

# 采用微卫星标记分析10个双峰驼群体的遗传变异和群体间的遗传关系

何晓红<sup>1,2</sup> 韩秀丽<sup>1,2</sup> 关伟军<sup>1,2</sup> 田可川<sup>3</sup> 张文彬<sup>4</sup> 马月辉<sup>1,2\*</sup>

1 (中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193)

2 (农业部畜禽遗传资源与利用重点实验室, 北京 100193)

3 (新疆畜牧科学院, 新疆乌鲁木齐 830000)

4 (内蒙古阿拉善盟骆驼科学研究所, 内蒙古阿拉善左旗 750300)

**摘要:** 为从分子水平上对我国双峰驼(*Camelus bactrianus*)群体的遗传多样性、群体间遗传关系、群体遗传分化及近交情况进行全面、系统地研究, 为双峰驼种质资源保护和新品种培育提供基础数据, 本文利用18对微卫星引物, 分析了我国9个双峰驼群体和1个蒙古双峰驼群体的遗传多样性和遗传关系。结果显示: 10个群体均具有较高的遗传多样性, 共检测到242个等位基因, 平均等位基因数为13.44, 平均有效等位基因数为4.18, 平均观察杂合度( $H_o$ )为0.5528。10个群体间存在显著的遗传分化, 有9.6%的遗传变异来自群体间, 90.4%的遗传变异来自群体内部的个体间。聚类分析、主成分分析和群体遗传结构分析结果都表明10个群体被分成2个明显的分支, 新疆4个群体单独聚为一类, 剩下的6个群体聚为一类。这一结果可能与它们的地理分布和群体间的地理屏障有关。

**关键词:** 双峰驼, 微卫星, 遗传多样性, 遗传关系

## Genetic variability and relationship of 10 Bactrian camel populations revealed by microsatellite markers

Xiaohong He<sup>1,2</sup>, Xiuli Han<sup>1,2</sup>, Weijun Guan<sup>1,2</sup>, Kechuan Tian<sup>3</sup>, Wenbin Zhang<sup>4</sup>, Yuehui Ma<sup>1,2\*</sup>

1 Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193

2 The Key Laboratory for Farm Animal Genetic Resources and Utilization of Ministry of Agriculture of China, Beijing 100193

3 Xinjiang Academy of Animal Science, Urumqi 830000

4 Bactrian Camels Institute of Alxa League, Inner Mongolia Autonomous Region, Alxa Left Banner, Inner Mongolia 750300

**Abstract:** In order to investigate the genetic diversity, genetic relationship, genetic differentiation and possible inbreeding at the molecular level, nine Chinese indigenous Bactrian camel populations and one Mongolian population were sampled and genotyped using 18 microsatellite markers. We did so to provide scientific evidence and technical support for the development of sound policy for the conservation and sustainable utilization of Bactrian camel genetic resources. The results showed that all ten of the Bactrian camel populations had rich genetic diversity with a total of 242 alleles at the 18 loci. The mean number of alleles per locus was 13.44, the average number of effective alleles was 4.18, the mean observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.5528, and polymorphic information content (PIC) averaged 0.5996. Overall genetic differentiation among the ten populations was highly significant ( $P < 0.001$ ) with 9.6% of the total genetic variance present among the populations and remaining 90.4% among individuals within the populations. Cluster analysis, principal component analysis and structure analysis all indicated that the ten Bactrian camel populations were separated into two clades: the first included four populations from Xinjiang while the second was made up of the remaining six populations. The genetic differentiation and structuring among the 10 Bactrian camel popula-

收稿日期: 2011-09-09; 接受日期: 2012-03-27

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目(2010jc-8)

\* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yuehui.ma@263.net

tions were generally in agreement with the geographic distribution and natural geographic barriers among populations.

**Key word:** Bactrian camel, microsatellite, genetic diversity, genetic relationship

我国是世界上双峰驼(*Camelus bactrianus*)资源十分丰富的国家之一, 根据联合国粮食及农业组织(FAO)数据库(<http://www.fao.org.dad-is>)中的记录, 全世界9个双峰驼品种中, 我国占到4个([www.fao.org/dad-is](http://www.fao.org/dad-is))。自20世纪70年代以来, 国内外学者通过形态学、细胞遗传学、生化遗传学等手段, 为双峰驼遗传多样性的研究积累了丰富的资料(Taylor *et al.*, 1968; 门正明等, 1989; Balmus *et al.*, 2007)。随着骆驼科动物微卫星引物的开发(Lang *et al.*, 1996; Obreque *et al.*, 1998; Penedo *et al.*, 1999; Evdotchenko *et al.*, 2003), 有关双峰驼群体遗传多样性和遗传关系分析的研究逐渐增加(韩建林, 2000; Han *et al.*, 2004; 高宏巍等, 2009; 王乐等, 2010)。目前对双峰驼群体的遗传关系主要有两种观点: 一种认为我国双峰驼分为2个分支(王乐等, 2010), 另一种观点认为我国双峰驼没有明显的群体分化(Han *et al.*, 2004; 高宏巍等, 2009)。

由于经济等因素, 自20世纪80年代初期开始, 我国双峰驼饲养量逐年减少, 到2008年全国的双峰驼存栏量已经锐减至24万峰, 比1981年下降了61.2%, 存栏量已低于建国初的水平。对该畜种的保护已迫在眉睫, 有必要在分子水平上研究其遗传多样性和种质资源。

以往对双峰驼的微卫星分析检测手段多为聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 其可重复性和准确性都不甚理想, 加之所分析对象仅局限于部分品种和类型, 且部分群体样本数量偏少, 这些都为我国双峰驼群体的分子遗传多样性状况分析带来困难。本研究对我国境内主要双峰驼类群的遗传多样性、群体间遗传关系、群体分化及近交情况进行了全面、系统的研究, 以期对种质资源保护政策的制定以及优良新品种的培育提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本实验采集了来自我国双峰驼主产区4个省(自治区)的9个群体和1个来自蒙古国的蒙古双峰驼群体。采取典型群体随机抽样法, 每个群体采27–95个样品, 共计455份, 耳组织取样, 置于1.5 mL离心管中(预先装有75%的乙醇), 于–80℃超低温冰箱中保存(表1)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 DNA提取

采用常规的酚–氯仿抽提法(Sambrook & Russell, 2001)提取DNA, 用ND-1000分光光度计(美国)测定基因组DNA的浓度和纯度, 然后将所有样品的

表1 10个双峰驼群体代码、名称、采集地点和样本数量

Table 1 Code, name, sample size and sampling locations of 10 Bactrian camel populations

代码 Code	群体名称 Population name	样本数 Sample size	采集地 Sampling location
QH	青海双峰驼 Qinghai Bactrian camel	95	青海省海西州 Haixi Autonomous Prefecture, Qinghai, China
AS	阿拉善双峰驼–沙漠型 Alashan Bactrian camel-desert type	50	内蒙古阿拉善左旗 Alashan Prefecture, Inner Mongolia, China
AG	阿拉善双峰驼–戈壁型 Alashan Bactrian camel-Gobi type	50	内蒙古阿拉善左旗 Alashan Prefecture, Inner Mongolia, China
GS	甘肃双峰驼 Gansu Bactrian camel	51	甘肃省酒泉 Jiuquan city, Gansu, China
SU	苏尼特双峰驼 Sunite Bactrian camel	27	内蒙古锡林郭勒盟 Silinghol League, Inner Mongolia, China
ALT	阿勒泰双峰驼 Altay Bactrian camel	46	新疆阿勒泰市 Altay City, Xinjiang, China
KKZ	柯尔克孜双峰驼 Kirgizi Bactrian camel	30	新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州 Kizilsu Kirghiz Autonomous Prefecture, Xinjiang, China
ML	木垒长眉驼 Mulei Bactrian camel	34	新疆木垒 Mulei Kazak Autonomous Prefecture, Xinjiang, China
YL	伊犁州双峰驼 Yili Bactrian camel	34	新疆伊犁哈萨克自治州 Yili Kazak Autonomous Prefecture, Xinjiang, China
MG	蒙古双峰驼 Mongolian Bactrian camel	38	蒙古国南戈壁省 South Gobi Province, Mongolia

浓度调整为 50 ng/μL 左右。

1.2.2 引物筛选与 PCR 扩增

采用联合国粮食及农业组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISAG)(Hoffmann *et al.*, 2004)最新推荐的 18 对微卫星/简单重复序列(SSRs)引物, 荧光引物由上海生工生物技术有限公司合成, 选择 HEX(绿色)和 FAM(蓝色)两种荧光标记, 分子内标为 LIZ500, 由美国 ABI 公司合成, 引物信息见表 2。

1.2.3 PCR 扩增及产物检测

扩增体系为 15 μL: 100 ng 模板 DNA, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 μM dNTP, 上下游引物各 0.4 μM, 1.5 单位的 *Taq* 酶, 1×PCR buffer。反应程序为: 95℃ 预变性 5 min, 然后 94℃ 变性 45 s, 50–60℃ 退火 1 min, 72℃

延伸 1 min, 35–40 个循环; 最后 72℃ 延伸 15 min 后, 4℃ 保存。PCR 产物先用琼脂糖凝胶电泳初步检测, 再用 DNA 测序仪(AB 3130XL)进行毛细管电泳, 用 GeneMapper 3.7 软件(Applied biosystems)进行分子量标准校对和微卫星基因型分析。

1.3 统计分析

每个群体的平均等位基因数(*MNA*)、多态信息含量(*PIC*), 观察杂合度(*H<sub>o</sub>*), 期望杂合度(*H<sub>e</sub>*)等遗传参数用 Excel Microsatellite Toolkit V3.1 软件进行分析。每个群体及位点的观察等位基因数(*N<sub>a</sub>*)、有效等位基因数(*N<sub>e</sub>*) (Nei, 1987)等遗传参数用 Pop-Gen32 软件进行统计分析。私有等位基因采用 GDA 软件进行分析。*F*-statistics 固定指数(包括 *F<sub>IT</sub>*、*F<sub>ST</sub>*

表 2 本研究所采用的 18 个微卫星位点的相关信息和 *F*-统计量分析结果  
Table 2 The information of 18 microsatellite loci employed in this study and *F*-statistics

位点 Locus	引物(5'-3') Primer(5'-3')	等位基因 Allele (bp)	荧光标记 Fluorescent label	退火温度 T <sub>m</sub> (°C)	<i>F<sub>IT</sub></i>	<i>F<sub>ST</sub></i>	<i>F<sub>IS</sub></i>	基因流 <i>N<sub>m</sub></i>
CMS09	TGCTTTAGACGACTTTTACTTTAC ATTTCACTTTTCATACACTTGTGAT	233–256	FAM	55	0.128***	0.042***	0.090**	4.150
CMS17	TATAAAAGGATCACTGCCTTC AAAATGAACCTCCATAAAGTTAG	144–149	FAM	55	0.184***	0.146***	0.045	1.600
CMS18	GAACGACCCCTGAAGACGAA AGCAGCTGGTTTTAGGTCCA	157–186	HEX	60	0.231***	0.153***	0.092***	1.851
CMS32	ACGGACAAGAACTGCTCATA ACAACCAATAAATCCCCATT	198–204	FAM	51	0.420***	0.019***	0.408***	7.381
CMS50	TTTATAGTCAGAGAGAGTGCTG TGTAGGGTTCATTGTAAACA	154–183	FAM	55	0.042	0.050***	-0.008	3.180
CMS121	CAAGAGAATGGTGAGGATTTTC AGTTGATAAAAATACAGCTGAAAAG	151–159	FAM	59	0.163***	0.062***	0.107***	4.029
CVRL01	GAAGAGGTTGGGGCACTAC CAGGCAGATATCCATTGAA	188–253	HEX	60	0.590***	0.105***	0.542***	2.001
CVRL05	CCTTGGACCTCCTGCTCTG GCCACTGGTCCCTGTCATT	148–174	HEX	56	0.090**	0.031***	0.061*	5.612
CVRL06	TTTTAAAAATTCGACCAGGAGTCTG CATAATAGCCAAAACATGGAAACAAC	185–205	HEX	59	0.243***	0.045***	0.208***	4.061
CVRL07	AATACCTAGTTGAAGCTCTGTCCCT GAGTGCCTTTATAAATATGGGTCTG	255–263	FAM	56	0.366***	0.224***	0.183***	0.662
LCA66	GTGCAGCGTCCAAATAGTCA CCAGCATCGTCCAGTATTCA	212–242	HEX	55	0.434***	0.166***	0.321***	1.163
VOLP08	CCATTCACCCATCTCTC TCGCCAGTGACCTTATTTAGA	142–180	FAM	52	0.127***	0.073***	0.059*	2.536
VOLP10	CTTTCTCCTTCTCCCTACT CGTCCACTTCCTTCATTTTC	232–260	FAM	58	0.117***	0.048***	0.073***	3.973
VOLP32	GTGATCGGAATGGCTTGAAA CAGCGAGCACCTGAAAGAA	256–262	HEX	55	0.399***	0.207***	0.241***	0.882
VOLP67	TTAGAGGGTCTATCCAGTTTC TGGACCTAAAAGAGTGGAG	142–172	FAM	60	0.399***	0.034***	0.378***	5.698
YWLL08	ATCAAGTTTGAGGTGCTTTCC CCATGGCAATTGTGTGAAGAC	154–180	HEX	59	0.208***	0.119***	0.101***	1.685
YWLL38	GGCCTAAATCCTACTAGAC CCTCTCACTCTGTCTCCTC	180–192	FAM	58	0.080***	0.049***	0.033	4.118
YWLL59	TGTGCAGGAGTTAGGTGTA CCATGTCTCTGAAGCTCTGGA	109–135	FAM	58	0.277***	0.112***	0.186***	1.667
所有位点	All loci				0.240***	0.096***	0.159***	

*F<sub>IT</sub>*: 整个群体的个体固定系数; *F<sub>ST</sub>*: 所有群体内各个亚群体的固定系数; *F<sub>IS</sub>*: 亚群体内的个体固定系数。\**P* < 0.05; \*\**P* < 0.01; \*\*\**P* < 0.001。  
*F<sub>IT</sub>*, Fixation index of total population; *F<sub>ST</sub>*, Fixation index resulting from comparing subpopulations to the total population; *F<sub>IS</sub>*, Fixation index of subpopulation. \* *P* < 0.05; \*\* *P* < 0.01; \*\*\* *P* < 0.001.

和  $F_{IS}$ )用 FSTAT Version 2.9.3.2 软件(Weir *et al.*, 1984)来分析。Hardy-Weinberg 基因连锁不平衡采用 GENEPOP 4(Raymond & Rousset, 1995)来完成。Nei's 标准遗传距离( $D_S$ )和 Nei's 遗传距离( $D_A$ )的计算、基于  $D_S$  和  $D_A$  的邻接树(NJ)和 UPGMA 树构建用 DISPAN 软件包进行。用 MVSP 3.1(MultiVariate Statistical Package 3.1) 软件(<http://www.kovcomp.com>)对群体遗传分化进行主成分分析,对聚类结果进一步验证。用 Structure 2.2 软件(Prichard *et al.*, 2000)对微卫星数据进行群体遗传分析。

## 2 结果

### 2.1 微卫星位点等位基因变异和多态信息含量

各位点的扩增效果都较理想:在10个群体的18个微卫星位点中共检测到242个等位基因,其中 CVRL01 位点上最多,为28个, CVRL06 和 VOLP32 位点最少,为6个,平均每个位点上检测到13.44个。18个微卫星位点的平均有效等位基因数为4.18,各位点的有效等位基因数分布并不平衡,范围从1.37(CMS32)至6.9(YWLL08)。分析18个位点的平均多态信息含量,只有 CMS32 位点为低度多态, CVRL07 和 VOLP32 为中度多态,其他15个位点均为高度多态。

### 2.2 群体内遗传变异

#### 2.2.1 杂合度和等位基因丰富度

10个群体中,所有期望杂合度值都大于观察杂合度。青海群体的期望杂合度最高(0.687),木垒长眉驼的期望杂合度最低(0.594);柯尔克孜群体的观

察杂合度最高(0.589),阿拉善双峰驼-沙漠型和阿拉善双峰驼-戈壁型2个群体的观察杂合度最低(分别为0.519和0.518)。10个群体中基因丰富度最高的是青海群体(4.91),最低的是木垒长眉驼(4.18)。各群体的遗传变异系数见表3。

#### 2.2.2 优势等位基因和特有等位基因

优势等位基因是某品种在特定基因座位上相对集中的等位基因。各群体在18个微卫星位点的等位基因及其频率分布并不平衡,相当比例的位点存在优势等位基因集中的现象,如 SET01 组合的 CVRL05 位点,在154 bp 和158 bp 等位基因被所有10个群体所共有,是各群体共同具有的特征。

10个群体中共发现52个私有等位基因,其中在中国群体中发现49个,在蒙古群体中发现3个。阿勒泰和青海群体的私有等位基因最多,分别为14个和12个,占私有等位基因总数的27%和23%,基因频率在5%以上的私有等位基因有7个。

### 2.3 群体间遗传变异

#### 2.3.1 $F$ -统计量

由表2可见,所有位点的总群体个体固定系数( $F_{IT}$ )值为0.240,达到极显著水平( $P < 0.001$ ),94%的位点贡献于这个结果,各位点的  $F_{IT}$  值范围为0.042(CMS50)–0.590(CVRL01)。所有群体内各个亚群体固定系数( $F_{ST}$ )可用来评价群体间的遗传分化程度,研究表明群体间存在极显著的遗传分化( $F_{ST} = 0.096$ ,  $P < 0.001$ ),所有位点都贡献于这个结果,表明有9.6%的遗传变异来自于群体间,90.4%的遗传变异来自于群体内部的个体间;所有

表3 家养双峰驼遗传变异系数

Table 3 Genetic variation information of the Bactrian camel populations

群体 Population	$H_o$	$H_e$	$PIC$	平均等位基因数 $MNA$	有效等位基因 $NE$	基因丰富度 $AR$	所有位点 $F_{IS}$ $F_{IS}$ of all loci
QH	0.572	0.687	0.639	8.78	3.63	4.91	0.168*
AS	0.519	0.646	0.597	6.83	3.28	4.63	0.199*
AG	0.518	0.638	0.587	6.94	3.18	4.57	0.191*
GS	0.552	0.679	0.632	6.44	3.67	4.72	0.189*
SU	0.574	0.649	0.589	5.56	3.13	4.43	0.118*
MG	0.538	0.671	0.622	6.56	3.47	4.71	0.201*
ALT	0.561	0.649	0.595	8.00	3.20	4.70	0.138*
KKZ	0.589	0.648	0.591	6.22	3.05	4.48	0.093
ML	0.533	0.594	0.543	6.06	2.72	4.18	0.105*
YL	0.573	0.654	0.600	6.39	3.19	4.66	0.125*

$H_o$ : 观察杂合度;  $H_e$ : 期望杂合度;  $PIC$ : 多态信息含量;  $MNA$ : 平均等位基因数;  $NE$ : 有效等位基因数;  $AR$ : 等位基因丰富度;  $F_{IS}$ : 亚群体内的个体固定系数。\* $P < 0.05$ 。群体代号同表1。

$H_o$ , Observed heterozygosity;  $H_e$ , Expected heterozygosity;  $PIC$ , Polymorphism information content;  $MNA$ , Mean number of alleles;  $NE$ , Number of effective alleles;  $AR$ , Allelic richness.  $F_{IS}$ , Fixation index of subpopulation. \* $P < 0.05$ . Population codes see Table 1.

位点的亚群体内个体固定系数( $F_{IS}$ )值为0.159( $P < 0.001$ )。

为进一步分析各群体的近交程度, 计算每个群体的 $F_{IS}$ 值(表3)。除新疆柯尔克孜群体外, 其他群体间均差异显著( $P < 0.05$ )。两两群体间遗传分化分析( $F_{ST}$ )发现(表4), 除了蒙古和苏尼特群体之间的所有群体内各个亚群体固定系数( $F_{ST}$ )值差异不显著外( $P > 0.05$ ), 其他群体间的 $F_{ST}$ 值差异都显著或极显著。新疆的柯尔克孜和木垒长眉驼与内蒙古的苏尼特群体的 $F_{ST}$ 值最大, 分别达到0.1694和0.1623。10个群体间的基因流范围在1.2258–9.0437之间, 苏尼特和柯尔克孜群体之间基因流最小(1.2258), 柯尔克孜和伊犁群体间的基因流最大(9.0437)。

**2.3.2 遗传距离**

用DISPAN分析软件计算各群体之间的Nei's遗传距离( $D_A$ )和标准遗传距离( $D_S$ )(表5)。Nei's遗传距

离( $D_A$ )结果中, 柯尔克孜与苏尼特群体的距离最远( $D_A = 0.3203$ ), 其次是伊犁和苏尼特群体( $D_A = 0.3016$ ), 距离最近的是阿勒泰与木垒长眉驼群体( $D_A = 0.0897$ )、伊犁与柯尔克孜群体( $D_A = 0.0825$ )。这一结果与它们的地理分布相一致。蒙古群体与我国9个群体间没有表现出更远的遗传距离。

**2.3.3 聚类分析**

基于10个群体间的遗传距离( $D_A$ )和标准遗传距离( $D_S$ ), 用邻接法(NJ)和非加权平均法(UPGMA), 采用DISPAN软件构建了系统进化树, bootstrap的数值为1,000。基于 $D_S$ 和 $D_A$ 构建的UPGMA进化树的结果一致, 构建的NJ进化树的结果也一致。

10个群体基于 $D_A$ 的UPGMA树和NJ树的聚类结果如图1所示。虽然UPGMA树和NJ树的结果存在差异, 但都明显将10个群体分为两个分支: 新疆4个群体单独聚为一类, 为第一分支, 剩下的6个群体

表4 10个双峰驼群体的遗传分化程度( $F_{ST}$ , 对角线上)和基因流( $N_m$ , 对角线下)

Table 4 Fixation index resulting from comparing subpopulations to the total population ( $F_{ST}$ , above the diagonal) and gene flow ( $N_m$ , below the diagonal) among 10 Bactrain camel populations

	QH	AS	AG	GS	SU	MG	ALT	KKZ	ML	YL
QH		0.0603**	0.0746**	0.0734**	0.0691**	0.0645**	0.0966**	0.1253**	0.1284**	0.1238**
AS	3.8959		0.0537**	0.0960**	0.0873**	0.0624**	0.0775**	0.1170**	0.1276**	0.1266**
AG	3.1012	4.4055		0.0729**	0.1043**	0.0790**	0.0914**	0.1400**	0.1204**	0.1415**
GS	3.1560	2.3542	3.1794		0.1169**	0.0678**	0.1088**	0.1493**	0.1382**	0.1394**
SU	3.3679	2.6137	2.1469	1.8886		0.0852	0.1278**	0.1694**	0.1623**	0.1455**
MG	3.6260	3.7564	2.9146	3.4373	2.6843		0.0805**	0.1280*	0.1058**	0.1235*
ALT	2.3380	2.9758	2.4852	2.0478	1.7062	2.8556		0.0486**	0.0346**	0.0449**
KKZ	1.7452	1.8868	1.5357	1.4245	1.2258	1.7031	4.8940		0.1004**	0.0269**
ML	1.6970	1.7092	1.8264	1.5590	1.2904	2.1129	6.9754	2.2400		0.0918**
YL	1.7694	1.7247	1.5168	1.5434	1.4682	1.7743	5.3179	9.0437	2.4733	

\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ 。群体代号同表1。Population codes see Table 1.

表5 10个双峰驼群体的Nei's遗传距离( $D_A$ , 对角线上)和标准遗传距离( $D_S$ , 对角线下)

Table 5 Nei's genetic distance ( $D_A$ , above the diagonal) and Nei's standard genetic distance ( $D_S$ , below the diagonal) among 10 Bactrain camel populations

	QH	AS	AG	GS	SU	MG	ALT	KKZ	ML	YL
QH		0.1102	0.1299	0.1660	0.1587	0.1508	0.1985	0.2443	0.2249	0.2385
AS	0.1404		0.0986	0.1842	0.1695	0.1386	0.1586	0.2276	0.1991	0.2390
AG	0.1763	0.1118		0.1426	0.1820	0.1538	0.1736	0.2631	0.1946	0.2615
GS	0.1915	0.2385	0.1684		0.2374	0.1980	0.2228	0.2933	0.2443	0.2782
SU	0.1694	0.1997	0.2423	0.3143		0.1955	0.2701	0.3203	0.2853	0.3016
MG	0.1632	0.1423	0.1818	0.1710	0.2061		0.1723	0.2607	0.1914	0.2458
ALT	0.2470	0.1712	0.2044	0.2804	0.3208	0.1898		0.1298	0.0897	0.1223
KKZ	0.3499	0.2840	0.3529	0.4361	0.4786	0.3422	0.1027		0.1680	0.0825
ML	0.3149	0.2785	0.2538	0.3359	0.3821	0.2280	0.0617	0.2027		0.1453
YL	0.3484	0.3190	0.3632	0.4003	0.3894	0.3309	0.0957	0.0566	0.1843	

群体代号同表1。Population codes see Table 1.

聚为一类，为第二分支。从UPGMA进化树(图1A)中可以看出，6个群体中，苏尼特群体最先分离出来，蒙古、青海、阿拉善双峰驼-沙漠型群体、阿拉善双峰驼-戈壁型和甘肃群体聚为一大类，其中，阿拉善的2个类型(沙漠型和戈壁型)最先聚在了一起。从聚类图(图1)中可以看出，蒙古群体并没有从中国驼群体中单独分离出来，而是在新疆4个群体分离出去以后再分离，可能是由于蒙古和我国内蒙地区接壤，两个品种存在基因交流所致。

**2.3.4 主成分分析**

基于等位基因频率用MVSP软件对10个群体进行主成分分析。前4个主成分的百分比分别为37.7%、15.3%、12.3%和10.7%，前3个主成分的百分比之和为65.3%。由第一、二主成分二维散点图(图2)可知，第一主成分先将新疆的4个群体和其他6个群体分开，这与前述的聚类结果相一致；第二主成分将新疆4个群体中伊犁和柯尔克孜群体聚在一起，阿勒泰和木垒长眉驼群体聚在一起。除新疆4个群体以外的6个群体中，苏尼特与其他5个群体距离较远，单独分离出来。青海、阿拉善双峰驼-沙漠型、蒙古、甘肃、阿拉善双峰驼-戈壁型这5个群体的距离较近，这一结果与地理分布基本一致。

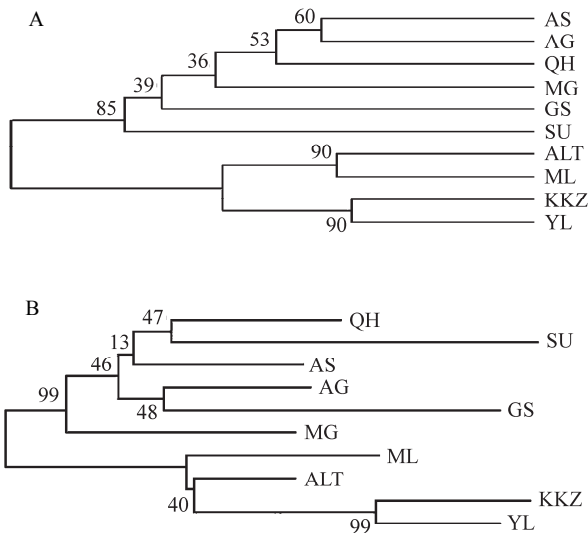


图1 基于遗传距离( $D_A$ )构建的10个双峰驼群体的UPGMA聚类树(A)和NJ树(B) (群体代号同表1)  
Fig 1 UPGMA tree (A) and neighbor-joining tree (B) of 10 Bactrian camel populations based on  $D_A$ . Population codes are the same as Table 1.

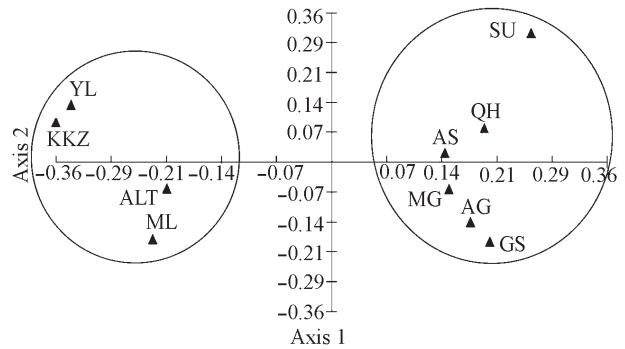


图2 10个双峰驼群体的第一、二主成分二维散点图(群体代号同表1)  
Fig. 3 Scatter plot of the first and second factors for 10 Bactrian camel populations. Population codes are the same as Table 1.

**2.3.5 群体遗传结构分析**

用Structure 2.2对10个群体进行群体遗传结构分析。根据K值对 $\ln P(D)$ 所做的曲线图(图3)表明，在 $K = 2$ 时， $\ln P(D)$ 的值最大，随后数值逐渐下降。当在 $K = 2$ 时，10个群体被分成2组：新疆的4个群体聚在一起，其他的群体聚在一起。蒙古群体也和其他5个中国驼群体(青海、苏尼特、阿拉善双峰驼-戈壁型、阿拉善双峰驼-沙漠型以及甘肃群体)聚在一起。这一结果和聚类分析结果一致。

**3 讨论**

**3.1 群体内遗传变异**

本研究中10个群体的平均有效等位基因数为4.18，与其他畜种相比，低于中国地方绵羊(*Ovis aries*)品种(10.7)(赵倩君, 2007)和中国地方猪(*Sus domesticus*)品种(7.44)(Yang *et al.*, 2003)，但高于绒山羊(3.0)(狄冉, 2008)。10个群体中青海和甘肃群体的有效等位基因数最多，表明这两个群体具有相对丰富的多样性。

**3.2 群体间遗传变异**

所有位点的亚群体内个体固定系数( $F_{IS}$ )差异极显著( $P < 0.001$ )，这可能是由于近30年来我国双峰驼存栏量逐年下降，饲养规模不断减小，种公驼数更是明显减少，各小放牧群体间的地理距离较远，从而造成局部近交的结果。

品种聚类必须与历史学、考古学、生态体貌、经济体型、地理分布、染色体特征、生化多态性和

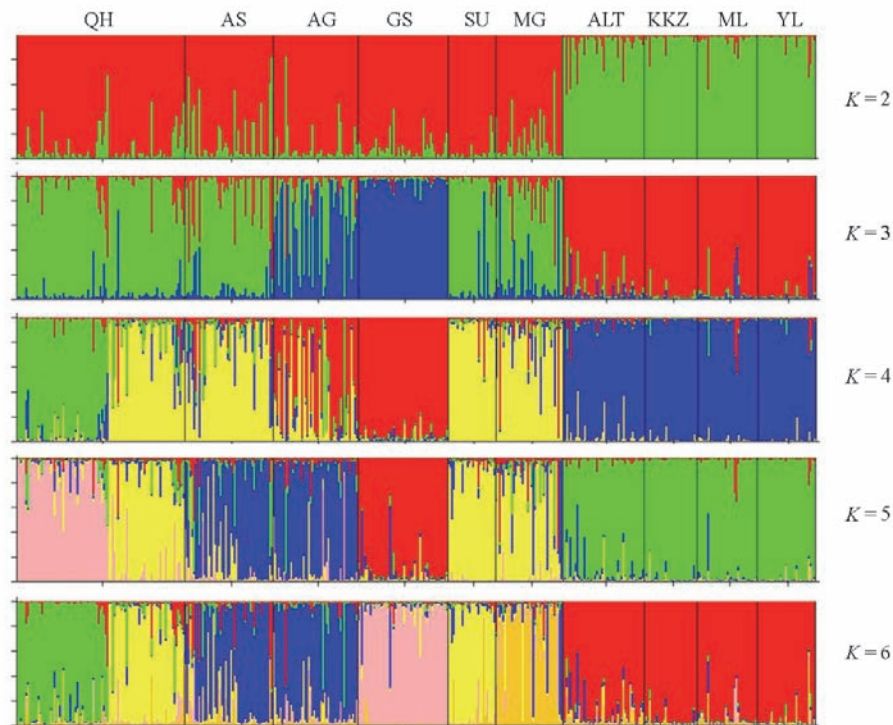


图3 用Structure推导的10个双峰驼群体遗传结构( $K=2, 3, 4, 5, 6$ 。群体代号同表1)

Fig. 3 Structure analysis of 10 Bactrian camel populations.  $K = 2, 3, 4, 5, 6$ . Population codes are the same as Table 1.

各分子水平的变异相结合(陈幼春等, 1990)。基于遗传距离的聚类分析、主成分分析和群体遗传结构分析得出的聚类结果在大体上是一致的, 即10个群体分为2个分支, 这一结果与王乐等(2010)的结果类似, 但2个分支的群体划分又与王乐等的结果不同, 本研究中所有新疆群体聚为一支, 而王乐等的研究中, 来自木垒的群体没有和其他新疆群体聚在一起。由于之前对中国双峰驼的部分研究(Han *et al.*, 2004; 高宏巍等, 2009)没有涉及到新疆群体, 所选择的群体全部在本研究的第二分支中, 所以得出我国双峰驼群体没有明显遗传分化的结果。基因流的分析也表明新疆的4个群体之间的基因流普遍较高, 它们与其他6个群体间的基因流又都较低, 这也验证了上述遗传结构分析的结果。除新疆以外的6个群体间的基因流值介于1.8886—4.4055之间, 其中青海与其他群体间的基因流明显要高, 可能预示存在青海与其他群体杂交的情况, 阿拉善双峰驼的沙漠型和戈壁型两种类型的基因流也较高, 这与它们来自同一品种的事实相符。6个群体间没有表现较强的基因流, 推断它们可能来自同一起源。从地形上,

横亘在新疆北部的阿尔泰山脉和天山山脉, 以及新疆中部塔克拉玛干沙漠形成了天然的屏障, 将新疆和其他群体隔离开来, 可能是导致新疆群体单独聚为一支的原因。

考古证据表明, 在西周时期我国青海就有驯养的双峰驼, 它们是当地先民(古羌族)从野生双峰驼驯化而来, 青海双峰驼在品种培育过程中多次发生与其他品种杂交的情况, 甚至在解放初期, 青海还曾从内蒙、甘肃购进2万峰, 构成了今日青海双峰驼的主要群体。这就是本研究中青海和阿拉善双峰驼表现出较近遗传关系的原因。

### 3.3 双峰驼资源保护建议

从本研究中可以看出, 新疆双峰驼是一个特殊的群体, 无论是遗传分化、主成分分析还是遗传结构分析结果均明显将它与其他群体区别开来, 新疆双峰驼在毛产量上明显优于其他品种, 推测本研究的微卫星位点可能和控制毛产量相关的基因存在连锁, 可以进一步分析。从遗传结构和基因流可以看出, 青海双峰驼可能存在杂交现象, 应注意品种培育, 减少外来品种的混入。遗传分化分析表明所有位

点的总 $F_{IS}$ 值( $P < 0.001$ )出现极显著差异,这可能与种公驼数量减少,出现局部近交有关,建议积极制定本品种选育计划,增加本品种内的小群体间公驼的共享。

**致谢:** 感谢青海省畜牧兽医总站郭继军老师协助相关骆驼群体样品采集。

## 参考文献

- Balmus G, Trifonov VA, Biltueva LS, O'Brien PC, Alkalaeva ES, Fu B, Skidmore JA, Allen T, Graphodatsky AS, Yang F, Ferguson-Smith MA (2007) Cross-species chromosome painting among camel, cattle, pig and human: further insights into the putative Cetartiodactyla ancestral karyotype. *Chromosome Research*, **15**, 499–514.
- Chen YC (陈幼春), Wang YY (王毓英), Chang H (常洪), Cao HH (曹红鹤), Pang ZH (庞之洪), Zhang Y (张跃) (1990) The classification of Chinese yellow cattle. In: *Characteristics of Chinese Yellow Cattle Ecospecies and Their Course of Utilization* (中国黄牛生态种特征及其利用方向)(ed. Chen YC (陈幼春)), pp. 89–93. China Agricultural Press, Beijing. (in Chinese)
- Di R (狄冉) (2008) *The Microsatellite and SNPs Study of Chinese Cashmere Goats* (中国产绒山羊微卫星和单核苷酸多态性研究). PhD dissertation, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. (in Chinese)
- Evdotchenko D, Han Y, Bartenschlager H, Preuss S, Geldermann H (2003) New polymorphic microsatellite loci for different camel species. *Molecular Ecology Notes*, **3**, 431–434.
- Gao HW (高宏巍), Wang J (王晶), He JX (何俊霞), Chen LY (陈鲁勇), Ji R (吉日木图), Meng H (孟和) (2009) Analysis on the genetic diversity and evolution in the *Camelus bactrianus* using SSR markers. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agriculture Science)*(上海交通大学学报)(农业科学版), **27**, 89–95. (in Chinese with English abstract)
- Han JL (韩建林) (2000) *Origin, Evolution and Genetic Diversity of Old World Genus of Camelus* (旧世界驼属动物的起源、演化及其遗传多样性). PhD dissertation, Lanzhou University, Lanzhou. (in Chinese)
- Han JL, Ochieng JW, Lkhagva B, Hanotte O (2004) Genetic diversity and relationship of domestic Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in China and Mongolia. *Journal of Camel Practice and Research*, **11**, 97–99.
- Hoffmann I, Marsan PA, Barker JSF, Cothran EG, Hanotte O, Lenstra JA, Milan D, Weigend S, Simianer H(2004) *New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: recommendations of a joint ISAG/FAO working group*. In: Proc. 29th International Conference on Animal Genetics. Tokyo, Japan.Lang KDM, Wang Y, Plante Y (1996) Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. *Animal Genetics*, **27**, 293.
- Men ZM (门正明), Han JL (韩建林), Zhang YZ (张月周) (1989) A study on the polymorphous heredity of blood proteins in Bactrian camel. *Acta Veterinariae Zootechnica Sinica* (畜牧兽医学报), **20**, 313–314. (in Chinese with English abstract)
- Obreque V, Coogle L, Henney PJ, Bailey E, Mancilla R, Garcia-Huidobro J, Hinrichsen P, Cothran EG (1998) Characterisation of 10 polymorphic alpaca dinucleotide microsatellites. *Animal Genetics*, **29**, 461–462.
- Penedo MCT, Caetano AR, Cordova K (1999) Eight microsatellite markers for south American camelids. *Animal Genetics*, **30**, 166–167.
- Prichard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945–959.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248–249.
- Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Taylor KM, Hungerford DA, Snyder RL, Ulmer FA Jr (1968) Uniformity of kryotypes in the Camelidae. *Cytogenetics*, **7**, 8–15.
- Wang L (王乐), Ren ZJ (任战军), Cheng J (程佳), Wang YX (王咏絮), Wang HL (王洪亮) (2010) Genetic diversity of five domesticated Bactrian camel populations in China. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica* (西北农业学报), **9**(11), 18–23. (in Chinese with English abstract)
- Yang SL, Wang ZG, Liu B, Zhang GX, Zhao SH, Yu M, Fan B, Li MH, Xiong TA, Li K (2003) Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds. *Genetics, Selection, Evolution*, **35**, 657–671.
- Zhao QJ (赵倩君) (2007) *Origin, Genetic Diversity and Conservation of Chinese Sheep Populations* (中国部分绵羊群体的起源、遗传多样性及保护研究). PhD dissertation, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. (in Chinese)

(责任编辑: 李明 责任编辑: 时意专)