



卢佳丰,张真,苏亚龙,等.海门山羊生长性状相关分子标记开发及应用[J].南京农业大学学报,2026,49(4):894-901.

Lu J f,Zhang Z,Su Y L,et al. Development and application of molecular markers for growth traits in Haimen goats[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2026,49(4):894-901.

海门山羊生长性状相关分子标记开发及应用

卢佳丰,张真,苏亚龙,周晓铎,王锋,樊懿萱*

(南京农业大学羊业科学研究所,江苏 南京 210014)

摘要:[目的]本研究旨在筛选与海门山羊生长性状紧密相关的分子标记,包括单核苷酸多态性(SNP)和插入缺失突变(InDel),深入分析这些分子标记与生长性状之间的关联,明确其对海门山羊生长发育的影响,为建立山羊精准基因标记辅助选择方法奠定基础。[方法]以海门山羊为对象,通过对已有海门山羊的全基因组测序结果进行深入挖掘和分析,利用PCR进行基因分型鉴定,筛选出与生长性状(体重、体长、体高、胸围、胸深、胸宽)相关的分子标记,并深入分析候选位点不同基因型与海门山羊生长性状之间的关联,确定对生长性状有显著影响的分子标记。[结果]MGAM(麦芽糖酶-葡糖淀粉酶)、PPP1R13B(蛋白磷酸酶1调节亚基13B)和SMAD9(SMAD家族成员9)3个基因的5个位点对海门山羊的生长发育具有显著影响。MGAM基因:12 bp InDel的位点在断奶阶段携带ID型海门山羊的胸深和胸宽显著高于DD型。在6月龄阶段,携带ID基因型的海门山羊在体重、体高、胸围和胸深上显著高于DD基因型的海门山羊;而携带38 bp InDel的DD基因型个体在6月龄阶段时体重和体高显著高于ID和II基因型个体。此外,在6月龄阶段,携带MGAM g.15143541 T>C的CT基因型个体的体重和体长显著高于CC和TT基因型个体。PPP1R13B基因:在断奶阶段,携带58 bp InDel的ID杂合基因型个体的体长、体高和胸深显著高于DD和II纯合基因型个体。SMAD9基因:在断奶阶段,携带16 bp InDel的II纯合基因型个体的胸宽显著高于DD和ID基因型个体。[结论]确定了MGAM、PPP1R13B和SMAD9基因的5个位点,这些位点在海门山羊生长发育过程中具有重要作用。

关键词:海门山羊;分子标记;生长性状;MGAM;PPP1R13B;SMAD9

中图分类号:S826.2

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2026)04-0894-08

Development and application of molecular markers for growth traits in Haimen goats

LU Jiafeng,ZHANG Zhen,SU Yalong,ZHOU Xiaohua,WANG Feng,FAN Yixuan*

(Institute of Sheep Science,Nanjing Agricultural University,Nanjing 210014,China)

Abstract:[Objectives] This study aimed to identify molecular markers closely associated with growth traits in Haimen goats, including SNPs and InDels. By conducting an in-depth analysis of the relationships between these molecular markers and growth traits,the study sought to elucidate their impact on the growth and development of Haimen goats. The findings will provide a foundation for establishing precise marker-assisted selection methods in goat breeding.[Methods] This study focused on Haimen goats,leveraging in-depth mining and analysis of existing whole-genome resequencing data to identify molecular markers linked to growth traits(body weight,body length,body height,chest circumference,chest depth and chest width). PCR-based genotyping was used to screen for relevant markers. Additionally,the study analyzed the association between different genotypes at candidate loci and the growth traits of Haimen goats,aiming to identify molecular markers with significant effects on these traits. [Results] Five loci within the MGAM(maltase-glucoamylase),PPP1R13B(protein phosphatase 1 regulatory subunit 13B),and SMAD9(SMAD family member 9)genes had been identified to significantly influence the growth and development of Haimen goats. For the MGAM gene:at the weaning stage,individuals carrying the ID genotype of the 12 bp InDel exhibited significantly greater chest depth and chest width compared to those with the DD genotype. At the six-month stage,Haimen goats with the ID genotype showed significantly higher body weight,body height,chest circumference,and chest depth than those with the DD genotype. Conversely,individuals with the DD genotype of the 38 bp InDel displayed significantly greater body weight and body height at the six-month stage compared to those with the ID and II genotypes. Additionally,at the six-month stage,individuals carrying the CT genotype of MGAM g.15143541 T>C demonstrated significantly higher body weight and body length than those with the CC and TT genotypes. For the PPP1R13B gene:at the weaning stage,individuals with the ID heterozygous genotype of the 58 bp InDel exhibited significantly greater body length,body

收稿日期:2025-02-26

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFD1300202);海南省自然科学基金项目(326MS0227);中央高校基本科研业务费专项资金(KYLH2026002)

作者简介:卢佳丰,硕士研究生。*通信作者:樊懿萱,高级实验师,主要从事肉羊营养调控研究,E-mail:fanyixuan@njau.edu.cn。

height, and chest depth compared to those with the DD and II homozygous genotypes. For the *SMAD9* gene; at the weaning stage, individuals with the II homozygous genotype of the 16 bp InDel showed significantly greater chest width than those with the DD and ID genotypes. [Conclusions] The five loci identified in the *MGAM*, *PPP1R13B*, and *SMAD9* genes which play a significant role in the growth and development of Haimen goats.

Keywords: Haimen goat; molecular marker; growth traits; *MGAM*; *PPP1R13B*; *SMAD9*

养羊业是我国的传统产业,历史悠久。我国山羊品种丰富,环境适应性强、耐粗饲,为养羊业的发展提供了坚实基础。海门山羊又称长江三角洲白山羊,是肉皮毛兼优的地方良种^[1],羊肉肥嫩鲜美,膻味小,肉质纤维细嫩,口感肥而不腻,深受消费者喜爱,是我国农产品的一个地理标志。近年来,海门山羊已形成规模化养殖和千家万户散养相结合的产业格局,是长江三角及其附近百姓发家致富的主导产业之一^[2]。然而,海门山羊产业在发展过程中也面临着诸多挑战,其中,体型较小、生长速度较慢是制约其产业高质量发展的关键因素^[3]。在市场需求日益增长的背景下,加强优质快长海门山羊的育种研究,提高海门山羊的生长速度,缩短养殖周期,成为海门山羊产业发展的当务之急。分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)技术是利用与目标性状紧密连锁的分子标记,从分子水平上快速准确地分析个体的遗传组成,实现对基因型的直接选择。因其高效、简便的特点,能够弥补传统育种耗时长、难度大等不足,可实现更早期、更准确、更快速的新品种选育,大幅提高畜禽生长性状的选择效率^[4]。分子标记包括单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)和插入缺失标记(insertion/deletion, InDel),通过分析其与目标基因之间的关联,可以将目标基因定位在染色体的特定区域,从而实现对优良性状的定向选择^[5-6]。在海门山羊育种中,采用分子标记辅助选择技术,筛选与生长性状相关的标记,可以实现对生长性状的精准选择,提高育种效率^[4]。例如,刺鼠信号蛋白(*ASIP*)基因内含子中 L1-BT 元件的插入缺失与西门塔尔阉牛的胴体和脂肪相关性状显著相关^[7]。*KIT*(*KIT* 原癌基因,受体酪氨酸激酶)基因作为毛色的关键调控基因,在猪驯化过程中经历了显著的正向选择^[8]。*PNLIPRPI* 中 26 bp 的 InDel 显著影响海门山羊的体重^[9]。

因此,本试验拟采用 SNP 和 InDel 技术筛选与海门山羊生长性状相关的分子标记,为海门山羊的遗传改良提供新的技术手段和理论依据,以推动海门山羊产业的高质量发展。

1 材料与方法

1.1 试验样品采集

选取来自江苏金盛山羊繁育技术发展有限公司的 421 只海门山羊,其中包括 185 只断奶海门山羊和 236 只 6 月龄海门山羊。试验过程中,对每只海门山羊生长性状表型进行详细的记录,包括体重、体高、胸围、胸深、胸宽。同时,采集每只海门山羊的颈静脉血 5 mL,置于含有 EDTA 抗凝剂的采血管中, -20 ℃ 保存,用于基因组 DNA 提取。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采用北京全式金生物技术股份有限公司的血液基因组 DNA 提取试剂盒(EE121-01)提取基因组 DNA,并严格按照说明书操作。

1.2.2 分子标记位点筛选 根据本课题组前期对 60 只海门山羊和 30 只波尔山羊的全基因组重测序结果,分别检测到海门山羊 12 702 649 个 SNP 位点和 1 630 983 个 InDel 突变,波尔山羊 11 520 106 个 SNP 位点和 1 423 891 个 InDel 突变。随后,使用 SnpEff(3.0)对这些 SNP 和 InDel 进行注释。在对分子标记位点的筛选过程中,采用以下 2 种方法:1)在注释表中筛选出插入/缺失长度大于 5 bp 的位点;2)在 GO 和 KEGG 数据库中选择与生长和代谢通路相关的基因,并在注释表中查找是否包含相关基因的突变位点^[9]。

1.2.3 引物设计、PCR 扩增 在 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 Ensembl(Ensembl genome browser 113)数据库中进一步确认突变位点的位置信息,确保位点的准确性和可靠性。利用 SnapGene 设计引物,提取目标位点上下 1 000 bp 序列。引物设计参数:GC 含量 40%~60%,熔解温度 50~60 ℃,PCR 产物不大于 350 bp。PCR 扩增体系为 20 μL,包括 2×*Taq* Master Mix(诺唯赞)10 μL,基因组 DNA 模板(25 ng·μL⁻¹)1 μL,上、下游引物(10 μmol·μL⁻¹)各 0.6 μL,ddH₂O 7.8 μL。PCR 扩增程序:95 ℃预变性 5 min;98 ℃变性 10 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,共 35 个循环;72 ℃延伸 7 min;PCR 结束后 4 ℃保存。PCR 结束后取 5 μL PCR 产物,利用 2 g·L⁻¹琼脂糖凝胶电泳检测其长度及完整性。

1.2.4 基因分型 对于插入/缺失大于 8 bp 的 InDel, 可通过凝胶电泳直接进行基因分型; 对于 SNP 和小于 8 bp 的 InDel, 则可通过 PCR 产物测序结果的峰图进行基因分型。InDel 基因分型依据测序峰图进行判定。当 InDel 为插入时, 若目标位置 2 条链的峰图均增添此段碱基, 则定义为 II 基因型的海门山羊个体; 若只有 1 条链增添此段碱基, 则为 ID 杂合基因型; 若峰图中无增添此段碱基, 则为 DD 纯合基因型。当 InDel 为缺失时, 若目标位置 2 条链的峰图均缺失此段碱基, 则定义为 II 基因型; 若只有 1 条链缺失此段碱基, 则为 ID 杂合基因型; 若峰图中无缺失此段碱基, 则为 DD 纯合基因型。SNP 基因分型同样依据测序峰图进行判定。当测序峰图呈现双峰时, 说明该位点存在突变, 定义为杂合基因型; 若峰图呈现单峰, 则根据 SNP 的注释信息判断是纯合野生型个体还是纯合突变型个体。若为纯合野生型, 则定义为 CC 基因型; 若为纯合突变型, 则定义为 TT 基因型。

1.3 统计分析

利用 Excel 2016 软件计算候选突变位点的群体遗传参数, 包括基因型频率、等位基因频率、纯合度 (homozygosity, H_o)、杂合度 (heterozygosity, H_e)、有效等位基因数 (number of effective alleles, N_e)、多态信息含量 (polymorphic information content, PIC) 以及哈代温伯格平衡 P 值 (hardy weinberg balance, P -value)。利用 SAS(8.0) 软件的 GLM 程序进行统计分析, 分析候选位点不同基因型与海门山羊生长性状的关联。模型: $Y_{ij} = \mu + G_i + E_{ij}$ 。式中: Y_{ij} 为个体性状表型值, 是指所测量的海门山羊的体重、体高、胸围等生长性状的数值; μ 为群体均值; G_i 为基因型效应; E_{ij} 为随机误差。然后利用单因素方差分析方法, 对不同基因型组间的生长性状表型值进行比较。

2 结果与分析

2.1 InDel 及 SNP 筛选结果

本试验共筛选出 3 个有效基因, 共计 5 个位点, 分别设计引物进行 PCR 扩增, 并通过琼脂糖凝胶电泳观察位点的分型情况。随后结合海门山羊生长性状进行关联分析。结果显示, 只有 *MGAM*、*PPP1R13B* 和 *SMAD9* 3 个基因的 5 个位点对海门山羊的生长发育具有显著影响。5 个位点的位置信息及引物信息见表 1。各引物扩增产物条带特异性强, 未见明显杂带 (图 1)。

表 1 分子标记的位置及引物信息

Table 1 Molecular marker positions and primer information

基因 Gene	变异类型 Type of variation	突变类型 Type of mutation	位置 Location	引物对序列 Primer pair sequence(5'→3')	扩增产物长度/bp Amplification product length
<i>MGAM</i>	InDel	Insertion(5'-GTCCCCCTCTTT-3')	Chr4:15117320	F:CCATGGTCTCACTGTCCAAGG R:GCCCAGTCTCAAAGGTTTG	194
<i>MGAM</i>	InDel	Deletion(5'-GGGATGGAGGGCT GGAGGAACCACTACCTGATACAGGA-3')	Chr4:15188317	F:GCAAACATGAAGCATGTGGAGA R:TGAGTGAGTCAGAATTAAGCCA	213
<i>MGAM</i>	SNP	T>C	Chr4:15143541	F:ACGTCAGGTTTCTGCTAAGGG R:AGGCAAGGACACAACTCCTA	271
<i>PPP1R13B</i>	InDel	Insertion(5'-TGAGGATTGACTTTTAATGAATACA AATCATAAGCATTGTATTCTGTCTACAG-3')	Chr21:67616252	F:AGCATCTGGGATGATGCTTGTA R:TTCTTCCGTAAAGCCGCTC	278
<i>SMAD9</i>	InDel	Deletion(5'-CTCTCGCAGGGGCTCC-3')	Chr12:61917508	F:CGCAAAGCATGGCATGGGATA R:GTAACCTAATCCGCACTTACGG	191

2.2 MGAM 12 bp InDel 的鉴定及与海门山羊生长性状关联分析

2.2.1 MGAM 12 bp InDel 的鉴定 根据琼脂糖凝胶电泳结果, 该基因显示 2 种基因型: DD (194 bp/194 bp) 和 ID (194 bp/206 bp)。通过测序验证, 突变位置及突变序列无误 (图 1)。

2.2.2 MGAM 12 bp InDel 与海门山羊生长性状关联分析 *MGAM* 12 bp InDel 位于 4 号染色体的内含子区域。海门山羊断奶阶段 *MGAM* 12 bp InDel 的群体遗传参数如下: 纯合度 (H_o) 为 0.85, 杂合度 (H_e) 为 0.14, 有效等位基因数 (N_e) 为 1.16, 多态信息含量 (PIC) 为 0.13。 $PIC < 0.25$, 符合 Hardy-Weinberg 平衡 (表 2)。在断奶阶段, ID 型海门山羊的胸深和胸宽显著高于 DD 型 ($P < 0.05$) (表 3)。

海门山羊 6 月龄阶段 *MGAM* 12 bp InDel 的群体遗传参数: H_o 为 0.81, H_e 为 0.18, N_e 为 1.23, PIC 为 0.17, $PIC < 0.25$, 符合 Hardy-Weinberg 平衡 (表 2)。在 6 月龄阶段, ID 基因型的海门山羊在体重、体高、胸围和胸深上显著高于 DD 基因型的海门山羊 (表 3)。

2.3.2 *MGAM* 38 bp InDel 与海门山羊生长性状关联分析 *MGAM* 38 bp InDel 位于 4 号染色体的内含子区域。海门山羊在 *MGAM* 38 bp InDel 位点表现出 DD、ID 和 II 3 种基因型,其中 DD 型为优势基因型,D 为优势等位基因。6 月龄阶段的群体遗传参数如下: H_o 为 0.50, H_e 为 0.50, N_e 为 1.99, PIC 为 0.37,表现为中度多态性($0.25 < PIC < 0.5$),不符合哈代-温伯格平衡($P < 0.05$) (表 2)。在 6 月龄阶段,DD 基因型海门山羊的体重和体高显著高于 ID 和 II 基因型的海门山羊(表 4)。

表 4 *MGAM* 38 bp InDel 与 6 月龄海门山羊生长性状的关联性结果

Table 4 Association results of *MGAM* 38 bp InDel with growth traits in Haimen goats at six months of age

基因型 Genotype	体重/kg Body weight	体长/cm Body length	体高/cm Body height	胸围/cm Chest circumference	胸深/cm Chest depth	胸宽/cm Chest width
DD	19.53±0.81 ^a	49.62±0.75 ^a	49.85±0.80 ^a	61.80±0.96 ^a	22.80±0.66 ^a	17.48±0.48 ^a
ID	17.73±0.82 ^b	49.76±0.76 ^a	49.38±0.81 ^b	61.22±0.97 ^a	22.55±0.66 ^a	17.84±0.48 ^a
II	15.64±0.91 ^c	48.19±0.85 ^a	46.62±0.90 ^c	60.87±1.07 ^a	22.85±0.74 ^a	16.83±0.53 ^a

2.4 *MGAM* g.15143541 T>C 的鉴定及与海门山羊生长性状关联分析

2.4.1 *MGAM* g.15143541 T>C 的鉴定 琼脂糖凝胶电泳结果(图 3-A)显示,在 271 bp 处有 1 条清晰明亮的条带,说明引物设计成功。后续测序结果(图 3-B)发现 *MGAM* g.15143541 T>C(rs639869084)有 3 种基因型,分别是 CC、CT 和 TT 基因型。

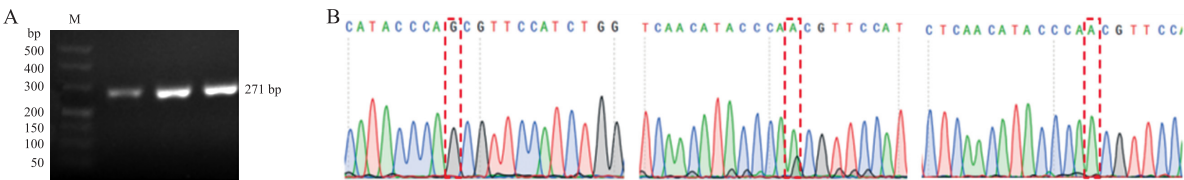


图 3 *MGAM* g.15143541 T>C 琼脂糖凝胶电泳(A)和测序结果(B)

Fig. 3 *MGAM* g.15143541 T>C agarose gel electrophoresis(A) and sequencing results(B)

2.4.2 *MGAM* g.15143541 T>C 与海门山羊生长性状关联分析 *MGAM* g.15143541 T>C 位于 4 号染色体的外显子区域。海门山羊在 *MGAM* g.15143541 T>C 位点表现出 CC、CT 和 TT 3 种基因型,其中 CT 型为优势基因型,T 为优势等位基因。6 月龄阶段的群体遗传参数如下: H_o 为 0.59, H_e 为 0.40, N_e 为 1.66, PIC 为 0.32,表现为中度多态性($0.25 < PIC < 0.5$),符合哈代-温伯格平衡($P > 0.05$) (表 2)。在 6 月龄阶段,CT 基因型海门山羊的体重和体长显著高于 CC 和 TT 基因型的海门山羊(表 5)。

表 5 *MGAM* g.15143541 T>C 与 6 月龄海门山羊生长性状的关联性结果

Table 5 Association results of *MGAM* g.15143541 T>C with growth traits in Haimen goats at six months of age

基因型 Genotype	体重/kg Body weight	体长/cm Body length	体高/cm Body height	胸围/cm Chest circumference	胸深/cm Chest depth	胸宽/cm Chest width
CC	17.45±2.32 ^a	51.50±1.79 ^a	49.25±2.28	57.00±4.70	24.75±1.74	24.75±4.99
CT	19.51±0.78 ^b	60.90±0.60 ^b	49.42±0.76	60.07±1.58	24.12±0.58	21.54±1.67
TT	16.67±0.74 ^c	48.79±0.57 ^c	48.74±0.73	58.24±1.50	23.20±0.56	20.56±1.60

2.5 *PPP1R13B* 58 bp InDel 的鉴定及与海门山羊生长性状关联分析

2.5.1 *PPP1R13B* 58 bp InDel 的鉴定 琼脂糖凝胶电泳结果显示,该基因具有 3 种基因型:DD(278 bp/278 bp)、II(336 bp/336 bp)和 ID(278 bp/336 bp)。通过测序结果验证,突变位置及突变序列无误(图 4)。

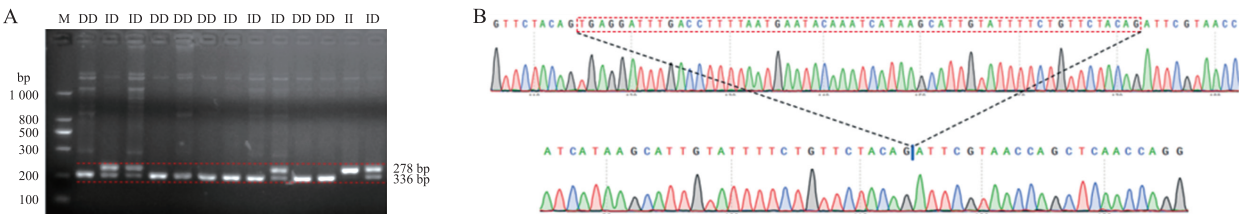


图 4 *PPP1R13B* 58 bp InDel 琼脂糖凝胶电泳(A)和测序结果(B)

Fig. 4 *PPP1R13B* 58 bp InDel agarose gel electrophoresis(A) and sequencing results(B)

2.5.2 *PPP1R13B* 58 bp InDel 与海门山羊生长性状关联分析 *PPP1R13B* 58 bp InDel 位于 21 号染色体的 67 616 252 bp 处。该位点在海门山羊中表现为 DD、ID 和 II 3 种基因型,其中 II 型为优势基因型,I 为

优势等位基因。断奶阶段的群体遗传参数如下: H_o 为 0.75, H_e 为 0.24, N_e 为 1.32, PIC 为 0.21,属于低度多态性($PIC<0.25$),并符合哈代-温伯格平衡($P>0.05$)(表 2)。在断奶阶段,ID 杂合基因型的海门山羊在体长、体高和胸深方面显著高于 DD 和 II 纯合基因型的海门山羊(表 6)。

表 6 *PPP1R13B* 58 bp InDel 与海门山羊生长性状的关联性结果
Table 6 Association results of *PPP1R13B* 58 bp InDel with growth traits in Haimen goats

基因型 Genotype	体重/kg Body weight	体长/cm Body length	体高/cm Body height	胸围/cm Chest circumference	胸深/cm Chest depth	胸宽/cm Chest width
DD	4.30±2.57 ^a	33.50±3.32 ^a	34.50±3.21 ^a	42.00±5.86 ^a	14.00±2.44 ^a	6.00±9.16 ^a
ID	9.17±0.76 ^a	42.61±0.98 ^b	43.13±0.95 ^b	47.91±1.73 ^a	18.69±0.72 ^b	13.78±2.70 ^a
II	7.34±0.44 ^a	40.44±0.56 ^c	40.60±0.54 ^c	46.01±0.99 ^a	16.79±0.41 ^c	12.28±1.55 ^a

2.6 *SMAD9* 16 bp InDel 的鉴定及与海门山羊生长性状关联分析

2.6.1 *SMAD9* 16 bp InDel 的鉴定 琼脂糖凝胶电泳结果显示,该基因具有 3 种基因型:DD(207 bp/207 bp)、II(191 bp/191 bp)和 ID(207 bp/191 bp)。通过测序结果验证,突变位置及突变序列无误(图 5)。

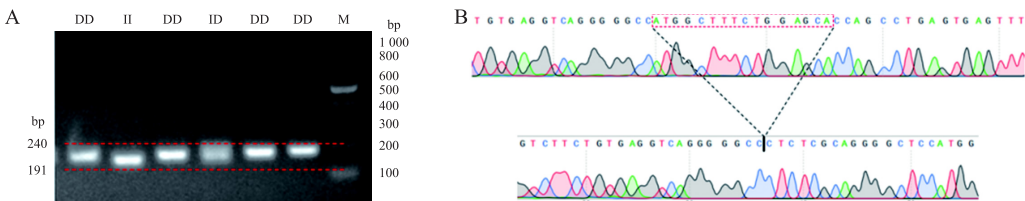


图 5 *SMAD9* 16 bp InDel 琼脂糖凝胶电泳(A)和测序结果(B)
Fig. 5 *SMAD9* 16 bp InDel agarose gel electrophoresis(A) and sequencing results(B)

2.6.2 *SMAD9* 16 bp InDel 与海门山羊生长性状关联分析 *SMAD9* 16 bp InDel 位于 12 号染色体的 61 917 508 bp 处。该位点在海门山羊中存在 DD、ID 和 II 3 种基因型,其中 DD 型为优势基因型,D 为优势等位基因。断奶阶段的群体遗传参数如下: H_o 为 0.57, H_e 为 0.42, N_e 为 1.72, PIC 为 0.33,属于中度多态性($0.25<PIC<0.5$),并符合哈代-温伯格平衡($P>0.05$)(表 2)。在断奶阶段,II 纯合基因型的海门山羊在胸宽方面显著高于 DD 和 ID 基因型的海门山羊(表 7)。

表 7 *SMAD9* 16 bp InDel 基因 InDel 位点与海门山羊生长性状的关联性结果
Table 7 Association results of the *SMAD9* 16 bp InDel gene InDel site with growth traits in Haimen goats

基因型 Genotype	体重/kg Body weight	体长/cm Body length	体高/cm Body height	胸围/cm Chest circumference	胸深/cm Chest depth	胸宽/cm Chest width
DD	8.60±0.53	41.82±0.60	42.40±0.68	48.00±0.69	17.11±0.40	10.07±0.58 ^a
ID	8.76±0.58	42.70±0.65	42.37±0.73	48.75±0.75	17.22±0.43	9.65±0.63 ^b
II	10.05±1.22	42.55±1.37	44.11±1.55	49.00±1.59	16.44±0.92	14.00±1.33 ^c

3 讨论

山羊生长性状是规模化养殖中的核心经济指标,其遗传改良对于提升山羊产业效益和推动国民经济发展具有重要的战略意义。通过全基因组重测序和生物信息学分析,已鉴定出 SNP、InDel 和 CNV(拷贝数变异)等多种遗传变异^[10],为解析山羊经济性状的分子机制提供了基础。近年来,围绕羊肌肉生长发育相关基因的分子调控研究也不断深入,如 *MSTN* 基因编辑湖羊胫腓肌转录组分析揭示了肌肉发育相关基因表达变化,为解析羊生长性状的分子机制提供了参考^[11]。InDel 和 SNP 作为重要的基因组结构变异,已在猪、牛、羊等家畜中深入研究^[12],揭示了其在育种中的重要作用。

本研究通过对海门山羊全基因组重测序数据的深入挖掘和分析,最终确定了 *MGAM*、*PPP1R13B* 和 *SMAD9* 3 个基因的 5 个位点与海门山羊生长性状的显著关联。具体而言,*MGAM* 12 bp InDel 位点的 ID 基因型在 6 月龄阶段显著促进了体重、体高、胸围和胸深的发育;*MGAM* 38 bp InDel 位点的 DD 基因型在 6 月龄时显著增加了体重和体高;*MGAM* g.15143541 T>C 位点的 CT 基因型则在 6 月龄时显著增加了体重和体长。*PPP1R13B* 58 bp InDel (Chr21:67616252) 位点在海门山羊断奶阶段的体长、体高和胸深方面表现出显著差异,ID 杂合基因型在生长方面具有显著优势。*SMAD9* 16 bp InDel (Chr12:61917508) 位点在海门山羊断奶阶段,II 纯合基因型个体的胸宽显著高于 DD 和 ID 基因型个体。

作为群体内遗传变异的检测参数, PIC 、 N_e 和 H_e 值能够表征群体内个体的遗传同质性水平。当这些参数值较高时,表明群体内存在丰富的遗传变异,这不仅反映了种群对环境变化的适应能力,同时说明群体在选择育种过程中具有优良性状的筛选潜力,有助于提高遗传改良成效。相反,种群中较低的杂合性和较高的遗传纯度被视为可以使用的纯品系^[13-14]。本研究结果显示,海门山羊 *MGAM* 12 bp InDel 位点和 *PPP1R13B* 58 bp InDel 位点 PIC 小于 0.25,表明这 2 个位点的多态性程度低,种群中的杂合子较少,遗传纯度较高,在未来的育种中可以优先选择这 2 个位点。另外,在本研究中 *MGAM* 38 bp InDel 位点不符合哈代-温伯格平衡,可能是种群研究中样本量不足、近亲繁殖或发生遗传漂变所导致的^[15]。

MGAM 是麦芽糖酶-葡糖淀粉酶,主要在小肠刷状缘膜上表达^[16],其主要功能是水解麦芽糖以及淀粉水解后产生的直链低聚寡糖中的 α -1,4 糖苷键^[17]。已有研究表明 *MGAM* 基因中启动子片段的突变,可能通过调控 *MGAM* 基因表达量提高家犬的二糖酶活性,从而适应高淀粉饮食^[18]。此外还有研究表明,*MGAM* 基因缺失并不会实际影响患者的 *MGAM* 活性,*MGAM* 位点的缺失实为功能性多态性变异^[19]。另外,*MGAM* 基因的 CNV 变异与精神分裂症有显著的相关性^[20]。在本研究中,*MGAM* 12 bp InDel 位点的 ID 基因型可能促进海门山羊生长后期的体型发育和体重增长,而 *MGAM* 38 bp InDel 位点的 DD 基因型和 *MGAM* g.15143541 T>C 位点的 CT 基因型有显著影响。由此猜测,*MGAM* 基因突变可能因影响消化系统而间接影响山羊的生长发育。未来的育种工作可以优先选择该基因的分子标记对山羊的生长性状进行改良。

PPP1R13B (ASPP1) 属于 p53 结合蛋白家族,通过激活选定的促凋亡靶基因的 p53 反式作用来增强细胞凋亡^[21]。已有研究表明,*PPP1R13B* 基因的缺失会显著影响胚胎植入和妊娠率^[22]。此外,还有研究表明 *PPP1R13B* 通过调控 miR-9-5p 影响骨骼肌发育^[23]。在本研究中,*PPP1R13B* 58 bp InDel 位点在海门山羊断奶阶段的生长发育中具有调节作用,表明 *PPP1R13B* 基因可能是山羊生长发育的关键基因,具有潜在的育种价值。*SMAD9* 是骨形态发生蛋白信号传导中的一种新型转录调节因子^[24],其标记了一个骨软骨前体群体,该群体在成骨细胞消融后的再生过程中增殖并扩大^[25]。已有研究表明小鼠 *SMAD9* 在发育中的骨骼元件的远端和近端部位表达^[26]。此外,还有研究表明 *SMAD9* 基因中一个 SNP 突变显著提高鸡、鹅的产蛋量^[27-28]。在本研究中,*SMAD9* 16 bp InDel 位点在海门山羊断奶阶段的生长发育中具有调节作用。该位点具有潜在的育种价值,可用于山羊生长性状的改良。

本研究局限性主要包括以下 3 个方面:1) 受样本量限制,所观测到的效应量较小,可能在一定程度上影响统计推断的稳健性;2) 样本来源相对单一,限制了研究结论的外推范围;3) 仅追踪断奶期和 6 月龄 2 个时间节点的生长数据,未能全面反映生长发育的动态过程,可能影响数据分析的精确性。针对上述局限性,后续研究应从以下方向展开深入探索:首先,扩大样本规模并开展多中心研究,以获取更具代表性和统计效力的数据支持;其次,实施跨品种验证试验,系统评估本研究所鉴定分子标记在不同山羊品种中的适用性与稳定性,以增强研究结论的普适性;最后,建议在后续研究中纳入 12 月龄个体的体尺数据进行关联分析,从而提升分子标记在生长性状预测中的说服力。

综上所述,本研究通过全基因组重测序与试验验证,首次揭示了 *MGAM*、*PPP1R13B* 和 *SMAD9* 基因中的 InDel 和 SNP 位点与海门山羊生长性状之间的显著关联。该发现为解析山羊生长发育的分子调控机制提供了新的理论依据,并为海门山羊的遗传改良提供了潜在的分子标记。基于这些分子标记开展的标记辅助选择,有望实现对生长性能优良个体的精准筛选,加速体型更大、生长速度更快的海门山羊品种的培育,进而缩短养殖周期、降低生产成本并提高养殖经济效益。

参考文献 References:

- [1] 戴晖,陈启康,顾拥建,等. 海门山羊品种资源与生产性能研究[J]. 畜牧与兽医,2013,45(2):45-47.
Dai H, Chen Q K, Gu Y J, et al. Study on breed resources and production performance of Haimen goat[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2013, 45(2): 45-47 (in Chinese with English abstract).
- [2] 陈晓祥. 海门山羊常见营养代谢病的发生原因、临床症状与防治措施[J]. 中国动物保健, 2021, 23(12): 81, 83.
Chen X X. Causes, clinical symptoms and prevention measures of common nutritional metabolic diseases in Haimen goats[J]. China Animal Health, 2021, 23(12): 81, 83 (in Chinese).
- [3] 陈晓祥. 海门山羊品种特性与生产性能浅析[J]. 中国动物保健, 2023, 25(12): 86-87.
Chen X X. Analysis on breed characteristics and production performance of Haimen goat[J]. China Animal Health, 2023, 25(12): 86-87 (in Chinese).

- [4] Abd El-Hack M E, Abdelnour S A, Swelum A A, et al. The application of gene marker-assisted selection and proteomics for the best meat quality criteria and body measurements in Qinchuan cattle breed[J]. *Molecular Biology Reports*, 2018, 45(5): 1445–1456.
- [5] 宋志芳, 于国生, 解佑志, 等. 分子遗传标记技术及其在动物育种中的研究进展[J]. *猪业科学*, 2017, 34(2): 113–115.
Song Z F, Yu G S, Xie Y Z, et al. Molecular genetic marker technology and its research progress in animal breeding[J]. *Swine Industry Science*, 2017, 34(2): 113–115 (in Chinese).
- [6] Pös O, Radvanszky J, Buglyó G, et al. DNA copy number variation; main characteristics, evolutionary significance, and pathological aspects[J]. *Biomedical Journal*, 2021, 44(5): 548–559.
- [7] Liu Y N, Fang X B, Zhao Z H, et al. Polymorphisms of the *ASIP* gene and the haplotype are associated with fat deposition traits and fatty acid composition in Chinese Simmental steers[J]. *Archives Animal Breeding*, 2019, 62(1): 135–142.
- [8] Rubin C J, Megens H J, Barrio A M, et al. Strong signatures of selection in the domestic pig genome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(48): 19529–19536.
- [9] Zhang Z, Lu J F, Wang Y F, et al. Genome-wide scans for selection signatures in Haimen goats reveal candidate genes associated with growth traits[J]. *Biology*, 2025, 14(1): 40–53.
- [10] Kang Z H, Bai Y Y, Lan X Y, et al. Goat AKAP12: indel mutation detection, association analysis with litter size and alternative splicing variant expression[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 648256.
- [11] 李隐侠, 刘伟佳, 张晨俊, 等. *MSTN* 基因编辑湖羊胫腓肌的转录组分析[J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47(2): 342–350.
Li Y X, Liu W J, Zhang C J, et al. Transcriptome analysis of tibiofibular muscle of Hu sheep edited by *MSTN* gene[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2024, 47(2): 342–350 (in Chinese with English abstract).
- [12] Liu M, Cheng J, Chen Y H, et al. Distribution of *DGAT1* copy number variation in Chinese goats and its associations with milk production traits[J]. *Animal Biotechnology*, 2023, 34(4): 980–985.
- [13] Amorim C R N, Matsuura M S A, Rosa J C, et al. Purification and characterization of the *Fimbria* F18ac(2134P) isolated from enterotoxigenic *Escherichia coli*(ETEC)[J]. *Veterinary Microbiology*, 2000, 76(1): 41–49.
- [14] 马敏彪, 武利恒, 丁琳, 等. 基于 SNP 分子标记的湖羊群体遗传结构分析[J]. *畜牧与兽医*, 2024, 56(6): 1–8.
Ma M B, Wu L H, Ding L, et al. Analysis of the genetic structure of Hu sheep population based on SNP molecular markers[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2024, 56(6): 1–8 (in Chinese with English abstract).
- [15] Zenger K R, Richardson B J, Vachot-Griffin A M. A rapid population expansion retains genetic diversity within European rabbits in Australia[J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(3): 789–794.
- [16] Nichols B L, Avery S, Sen P, et al. The maltase-glucoamylase gene: common ancestry to sucrase-isomaltase with complementary starch digestion activities[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(3): 1432–1437.
- [17] Nichols B L, Avery S E, Quezada-Calvillo R, et al. Improved starch digestion of sucrase-deficient shrews treated with oral glucoamylase enzyme supplements[J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2017, 65(2): e35–e42.
- [18] 戴永琴. *MGAM* 基因在家犬适应淀粉饮食中的机制研究[D]. 昆明: 云南大学, 2021.
Dai Y Q. Study on the mechanism of *MGAM* gene in adaptation to a starch-rich diet in domestic dogs[D]. Kunming: Yunnan University, 2021 (in Chinese with English abstract).
- [19] Eccleston J L, Koh C, Markello T C, et al. An apparent homozygous deletion in maltase-glucoamylase, a lesson in the evolution of SNP arrays[J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2012, 107(4): 674–678.
- [20] Wu X, Huai C, Shen L, et al. Genome-wide study of copy number variation implicates multiple novel loci for schizophrenia risk in Han Chinese family trios[J]. *iScience*, 2021, 24(8): 102894.
- [21] Schittenhelm M M, Kaiser M, Györfy B, et al. Evaluation of apoptosis stimulating protein of TP53-1 (ASPP1/PPP1R13B) to predict therapy resistance and overall survival in acute myeloid leukemia (AML)[J]. *Cell Death & Disease*, 2024, 15: 25.
- [22] Tao L, He X Y, Wang X Y, et al. Litter size of sheep (*Ovis aries*): inbreeding depression and homozygous regions[J]. *Genes*, 2021, 12(1): 109–120.
- [23] Shen X X, Wei Y H, You G S, et al. Circular PPP1R13B RNA promotes chicken skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation via targeting miR-9-5p[J]. *Animals*, 2021, 11(8): 2396–2409.
- [24] Tsukamoto S, Mizuta T, Fujimoto M, et al. Smad9 is a new type of transcriptional regulator in bone morphogenetic protein signaling[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 7596.
- [25] McDonald G L K, Wang M D, Hammond C L, et al. Pharmacological manipulation of early zebrafish skeletal development shows an important role for Smad9 in control of skeletal progenitor populations[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 277–294.
- [26] Huang Z, Wang D G, Ihida-Stansbury K, et al. Defective pulmonary vascular remodeling in Smad8 mutant mice[J]. *Human Molecular Genetics*, 2009, 18(15): 2791–2801.
- [27] 陈恒聪, 张福阳, 杨胜威, 等. 应用孟加拉国地方鸡基因组数据筛选鸡重要性状相关基因与分子标记[J]. *东北农业大学学报*, 2026, 57(2): 103–115, 124.
Chen H C, Zhang F Y, Yang S W, et al. Screening of genes and molecular markers related to important traits in chickens using genomic data from local chickens in Bangladesh[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2026, 57(2): 103–115, 124 (in Chinese with English abstract).
- [28] Xu J, Li J, Wang H S, et al. A novel SMAD family protein, SMAD9 is involved in follicular initiation and changes egg yield of geese via synonymous mutations in exon1 and intron2[J]. *Molecular Biology Reports*, 2015, 42(1): 289–302.