

运用微卫星标记对中国地方绵羊品种的遗传多样性分析

吕慎金^{1,2}, 杨燕², 侯冠玉³, 马月辉^{1*}, 耿社民⁴, 李宏滨¹, 浦亚斌¹

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193; 2. 山东临沂师范学院, 临沂 276009;
3. 中国热带农业科学研究院品种资源研究所, 儋州 571737; 4. 西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100)

摘要: 利用 30 对微卫星引物, 以中国西部 7 个地方绵羊 (*Ovis aries*) 品种为研究对象, 通过计算基因频率、平均杂合度 (H)、多态信息含量 (PIC) 及有效等位基因数目 (N_e), 并根据共祖遗传距离矩阵进行 UPGMA 聚类分析, 评估其品种内和品种间的遗传变异。结果表明: 在 30 个座位中, 共检测到 239 个等位基因, 平均每个座位等位基因数为 8 个; 品种平均有效等位基因数为 2.9~3.4 个, 座位平均有效等位基因数为 1.9~5.3 个; 座位平均杂合度为 0.320~0.818, 品种平均杂合度在 0.656~0.719 之间, 座位平均 PIC 为 0.388~0.786, 品种平均 PIC 在 0.590~0.666 之间。聚类分析表明各绵羊品种聚类结果与其来源、育成史和地理分布基本一致, 其中有争议之处仍待进一步探讨。

关键词: 绵羊; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号: S826.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)07-0858-08

Analysis of Genetic Diversity of Chinese Indigenous Sheep Breeds by Microsatellite Markers

LÜ Shen-jin^{1,2}, YANG Yan², HOU Guan-yu³, MA Yue-hui^{1*},

GENG She-min⁴, LI Hong-bin¹, PU Ya-bin¹

(1. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Shandong Linyi Normal University, Linyi 276009, China; 3. Tropical Crops Genetic Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China; 4. College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The seven native sheep breeds of western China were analyzed using 30 microsatellite markers which we selected. The allele frequency, mean heterozygosity, polymorphism information content, effective allele number and dendrogram analysis with coancestry genetic distance were used to assess the genetic variability between and among breeds. The results showed that total of 239 alleles were detected, the mean allele number of one locus was 8, the effect allele numbers were between 2.9 and 3.4 in breeds, and the mean N_e of loci were from 1.9 to 5.3. The mean heterozygosity of loci from 0.320 to 0.818, mean heterozygosity of breeds were from 0.656 to 0.719, and mean polymorphism information content of loci were from 0.388 to 0.786, mean PIC of breeds from 0.590 to 0.666. The dendrogram relationship between different sheep breeds were generally in accordance with the origins, breeding history and localities. The different opin-

收稿日期: 2007-07-10

基金项目: “十一五”科技支撑计划(2006BAD13B08); 科技基础条件平台(2005DKA21101)

作者简介: 吕慎金(1975-), 男, 山东郯城人, 讲师, 博士生, 主要从事动物遗传学、行为遗传学研究

* 通讯作者: 马月辉(1964-), 男, 吉林伊通人, 博导, 研究员, 主要从事畜禽遗传资源研究

ions about the results need deeper research work.

Key words: sheep; microsatellite; fenetic diversity

我国养羊历史悠久,羊遗传资源丰富。据《中国羊品种志》记载,我国绵羊品种共有 30 个,其中地方绵羊品种 15 个,培育品种 7 个,引入品种 8 个^[1],包括没有登记的一些品种,我国大约共有绵羊品种 40 余个。所有这些绵羊品种,一般都具有适应性好,耐粗易抓膘,抗病抗逆等优点。并且,它们生产性能优良,产品丰富多样。

微卫星标记技术具有分布广、重复性好、易操作、多态信息含量高、呈共显性遗传等特点而广泛应用于绵羊的遗传多样性研究^[2-3]。鉴于此,本研究旨在应用微卫星标记技术,对我国西部 7 个地方绵羊品种进行系统研究分析,以评估我国地方绵羊品种遗传资源多样性,为我国特有的地方绵羊品种遗传资源评价、保护、维持及合理利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

采用 7 个中国地方绵羊品种,共计 338 份样品。其中汉中绵羊(Hanzhong sheep, HZS, 44 份)采自陕西汉中;同羊(Tong sheep, TS, 44 份)采自陕西白水;兰州大尾寒羊(Lanzhou Large Tailed sheep, LLTS, 44 份)采自甘肃兰州市周围;岷县黑裘皮羊(Min Xian Black Fur sheep, MBFS, 44 份)采自甘肃岷县清水乡;欧拉羊(Oula sheep, OLS, 44 份)采自甘肃玛曲县欧拉乡;甘加羊(Ganjia sheep, GJS, 44 份)采自甘肃夏河县甘加乡;乔科羊(Qiaoke sheep, QKS, 44 份)采自甘肃玛曲县河曲马场;对照品种无角陶赛特(Poll Dorset, PDS, 30 份)采自中国农业科学院北京畜牧兽医研究所昌平原种厂。抽样方法采用原产地典型群随机抽样方法^[4],用耳号钳剪取约 0.5 g 受试羊耳组织,70%乙醇浸泡,-20℃保存。

1.2 微卫星 DNA 标记的选择

所用的引物全部由北京赛百盛生物工程公司合成。引物序列、位置、退火温度及等位基因数目见表 1。

1.3 微卫星多态性检测

DNA 提取采用常规酚、氯仿抽提法。提取后检测其纯度并加 TE 溶解,-20℃保存备用。PCR 程

序:95℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,50~60℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,33~35 循环;72℃延伸 5~10 min;4℃保存。PCR 产物经 2%琼脂糖电泳检测,用 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,硝酸银染色,最后用数码凝胶成像系统照相。

1.4 统计 分析

以 POPGENE3.2 统计 7 个绵羊品种等位基因频率和有效等位基因数目;以 GDA 软件计算杂合度、多态信息含量(PIC);利用 DISPAN 软件计算各品种间共祖遗传距离^[5],用类平均聚类法(Unweighted pair group method with arithmetic averaging, UPGMA)进行聚类分析^[6]。

2 结 果

2.1 品种内的遗传变异

在 30 个微卫星座位,共检测到 239 个等位基因,平均每个座位有 8 个(等位基因频率略),在 BM1225 和 BMS1724 座位检测等位基因数目最多,达到 15 个,其次是 BMS1678 和 BM203 座位,分别检测到 13 个和 12 个等位基因。在 BL6 座位没有得到扩增结果,MB067 座位只得到一部分扩增结果,只有 4 个等位基因。根据基因频率,计算了平均杂合度(H)、多态信息含量(PIC)(表 2)。统计了有效等位基因数目(N_e)(表 3),在 7 个品种,30 个微卫星座位中,有效等位基因数目为 1~8 个,以乔科羊和汉中绵羊检测到的有效等位基因数目最多,平均达到 3.4 个,在 BM6526、BMC1206、BM3033、BMS1678、BMS1724 座位检测到的有效等位基因数最多,平均都达到 4 个以上(表 3)。

运用 EXCEL 程序,分析了稀有等位基因数目(表 4)。在 30 个微卫星座位中,共有 19 个座位检测到稀有等位基因,7 个品种中,每个品种在不同的座位都能发现稀有等位基因。稀有等位基因频率都比较低,但是,有的稀有等位基因频率非常高,如 BM6404 座位,乔科羊的 153 bp 片段;BM1227 座位,欧拉羊的 116 bp 片段;同一座位汉中绵羊的 126 bp 片段,其频率也达到了 0.296,以及 BM1225 座位,欧拉羊的 282 bp 片段。

表 1 30 对微卫星引物序列结构、退火温度、等位基因数目及位置
Table 1 The sequence structure, annealing temperature, number of the alleles and the loading in the sheep chromosomes of the 30 microsatellite primers

引物名称 Primer name	上下游引物序列(5'-3') Forward and reverse primer sequence	染色体 Chrom	退火温度 Annealing temp		等位基因数 Alleles No.	
			A	A*	B	B*
MB009	GATCACCTTGCCACTATTTCT; ACATGACAGCCAGCTGCTACT	9	60	53	8	8
BMS1724	GACTTGCCCCAATCCTACTG; ATTTACAGTTTGTGTTCC	8	58	53	11	15
BM1227	CACCAGTGATATTGGCTTATGG; GGAAGAAACACTTCCAAACCC	8	61	51	19	7
BM3033	TGCTGGTGGTCTTTGAACAG; GCAAACCTGCTGGATAGGGAG	7	58	53	12	9
BM4311	TCCACTTCTTCCCTCATCTCC; GAAGTATATGTGTGCCTGGCC	6	58	54	9	5
MAF70	CACGGAGTCACAAAGAGTCAGACC; GCAGGACTCTACGGGGCCTTTGC	4	60	56	13	8
BM203	GGGTGTGACATTTTGTTC; CTGCTCGCCACTAGTCCTTC	26	58	60	8	12
BM6526	CATGCCAAACAATATCCAGC; TGAAGGTAGAGAGCAAGCAGC	26	56	55	13	11
MB023	CACCTTCTATGCTTCCACTCTAG; GCTTTAGGTAATCATCAGATAGC	25	58	50	6	7
BMS1714	TTTATCCCAAGAGGTTCCACC; AGGTGCTTGCAGTGAATCTG	25	58	50	6	7
AGLA269	CTTTCAATGTATTTGCTTATTTGTT; GACACTAGTAGATTTGAAACCCA	23	54	52	15	7
BL6	TTTTTCACTGTACTAAAACGCTGC; TCTCAAGTTTACATTTCCCTTTC	23	54	?	9	0
MB067	CTTTGTGGAAGGCTAAGATG; TCCACATGATCTATGGTGC	22	58	56	9	4
BMC1206	GGGTGGCTATGACTCCAGTG; GGTCCAGCCTTCCACCAC	21	58	60**	6	9
BMS710	TTCTACTCTCCAGCCTCTCC; GTTGGCTCCAAGAGCAAGTC	3	59	60**	10	15
BM3413	TCCCTGGTAACCAATGAATTC; CAATGGATTTGACCCTCC	18	58	59	14	6
BM1225	TTTCTCAACAGAGGTGTCCAC; ACCCTATCACCATGCTCTG	16	58	54	16	8
MB066	ATTCGCTGAAGCCAGTCAC; GGTTTCTGCACCTGCATGA	11	56	58	11	8
BM3501	CCAACGGGTTAAAAGCACTG; TTCCTGTTCCTTCCCTCATCTG	3	58	55**	11	8
BM1004	TTAAAAGTCAGAAAGGGAAGCC; CTCGACCTCACATACTCAAAGC	15	58	55	13	8
BM315	TGGTTTAGCAGAGAGCACATG; GCTCCTAGCCCTTCACAC		54	54	11	6
BM1341	CCTACCTACTGCACAGTTTTC; CTCCATATAAGTTACCCACC	?	56	59	9	7
URB037	ACTGGAGACGACTGAAGCAACC; GAGTGGCTGTTGCTAAATTTGG	2	62	52	19	8
BM6444	CTCTGGGTACAACACTGAGTCC; TAGAGAGTTTCCCTGTCCATCC	2	56	52	?	6
BMS574	ATGTTCTTTGACCACATGGATT; GAACAAGCATTCTGACCATAGC	2	58	55	8	11
BM6404	TCCCTAATGTTGAATGGACTTC; CGAAAAGAGTCAGACACCAGC	1	58	56	7	5
BMS875	TCCAGCTTGAATCCCTTCC; AAGCAAAGGCTGGGAACAC	?	?	54	9	7
BM3501	CCAACGGGTTAAAAGCACTG; TTCCTGTTCCTTCCCTCATCTG	8	58	57	12	8
BMS1678	TCTTCTGCACTTTGGTTGC; ATAGCTGACATCCACTGGGC	3	58	56	10	12
ILST021	TCCTGTGGTAAACATAACGC; CAATGCTGTGTTAATTTCTGC	9	?	60	?	7

A 代表参考文献中所用的退火温度, A* 为本研究中实际退火温度; B 代表参考文献的等位基因数, B* 为本研究实际得到的等位基因数目。

** 指的是在退火过程中反复几次, 退火温度有变化

A. Annealing temperature in reference; A*. Actual annealing temperature; B. Allele numbers in reference; B*. Observed allele numbers;

** . Altered annealing temperature during PCR

2.2 品种间交流、遗传距离及系统发生关系

运用 GDA 软件统计了品种之间基因交流情况。结果表明乔科羊和甘加羊之间有较大的基因流, 乔科羊和欧拉羊之间的基因流也比较大。其次,

汉中绵羊和同羊的基因流也较高, 其值为 2.15。基因流最小的是汉中绵羊和大尾寒羊之间, 其值只有 1.17(表 5)。

表 2 7 个绵羊品种在 30 个微卫星座位的遗传变异参数

Table 2 Estimations of genetic variance in 7 sheep breeds at 30 microsatellite loci

座位 Loci	遗传指标 Index of genetics	大尾羊 LLTS	欧拉羊 OLS	甘加羊 GJS	乔科羊 QKS	黑裘皮 MBFS	汉中羊 HZS	同羊 TS	平均 Mean
BM4311	H	0.693	0.714	0.743	0.746	0.735	0.649	0.668	0.707
	PIC	0.623	0.653	0.686	0.689	0.676	0.565	0.881	0.682
BM6444	H	0.372	0.703	0.695	0.770	0.737	0.741	0.720	0.677
	PIC	0.498	0.644	0.665	0.725	0.688	0.689	0.657	0.652
URB037	H	0.587	0.632	0.725	0.702	0.648	0.627	0.621	0.649
	PIC	0.325	0.554	0.569	0.638	0.586	0.588	0.533	0.542
MB066	H	0.000	0.755	0.643	0.618	0.313	0.602	0.704	0.519
	PIC	0.555	0.710	0.571	0.544	0.283	0.526	0.639	0.547
BM315	H	0.714	0.578	0.651	0.725	0.657	0.771	0.271	0.624
	PIC	0.654	0.501	0.636	0.668	0.582	0.724	0.232	0.571
MAF70	H	0.625	0.801	0.697	0.800	0.000	0.787	0.753	0.638
	PIC	0.566	0.761	0.648	0.761	0.685	0.744	0.697	0.695
BL6	H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	PIC	0.656	0.628	0.559	0.620	0.507	0.317	0.739	0.575
BMS1004	H	0.594	0.541	0.518	0.864	0.444	0.290	0.691	0.563
	PIC	0.736	0.749	0.739	0.712	0.659	0.814	0.789	0.742
AGLA269	H	0.686	0.692	0.695	0.646	0.579	0.776	0.747	0.688
	PIC	0.720	0.711	0.638	0.654	0.766	0.714	0.778	0.712
BMS1248	H	0.657	0.655	0.553	0.600	0.718	0.654	0.735	0.653
	PIC	0.380	0.204	0.789	0.496	0.778	0.615	0.721	0.569
BM6404	H	0.343	0.182	0.745	0.370	0.730	0.525	0.670	0.509
	PIC	0.483	0.764	0.717	0.538	0.747	0.690	0.685	0.661
BMS574	H	0.401	0.721	0.661	0.448	0.703	0.637	0.639	0.601
	PIC	0.653	0.714	0.652	0.723	0.670	0.776	0.631	0.688
BMS1714	H	0.571	0.648	0.571	0.660	0.589	0.731	0.553	0.618
	PIC	0.678	0.867	0.846	0.871	0.848	0.846	0.755	0.816
BMS1724	H	0.637	0.841	0.841	0.845	0.818	0.816	0.700	0.786
	PIC	0.621	0.746	0.621	0.770	0.648	0.824	0.732	0.709
BMS875	H	0.558	0.692	0.558	0.725	0.571	0.789	0.674	0.652
	PIC	0.726	0.628	0.708	0.851	0.788	0.770	0.700	0.739
BM3413	H	0.681	0.571	0.659	0.823	0.746	0.726	0.639	0.693
	PIC	0.576	0.764	0.817	0.850	0.798	0.868	0.779	0.779
BMS1678	H	0.526	0.725	0.780	0.820	0.756	0.843	0.735	0.459
	PIC	0.497	0.735	0.664	0.768	0.664	0.787	0.639	0.679
BM1341	H	0.409	0.676	0.581	0.719	0.593	0.743	0.554	0.741
	PIC	0.827	0.703	0.788	0.707	0.696	0.751	0.757	0.747
BM3501	H	0.791	0.636	0.744	0.634	0.634	0.670	0.716	0.611
	PIC	0.000	0.615	0.632	0.636	0.000	0.000	0.355	0.320
MB067	H	0.524	0.525	0.555	0.556	0.556	0.555	0.289	0.508
	PIC	0.742	0.810	0.795	0.712	0.668	0.621	0.741	0.727
MB009	H	0.685	0.772	0.752	0.654	0.603	0.547	0.684	0.671
	PIC	0.657	0.379	0.301	0.648	0.585	0.631	0.534	0.534
BMS710	H	0.575	0.305	0.253	0.567	0.485	0.553	0.472	0.666
	PIC	0.618	0.701	0.597	0.557	0.656	0.578	0.629	0.619
BM1227	H	0.540	0.636	0.520	0.479	0.574	0.500	0.561	0.544
	PIC	0.792	0.705	0.605	0.853	0.649	0.750	0.674	0.718
BM1225	H	0.750	0.652	0.545	0.825	0.565	0.704	0.620	0.666
	PIC	0.502	0.301	0.379	0.401	0.628	0.631	0.489	0.476
ILST021	H	0.373	0.253	0.305	0.318	0.549	0.553	0.367	0.388
	PIC	0.854	0.721	0.687	0.834	0.670	0.876	0.807	0.778
BM203	H	0.824	0.668	0.651	0.802	0.589	0.851	0.768	0.736
	PIC	0.651	0.697	0.657	0.712	0.806	0.712	0.712	0.707
MB023	H	0.585	0.628	0.595	0.650	0.766	0.653	0.656	0.648
	PIC	0.805	0.832	0.563	0.836	0.806	0.805	0.776	0.775
BM3033	H	0.763	0.799	0.526	0.802	0.768	0.769	0.731	0.737
	PIC	0.789	0.651	0.737	0.738	0.774	0.762	0.801	0.750
BMC1206	H	0.745	0.573	0.681	0.681	0.729	0.714	0.763	0.698
	PIC	0.753	0.848	0.793	0.838	0.831	0.806	0.859	0.818
BM6526	H	0.703	0.818	0.750	0.806	0.800	0.770	0.833	0.782
	PIC	0.656	0.678	0.670	0.713	0.694	0.719	0.684	0.688
Populations	H	0.656	0.678	0.670	0.713	0.694	0.719	0.684	0.688
	PIC	0.590	0.601	0.617	0.644	0.634	0.666	0.614	

表3 7个地方绵羊品种、30个微卫星座位有效等位基因数(Ne)

Table 3 Effective numbers of alleles in 7 sheep breeds at 30 microsatellite loci

座位 Loci	大尾寒羊 LLTS	欧拉羊 OLS	甘加羊 GJS	乔科羊 QKS	黑裘皮 MBFS	汉中羊 HZS	同羊 TS	平均 Mean
BM4311	3.2	3.4	3.8	3.7	3.7	2.7	2.9	3.3
BM6444	1.4	3.3	3.2	3.3	3.7	3.8	3.4	3.0
URB037	2.4	2.7	3.6	4.3	2.8	2.6	2.6	2.7
MB066	0.0	4.0	2.8	2.6	1.5	2.5	3.3	2.0
BM315	3.5	2.3	2.9	3.6	2.9	4.3	1.4	2.6
MAF70	2.6	5.0	3.2	5.0	0.0	4.5	4.0	2.7
BL6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BMS1004	2.9	2.6	2.2	2.6	2.0	1.4	3.7	2.3
AGLA269	3.7	3.8	3.7	3.4	2.9	5.3	4.5	3.8
BMS1248	3.4	3.4	2.7	2.9	4.2	3.4	4.3	3.4
BM6404	1.6	1.3	4.5	2.0	4.3	2.6	3.6	2.3
BMS574	1.9	4.2	3.4	2.1	3.8	3.1	3.1	2.8
BMS1714	2.9	3.4	2.9	3.6	2.9	4.3	2.7	3.1
BMS1724	3.0	7.1	6.3	7.7	6.3	6.3	4.0	5.3
BMS875	2.6	3.8	2.6	4.3	2.8	5.6	3.7	3.3
MB067	0.0	2.6	2.7	2.7	0.0	0.0	1.5	1.4
MB009	3.6	5.0	4.8	3.4	2.9	2.6	3.8	3.6
BM3413	3.6	2.6	3.3	6.7	4.5	4.3	3.3	3.7
BM3501	5.6	3.3	4.8	3.3	3.2	4.0	4.0	3.8
BM1341	2.0	3.7	2.9	4.2	2.9	4.5	2.7	3.0
BMS1678	2.3	4.2	5.3	6.3	4.8	6.7	4.3	4.3
BMS710	2.9	1.6	1.4	2.8	2.4	2.7	2.1	2.1
BM1227	2.6	3.3	2.4	2.2	2.8	2.3	2.6	2.6
BM1225	4.8	3.3	2.5	6.7	2.7	4.0	3.0	3.4
ILST021	2.0	1.4	1.6	1.7	2.6	2.7	1.9	1.9
BM203	6.7	3.6	3.1	5.9	2.9	7.7	5.0	4.3
MB023	2.9	3.2	2.1	3.4	5.0	3.4	3.4	3.3
BM3033	5.0	5.9	2.3	5.9	5.0	5.0	4.3	4.3
BMC1206	4.5	2.9	3.7	3.7	4.3	4.2	5.0	4.0
BM6526	4.0	6.3	4.8	5.9	5.9	5.0	6.7	5.3
Populations	2.9	3.0	3.0	3.4	3.2	3.4	3.1	

基于等位基因频率,运用 DISPAN 软件,计算品种之间的共祖遗传距离,根据共祖遗传距离和等位基因频率数据,采用 UPGMA 法构建了系统发生树(图 1),分析表明,甘加羊和岷县黑裘皮羊关系最近($D_s=0.107$),其次是甘加羊和兰州大尾寒羊($D_s=0.128$);关系最远的是无角陶赛特和兰州大尾寒羊($D_s=0.354$);无角陶赛特作为一个外来对照品种,和同羊、欧拉羊、甘加羊、乔科羊、岷县黑裘皮羊的遗传距离都超过 0.3(表 5),和汉中绵羊的关系也较远($D_s=0.293$)。聚类分析发现:受试羊大体可

以分为 3 个类群,首先甘加羊和岷县黑裘皮羊聚为一类,然后和乔科羊、兰州大尾寒羊聚在一起,作为一个分支;其次是汉中绵羊和同羊聚在一起,然后和欧拉羊聚为一类,作为一个分支;这 2 个分支先聚在一起,最后和对照品种无角陶赛特绵羊聚合(图 1)。

3 讨论

3.1 群体遗传多样性分析

多态信息含量(Polymorphism information content, PIC)是衡量基因变异程度高低,反映遗传

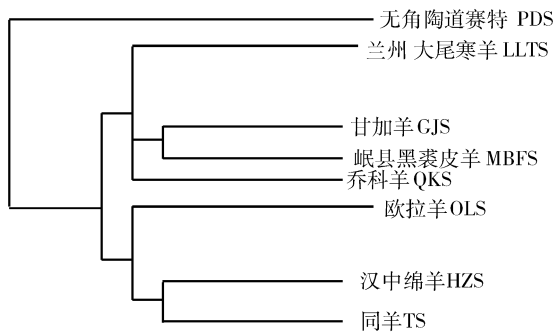


图1 UPGMA方法聚类

Fig. 1 The dendrograms with UPGMA method

信息的一个指标^[7]。据表2结果,在30个座位中,除了BL6、BMS1678、ILST021座位 $PIC < 0.5$ 之外,其余27个均为高度多态座位,其中 $0.50 < PIC < 0.60$ 的有7个,占25.93%; $0.60 < PIC < 0.70$ 的共有15个座位,占55.56%; $0.70 < PIC < 0.80$ 的共有5个座位,占18.52%。27个高度多态座位中,以BM6526座位的多态信息含量最高,达到0.782,ILST021座位的多态信息含量最低,为0.388。在7个品种、30个座位中,除大尾寒羊 PIC 值为0.590外,其余6个品种均在0.600~0.700之间。这和Buchanan等^[8-9]报道6个绵羊品种平均 PIC 值为0.65基本一致。贾斌等^[10]对新疆北疆地区3个品种绵羊遗传多样性进行了检测。结果表明各品种绵羊平均 PIC 、 H 和 Ne 几个指标均低于国外品种绵羊,其基因多态性和遗传多样性相对贫乏。Arora和Bhatia^[11]运用FAO推荐的25个微卫星座位,对印度Muzza farnagr绵羊进行遗传多样性分析表明平均每个座位等位基因数和有效等位基因数分别为5.04和3.64,期望杂合度为0.697, PIC 为0.636,认为联合国粮农组织推荐的25个微卫星座位能较好的评价地方绵羊品种遗传多样性。

由表2可知,在30个微卫星座位平均杂合度为0.320~0.818,品种平均杂合度为0.656~0.719,属于高度杂合群体和高度杂合座位。在所检测的座位中,以BM6526座位杂合度为最高,达到0.818;7个绵羊品种,以汉中绵羊的杂合度最高,其次是乔科羊,但杂合度高的群体,并不能说明它是由于进化的原因还是导入外血引起^[12]。所以,本研究结果还需进一步研究,但群体杂合度越高,反映品种的遗传多样性信息也越多,也说明该座位为品种检测所提供的遗传信息量更大,这有利于对群体及亚群体进行研究分析。

有效等位基因数与多态信息含量一样,都是度量群体遗传多样性的指标。由于所检测的座位在品种中存在重组,另外,在分析中,笔者把所检测到的等位基因当作同样效应分析,而实际这是不可能的,所以就存在有效数目问题。从表3可知,30个微卫星座位有效等位基因数目为1~8个;7个品种中,以乔科羊和汉中绵羊检测到的有效等位基因数目最多,平均达到3.4个,就座位而言,BM6526、BMC1206、BM3033、BMS1678、BMS1724这几个座位检测到的有效等位基因数最多,平均都达到4个以上。可以认为这几个座位是最优势座位。Arranz等^[13]利用18个微卫星座位分析了6个西班牙地方绵羊品种,结果表明,在单个座位上,美利奴羊所检测到的有效等位基因数目最大($Ne = 9.5$),而Latxas羊在很多座位上,其等位基因数目都最少(MAF70, $Ne = 1.8$; MAF48, $Ne = 3.1$)。

通过基因流分析表明,同属于藏羊系草地型的乔科羊和甘加羊之间基因流数值达到2.78,乔科羊和欧拉羊之间基因流也较大,这说明同属于藏羊系的3个类群间存在比较活跃的交流。汉中绵羊和同羊基因流值为2.15。基因流最小的是汉中绵羊和大尾寒羊之间,其基因流只达到1.17,这能说明现在的地理、历史事实。一方面汉中地区相对闭塞的环境,阻碍品种间交流;另外,面临濒危的大尾寒羊,奇缺的遗传资源也妨碍品种间交流。

3.2 群体系统发生关系分析

本研究7个地方绵羊品种:大尾寒羊、陕西同羊和汉中绵羊为肉脂羊,属于蒙古羊系^[1];《甘肃地方畜禽品种志》则把甘加羊、欧拉羊、乔科羊划分为藏羊系的草地型。关于遗传距离的一般假定是:遗传距离是起源于共同祖先的相同基因进化趋异的一种测度^[14]。因此本研究采用共祖遗传距离,运用UPGMA法对受试羊品种进行聚类分析。结果表明,无角陶赛特作为一个外来对照品种,和其他几个品种显著区别,但其余7个品种之间遗传距离区别则不是很大,作为藏羊系的甘加羊首先和黑裘皮聚为一类,其次是汉中绵羊和同羊聚为一类,然后是甘加羊、黑裘皮羊、乔科羊聚为一类,它们作为2个分支,分别再和大尾寒羊、欧拉羊聚合。据孙伟等^[15-16]运用遗传贴近度对同羊血统归属进行研究后认为:中国同羊属于“蒙古羊”集团,且同羊血统中因其所处的地理位置而混有大尾寒羊血统。但Guo等^[17]等运用线粒体单倍型分析了小尾寒羊、湖羊、滩羊、同

羊等绵羊品种后指出,同羊不属于蒙古羊集团,也不属欧洲羊集团,同羊和汉中绵羊关系较远,和兰州大尾寒羊关系较近,同羊可能来自西亚或者南亚。李祥龙等^[18]利用微卫星技术研究我国蒙古羊、乌珠穆沁羊、哈萨克羊、阿勒泰羊、滩羊和藏绵羊 6 个地方绵羊品种,探讨其起源及群体间的亲缘关系,结果表明,我国绵羊品种和欧洲品种具有相似的遗传多样性,但具有较高的近交系数,并且,蒙古羊与藏绵羊之间分化明显且具有较远的亲缘关系。这样,导致本研究绵羊品种聚类关系较为复杂。另外,遗传距离精度也与微卫星座位多少有关,张爱玲等^[19]以实际测得的 19 个微卫星座位的基因频率为基础,分析中国 4 个山羊品种在 3、6、9、12、15 个微卫星座位情况下的遗传距离精度。结果表明,随着微卫星数目的增多,遗传距离精度也随着升高, t 检验表明在 15 个座位下测得的遗传距离精度与在 3、6、9、12 座位时的估测精度呈显著差异;杨燕等^[20]对部分藏系绵羊研究后认为,藏系绵羊各群体间亲缘关系及系统进化有待于进一步研究。同时,笔者认为,即使是完全相同的资料,采用不同的分析方法,得出的结论也仍有较大出入。综合本研究聚类结果,除统计误差,分析方法本身原因外,动物繁殖技术的发展,冷冻精液、胚胎移植、人工授精等新技术在生产实践中迅速推广,导致群体遗传结构发生改变,甚至品种特性丧失。这给试验分析带来误差。

综上所述,微卫星标记是评价我国地方绵羊品种遗传多样性的一种有效手段,但要对我国绵羊品种资源提出更为确切合理的评价,还应综合运用其他方法(如线粒体 DNA 等),针对某一类别(比如藏系绵羊)和对照品种进行系统研究。

参考文献:

- [1] 郑丕留. 中国羊品种志[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1988.
- [2] 苑存忠,马月辉,王建民,等. 山东省地方绵羊品种间表型与遗传关系分析[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(9): 858-863.
- [3] 赵宗胜,王根林,马玉萍,等. 绵羊微卫星标记与部分毛用性状的关系研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(9): 864-869.
- [4] 常洪. 家畜遗传资源学纲要[M]. 北京:中国农业出版社, 1995.
- [5] NEI M. Genetic distance between populations[J]. American Naturalist, 1972, 106: 283-292.
- [6] SNEATH P H A, SOKAL R R. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification[A]. Freeman, San Francisco.
- [7] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331.
- [8] BUCHANAN F C, CRRAFORD A M. Ovine microsatellites at the Oar FCB11, Oar FCB128, Oar FCB193, OarFCB266 and OarFCB304 loci[J]. Animal Genetics, 1993, 24: 145-149.
- [9] BUCHANAN F C, ADAMAS L J, LITTLEJOHN R P, et al. Determination of evolutionary relationship among sheep breeds using microsatellites[J]. Genomics, 1994, 22: 397-403.
- [10] 贾斌,赵宗胜,李大全,等. 新疆 3 个地方品种绵羊微卫星遗传分析[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2005, 23(2): 194-199.
- [11] ARORA R, BHATIA S. Genetic structure of Muzaffarnagri sheep based on microsatellite analysis[J]. Small Ruminant Research, 2004, 54: 227-230.
- [12] 张继全,陈幼春,王毓英,等. 根据个体间蛋白质多点基因型的比较分析中国黄牛的遗传关系[J]. 畜牧兽医学报, 1996, 27(2): 119-124.
- [13] ARRANZ J J, BAYON Y, PRIMITIVO F S. Genetic variation at microsatellite loci in Spanish sheep[J]. Small Ruminant Research, 2001, 39: 3-10.
- [14] 张爱兵,王正军,谭声江,等. 分子生态学重要概念—遗传距离及其测定的理论研究概况[J]. 生态学报, 2002, 22(6): 943-949.
- [15] 孙伟,常洪,任战军,等. 中亚以东南绵羊群体亲缘关系血统判别式的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(2): 132-138.
- [16] 孙伟,常洪,杨章平,等. 中亚以东南绵羊亲缘关系研究[J]. 中国农业科学, 2003, 36(1): 94-98.
- [17] GUO J, DU L X, MA Y H, et al. A novel maternal lineage revealed in sheep(Ovis aries)[J]. Animal Genetics, 2005, 36: 331-336.
- [18] 李祥龙,巩元芳,张建文,等. 我国 6 个地方绵羊品种微卫星 DNA 多态性研究[J]. 遗传学报, 2004, 31(11): 1 203-1 210.
- [19] 张爱玲,马月辉,陈秀梅,等. 不等微卫星座位数目对 Nei 氏标准遗传距离估测精度的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(5): 431-433.
- [20] 杨燕,马月辉,吕慎金,等. 中国 7 个地方绵羊品种遗传多样性的微卫星分析[J]. 生物多样性, 2004, 12(6): 586-593.