

## 4 个山羊品种 *GDF9*、*BMP15*、*FSHR* 基因的多态性分析

孟丽娜, 李 婷, 张英杰\*, 刘月琴

(河北农业大学 动物科技学院, 河北 保定 071000)

**摘要:** 采用 RFLP 和 SSCP 2 种方法研究了生长分化因子 9 (*GDF9*) 基因、骨形态发生蛋白 15 (*BMP15*) 基因和促卵泡素受体 (*FSHR*) 基因在河北绒山羊、美姑黑山羊、承德黑山羊、河南槐山羊 4 个山羊品种中的多态性。结果显示, 在 4 个山羊品种中未检测到 *GDF9* 的突变位点; *BMP15* 基因出现 1 处突变位点 (890 bp 处, G→T), 但未引起基因型改变; *FSHR* 基因出现 3 种基因型 HH、HK、KK, 存在 1 处突变位点 (1 568 bp 处, C→G)。河南槐山羊 Hardy-Weinberg 不平衡, 且为中度多态。表明检测的 *FSHR* 基因在 4 个山羊品种中存在多态性。

**关键词:** 山羊; *GDF9* 基因; *BMP15* 基因; *FSHR* 基因; 多态性

中图分类号: S827 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2014)07-0144-06

## Polymorphism Analysis of *GDF9*, *BMP15* and *FSHR* Genes in Four Goat Breeds

MENG Li-na, LI Ting, ZHANG Ying-jie\*, LIU Yue-qin

(College of Animal Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

**Abstract:** RFLP and SSCP were used to research the polymorphisms of *GDF9* gene, *BMP15* gene and *FSHR* gene in the four goat breeds including Hebei cashmere goat, Meigu black goat, Chengde black goat, Henan Huai goat. The results showed that the mutation site of *GDF9* gene was not detected in the four goat breeds. The *BMP15* gene showed a mutation at 890 bp (G→T), but did not cause genotypes changing. The *FSHR* gene showed three genotypes HH, HK, KK and there was a mutation at 1 568 bp (C→G). Henan Huai goat didn't reach to Hardy-Weinberg equilibrium status, and it displayed moderate polymorphism. The results indicated that the *FSHR* gene had polymorphism in the four goat breeds.

**Key words:** goat; *GDF9*; *BMP15*; *FSHR*; polymorphism

生长分化因子 9 (*GDF9*) 和骨形态发生蛋白 (*BMP15*) 均由卵母细胞分泌, 对早期卵母细胞分化和生长有重要的调节作用。促卵泡受体 (*FSHR*) 属 G 蛋白偶联受体超家族中的糖蛋白亚家族成员, 调控动物繁殖活动, 主要调节动物卵巢

卵泡的生长、发育、分化和成熟。*GDF9* 基因属于转化生长因子  $\beta$  (TGF $\beta$ ) 超家族中的成员<sup>[1]</sup>, 在绵羊上存在 8 个突变位点, *FecG<sup>H</sup>* 是其中 1 个碱基突变位点, 它对介导 *GDF9* 与 I 型受体结合起关键作用。Hanrahan 等<sup>[2]</sup> 发现, *FecG<sup>H</sup>* 突变后杂合的

收稿日期: 2014-02-26

基金项目: 国家现代肉羊产业技术体系建设项目 (CARS-39)

作者简介: 孟丽娜 (1986-), 女, 河北邯郸人, 在读硕士研究生, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。

E-mail: mengln@126.com

\* 通讯作者: 张英杰 (1964-), 男, 河北黄骅人, 教授, 博士, 主要从事动物营养和动物遗传育种与繁殖研究。

E-mail: zhangyingjie66@126.com

Belclare 和 Cambridge 绵羊的排卵数分别增加 1.79 枚和 2.35 枚。滑国华<sup>[3]</sup>发现了 *BMP15* 基因的 1 个突变位点(718 bp 处,C→T),并定义为 B2 突变。目前,编码这 3 个蛋白的基因在绵羊上研究较多,但在山羊上研究较少。管峰等<sup>[4]</sup>在湖羊中检测到了 *FecG<sup>H</sup>* 突变,但何远清等<sup>[5]</sup>在济宁青山羊等品种中未检测到 *FecG<sup>H</sup>* 突变。研究发现,*BMP15* 基因对湖羊和中国美利奴羊的繁殖力高低没有影响<sup>[6]</sup>,但对小尾寒羊高繁殖力影响作用明显<sup>[7]</sup>。王继卿<sup>[8]</sup>研究发现,5 个绵羊品种 *FSHR* 基因第 10 外显子无多态性。谭广梅等<sup>[9]</sup>发现,*FSHR* 基因的第 10 外显子部分序列有突变,出现 2 种基因型,且 K 等位基因与海门山羊产羔数呈显著正相关。于艳<sup>[10]</sup>研究该基因也发现了 2 处突变,且均引起氨基酸的改变。以上研究表明,*GDF9*、*BMP15*、*FSHR* 这 3 个基因的突变或失活都有可能影响动物繁殖性状。鉴于此,以高繁(美姑黑山羊和河南槐山羊)和低繁(河北绒山羊和承德黑山羊)山羊品种为研究对象,采用 RFLP 和 SSCP 2 种方法分析候选基因 *GDF9*、*BMP15*、*FSHR* 的多态性,旨在探讨这 3 个基因与山羊繁殖性状的相关性,为山羊的多胎性状研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

采集具有第 1、2 胎产羔数记录的母山羊血样及配

种用的公山羊血样,其中河北绒山羊第 1、2 胎只产 1 胎的母羊 30 只,产 2 胎以上的母羊 30 只及承德黑山羊母羊 30 只,血样采自河北省承德市宽城县养殖户;美姑黑山羊,母羊 31 只,公羊 11 只,采自四川省西昌市美姑县养殖户;河南槐山羊母羊 48 只,公羊 4 只,采自河南省周口市沈丘县槐山羊保种场。静脉采血,每只供试羊采血 3~5 mL,肝素钠抗凝,-20℃保存。

1.2 主要试剂

DNA 血液提取试剂盒,2×Easy Taq PCR Super Mix 购于北京全式金生物技术有限公司;2×Taq Master Mix(PAGE 胶专用)购于北京康为世纪生物科技有限公司;限制性内切酶 *Dde* I、凝胶回收试剂盒(SanPrep 柱式 PCR 产物纯化试剂盒)购于生工生物工程(上海)股份有限公司;pMD18-T 载体试剂盒、*E. coli* JM109 感受态细胞购于宝生物工程有限公司。

1.3 引物设计

从 GenBank 下载山羊 *GDF9*、绵羊 *BMP15*、牛 *FSHR* 基因序列,应用 Primer premier 5.0 软件设计引物,其中 *GDF9* 基因参照 Hanrahan 等<sup>[2]</sup>的方法使扩增片段产生 1 个限制性酶切位点,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列见表 1。

1.4 DNA 提取及 PCR 扩增

每份采集的血样取 250 μL,按 DNA 血液提取试剂盒操作说明提取 DNA,用 200 μL 超纯水洗脱,将提取的 DNA 在核酸蛋白测定仪上测定纯度、含量。

表 1 3 对引物的序列及扩增长度

引物	基因	引物序列(5'-3')	片段长度/bp
P1	<i>GDF9</i>	F:CTTTAGTCAGCTGAAGTGGGACAAC	139
		R:ATGGATGATGTTCTGCACCATGGTGTGAACCTGA	
P2	<i>BMP15</i>	F:CAGCAGCCAAGAGGTAGTGAGG	320
		R:AGATGGGGAGCAATGATCCAGT	
P3	<i>FSHR</i>	F:ATCACGCTGGAAAGATGGCATACC	230
		R:GACATTGAGCACAAGGAGGGAC	

以提取的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,根据引物 P1、P2、P3 特性,优化选择出最佳的反应体系和反应条件。反应体系为:模板 1 μL(P1、P2)、1.5 μL(P3),上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 7 μL(P1、P2)、6 μL(P3),2×Easy Taq PCR Super Mix 10 μL(P1、P2)、10.5 μL(P3)。反应条件为:预变性 94℃ 5 min;变性 94℃ 30 s(P1)、95℃ 30 s(P2、P3),退火 62℃ 30 s(P1)、61.5℃ 40 s(P2)、

62.5℃ 30 s(P3),循环数 30(P1、P2)、35(P3);延伸 72℃ 8 min。

1.5 RFLP 分析

*GDF9* 基因扩增的 PCR 产物用 *Dde* I 酶切,酶切体系 20 μL:PCR 产物 5 μL,限制性内切酶 1 μL,10×Buffer 2 μL,无菌水 12 μL。在 37℃ 恒温培养箱中酶切 6~12 h。取 5 μL 酶切产物进行 3%的琼脂糖凝胶电泳。

## 1.6 SSCP 分型

*BMP15* 和 *FSHR* 基因扩增的 PCR 产物经 95 °C 变性 10 min, 快速放入冰盒中使 DNA 复性 10 min。然后进行 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染显带并拍照分析。

## 1.7 克隆测序

针对每个基因, 各个品种随机选择 2~3 个样品进行克隆测序。将 PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 切下目的片段, 用凝胶回收试剂盒回收阳性片段, 将其连接到 pMD18-T 载体中, 16 °C 连接 4 h, 构建重组质粒, 之后转染到 JM109 感受态细胞中, 摇菌, 检测阳性克隆, 测序反应由华大基因公司完成。

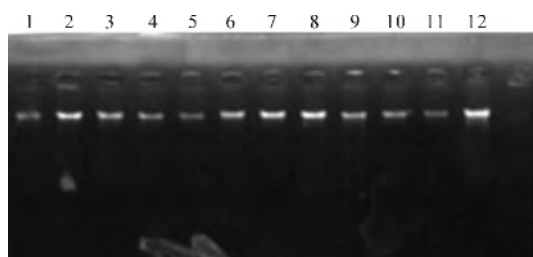
## 1.8 统计分析

采用 SPSS 17.0 软件对基因频率、基因型频率进行卡方独立性检验分析。采用 POPGene32 软件对 *FSHR* 基因进行 Hardy-Weinberg 平衡检验以及遗传多样性参数杂合度 ( $He$ )、纯合度 ( $Ho$ )、有效等位基因数 ( $Ne$ ) 和多态信息含量 ( $PIC$ ) 分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 DNA 提取结果

将提取的 DNA 在琼脂糖凝胶电泳中进行检测, 如图 1 显示, 1~12 为随机选取 4 个山羊品种中每个品种的 3 个样品, 可见 DNA 条带清晰, 样品无降解, 且无 RNA 污染。OD<sub>260/280</sub> 均在 1.8~2.0, 含量 20~50 ng/ $\mu$ L。

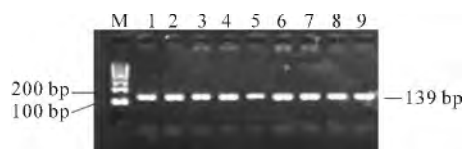


1—3. 河北绒山羊; 4—6. 美姑黑山羊; 7—9. 承德黑山羊; 10—12. 河南槐山羊

图 1 4 个山羊品种血样 DNA 提取结果

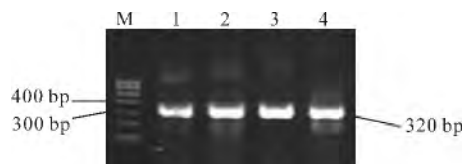
## 2.2 PCR 扩增结果

山羊 *GDF9* 基因的 PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 如图 2 所示, 在 139 bp 处出现目的 DNA 扩增带; 图 3 为 *BMP15* 基因 PCR 扩增产物, 片段大小为 320 bp; 图 4 为 *FSHR* 基因 PCR 扩增产物, 片段大小为 230 bp, 扩增产物均与预期的片段大小一致, 可进行后续试验。



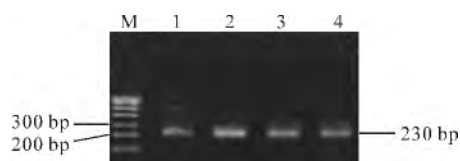
M. Marker I; 1—2. 河北绒山羊; 3—4. 美姑黑山羊; 5—6. 承德黑山羊; 7—9. 河南槐山羊

图 2 *GDF9* 基因的 PCR 扩增结果



M. Marker I; 1. 河北绒山羊; 2. 美姑黑山羊; 3. 承德黑山羊; 4. 河南槐山羊

图 3 *BMP15* 基因的 PCR 扩增结果

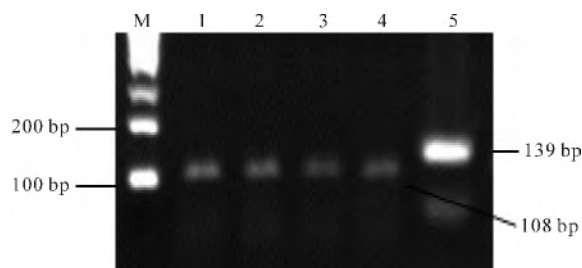


M. Marker I; 1. 河北绒山羊; 2. 美姑黑山羊; 3. 承德黑山羊; 4. 河南槐山羊

图 4 *FSHR* 基因的 PCR 扩增结果

## 2.3 *GDF9* 基因 RFLP 分析结果

用限制性内切酶 *Dde* I 对不同山羊品种 *GDF9* 基因 (139 bp) 的 PCR 产物进行酶切, 结果显示, 4 个山羊品种的 PCR 产物均被内切酶 *Dde* I 完全切开, 得到 2 条酶切条带 (108 bp 和 31 bp, 因 31 bp 条带太弱, 凝胶图片上未显示)。可见, 该基因在 4 个山羊品种中不存在多态性 (图 5)。



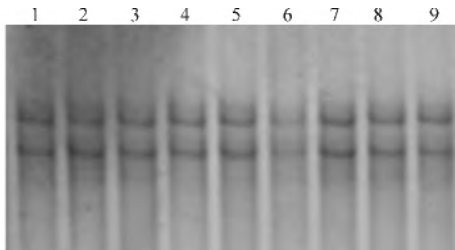
M. DNA Marker I; 1. 河北绒山羊; 2. 美姑黑山羊; 3. 承德黑山羊; 4. 河南槐山羊; 5. 未经酶切的 PCR 产物

图 5 P1 引物的 PCR 产物被 *Dde* I 酶切后的结果

## 2.4 *BMP15*、*FSHR* 基因 SSCP 分型结果

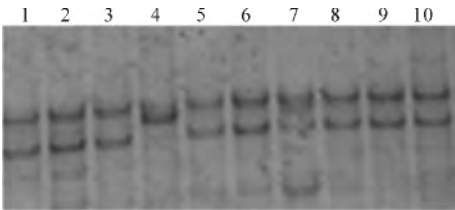
由图 6 可以看出, P2 引物的 PCR 产物进行变性形成单链后经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 4 个山羊品种均出现 2 条带, 为 1 种基因型, 表明 4 个山羊品种

的 *BMP15* 基因均无突变,不存在多态性。由图 7 可以看出, *FSHR* 基因发生了突变,出现了 3 种基因型,定义为 HH、KK、HK,其中出现 2 条带的为纯合型 HH 和 KK,出现 4 条带的为杂合型 HK。



1—2. 河北绒山羊; 3—4. 美姑黑山羊; 5—6. 承德黑山羊; 7—9. 河南槐山羊

图 6 P2 引物 PCR 产物的 SSCP 分型结果



1—2. 河北绒山羊; 3—4. 美姑黑山羊; 5—7. 河南槐山羊; 8—9. 承德黑山羊

图 7 P3 引物 PCR 产物的 SSCP 分型结果

2.5 基因序列分析

将测序结果用 BioEdit 软件进行同源性比较,结果显示,所扩增 *GDF9* 基因片段序列与 GenBank 上山羊 *GDF9* 基因(EF446168. 2)同源性为 100%,与绵羊 (AF078545)、人 (NM\_005260)、牛 (AY192018)*GDF9* 基因同源性分别为 99%、93%、97%。山羊 *GDF9* 基因克隆片段与绵羊相应序列 (AF236079)比较存在 2 处多态位点,山羊 4 071 bp

处发生 C→T 的碱基突变,4 091 bp 处发生 C→A 突变(图 8)。山羊 *BMP15* 基因的克隆片段 890 bp 处由 G 突变为 T,但没有引起氨基酸改变。*FSHR* 基因测序结果与牛序列(NM174061)的同源性为 97%,与绵羊序列(L36115)同源性为 98%,与绵羊序列相比发生了 1 处突变,为 1 568 位点 C→G(图 9)。

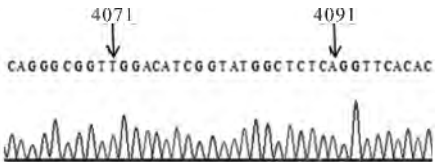


图 8 *GDF9* 基因测序结果

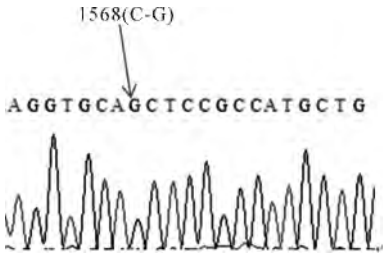


图 9 *FSHR* 基因测序结果

2.6 *FSHR* 基因频率和基因型频率的分析

由表 2 可以看出,在 4 个山羊品种中等位基因 H 比等位基因 K 的频率高,等位基因 H 频率最高的是绒山羊(双羔),其次是绒山羊(单羔),河南槐山羊和美姑黑山羊较低,而承德黑山羊无突变位点,只有 1 个基因型 HH。由基因型频率看,HH 基因型所占的比重比较大,在河南槐山羊基因型中 HH>HK>KK,河北绒山羊和美姑黑山羊基因型 HH>KK>HK。可见,在 4 个山羊品种中 H 为优势等位基因。

表 2 *FSHR* 基因在 4 个山羊品种中的基因频率和基因型频率

品种	数量/只	基因频率		基因型频率		
		H	K	HH	HK	KK
绒山羊(单羔)	30	0.933(56)	0.067(4)	0.933(28)	0.000(0)	0.067(2)
绒山羊(双羔)	30	0.967(52)	0.033(8)	0.967(29)	0.000(0)	0.033(1)
美姑黑山羊	42	0.750(66)	0.250(22)	0.682(30)	0.136(6)	0.182(8)
承德黑山羊	18	1.000(36)	0.000(0)	1.000(18)	0.000(0)	0.000(0)
河南槐山羊	52	0.837(87)	0.163(17)	0.750(39)	0.173(9)	0.077(4)

注:括号内的数字为基因个体数。

2.7 *FSHR* 基因的 Hardy-Weinberg 平衡检测

从表 3 可以看出,经  $\chi^2$  检验,绒山羊、承德黑山羊和美姑黑山羊 *FSHR* 基因的  $\chi^2$  值均未达到显著水平,说明该基因在这 3 个品种中达到了 Hardy-

Weinberg 平衡状态,而河南槐山羊  $\chi^2$  值达到了显著水平,表明 Hardy-Weinberg 不平衡。由此可以看出,该基因在 4 个山羊品种中(河南槐山羊除外)可能不受选育措施的影响,处于群体遗传平衡状态。

表 3 *FSHR* 基因的 Hardy-Weinberg 平衡状态的检测

品种	数量/ 只	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值	不同基因型个体数/只		
				HH	HK	KK
绒山羊(单羔)	30	—	—	28	0	2
绒山羊(双羔)	30	—	—	29	0	1
美姑黑山羊	42	5.480	0.190	30	6	8
承德黑山羊	18	—	—	18	0	0
河南槐山羊	52	9.563	0.008	39	9	4

注:  $\chi^2_{0.05(2)} = 5.99$ ,  $\chi^2_{0.01(2)} = 9.21$ 。

## 2.8 不同品种 *FSHR* 基因型分布差异检验分析

从表 4 可以看出,4 个山羊品种的 *FSHR* 基因(其中绒山羊分为产单羔和双羔)经 SSCP 分型以后,产生的基因型存在一定的差异。绒山羊单羔和双羔都与美姑黑山羊基因型分布差异极显著,美姑黑山羊和承德黑山羊之间差异极显著,河南槐山羊与绒山羊(单羔和双羔)及承德黑山羊差异显著。而绒山羊与承德黑山羊之间基因型分布差异不显著,美姑黑山羊与河南槐山羊之间基因型分布差异不显著。*FSHR* 基因的突变位点可能与山羊的繁殖力相关。

表 4 *FSHR* 基因在 4 个山羊群体中基因型分布的  $\chi^2$  独立性检验

品种	绒山羊 (单羔)	绒山羊 (双羔)	美姑黑 山羊	承德黑 山羊	河南槐 山羊
绒山羊(单羔)	—	0.000	9.0577**	0.139	6.202*
绒山羊(双羔)		—	11.868**	0.000	8.407*
美姑黑山羊			—	11.193**	0.971
承德黑山羊				—	8.710*
河南槐山羊					—

注: \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ 。

## 2.9 *FSHR* 基因遗传多样性参数分析

由表 5 可以看出,绒山羊的杂合度比较低,为 0.125 和 0.064,美姑黑山羊为 0.375,河南槐山羊为 0.273。美姑黑山羊和河南槐山羊的有效等位基因数分别为 1.600、1.376,与检测到的等位基因数比较接近,表明等位基因在这 2 个群体中分布较均匀,受人工选择的压力不大;多态信息含量显示为中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ ),说明基因的多态性较高,遗传变异较大。

表 5 4 个山羊群体 *FSHR* 基因遗传多样性

品种	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>
绒山羊(单羔)	0.875	0.125	1.143	0.120 2
绒山羊(双羔)	0.936	0.064	1.068	0.062 3
美姑黑山羊	0.625	0.375	1.600	0.304 7
承德黑山羊	1.000	0	1.000	—
河南槐山羊	0.727	0.273	1.376	0.277 9

注:  $PIC > 0.5$  为高度多态,  $0.25 < PIC < 0.5$  为中度多态,  $PIC < 0.25$  为低度多态。

## 3 结论与讨论

### 3.1 *GDF9* 和 *BMP15* 基因多态性

*GDF9* 基因和 *BMP15* 基因在 4 个山羊品种中均不存在多态性, *BMP15* 基因 P2 引物的扩增片段在 890 bp 处由 G 突变为 T,但没有引起氨基酸的改变。

*GDF9* 与 *BMP15* 等生长因子都对山羊的繁殖活动有着一定的调控能力,影响卵泡的生长、发育,并且会抑制黄体细胞中孕酮的生成<sup>[11]</sup>。颜泉梅等<sup>[12]</sup>根据绵羊 *GDF9* 基因序列设计 4 对引物,采用 PCR-SSCP 技术检测山羊 *GDF9* 基因的多态性,发现了多种基因型,测序发现外显子 2 的 792 bp 处有 1 个 G→A 的单碱基突变,证实 *GDF9* 基因对西农莎能奶山羊和波尔山羊的产羔数均有显著影响。索效军等<sup>[13]</sup>检测了麻城黑山羊、宜昌白山羊、马头山羊、南江黄羊、波尔山羊 5 个山羊品种 *GDF9* 基因的多态性,均没有发现突变。储明星等<sup>[14]</sup>在小尾寒羊中检测到了 B2 突变,研究表明 *BMP15* 基因的 B2 突变对小尾寒羊高繁殖力影响作用十分明显。Van Vleck 等<sup>[15]</sup>采用 RFLP 方法研究 4 个山羊品种 *BMP15* 基因,未发现多态性。在本研究中,这 2 个基因没有多态性,是否与山羊的繁殖力无关还需进一步研究。

### 3.2 *FSHR* 基因多态性

本研究发现了 *FSHR* 基因 3 个基因型: HH、HK、KK。高繁山羊与低繁山羊之间基因型分布差异显著(河北绒山羊、承德黑山羊与河南槐山羊之间)或极显著(绒山羊、承德黑山羊与美姑黑山羊之间),而低繁与低繁山羊之间和高繁与高繁山羊之间差异不显著,说明不同基因型的分布差异在高繁和低繁山羊之间比较明显。经 Hardy-Weinberg 平衡检验分析,除河南槐山羊外,其他品种处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,说明这 3 个品种可能不受群体选育措施影响,处于群体遗传的平衡状态。多态信息含量分析发现,美姑黑山羊和河南槐山羊都为中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ ),说明基因多态性较高,有遗传变异的可能。美姑黑山羊和河南槐山羊为高繁山羊,尤其河南槐山羊的 *FSHR* 基因的多态性较高,且与低繁山羊之间基因型分布差异显著,通过高繁和低繁山羊之间对比研究可以发现, *FSHR* 基因具有一定的多态性,可能会影响山羊的高繁殖力。

*FSHR* 在动物繁殖活动中具有调节卵泡生长发育的作用。由于 FSH 是生物大分子,不能透过细胞

膜,必须与位于靶细胞膜上的 *FSHR* 结合,经过受体介导信息传递到靶细胞内,才能发挥山羊 *FSH* 的生物学功能,*FSHR* 基因的突变可能会增强或者减弱 *FSH* 信息转导的功能,会对生殖表型产生影响。Van Vleck 等<sup>[15]</sup>研究表明,牛的双胎与排卵的遗传相关性接近于 1.00。*FSHR* 基因作为高繁殖力候选基因近年来也得到广泛的研究。Rahal 等<sup>[16]</sup>在研究母牛 *FSHR* 基因的外显子 10 的突变时,发现发生突变的位点除第 1 506 bp 处碱基 C→T 突变外,还有第 1 593 bp 处碱基由 T→C。何荆洲<sup>[17]</sup>通过对 *FSHR* 基因外显子 10 扩增、测序及 SSCP 分析发现,该基因在荷斯坦牛有 3 种基因型:AA、BB、AB,碱基突变引起了氨基酸的改变,存在多态性。近年来在绵羊和山羊上也开始了对 *FSHR* 基因的序列测序和多态性研究,杨易等<sup>[18]</sup>通过 RFLP 方法研究 *FSHR* 基因在宁夏滩羊的多态性,发现了 3 种基因型:GG、CC、CG。等位基因 G 和 C 基因频率差异显著,C 为优势基因。姜怀志<sup>[19]</sup>对山羊 *FSHR* 第 10 外显子采用 SSCP 的方法检测基因多态性,发现在其 1 606 bp 处碱基有 C→T 的单碱基突变。本研究对 PCR 产物测序也发现有 1 处碱基突变(1 568 bp 处,C→G),有 3 种基因型 HH、HK、KK,H 为优势等位基因,本研究结果显示 *FSHR* 基因具有多态性,可能会影响山羊的高繁殖力,但是否为影响山羊的主效基因,还需要进一步扩大样品进行研究。

#### 参考文献:

- [1] 高丽霞. 小尾寒羊 *TGF-β1* 和 *GDF9* 基因多态性及其与繁殖力关系的研究[D]. 北京:中国农业科学院,2007.
- [2] Hanrahan J P, Gregan S M, Mulsant P, et al. Mutation in the genes for oocyte-derived growth factor *GDF9* and *BMP15* are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (ovis aries) [J]. Biology Reproduction, 2004, 70: 900-909.
- [3] 滑国华. 山羊繁殖性状五个候选基因多态性及其与产羔数性状关联分析[D]. 武汉:华中农业大学,2006.
- [4] 管峰,艾君涛,庞训胜,等. 绵羊 *GDF9* 和 *BMP15* 基因多态性检测[J]. 生命科学研究, 2005, 9(2): 184-188.
- [5] 何远清,储明星,王金玉,等. 山羊高繁殖力候选基因 *GDF9* 的 RFLP 分析[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(1): 135-136.
- [6] 吴勇聪,应诗家,闫益波,等. 绵羊 *BMP15* 基因的多态性及其与湖羊产羔量的相关性[J]. 西北农业学报, 2011, 20(3): 3-7.
- [7] 桑林华. 小尾寒羊高繁殖力候选基因 *BMPIA*, *BMP15* 和 *GDF9* 的研究[D]. 扬州:扬州大学,2005.
- [8] 王继卿. *FSHβ* 和 *FSHR* 基因多态性及其对小尾寒羊产羔数的遗传效应[D]. 兰州:甘肃农业大学,2008.
- [9] 谭广梅,李拥军,张丽. 海门山羊 *FSHR* 基因外显子 10 的 PCR-SSCP 分析[J]. 中国草食动物, 2008(4): 12-14.
- [10] 于艳. 山羊 *FSH* 受体基因第 10 外显子多态性及其与繁殖性状关系的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2006.
- [11] 葛燕,赵中权,王鲜忠,等. 4 个南方山羊品种 *BMP15* 和 *GDF9* 基因的 RFLP 分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2009(2): 31-33.
- [12] 颜泉梅,杨莎,朱广琴,等. 西农莎能奶山羊和波尔山羊 *GDF9* 基因多态性与产羔数的相关分析[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(10): 1394-1397.
- [13] 索效军,张年,熊琪,等. 五个山羊品种 *GDF9* 基因部分片段的多态性分析[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(18): 3863-3865.
- [14] 储明星,桑林华,王金玉,等. 小尾寒羊高繁殖力候选基因 *BMP15* 和 *GDF9* 的研究[J]. 遗传学报, 2005, 32(1): 38-45.
- [15] Van Vleck L D, Gregory K E, Echternkamp S E. Ovulation rate twinning rate in cattle: Heritabilities and genetic correlation [J]. J Anim Sci, 1991, 69: 3213-3219.
- [16] Rahal P, Latronico A C, Kohek M B F. Polymorphism in the bovine Follicle-stimulating hormone receptor gene [J]. Animal Genetics, 2000, 31: 280-291.
- [17] 何荆洲. 荷斯坦奶牛 *FSHR* 基因 5'侧翼和第 10 外显子多态性及其与超数排卵关系的研究[D]. 南宁:广西大学,2008.
- [18] 杨易,谢文静,杨雷,等. 宁夏滩羊 *FSHR* 基因多态性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(35): 21795-21796.
- [19] 姜怀志. 双羔型辽宁绒山羊 *FSHR* 基因 SNP 分析的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(5): 550-553.