

应用微卫星标记分析23个中国地方马种的遗传多样性

凌英会^{1,2} 成月娇^{1,2,3} 王艳萍^{1,2,3} 关伟军^{1,2} 韩建林^{1,2} 傅宝玲^{1,2}
赵倩君^{1,2} 何晓红^{1,2} 浦亚斌^{1,2} 马月辉^{1,2*}

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 (山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘要: 为了调查中国马种的群体遗传分化与遗传结构状况, 本研究应用FAO和ISAG推荐的25对微卫星引物, 结合荧光标记PCR分析技术, 对中国23个马群体和1个英纯血马群体进行了分子遗传学研究。结果表明: 中国地方马群体的遗传多样性比较丰富, 23个中国马群体的等位基因数、多态信息含量和遗传杂合度等都高于英国纯血马。根据群体遗传距离构建的系统进化树, 能够清晰地将英纯血马从中国马中独立出来, 同时可将中国马群体分成不同的支, 基本上与其地理分布格局相符。我们用MVSP软件进行群体遗传分化分析可见, 前三个主成分的三维散点图可以明显地把英纯血马从所有群体中独立出来, 并把中国的马群体分成几个相对独立的支。进一步分析第一、二主成分的二维散点图, 可将中国的马群体分化成南方支系、藏马支系、新疆和青海支系、内蒙古支系及东北支系等5个部分。根据Structure软件分析, 推测中国马群体含有5个潜在的支系, 基本上代表了我国现在主要家马来源的基础遗传支系。这些信息可以为我国现有马种类型的划分与马种资源遗传多样性的保护提供科学依据。

关键词: 马, 遗传变异, 遗传分化, 群体结构

Genetic diversity of 23 Chinese indigenous horse breeds revealed by microsatellite markers

Yinghui Ling^{1,2}, Yuejiao Cheng^{1,2,3}, Yanping Wang^{1,2,3}, Weijun Guan^{1,2}, Jianlin Han^{1,2}, Baoling Fu^{1,2}, Qianjun Zhao^{1,2}, Xiaohong He^{1,2}, Yabin Pu^{1,2}, Yuehui Ma^{1,2*}

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 College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801

Abstract: In order to investigate the genetic differentiation, we studied the genetic structure and genetic variation of 23 Chinese indigenous horse breeds and one thoroughbred horse population using 25 microsatellite markers. The number of alleles, polymorphism information content (PIC) and heterozygosity showed that genetic diversity in Chinese horses was higher than the thoroughbred horse. Neighbour-joining (NJ) dendrogram clustered Chinese horse populations and the thoroughbred horse into different groups. Furthermore, Chinese horse populations were grouped into several different phylogenetic clusters which corresponded to the geographic regions. Cluster analysis was performed by the Multivariate Statistical Package (MVSP), demonstrating that thoroughbred horse was discriminated from all the studied populations based on the three-dimensional scatter plot for the first three factors. Two-dimensional scatter plot for the first two principal factors divided Chinese horse populations into five groups: southern China, Tibet, Xinjiang and Qinghai, Inner Mongolia, and Northeast China. Genetic structure revealed by the software package Structure 2.2 dis-

收稿日期: 2008-12-26; 接受日期: 2009-03-28

基金项目: “十一五”国家科技支撑(2006BAD13B08)和科技部科技资源平台(2005DKA21101)

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

played five potential elementary genetic groups in Chinese modern horses.

Key words: horse, genetic variation, genetic differentiation, population structure

马(*Equus caballus*)在动物分类学上属于奇蹄目、马科、马属。现在的家马是由野马进化而来,具有多个起源(Vila *et al.*, 2001),经长期驯化后(Jansen *et al.*, 2002),又分化为许多品种或类型。我国马品种资源分布地域广阔,各具特点,品种分类方法也有很多。按照生态类型,可分为草原型、山地型、河谷型和高原型等,构成了对现有生态植被多层次利用和全方位适应的格局(耿社民和刘小林, 2003)。还有以地理区域为依据的自然地理分类,以培育水平为依据的培育程度分类,以表型描述和比较形态特征为依据的动物学分类等。但是,还没有从遗传学角度在分子水平上进行过确切划分。

由于微卫星分子标记SSR为共显性标记,多态性丰富,稳定性和重复性均较好,加之结合荧光标记PCR分析技术,操作简单且数据准确可靠,因而被广泛用于各种动物(曲鲁江等, 2006; 孙红梅等, 2008; Dadi *et al.*, 2008)及马种的遗传多样性(Aberle

et al., 2004)、群体结构(Marletta *et al.*, 2006)和群体分化(Glowatzki *et al.*, 2005)等的研究。国内已开始利用微卫星对内蒙古的马种遗传多样性进行分析(李金莲等, 2005),但是,尚未全面和系统地对我国地方马品种资源在分子水平上进行群体遗传学分析。

本文通过荧光标记PCR结合测序仪检测所获得的等位基因数据,对中国马种资源群体遗传结构和遗传分化进行了研究,试图从分子水平上为中国现代家马的品种确定和类型划分提供分子遗传学依据,为我国马种资源保护提供理论基础,并为进一步培育马品种提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验采集了来自中国的23个地方马品种/群体和1个英纯血马群体(由北京津华马业俱乐部2005

表1 24个马群体名称、代码、来源和采样信息

Table 1 Name, code, sample size and source region of 24 horse populations

代码 Code	品种名称 Breed name	样本数 Sample size	来源地 Locality
MG	蒙古马 Mongolia horse	50	内蒙古呼伦贝尔市 Hulunbeier City, Inner Mongolia
XNH	锡泥河马 Xinihe horse	50	内蒙古呼伦贝尔市 Hulunbeier City, Inner Mongolia
SH	三河马 Sanhe horse	31	内蒙古呼伦贝尔市 Hulunbeier City, Inner Mongolia
HH	黑河马 Heihe horse	42	黑龙江孙吴县 Sunwu County, Heilongjiang
ELC	鄂伦春马 Elunchun horse	30	黑龙江黑河市 Heihe City, Heilongjiang
JL	吉林马 Jilin horse	52	吉林白城市 Baicheng City, Jilin
KZK	哈萨克马 Hazakh horse	50	新疆新源县 Xinyuan County, Xinjiang
YQ	焉耆马 Yanqi horse	55	新疆焉耆县 Yanqi County, Xinjiang
YL	伊犁马 Yili horse	60	新疆伊犁县 Yili County, Xinjiang
DT	大通马 Datong horse	56	青海祁连县 Qilian County, Qinghai
CDM	柴达木马 Cadamu horse	33	青海都兰县 Dulan County, Qinghai
HQ	河曲马 Hequ horse	24	青海河南县 Henan County, Qinghai
YSH	玉树马 Yushu horse	50	青海玉树市 Yushu City, Qinghai
TGL	西藏草地马 Tibet grassland horse	61	西藏浪卡子县 Langkazi County, Tibet
TRV	西藏河谷马 Tibet valley horse	52	西藏江孜县 Jiangzi County, Tibet
JC	建昌马 Jianchang horse	52	四川布拖县 Butuo County, Sichuan
LCH	利川马 Lichuan horse	38	湖北利川市 Lichuan City, Hubei
DL	大理马 Yunnan horse	30	云南剑川县 Jianchuan County, Yunnan
WS	文山马 Wenshan horse	36	云南文山县 Wenshan County, Yunnan
GZ	贵州马 Guizhou horse	38	贵州安顺市 Anshun City, Guizhou
BS	百色马 Baise horse	60	广西百色县 Baise County, Guangxi
DBP	德保矮马 Debao pony	66	广西德保县 Debao County, Guangxi
JJ	晋江马 Jinjiang horse	60	福建晋江县 Jinjiang County, Fujian
THB	英纯血马 Thoroughbred horse	30	英国 UK

年从英国购买)。所有中国马种都在原产地随机抽取,并保证样品个体具备品种的典型特征,个体之间没有直接的血缘关系。品种名称及样本信息见表1。大部分群体样本数在40左右(公/母比例接近1),共1,106份血样,采用真空加抗凝剂负压抽血管。

1.2 引物

所用25对SSR引物由FAO和ISAG最新推荐(www.isag.org.uk),分布在马22对染色体上。引物由上海生工合成,并对引物上游5'端进行荧光修饰,荧光集团有FAM和HEX,内标采用LIZ500(采购于美国ABI公司)。

1.3 DNA的提取

采取酚-氯仿抽提法从抗凝血中提取基因组DNA(Sambrook & Russell, 2001)。用Spectrophotometer测定基因组DNA的浓度和纯度,然后将所有样本的浓度调整为50 ng/ μ L左右。

1.4 PCR扩增及多态性检测

对所选的25对引物进行扩增,采用了单一PCR

扩增和多重PCR扩增相结合的方式。PCR扩增体系为12 μ L,反应程序为:95 $^{\circ}$ C预变性5 min,94 $^{\circ}$ C变性30 s,55–60 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,32个循环,72 $^{\circ}$ C延伸10 min。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳进行检测。用ABI3130全自动基因分析仪进行片段收集,片段长度用软件GeneMapper3.7进行统计分析。

1.5 数据统计与分析

利用The Excel Microsatellite Toolkit 3.1 (<http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit>)计算等位基因数(N_a)、等位基因频率(P)和多态信息含量(PIC);采用POPGENE 1.31(<http://www.ualberta.ca/~fyeh>)计算了有效等位基因数(NEA)、平均等位基因数(MNA)、特有等位基因数(Pa)等参数,以及以等位基因频率为基础的观察杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、等位基因丰富度(AR)和多态信息含量(PIC)。

Wright(1977)提出了3个固定指数(fixation index, F_{is} 、 F_{st} 和 F_{it}),作为反映群体近交程度或群体间遗传分化程度的指标。因为在实际的动物群体中,

表2 24个马群体的遗传变异

Table 2 Basic genetic variation information of the 24 horse studied populations

代码 Code	等位基因差异 Allelic diversity			群体遗传多样性 Genetic diversity			
	MNA	NEA	Pa	H_o	H_e	AR	PIC
蒙古马 MG	7.48	4.16	4	0.742	0.727	6.736	0.693
锡泥河马 XNH	7.88	4.25	0	0.723	0.746	7.081	0.712
三河马 SH	7.92	4.43	0	0.745	0.751	7.549	0.718
黑河马 HH	7.96	4.38	2	0.752	0.747	7.248	0.715
鄂伦春马 ELC	6.72	3.69	1	0.683	0.698	6.453	0.659
吉林马 JL	7.80	4.41	1	0.743	0.745	6.969	0.713
哈萨克马 KZK	8.36	4.81	2	0.766	0.760	7.558	0.730
焉耆马 YQ	8.36	4.54	3	0.745	0.757	7.451	0.725
伊犁马 YL	8.40	4.61	2	0.757	0.763	7.464	0.732
大通马 DT	8.32	4.48	3	0.727	0.751	7.484	0.721
柴达木马 CDM	7.36	4.56	0	0.730	0.751	7.097	0.720
河曲马 HQ	6.76	4.40	0	0.755	0.730	6.760	0.695
玉树马 YSH	8.36	4.50	1	0.723	0.752	7.535	0.722
西藏草地马 TGL	8.24	4.23	3	0.739	0.745	7.295	0.713
西藏河谷马 TRV	7.88	4.49	2	0.742	0.756	7.253	0.725
建昌马 JC	7.60	4.57	1	0.729	0.761	7.025	0.731
利川马 LCH	7.72	4.62	3	0.749	0.752	7.130	0.723
大理马 DL	8.43	4.82	13	0.723	0.761	8.069	0.736
文山马 WS	7.84	4.42	2	0.747	0.765	7.301	0.724
贵州马 GZ	7.60	4.46	0	0.755	0.745	7.057	0.713
百色马 BS	8.24	4.56	2	0.734	0.749	7.364	0.721
德保矮马 DBP	8.80	4.66	6	0.737	0.755	7.602	0.728
晋江马 JJ	7.92	4.04	2	0.732	0.731	6.800	0.697
英纯血马 THB	4.68	3.07	0	0.667	0.632	4.551	0.577

MNA : 平均等位基因数; NEA : 有效等位基因数; Pa : 特有等位基因数; H_o : 观察杂合度; H_e : 期望杂合度; AR : 等位基因丰富度; PIC : 多态信息含量。

MNA , Mean number of alleles; NEA , Number of effective alleles; Pa , Number of private alleles; H_o , Observed heterozygosity; H_e , Expected heterozygosity; AR , Allelic richness; PIC , Polymorphism information content.

每个亚群体(subpopulation)内的基因型频率并不一定符合H-W平衡, 所以每个亚群体的固定指数不一定为0。根据FSTAT程序(Weir *et al.*, 1984)计算等位基因丰富度(allelic richness, *AR*)和*F*-statistics固定指数, 并由Benferroni程序计算其显著性(Goudet, 2001)。用DISPAN软件包(Ota, 1993)计算Nei's标准遗传距离(*DS*)(Nei, 1972)和Nei's遗传距离(*DA*) (Nei *et al.*, 1983); 采用邻接法(neighbor-joining method, NJ)进行聚类分析。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程序(Pritchard *et al.*, 2000)对微卫星数据进行分析, 推测中国马种的遗传结构。

2 结果

2.1 等位基因的遗传变异

本研究检测到所有个体在25对微卫星位点的

等位基因共有300个, 其中中国马中共发现300个, 包含了英国纯血马中的117个等位基因, 并在所有群体中发现53个特有等位基因。另外在中国马种普遍存在但在英纯血马中没有检测到的等位基因有36个。等位基因差异指标中(表2), 平均等位基因数最高的是德保矮马(*MNA* = 8.80), 其次是大理马(*MNA* = 8.43)和伊犁马(*MNA* = 8.40), 最低的为英纯血马(*MNA* = 4.68)和鄂伦春马(*MNA* = 6.72); 有效等位基因数最高的是大理马(*NEA* = 4.82), 其次为哈萨克马(*NEA* = 4.81)和德保矮马(*NEA* = 4.66), 最低的为英纯血马(*NEA* = 3.07)和鄂伦春马(*NEA* = 3.69); 特有等位基因中最高的为大理马(*Pa* = 13), 其次为德保矮马(*Pa* = 6)和蒙古马(*Pa* = 4)。英纯血马、锡泥河马、三河马、柴达木马、河曲马和贵州马等6个群体都没有发现特有等位基因。

群体遗传多样性的指标中, 等位基因丰富度和多态信息含量中最高的都是大理马(*AR* = 8.069,

表3 23个中国马群体25对微卫星座位的*F*-统计检验

Table 3 *F*-statistics for 23 Chinese horse populations at 25 microsatellite loci

基因座位 Locus	所有中国群体 All Chinese horse populations			群体 Population	所有位点 <i>Fis</i> All loci <i>Fis</i>
	<i>Fit</i>	<i>Fst</i>	<i>Fis</i>		
HMS06	0.035**	0.031***	0.004	MG	-0.011
HMS07	0.040**	0.014***	0.026*	XNH	0.041**
HTG07	0.028	0.026***	0.002	SH	0.005
HMS03	0.080***	0.028***	0.054***	HH	0.039*
COR082	0.063***	0.031***	0.033***	ELC	0.012
HTG04	0.035*	0.024***	0.012	JL	-0.091
LEX54	-0.016	0.024***	-0.041	KZK	0.003
ASB17	0.066***	0.021***	0.047***	YQ	0.026*
SGCV28	0.031*	0.040***	-0.010	YL	0.016
HMS02	0.037**	0.019***	0.019	DT	0.041**
COR022	0.014	0.015***	-0.002	CDM	0.043**
HMS45	-0.014	0.036***	-0.052	HQ	-0.013
LEX34	0.018	0.027***	-0.010	YSH	0.049***
COR071	0.064***	0.019***	0.045***	TGL	0.016
LEX73	0.064***	0.033***	0.033	TRV	0.029
HTG10	0.109***	0.019***	0.091***	JC	0.051***
COR007	0.021	0.026***	-0.006	LCH	0.017
LEX63	0.123***	0.026***	0.099***	DL	0.067***
ASB23	0.045**	0.031***	0.014	WS	0.024
COR018	0.044**	0.024***	0.021	GZ	0.001
VHL20	0.046***	0.023***	0.024*	BS	0.029
AHT04	0.025*	0.015***	0.010	DBP	0.031**
UCDEQ4	0.044**	0.039***	0.005	JJ	0.007
HTG06	-0.033	0.018***	-0.052		
ASB02	0.080***	0.020***	0.061***		
总计 Total	0.045***	0.024***	0.021***		

Fit: 整个群体的个体固定系数; *Fst*: 所有群体内各个亚群体的固定系数; *Fis*: 亚群体内的个体固定系数。杂合度缺乏的显著性水平: **P* < 0.05; ***P* < 0.01; ****P* < 0.001。群体代码同表1。

Fit, Fixation index of total population; *Fst*, Fixation index resulting from comparing subpopulations to the total population; *Fis*, Fixation index of subpopulation. Significance levels of deficit in heterozygotes: **P* < 0.05; ***P* < 0.01; ****P* < 0.001. Population codes see Table 1.

$PIC = 0.736$), 哈萨克马和文山马在观察杂合度和期望杂合度中值最高。另外德保矮马和建昌马的群体遗传多样性的指标值也比较高。

2.2 固定指数

对23个中国马群体的25对微卫星位点进行 F -统计, 结果显示(表3): 群体间存在极显著的遗传分化, 遗传分化系数(F_{st})为0.024, 并且在所有位上都呈现极显著性。总群体的个体固定系数(Fit)为0.045($P < 0.001$)。23个群体中, 9个群体出现显著的杂合子缺失, 总群体内近交系数(F_{is})为0.021, 反映群体内少数个体存在着近交。

2.3 基于Nei's遗传距离的聚类分析

根据Nei等(1983)的方法计算标准遗传距离(DS)和遗传距离(DA), 并依据 DA 构建系统进化树(图1)。结果表明, 中国马群体与英纯血马间的遗传距离普遍较远, 与英纯血马之间遗传距离最远的依次是大理马(0.244)、贵州马(0.230)和晋江马(0.227); 遗传距离较近的依次为伊犁马(0.176), 焉耆马

(0.186)和哈萨克马(0.196)。在中国马的群体间, 晋江马与鄂伦春马, 大理马与鄂伦春马, 以及大理马与蒙古马的遗传距离最远(都为0.121); 遗传距离最近的是百色马与德保矮马(0.027), 哈萨克马与伊犁马(0.028)和焉耆马与伊犁马(0.030)。标准遗传距离(DS)的趋势与遗传距离相似。

根据遗传距离(DA)构建的系统进化树(图1), 显示南方地区的马种聚到一起构成第一大支系, 再与藏马的3个群体(西藏草地马、西藏河谷马、青海玉树马)聚到一起; 青海的大通马、柴达木马和河曲马, 内蒙古的蒙古马、锡泥河马和三河马, 新疆地区的哈萨克马、焉耆马和伊犁马, 都各自聚在相对独立的分支上; 东北的鄂伦春马、黑河马和吉林马单独聚成一类。

2.4 群体间遗传分化的主成分分析

利用MVSP软件基于等位基因频率对24个马群体进行主成分分析, 前5个特征根的累计贡献率分别为31.9%, 53.9%, 62.9%, 70.6%和73.7%。首先利

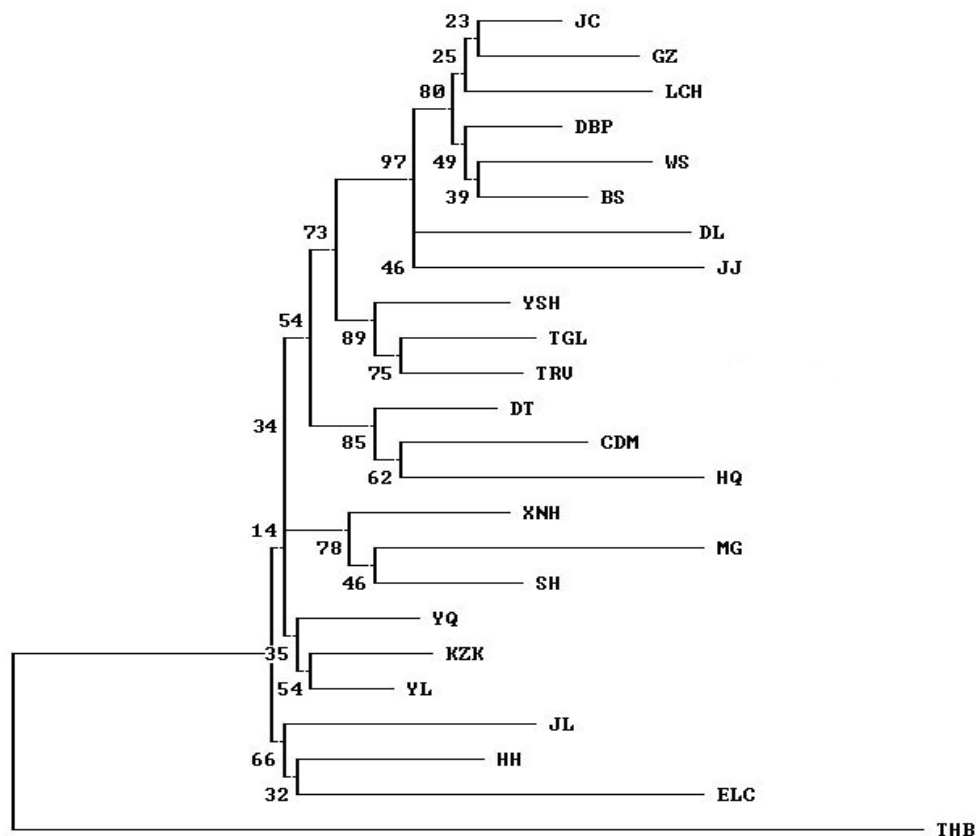


图1 基于Nei's遗传距离(DA)构建的24个马群体的NJ聚类图(群体代号同表1)

Fig. 1 A neighbour-joining dendrogram of 24 horse populations based on Nei's genetic distances (DA). Population codes see Table 1.

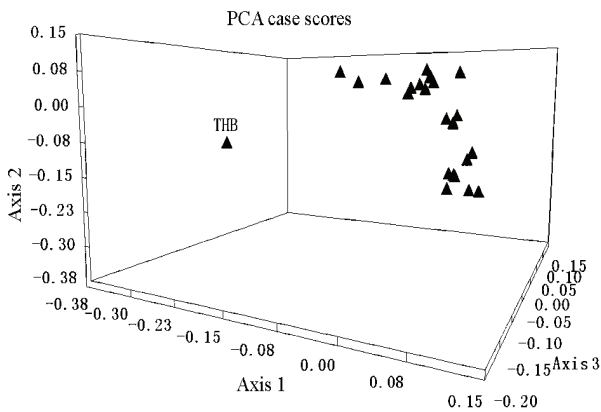


图2 24个马群体前三个主成分的三维散点图。Axis 1、Axis 2、Axis 3分别代表第1、第2、第3主成分。

Fig. 2 Three-dimensional scatter plot for the first three principal factors for 24 horse populations. Axis 1, Axis 2, and Axis 3 represent the first three principal factors, respectively.

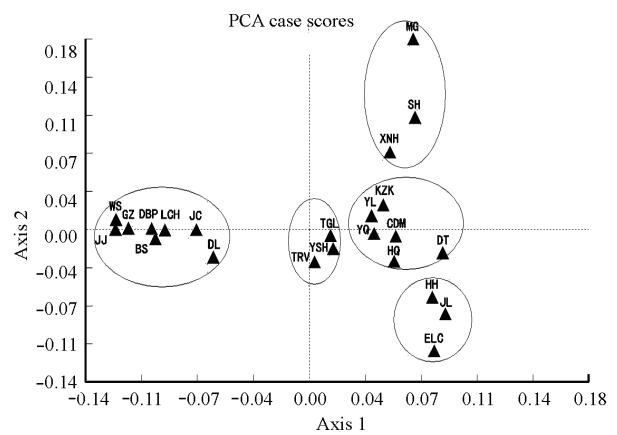


图3 23个中国马群体第一、二主成分的二维散点图。Axis 1和Axis 2分别代表第1主成分和第2主成分。

Fig. 3 Two-dimensional scatter plot for the first two principal factors for 23 Chinese horse populations. Axis 1 and Axis 2 represent the first two principal factors, respectively.

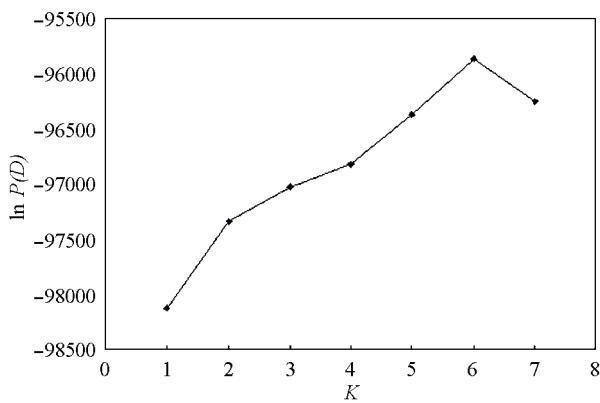


图4 Structure混群模型分析ln P(D) (±SD)与K值的曲线图
Fig. 4 The model choice criterion ln P(D) (±SD) of the Structure analysis for each K value

用前三个特征根构建前三个主成分的三维坐标图(图2), 可以明显地把英纯血马从所有群体中独立出来, 并能够把中国的马群体分成几个相对独立的支。为了更清楚地分析中国马种之间的遗传分化关系, 又将中国23个马群体单独构建第一、二主成分的二维坐标图(图3)。第一主成分将南方8个马群体和藏马的3个群体独立出来, 而第二主成分进一步将其余的马群体分成三部分, 中间为新疆地区与青海地区马种, 上方为内蒙古地区马种, 下方为东北地区马种, 基本体现了群体之间的地理格局。

2.5 群体遗传结构的Structure分析

采用Structure 2.2软件对样本进行了聚类。

Pritchard等(2000)提出了一个以多位点基因型数据构建聚类模型的方法, 这个算法通过混群模型来揭示隐藏的群体遗传学结构, 通过K值来确定潜在的遗传支系的数量。具体步骤是: 首先把所有待测个体假定可以归为K类, 根据运算法则, 个体可以隶属于多个类, 但是多个类的系数之和为1。应用混群模型运算后根据lnP(D)(±SD)来推测最优K值(Falush *et al.*, 2003)。图4根据K值对ln P(D) (±SD)所做的曲线图, 推测K = 6时比较合适, 即所研究的群体可能来自6个潜在的支系。用DISTRUCT 1.1软件(<http://rosenberglab.bioinformatics.med.umich.edu/distruct.html>)对生成的Structure柱形图进行分析, 首先英纯血马包含有一个独立的支系, 中国的马种中含有5个潜在支系, 图形证实了K值的可靠性。

3 讨论

3.1 等位基因差异与群体遗传多样性

在以往对中国马的血液蛋白遗传多样性的研究中, 张才骏(1995)对湟中马血清酯酶的多态性研究表明, 血清酯酶(34)位点是马的一个重要的血液蛋白质位点。在对蒙古马和三河马的研究中, 侯文通和孙超(1995)发现, 蒙古马中的乌珠穆沁马和乌审马的等位基因频率分布各具明显的种群特异性。

王振山等(2001)在三河马蛋白酶抑制剂位点共发现 11 种表型,表现出高度的多态性,属于具高鉴别能力的蛋白型系统,在个体鉴别中非常有用。

本研究结果表明:中国马种中,除鄂伦春马的遗传变异性相对较小外,其他群体都具有较高的遗传变异和高度的多态性。而英纯血马群体所有遗传指标均表现出最小值,遗传参数水平与国外报道基本一致(Morais *et al.*, 2005)。类似用微卫星标记分析中国国家养动物的遗传多样性的研究方法对中国山羊及中国绵羊等研究中显示了相似的结果(狄冉等, 2007; 仲涛等, 2008)。等位基因差异显示了同样的趋势:大理马、德保矮马、文山马以及哈萨克马显示出了较高的遗传多样性。特别需要注意的是,在出现 53 个特有等位基因的 18 个群体中,平均每个群体约只有 3 个特有等位基因,而大理马却有 13 个。说明我国的西南地区马种蕴含着很大的遗传变异潜力。

3.2 群体遗传分化和群体遗传结构分析

F-统计结果显示群体间存在着极显著的遗传分化,总的群体间遗传分化系数 $F_{st} = 0.024$ 。Canon 等(2000)和 Iwańczyk 等(2006)等研究显示波兰马、阿拉伯马、利比萨马、凯尔特马和英纯血马等群体间的遗传分化系数不高,这可能与马作为战争工具和交通工具不断迁徙,不同地区的马血统相互渗入有关。侯文通等(1993)对中国各地的矮马和中型马的血液蛋白研究表明:基因频率无大的差异,遗传关系接近。西南马类型在聚类时表现了较近的亲缘关系,类型间差异远远小于类型内的差异。

群体间遗传分化是多个群体间在多个遗传标记座位上的差异性,具有多变量的特征。通过主成分分析可以进一步揭示群体间的遗传分化程度和系统发生关系。本研究的聚类和主成分分析结果与中国马群体的地理分布大致相符,并且与之前的形态学分类和品种历史记载相一致(中国马驴品种志编写组, 1986)。

由于运算过程不需要预先了解群体的遗传背景,因而 Structure 软件被认为是用于群体遗传结构分析的理想工具(Falush *et al.*, 2003)。Alvarez 等(2004)在研究西班牙北部同域绵羊品种时曾验证,遗传标记是否处于背离 H-W 平衡状态并不影响 Structure 运算结果,说明该程序兼容性强,推测结果比较可靠。本实验所研究的中国马种群体来自 12

个省/自治区,覆盖了我国马品种的主要产区,根据遗传分化程度推测的中国马种含有的 5 个潜在遗传支系,代表了我国现在家马来源的主要支系。

本文利用微卫星标记首次对中国马种的遗传差异与遗传结构进行了全面分析,研究表明中国马群体中蕴含丰富的遗传多样性,这将是我们将来开发利用的宝贵原始材料。西南马种和新疆哈萨克马的多项遗传指标都最高,而且含有异常多的特有等位基因,遗传多样性潜力很大。本研究可为我国现有马种划分与遗传多样性保护提供参考,并能为中国马起源和早期驯化历史的研究提供相关信息。然而想要获得更准确和更具普遍性的结论,还需要深入了解中国不同马种的相关历史以及群体之间的遗传关系。

参考文献

- Aberle KS, Hamann H, Drogemuller C, Distl O (2004) Genetic diversity in German draught horse breeds compared with a group of primitive, riding and wild horses by means of microsatellite DNA markers. *Animal Genetics*, **35**, 270–277.
- Alvarez L, Royo J, Fernandez I, Gutierrez JP, Gomez E, Goyache F (2004) Genetic relationships and admixture among sheep breeds from northern Spain assessed using microsatellites. *Journal of Animal Science*, **82**, 2246–2252.
- Canon J, Checa ML, Carleos C, Vega-Pla JL, Vallejo M, Dunner S (2000) The genetic structure of Spanish Celtic horse breeds inferred from microsatellite data. *Animal Genetics*, **31**, 39–48.
- Dadi H, Tibbo M, Takahashi Y, Nomura K, Hanada H, Amano T (2008) Microsatellite analysis reveals high genetic diversity but low genetic structure in Ethiopian indigenous cattle populations. *Animal Genetics*, **39**, 425–431.
- Di R (狄冉), He XH (何晓红), Han JL (韩建林), Guan WJ (关伟军), Pu YB (浦亚斌), Zhao QJ (赵倩君), Fu BL (傅宝玲), Ma YH (马月辉) (2007) Genetic diversity and phylogenetic relationship of Chinese cashmere goats based on microsatellite DNA markers. *Biodiversity Science* (生物多样性), **15**, 470–478. (in Chinese with English abstract)
- Editorial Committee of Horse and Ass Breeds in China (中国马驴品种志编写组) (1986) *Horse and Ass Breeds in China* (中国马驴品种志). Shanghai Science and Technology Press, Shanghai. (in Chinese)
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, **164**, 1567–1587.
- Geng SM (耿社民), Liu XL (刘小林) (2003) *Compendium of Animal Breed Resources in China* (中国家畜品种资源纲要). China Agricultural Press, Beijing. (in Chinese)
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene

- diversities and fixation (version 2.9.3.2). <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Glowatzki ML, Muntwyler J, Pfister W, Marti E, Rieder S, Poncet PA, Gaillard C (2005) Genetic diversity among horse populations with a special focus on the Franches-Montagnes breed. *Animal Genetics*, **37**, 33–39.
- Hou WT (侯文通), Sun C (孙超) (1995) Genetic diversity analysis of the eastern and western types of the Mongolian horse. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine (畜牧兽医杂志)*, **14**(2), 5–7 (in Chinese)
- Hou WT (侯文通), Li XY (李相运), Li QR (李勤荣) (1993) Studies on the genetic differentiation and relationship of some local types in southwestern horses of China. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica (西北农业学报)*, **2**(4), 94–98. (in Chinese with English abstract)
- Iwańczyk E, Juras R, Cholewiński G, Cothran EG (2006) Genetic structure and phylogenetic relationships of the Polish heavy horse. *Journal of Applied Genetics*, **47**, 353–359.
- Jansen T, Forster P, Levine MA, Oelke H, Hurler M, Renfrew C, Weber J, Olek K (2002) Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **16**, 10905–10910.
- Li JL (李金莲), Mang L (芒来), Shi YF (石有斐) (2005) Evaluation of genetic diversity of Mongolian horse and Thoroughbred horse using microsatellite markers. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica (畜牧兽医学报)*, **36**, 6–9. (in Chinese with English abstract)
- Marletta D, Tupac-Yupanqui I, Bordonaro S, Garcia D, Guastella AM, Criscione A, Canon J, Dunner S (2006) Analysis of genetic diversity and the determination of relationships among western Mediterranean horse breeds using microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, **123**, 315–325.
- Morais J, Maria M, Malta V, Luis C (2005) Genetic structure of an endangered Portuguese semiferal pony breed, the Garrano. *Biochemical Genetics*, **43**, 347–364.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, **106**, 283–292.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y (1983) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, **19**, 153–170.
- Ota T (1993) *DISPAN: Genetic Distance and Phylogenetic Analysis*. Pennsylvania State University, University Park, PA.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945–959.
- Qu LJ (曲鲁江), Li XY (李显耀), Xu GF (徐桂芳), Chen KW (陈宽维), Yang HJ (杨红杰), Zhang LC (张龙超), Wu GQ (吴桂琴), Hou ZC (侯卓成), Xu GY (徐桂云), Yang N (杨宁) (2006) Analysis of genetic diversity of Chinese native chicken breeds using microsatellite markers. *Science in China (Series C) (中国科学C辑)*, **36**, 17–26. (in Chinese)
- Sun HM (孙红梅), Xing XM (邢秀梅), Rong M (荣敏), Cong B (丛波) (2008) Genetic diversity and phylogenetic relationship of rabbit breeds based on microsatellite DNA markers. *Biodiversity Science (生物多样性)*, **16**, 492–497. (in Chinese with English abstract)
- Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY.
- Vila C, Leonard JA, Gotherstrom A, Marklund S, Sandberg K, Linden K, Wayne RK, Ellegren H (2001) Widespread origins of domestic horse lineages. *Science*, **291**, 474–477.
- Wang ZS (王振山), Li JC (李建成), Guo YX (郭永新) (2001) Preliminary study on genetic polymorphism of transferrin in Chinese miniature horses. *Heilongjiang Journal of Animal Science and Veterinary Medicine (黑龙江畜牧兽医)*, **10**, 3–5. (in Chinese with English abstract)
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358–70.
- Wright S (1977) *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 3: Experimental Results and Evolutionary Deductions*. University of Chicago Press, Chicago.
- Zhang CJ (张才骏), Yu BY (俞秉印), Wang YG (汪永贵), Chen F (陈福), Sun Y (孙瑛) (1995) Investigation on polymorphism of serum esterase in Huangzhong horse. *Qinghai Journal of Animal Science and Veterinary Medicine (青海畜牧兽医杂志)*, **25**(4), 19–21 (in Chinese with English abstract)
- Zhong T (仲涛), Ma YH (马月辉), Guan WJ (关伟军), Ling YH (凌英会), Guo J (郭军), Zhao QJ (赵倩君), He XH (何晓红) (2008) Genetic diversity of microsatellite DNA among ten sheep breeds. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica (畜牧兽医学报)*, **39**, 555–561. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑: 曲鲁江 责任编辑: 时意专)