肉为高蛋白、低脂肪、低胆固醇的优质肉品,且富含氨基酸、维生素及多种微量元素,在居民膳食消费结构中的占比增加<sup>[2]</sup>。相较于其他羊肉品种,山羊肉因其品质高、膻味小、风味佳,深受消费者欢迎。然而,由于山羊繁殖能力相对较低,且在养殖过程中需要更多的草料和空间,导致山羊肉供不应求。

繁殖性状是山羊产业的核心经济性性状之一,涉及多个基因和遗传位点的复杂交互作用,筛选与繁殖性状相关的分子遗传标记对山羊遗传育种实践具有重要意义。已有研究报道,山羊骨成型蛋白受体 1B (BMPRI1B) 基因启动子区筛选 3 个新的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点,其中 g. 67A>C 和 g. 170G>A 与巴基斯坦本土山羊品种 Damani 山羊的产羔数显著相关<sup>[3]</sup>;组织蛋白酶 S (CTSS) 基因编码区 4 个 SNP 位点 g. 7413C>T、g. 8816A>T、g. 9191T>G 和 g. 9191G>A 与黔北麻山羊产羔数显著相关<sup>[4]</sup>;贵州白山羊群体中,氧化低密度脂蛋白受体 1 (oxidized low density lipoprotein receptor 1, OLR1) 基因中存在与繁殖力密切相关的 SNP 位点<sup>[5]</sup>,布鲁姆综合征解旋酶 (BLM) 基因外显子区域的 g. 56961G>A 与第一胎产羔数显著相关, g. 65796C>T 和 g. 89621T>G 与第一至第三胎产羔数显著相关<sup>[6]</sup>;腺苷单磷酸活化蛋白激酶  $\alpha 1$  (PRKAA1) 基因中检测到与槐山羊产羔数显著相关的 2 个 SNPs 位点,分别为 g. 33691489T>C 与 g. 33693395A>T<sup>[7]</sup>。

3 $\beta$  羟类固醇脱氢酶 (3BHSD) 为羟 2 基类固醇脱氢酶家族成员,参与类固醇激素合成的多个步骤,对类固醇激素的合成具有重要意义。研究报道,通过对安徽白山羊卵泡期和黄体期的卵巢组织进行转录组测序分析,挖掘 3BHSD 基因在卵巢黄体期高表达<sup>[8]</sup>;通过对高产的金堂黑山羊和低产的藏山羊卵

泡期的卵巢组织进行转录组测序分析,鉴定 3BHSD 是差异最显著基因之一,推测其与金堂黑山羊高繁殖力相关<sup>[9]</sup>。上述研究表明,3BHSD 基因可能影响山羊的繁殖性能,但目前尚无 3BHSD 基因 SNP 位点作为分子标记选择山羊繁殖性状的研究报道。本研究以 3BHSD 为候选基因,探究山羊 3BHSD 基因多态性及与繁殖性状的相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

以 500 只黑头山羊母羊 (麻城黑山羊与波尔山羊杂交后代,已连续选育 4 个世代) 为研究对象,采集静脉血 5 mL 于含有 EDTA 抗凝剂的采血管中,置于冰盒中带回实验室 4 °C 冰箱保存,以备后续 DNA 提取,采集地点为湖北省荆门市某黑头羊种羊场。同时,收集整理羊只产羔数据备用。

### 1.2 基因组 DNA 提取

取 2 mL 血液于 10 mL 离心管中,加入 3~4 倍 ddH<sub>2</sub>O,上下颠倒 20 次,静置 10 min; 5 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,重复加 ddH<sub>2</sub>O 1~2 次,得到离心管底部的白细胞,最后利用血液/细胞基因组 DNA 试剂盒 (北京天漠科技开发有限公司) 进行基因组 DNA 提取,具体方法参考产品说明书。

### 1.3 山羊全基因组重测序

将初步质检合格的基因组 DNA 送往北京诺禾致源科技股份有限公司进行二次质检并建库,在华大基因平台进行 PE150 的全基因组重测序。34 个样本进行高深度全基因组重测序,平均测序深度约为 19.72 $\times$ ; 466 个样本进行低深度全基因组重测序,平均测序深度约为 1.65 $\times$ 。

### 1.4 原始测序数据分析及基因组比对

高深度测序数据与低深度测序数据使用同样的流程进行质量控制。使用 Fastp 软件对原始数据进行过滤,过滤标准如下:剔除碱基质量值低于 20 比例超过 30% 的读长 (reads); n 碱基大于 5% 的 reads。经

上述步骤质控后获得 clean reads。使用 BWA 软件将 clean reads 比对到山羊参考基因组 (Capra\_hircus.ARS1.2)。使用 Samtools 软件将比对后的 BAM 文件进行排序。使用 Picard 标记重复 reads。Samtools 软件构建索引。

### 1.5 变异位点检测及基因型填充

GATK HaplotypeCaller 按常染色体编号对每个样本分别生成 gvcf 文件。GATK CombineGVCFs 合并单条染色体各样本 gvcf 文件。GATK GenotypeGVCFs 按染色体进行群体 SNP calling。GATK Merge Vcfs 合并常染色体群体 vcf 文件。GATK SelectVariants 筛选群体 vcf 文件 SNP。GATK VariantFiltration 标记假阳性 SNP 位点。grep 命令过滤被标记 SNP 位点。PLINK 软件对 SNP 位点进行过滤 (geno0.1—maf0.05—hwe1e-06)。Beagle 软件对缺失位点进行填充。使用 Sentieon Haplotyper 和 GVCFTyper 模块进行群体基因组遗传变异检测和分型。使用 Beagle 进行基因型填充, 最终获得高质量 SNP。

### 1.6 基因型频率和等位基因频率计算

对各个 SNP 位点在黑头羊中分型后的基因型频率和等位基因频率进行计算, 具体公式和方法如下: 基因型频率 = 基因型的个体数/测定群体总样本数; 等位基因频率 = 等位基因纯合子基因型频率 + 该基因杂合子基因型频率/2。

### 1.7 哈代-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡检测

采用卡方适应性检验的方法检测哈代-温伯格平衡状态, 将计算得到的卡方值与对应的卡方表进行比较, 如果  $P > 0.05$ , 说明此位点符合 Hardy-Weinberg 平衡, 若  $P < 0.05$  则此位点偏离了 Hardy-Weinberg 平衡。

### 1.8 多态性信息量 (polymorphic information content, PIC) 计算

PIC 是 DNA 变异程度高低的一个指标,  $PIC > 0.5$  表示该位点为高度多态,  $0.25 \leq PIC \leq 0.5$  表示中度多态,  $PIC < 0.25$  为低度多态。

### 1.9 变异位点与性状间的关联分析

基因型与产羔数间的关联分析使用 SAS 自编程序语言, 采用固定线性模型进行计算。具体模型如下:  $y = \mu + g + p + m + e$ , 式中,  $y$  表示性状观测值 (表型值), 主要包括总产羔数、平均产羔数等性状;  $\mu$  表示表型的群体均值;  $g$  表示基因型效应, 为固定效应;  $p$  表示胎次效应, 为固定效应;  $m$  表示配种季节和年份效应, 为固定效应, 配种季节根据当地四季划

分为 4 个水平;  $e$  表示随机残差效应, 假定服从  $N \sim (0, \sigma^2)$  分布。在对 1 胎和 2 胎进行分析时不考虑胎次效应, 对经产的群体要加入胎次作为固定效应。各群体的具体分析模型如下: 1 胎/2 胎为  $y = \mu + g + m + e$ ,  $\geq 3$  胎为  $y = \mu + g + p + m + e$ 。

基因型与初生重的关联分析使用 SAS 自编程序语言, 采用固定线性模型进行计算。通过对性状进行多元回归和方差分析, 确定后续分析的固定效应。对具有固定效应的所有可能组合的几种模型进行了测试, 并对每种效应的意义进行了系统评估, 每个非显著效应都以逐步的方式从模型中移除。

加显性效应值采用 SAS 统计软件, 用线性模型分析基因型影响母羊产羔数和初生重的遗传效应, GLM 程序进行标记和性状间的关联分析, 基因效应分析统计模型: 除母羊个体为随机效应以外, 其他因素均为固定效应。所采用模型如下: 模型 1 为  $Y =$  总体均值 + 基因型 + 羊场环境效应 + 残差, 模型 2 为  $Y =$  总体均值 + 加性效应 + 显性效应 + 羊场环境效应 + 残差, 式中,  $Y$  为性状表型值, 加性效应 = (纯合子 1 - 纯合子 2) / 2, 用 1、0、-1 分别代表纯合子 1、杂合子、纯合子 2; 显性效应 = 杂合子 - (纯合子 1 + 纯合子 2) / 2, 用 1、-1、1 分别代表纯合子 1、杂合子、纯合子 2。

### 1.10 数据统计与分析

数据表示为“平均值 ± 标准误”, 采用 SPSS 软件对数据进行  $t$  检验,  $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 3BHSD 基因 SNPs 位点的遗传学分析

全基因组重测序分析结果鉴定 3BHSD 基因内与产羔数相关的 SNP 位点有 5 个, 分别为 g.96842543C>T、g.96846699T>C、g.96846704T>C、g.96847162T>C、g.96848096C>T; 与初生重相关的 SNP 位点有 4 个, 分别为 g.96841899C>T、g.96844274A>G、g.96844478G>A、g.96846360T>A。上述 SNPs 位点除 g.96841899C>T 及 g.96844478G>A 位点具有 2 种基因型外, 其他位点均含有 3 种基因型, 且多以纯合型基因型为主; 卡方适应性检验结果显示, 上述 9 个 SNPs 位点均符合 Hardy-Weinberg 平衡状态 ( $P > 0.05$ ); 遗传多态性分析显示, 除 g.96848096C>T 和 g.96844274A>G 位点呈现中度多态 ( $0.25 < PIC < 0.5$ ) 外, 其余 7 个 SNPs 位点均呈现出低度多态 ( $PIC < 0.25$ ) (表 1)。

表 1 山羊 3BHSD 基因 SNPs 位点的遗传学分析

SNPs	基因型频率 (样本数量)			等位基因频率		PIC	卡方值	P 值
	CC	CT	TT	C	T			
g. 96842543C>T	0.91 (414)	0.07 (32)	0.02 (9)	0.96	0.04	0.07	0.13	0.94
g. 96846699T>C	0.84 (420)	0.15 (75)	0.01 (5)	0.92	0.09	0.14	0.64	0.73
g. 96846704T>C	0.83 (408)	0.16 (79)	0.01 (5)	0.91	0.09	0.15	0.16	0.92
g. 96847162T>C	0.83 (414)	0.16 (80)	0.01 (5)	0.91	0.09	0.15	0.16	0.92
g. 96848096C>T	0.64 (313)	0.33 (161)	0.03 (15)	0.80	0.20	0.27	0.34	0.84
g. 96841899C>T	0.98 (337)	0.02 (7)	0	0.99	0.01	0.02	0.05	0.98
g. 96844274A>G	0.30 (104)	0.47 (163)	0.23 (80)	0.53	0.47	0.37	0.88	0.64
g. 96844478G>A	0.97 (326)	0.03 (10)	0	0.98	0.02	0.03	0.09	0.95
g. 96846360T>A	0.82 (285)	0.16 (56)	0.02 (7)	0.90	0.10	0.17	6.02	0.05

## 2.2 3BHSD 基因与产羔数相关的 SNPs 位点连锁不平衡分析

利用 Haploview 软件对 3BHSD 基因的 5 个 SNPs 位点进行了连锁不平衡分析,发现 g. 96842543C>T、g. 96846704T>C 和 g. 96847162T>C 3 个位点在黑头羊群体中紧密连锁,处于同一个连锁不平衡模块(图 1)。在黑头羊群体中共检测出 3 种组合基因型,分别为 CC-TT-TT、CT-TC-TC 和 TT-CC-CC,但 TT-CC-CC 基因型个体较少(1 只);将 3 种组合基因型与产羔数进行关联分析,结果显示差异不显著(表 2)。

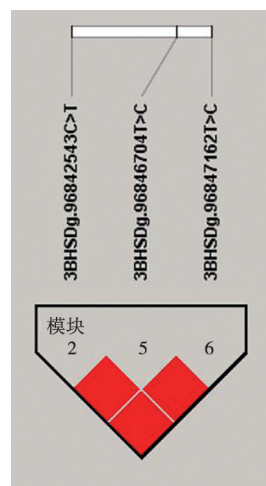


图 1 3BHSD 基因产羔数相关单核苷酸多态性位点的连锁不平衡分析

表 2 3BHSD 基因 g. 96842543C>T、g. 96846704T>C、g. 96847162T>C 位点组合基因型与产羔数的分析 只

性状	不同组合基因型的产羔数		
	CC-TT-TT	CT-TC-TC	TT-CC-CC
头胎	1.67±0.03	1.47±0.11	2.00±0.50
第二胎	1.86±0.03	2.00±0.13	2.00±0.66
第三胎	2.05±0.05	2.00±0.16	0
平均胎次	1.85±0.02	1.92±0.08	2.00±0.50

### 2.3 3BHSD 基因与初生重相关的 SNPs 位点连锁不平衡分析

利用 Haploview 软件对 3BHSD 基因的 4 个 SNPs 位点进行了连锁不平衡分析, 发现 g. 96841899C>T 和 g. 96844478G>A 2 个位点在黑头羊群体中紧密连锁, 处于同一个连锁不平衡模块 (图 2)。在黑头羊群体中共检测出 2 种组合基因型, 为 CC-GG 和 CT-GA; 将上述 2 种组合基因型与初生重进行关联分析, 结果显示差异不显著 (表 3)。

### 2.4 3BHSD 基因 SNPs 位点与山羊产羔数的关联分析

3BHSD 基因 g. 96842543C>T、g. 96846699T>C、g. 96846704T>C、g. 96847162T>C、g. 96848096C>T 5 个 SNPs 位点与黑头羊头胎、第二胎、第三胎及平均胎次产羔数进行关联分析, 如表 4 所示, g. 96842543C>T 位点中 TT 基因型的头胎产羔数显著高于 CC 和 CT 基因型 ( $P<0.05$ ), 二胎、三胎及平均胎次产羔数间差异不显著; g. 96846699T>C 位点中 CC 基因型的二胎产羔数显著高于 TT 和 TC 基因型 ( $P<0.05$ ), 其他胎次及平均胎次产羔数间差异不显著; g. 96846704T>C 位点中 CC 基因型的头胎产羔数显著高于 TT 和 TC 基因型 ( $P<0.05$ ), 其他胎次及平均胎次产羔数间差异不显著; g. 96847162T>C 位点中 CC 基因型的头胎、三胎及平均胎次产羔数均显著

高于 TT 和 TC 基因型 ( $P<0.05$ ); g. 96848096C>T 位点中 TT 基因型的二胎及平均胎次产羔数显著高于 CC 和 CT 基因型 ( $P<0.05$ ), 头胎及三胎产羔数间差异不显著。



图 2 3BHSD 基因初生重相关单核苷酸多态性位点的连锁不平衡分析

表 3 3BHSD 基因 g. 96841899C>T 和 g. 96844478G>A 位点组合基因型与初生重的关联分析

性状	基因型	
	CC-GG	CT-GA
初生重/kg	2.29±0.03	2.30±0.17
窝数	323	8

表 4 3BHSD 基因 SNPs 位点与山羊产羔数的关联分析

SNPs	性状	不同基因型产羔数/只			效应值	
		CC	CT	TT	加性	显性
g. 96842543C>T	头胎	1.67±0.03 <sup>a</sup>	1.47±0.11 <sup>a</sup>	3.00±0.56 <sup>b</sup>	-0.66±0.33	0.43±0.17
	第二胎	1.85±0.04	2.00±0.12	2.00±0.07	-0.07±0.33	-0.03±0.18
	第三胎	2.04±0.05	2.00±0.15	0	0.04±0.17	0
	平均胎次	1.84±0.03 <sup>a</sup>	1.92±0.09 <sup>b</sup>	2.50±0.51	-0.33±0.25	0.12±0.13
SNPs	性状	不同基因型产羔数/只			效应值	
		TT	TC	CC	加性	显性
g. 96846699T>C	头胎	1.65±0.03	1.68±0.08	1.60±0.30	0.03±0.15	-0.03±0.08
	第二胎	1.87±0.04 <sup>a</sup>	1.81±0.09 <sup>a</sup>	2.60±0.30 <sup>b</sup>	-0.36±0.15	0.21±0.09
	第三胎	2.04±0.05	2.04±0.11	1.75±0.36	0.15±0.18	-0.08±0.11
	平均胎次	1.72±0.22	1.83±0.06	1.85±0.02	0.07±0.11	-0.02±0.06
SNPs	产羔数/只	不同基因型产羔数/只			效应值	
		TT	TC	CC	加性	显性
g. 96846704T>C	头胎	1.67±0.03 <sup>a</sup>	1.58±0.07 <sup>a</sup>	2.67±0.38 <sup>b</sup>	-0.49±0.19	0.29±0.10
	第二胎	1.86±0.04	1.85±0.08	2.00±0.47	-0.06±0.23	0.04±0.12
	第三胎	2.04±0.05	2.02±0.01	0	0.03±0.11	0
	平均胎次	1.85±0.02	1.88±0.06	2.00±0.18	-0.08±0.14	0.02±0.08

续表4

SNPs	产羔数/只	不同基因型产羔数/只			效应值	
		TT	TC	CC	加性	显性
g. 96847162T>C	头胎	1.67±0.03 <sup>a</sup>	1.58±0.07 <sup>a</sup>	2.67±0.38 <sup>b</sup>	-0.49±0.19	0.29±0.10
	第二胎	1.86±0.04	1.91±0.08	2.00±0.47	-0.07±0.23	0.01±0.13
	第三胎	2.04±0.05 <sup>a</sup>	2.02±0.01 <sup>a</sup>	0	-0.03±0.11	0
	平均胎次	1.84±0.06 <sup>a</sup>	1.89±0.06 <sup>a</sup>	2.00±0.29 <sup>b</sup>	1.00±0.92	-0.05±0.04

SNPs	性状	不同基因型产羔数/只			效应值	
		CC	CT	TT	加性	显性
g. 96848096C>T	头胎	1.68±0.04	1.61±0.05	1.65±0.16	0.01±0.08	0.03±0.05
	第二胎	1.83±0.04 <sup>a</sup>	1.89±0.06 <sup>a</sup>	2.38±0.18 <sup>b</sup>	-0.27±0.09	0.11±0.05
	第三胎	2.02±0.06	2.05±0.07	2.42±0.27	-0.20±0.14	-0.08±0.08
	平均胎次	1.83±0.03 <sup>a</sup>	1.85±0.04 <sup>a</sup>	2.14±0.12 <sup>b</sup>	-0.15±0.06	0.06±0.04

注：同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

### 2.5 3BHSD 基因 SNP 位点与山羊初生重的关联分析

3BHSD 基因 g. 96841899C>T、g. 96844274A>G、g. 96844478G>A、g. 96846360T>A 4 个 SNPs 位点分别与黑头羊羔羊初生重进行关联分析，如表 5 所示，g. 96841899C>T 位点中 CT 基因型的初生重显著高于

CC 基因型 ( $P < 0.05$ )，无 TT 基因型个体出生；g. 96844274A>G 位点中 TT 基因型初生重显著高于 CC 和 CT 基因型 ( $P < 0.05$ )；g. 96844478G>A 位点中 GA 基因型初生重显著高于 GG 基因型 ( $P < 0.05$ )，无 AA 基因型个体出生；g. 96846360T>A 位点中 TT 和 TA 基因型初生重显著高于 AA 基因型 ( $P < 0.05$ )。

表 5 3BHSD 基因 SNPs 位点与初生重的关联分析

SNPs	不同基因型初生重/kg			效应值	
	CC	CT	TT	加性	显性
g. 96841899C>T	2.28±0.03 <sup>a</sup>	2.65±0.17 <sup>b</sup>	0	-0.37±0.17	0

SNPs	不同基因型初生重/kg			效应值	
	AA	AG	GG	加性	显性
g. 96844274A>G	2.35±0.05 <sup>a</sup>	2.28±0.04 <sup>a</sup>	2.50±0.05 <sup>b</sup>	-0.08±0.03	-0.07±0.02

SNPs	不同基因型初生重/kg			效应值	
	GG	GA	AA	加性	显性
g. 96844478G>A	2.29±0.14 <sup>a</sup>	2.87±0.14 <sup>b</sup>	0	-0.58±0.15	0

SNPs	不同基因型初生重/kg			效应值	
	TT	TA	AA	加性	显性
g. 96846360T>A	2.30±0.03 <sup>a</sup>	2.26±0.02 <sup>a</sup>	1.88±0.16 <sup>b</sup>	0.21±0.08	-0.08±0.05

### 3 讨论

有关 3BHSD 基因分子标记的研究报道主要集中在人类疾病方面，在动物范围内的研究较少。如 Tri-podi 等<sup>[10]</sup> 在人 3BHSD 基因上发现多个 SNPs 位点，这些位点可能通过血浆醛固酮影响血压；人 HSD3B2 基因 3'UTR 区的 SNP 变异增加了膀胱癌的风险<sup>[11]</sup>；Chang 等<sup>[12]</sup> 通过直接测序方法，在人 HSD3B1 和 HSD3B2 基因的潜在启动子区、外显子区、外显子-

内含子连接区及 3'UTR 区共鉴定出 11 个 SNPs，其中 HSD3B1-N367T 和 HSD3B2-c7519g 变异明显提高了男性患前列腺癌的风险，尤其是遗传性前列腺癌；临床外显子组测序发现 HSD3B2 基因第 4 外显子处有一个致病的纯合子变异 (c. 969T>G)，导致新生儿失盐型先天性肾上腺增生症<sup>[13]</sup>。Cue 等<sup>[14]</sup> 在猪 3BHSD 基因 5'侧翼区发现 3 个 SNPs 位点 (-532 bp, -437 bp, -180 bp)，这些位点与猪脂肪组织中的雄烯酮水平无显著关联，但具有品种依赖性；Grindflek 等<sup>[15]</sup> 在猪

3BHSD 基因的外显子 2 (271 bp) 和 5'UTR (-15 bp) 区发现 2 个 SNPs 位点, 但关联分析显示与猪睾丸中雄烯酮水平并无显著相关。高通量转录组测序发现 3BHSD 基因可能影响山羊的繁殖性能<sup>[8-9]</sup>, 因此本研究利用全基因组重测序技术, 筛选山羊 3BHSD 基因中的 SNP 位点, 并与繁殖性状指标进行关联分析。

低深度全基因组测序是一种低成本的基于二代测序的基因分型方法, 具有通量高、成本低、检测范围广的特点<sup>[16]</sup>。相较于 SNP 芯片, 低深度全基因组测序准确性高, 捕获的遗传信息量大<sup>[17]</sup>。与高深度测序相比, 大群体的低深度测序可大大降低测序成本, 而对基因组信息的获取能力并没有下降<sup>[18]</sup>。Alex 等<sup>[19]</sup>在模拟数据中发现, 100 个个体 1×深度全基因组测序得到的结果与 200 个个体 0.5×深度测序得到基因型信息无显著性差异, 而后者在群体数量较大的情况下低深度测序可以获取更多的个体信息。通过低深度全基因组重测序结合基因填充技术, 获得覆盖全基因组的高质量 SNP 标记, 已被广泛用于疾病筛查<sup>[20]</sup>、产前诊断<sup>[21]</sup>、家畜育种<sup>[22-23]</sup>等各研究领域。黑头羊是以麻城黑山羊为母本, 导入波尔山羊血统 (25%), 经杂交创新、基础群组建、世代选育这 3 个阶段培育的肉用山羊新品种, 2024 年初通过了国家畜禽遗传资源委员会的现场核验, 有望取得国家畜禽新品种证书。新品种初产母羊产羔率 (179.34 ± 31.21)%, 经产母羊产羔率 (216.16 ± 40.32)%, 公羊平均初生重 (2.53 ± 0.22) kg, 母羊平均初生重 (2.35 ± 0.19) kg。本研究对 34 个黑头羊样本进行高深度全基因组重测序 19.72×, 466 个样本进行低深度全基因组重测序 1.65×, 基于高深度测序数据对低深度测序数据的基因型填充的准确性进行评估, 使用 Sentieon Haplotyper 和 GVCFTyper 模块进行群体基因组遗传变异检测和分型, 再将变异检测的 VCF 文件使用 Beagle 进行基因型填充, 通过与 34 个高深度样本进行比对, 填充准确性达到 99.36%。

基于全基因组重测序筛选出 3BHSD 基因内与产羔数相关的 SNP 位点 5 个, 与初生重相关的 SNP 位点 4 个。多态性分析表明, 9 个 SNPs 位点均处于中度或低度多态, 无高度多态, 表明该群体存在人为选择。卡方适应性检测显示, 9 个 SNPs 在山羊群体中均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态, 表明遗传过程中 9 个位点的基因频率和基因型频率基本保持不变, 处于遗传平衡状态, 与相关性状关联分析时的可信度大。头胎产羔数可预知山羊一生的繁殖性能, 头胎产羔数越多, 表明山羊终生的繁殖能力越强; 在生产中选择头胎产双羔和前 3 胎产多羔的母羊, 可以提高母羊的双羔率和繁殖力。初生重也是一个重要的繁殖性状,

Afolayan 等<sup>[24]</sup>研究表明, 对羔羊的初生重进行筛选可有效改善羊群的生产性能和繁殖性能。鉴于此, 将 SNPs 位点与山羊前 3 胎产羔数和平均产羔数, 或羔羊初生重进行关联分析发现, g.96842543C>T、g.96846699T>C、g.96846704T>C、g.96847162T>C、g.96848096C>T 5 个 SNPs 位点都与黑头羊的头胎、第二胎、第三胎及平均产羔数中的一个或多个指标显著相关, 相关程度从高至低依次为 g.96847162T>C、g.96848096C>T、g.96842543C>T、g.96846704T>C、g.96846699T>C, 在生产中可优先选择相关度高的位点作为山羊繁殖性状遗传改良的分子标记; g.96841899C>T、g.96844274A>G、g.96844478G>A、g.96846360T>A 4 个 SNPs 位点都与初生重显著相关。需要说明的是, 有些基因型母羊没有后代, 比如 g.96841899C>T 位点的 TT 基因型, 当母羊出现 TT 纯合基因型时, 可能导致胎儿难以发育, 这也可能是一些母羊久配不孕的一个原因。连锁不平衡分析用于检测多态位点之间的互作关系, 单倍型则包含多个 SNPs 简单相加和互作<sup>[25]</sup>, 结合关联分析可将复杂性能与 SNP 为主的多态性位点连接起来, 对遗传育种的突破具有重要意义<sup>[26]</sup>。连锁不平衡分析显示, g.96842543C>T、g.96846704T>C 和 g.96847162T>C 3 个位点, g.96841899C>T 和 g.96844478G>A 2 个位点紧密连锁遗传, 但组合基因型间与性状关联分析差异不显著, 表明组合基因型的效应与单个基因型的效应相比, 没有显著优势。全转录组测序分析发情期和休情期的山羊卵巢组织发现 3BHSD 为差异表达基因<sup>[8,27]</sup>; 对高产山羊和低产山羊卵泡期的卵巢组织进行转录组测序分析, 鉴定 3BHSD 是差异最显著基因之一<sup>[9]</sup>。上述表明 3BHSD 可能主要通过调控卵泡发育影响山羊的繁殖性能, 在其他物种中也有类似报道, 如通过对高卵泡数和低卵泡数的母牛研究发现, 3BHSD 基因通过睾酮影响卵泡发育进而影响其生育能力<sup>[28]</sup>。SNP 可通过影响 mRNA 剪切效率和准确性影响蛋白质表达水平, 也可通过改变 mRNA 构象进而改变蛋白质结构, 或通过改变启动子区转录因子结合位点影响 mRNA 转录活性。本研究中 3BHSD 基因 SNPs 影响繁殖性能的具体机制还有待进一步研究。

## 4 结论

本研究通过全基因组重测序方法在 500 只黑头羊群体中筛选到 3BHSD 基因的 9 个 SNPs 位点, 均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态, g.96847162T>C、g.96848096C>T、g.96842543C>T、g.96846704T>C、g.96846699T>C 这 5 个位点与山羊产羔数显著相关, g.96841899C>T、g.96844274A>G、g.96844478G>A、

g. 96846360T>A 这 4 个 SNPs 位点与初生重显著相关。上述 SNPs 位点可作为山羊繁殖性状遗传改良的新的分子标记, 而且这 9 个 SNPs 位点也可作为黑头羊新品种培育过程中繁殖性能的潜在候选遗传标记。

## 参考文献:

- [1] 骆潇怡, 蒲海霞, 王少彬. 我国居民饮食研究的知识网络结构及演化特征 [J]. 西南大学学报 (自然科学版), 2023, 45 (10): 169-176.
- [2] 刘瑶. 我国羊肉产业现状及未来发展趋势 [J]. 中国饲料, 2019 (17): 112-117.
- [3] ULLAH I, KHAN R, SUHAIL S M, et al. Association of polymorphism in the promotor area of the caprine BMP1B gene with litter size and body measurement traits in Damani goats [J]. Trop Anim Health Prod, 2024, 56 (4): 137.
- [4] ZHANG Y, CHEN X, RUAN Y, et al. Effect of CTSS non-synonymous mutations on litter size in Qianbei Ma goats [J]. Front Vet Sci, 2023, 10: 1276673.
- [5] RUAN Y, DAI L, HUANG J, et al. A novel nonsynonymous SNP in the OLR1 gene associated with litter size in Guizhou white goats [J]. Theriogenology, 2023, 200: 1-10.
- [6] AN D, CHEN X, LI Z, et al. Genetic variation in the BLM gene and its expression in the ovaries is closely related to kidding number in goats [J]. Theriogenology, 2024, 218: 254-266.
- [7] 韩浩园, 李涛, 李世凯, 等. CJB6 和 PRKAA1 基因多态性及其与槐山羊产羔数的关联分析 [J]. 华北农学报, 2023, 38 (4): 225-232.
- [8] LIU Y, WU X, XIE J, et al. Identification of transcriptome differences in goat ovaries at the follicular phase and the luteal phase using an RNA-Seq method [J]. Theriogenology, 2020, 158: 239-249.
- [9] ZI X D, LU J Y, ZHOU H, et al. Comparative analysis of ovarian transcriptomes between prolific and non-prolific goat breeds via high-throughput sequencing [J]. Reprod Domest Anim, 2018, 53 (2): 344-351.
- [10] TRIPODI G, CITTERIO L, KOUZNETSOVA T, et al. Steroid biosynthesis and renal excretion in human essential hypertension: association with blood pressure and endogenous ouabain [J]. Am J Hypertens, 2009, 22 (4): 357-363.
- [11] ANDREW A S, HU T, GU J, et al. HSD3B and gene-gene interactions in a pathway-based analysis of genetic susceptibility to bladder cancer [J]. PLoS One, 2012, 7 (12): e51301.
- [12] CHANG B L, ZHENG S L, HAWKINS G A, et al. Joint effect of HSD3B1 and HSD3B2 genes is associated with hereditary and sporadic prostate cancer susceptibility [J]. Cancer Res, 2002, 62 (6): 1784-1789.
- [13] MELLONE S, BERTELLI E, ROVIGLIONE B, et al. Co-occurrence of a pathogenic HSD3B2 variant and a duplication on 10q22.3-q23.2 detected in newborn twins with salt-wasting congenital adrenal hyperplasia [J]. Genes (Basel), 2022, 13 (12): 2190.
- [14] CUE R A, NICOLAU-SOLANO S I, MCGIVAN J D, et al. Breed-associated variations in the sequence of the pig 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase gene [J]. J Anim Sci, 2007, 85 (3): 571-576.
- [15] GRINDFLEK E, BERGET I, MOE M, et al. Transcript profiling of candidate genes in testis of pigs exhibiting large differences in androstenone levels [J]. BMC Genet, 2010, 11: 4.
- [16] 赵真坚, 王书杰, 陈栋, 等. 基于低深度全基因组测序分析内江猪群体结构和遗传多样性 [J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54 (6): 2297-2307.
- [17] DENG T Y, ZHANG P F, GARRICK D, et al. Comparison of genotype imputation for SNP array and low-coverage whole-genome sequencing data [J]. Front Genet, 2021, 12: 704118.
- [18] YANG R, GUO X, ZHU D, et al. Accelerated deciphering of the genetic architecture of agricultural economic traits in pigs using a low-coverage whole-genome sequencing strategy [J]. Gigascience, 2021, 10 (7): giab048.
- [19] ALEX BUERKLE C, GOMPERT Z. Population genomics based on low coverage sequencing: how low should we go? [J]. Mol Ecol, 2013, 22 (11): 3028-3035.
- [20] NACHMANSON D, PAGADALA M, STEWARD J, et al. Accurate genome-wide genotyping from archival tissue to explore the contribution of common genetic variants to pre-cancer outcomes [J]. J Transl Med, 2022, 20 (1): 623.
- [21] 李奉瑾, 姚欣雨, 张玉萍. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的研究进展 [J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48 (1): 75-78.
- [22] ZHU D, ZHAO Y Q, ZHANG R, et al. Genomic prediction based on selective linkage disequilibrium pruning of low-coverage whole-genome sequence variants in a pure Duroc population [J]. Genet Sel Evol, 2023, 55 (1): 72.
- [23] ZHA C W, LIU K Y, WU J, et al. Combining genome-wide association study based on low-coverage whole genome sequencing and transcriptome analysis to reveal the key candidate genes affecting meat color in pigs [J]. Anim Genet, 2023, 54 (3): 295-306.
- [24] AFOLAYAN R A, FOGARTY N M, GILMOUR A R, et al. Genetic correlations between early growth and wool production of crossbred ewes and their subsequent reproduction [J]. Anim Prod Sci, 2009, 49 (1): 17-23.
- [25] 栾奕昭, 左晓宇, 刘轲, 等. 基于单核苷酸多态性的基因互作分析方法学进展 [J]. 遗传, 2013, 35 (12): 1331-1339.
- [26] LARA L A C, POCRNIC I, OLIVEIRA T P, et al. Temporal and genomic analysis of additive genetic variance in breeding programmes [J]. Heredity (Edinb), 2022, 128 (1): 21-32.
- [27] AN X P, ZHANG Y, LI F, et al. Whole transcriptome analysis: implication to estrous cycle regulation [J]. Biology, 2021, 10: 464.
- [28] LOUREIRO B, ERENO R L, FAVORETO M G, et al. Expression of androgen-producing enzyme genes and testosterone concentration in Angus and Nellore heifers with high and low ovarian follicle count [J]. Theriogenology, 2016, 86 (2): 523-527.