

7 个绵羊微卫星 DNA 标记在绵(山)羊群体中的多态性检测^{*}

杨章平¹, 常 洪¹, 孙 伟¹, 耿荣庆¹, 任战军², 毛永江¹

(1 扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009;

2 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 选择分别位于绵羊 2, 4, 6, 9, 17 和 19 号染色体上的 7 个微卫星标记 OarFCB11, OarFCB128, MAF70, OarAE101, MAF33, OarFCB48 和 OarFCB304, 对湖羊、同羊及长江三角洲白山羊的典型群随机样本相应位点进行了 PCR 检测。结果表明, 每个微卫星座位发现 7 个以上等位基因, 且均存在多态; 湖羊、同羊、长江三角洲白山羊群体杂合度 (H) 分别为 0.909 2, 0.917 7 和 0.886 7, 相应的群体基因平均多态信息含量 (PIC) 分别为 0.902 4, 0.911 6 和 0.877 4, 有效等位基因数 (N_e) 分别为 11.772 3, 12.453 8 和 11.610 4, 均以同羊为最高; 以产生有效条带为标志, 随机样本的 PCR 扩增效率存在明显的群体间和座位间差异, 以长江三角洲白山羊和 OarFCB128 座位为最高; 以 7 个座位微卫星等位基因频率推算群体间标准遗传距离, 山羊与绵羊群体间遗传距离远大于绵羊群体之间, 湖羊、同羊间亲缘距离系数 R 为 0.199 8。研究结果提示: 选择的 7 个微卫星 DNA 座位均为多态座位; 以 7 个微卫星标记为测度, 湖羊、同羊及长江三角洲白山羊具有丰富的遗传多态性; 7 个微卫星标记可进一步用于绵山羊近缘种间遗传分析研究。

[关键词] 微卫星 DNA 标记; PCR 扩增; 杂合度; 多态信息含量; 有效等位基因; 标准遗传距离

[中图分类号] S826.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)12-0069-06

微卫星 DNA 作为富含信息、又容易获得的基因标记, 广泛用于构建物种的遗传连锁图 (Genetic linkage map)^[13]、基因鉴定、物种进化演变追踪^[4]、群体间亲缘关系分析以及系谱确证等方面。微卫星 DNA 标记的丰富多态性, 及其在近缘种或亲缘群体间的高度保守性, 是其用于群体间亲缘关系分析的基础。Moore 等^[5]用公开的牛的 48 对引物, 研究了绵羊、马和人的扩增效果。Mary Joseph 等^[6]利用保守的微卫星序列, 分析了水牛、牛、绵羊、山羊、猪等物种间的起源分化, 结果表明水牛与绵羊有较大相似性, 提示水牛和牛之间除形态与生产水平相似外更接近于绵羊。Arranz J J 等^[7]利用 19 个微卫星标记研究了西班牙的 5 个固有绵羊品种的遗传分化。相比之下, 国内在绵(山)羊上研究较为贫乏, Yang 等^[8]利用 5 个绵羊和 1 个牛的微卫星标记检测了我国 5 个固有山羊品种间的遗传关系, 研究结果符合 5 个固有山羊品种的形成历史和地理分布; 储明星等^[9]利用 5 个微卫星座位研究了小尾寒羊的遗传多

态性, 发现座位间遗传变异差异性很大。

绵羊、山羊互为近缘种, 20 世纪 70 年代中期对绵羊、山羊及其野生近缘种所作出的细胞遗传学研究表明, 绵羊和山羊由具有 30 对染色体的一个共同祖先 (Rupicaprid) 进化而来, 山羊的核型更接近于祖先的核型^[10]。湖羊、同羊和长江三角洲白山羊是我国绵(山)羊遗传资源的重要组成部分, 本研究以其为研究对象, 检测了 7 个绵羊微卫星标记在 3 个绵(山)羊群体中的多态性, 以期丰富我国绵(山)羊微卫星数据库, 并为绵(山)羊群体间的遗传分化及亲缘关系分析提供依据。

1 材料与方法

1.1 抽样方法

以没有杂交史的羊群为总体, 采用中心产区典型群简单随机抽样的方法, 在浙江省湖州市和陕西省白水縣分别抽取 63 只湖羊 (Hu) 和 65 只同羊 (Tong) (避免有可追溯亲缘关系的 2 个以上个体一

* [收稿日期] 2004-05-06

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30070550); 国际合作项目 (30213009); 江苏省自然科学基金项目 (BK2003040)

[作者简介] 杨章平 (1965 -), 江苏扬州人, 副教授, 博士, 主要从事家畜遗传资源的评价、保护与利用研究。E-mail: zhangpy65 @sohu.com

并进入样本),同时以在江苏扬州市郊区简单随机抽取的 49 只长江三角洲白山羊(Csb)作为对照群体。

1.2 血样处理和基因组 DNA 提取

颈静脉采血 8 mL,肝素抗凝,加入等体积 SDS-EDTA 裂解液裂解,摇匀,编号,常温带回实验室。具体方法见参考文献[11,12]。

基因组 DNA 提取方法参照文献[13,14],并作适当调整。

1.3 微卫星标记检测

1.3.1 引物序列 引物序列所处的染色体和各序列在 PCR 反应中的退火温度,详见表 1。

表 1 引物序列及其所在染色体、退火温度和 MgCl₂ 用量

Table 1 The primer sequence ,chromosome assignment ,annealing temperature and MgCl₂ volume

标记 Locus	所处染色体 Chromosome assignment	引物序列 Primer sequence	退火温度/ Annealing temperature	25 mmol/L MgCl ₂ / μL
OarFCB 11	2	(CA strand): GGCCTGAAGTCTATCTATCAC (GT strand): GCAAGCAGGTTCTTTACCACTAGCACC	63	1.8
OarFCB 128	2	(CA strand): CAGCTGAGCAACTAAGACATACATGGCG (GT strand): ATTAAAGCATCTTCTCTTTATTTCTCCTCGC	60	1.0
OarFCB 304	19	(CA strand): CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAAATCGG (GT strand): CGCTGCTGTCAACTGGGTCAAGG	61	1.5
OarFCB 48	17	(CA strand): GAGTTATGTACAAAGATGACAAAGGACAC (GT strand): GACTCTAGAGGATCGCAAGAACACAG	53	1.6
MAF 70	4	(CA strand): GCAAGACTCTACGGGGCCTTTTGC (GT strand): CACGGAGTCACAAAGATCAGACC	63.5	1.0
MAF 33	9	(CA strand): GATCATCTGAGTGTGATATATACAG (GT strand): GACTTTGTTTCAATCTATTCCAAATTTTC	58	1.5
OarAE 101	6	(CA strand): TAAGAAATATATTTGAAAAAACTGTATCTCCC (GT strand): TCCTTATAGATGCACCTCAAGCTAGG	57	1.0

1.3.2 PCR 反应体系及电泳检测方法 按文献报道的序列合成 7 对微卫星引物^[1520](上海生工生物工程有限公司合成),20 μL PCR 反应体系为:10 × buffer 2 μL,25 mmol/L MgCl₂ 1.01.8 μL,10 mmol/L dNTP 0.4 μL,8 pmol/μL GT 引物、CA 引物各 1-2 μL,5 U/μL Taq DNA polymerase 0.20.4 μL,100 ng DNA 模板。用新鲜灭菌水补充至 20 μL。

PCR 的反应程序为:94 预变性 5 min;94 60 s,5363.5 60 s(因座位而异),72 60 s,30 个循环;72 10 min,4 保存。PCR 仪为英国 Hybrid 公司生产,型号为 HBPX220。

PCR 扩增后,取 8 μL 扩增产物在 30 g/L 的琼脂糖凝胶上检测有无产物带。取检测阳性产物用 80 mg/L 变性聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶电泳分离,结合 EB 染色法检测,染色后凝胶用 KODAK 凝胶成像系统复制保存,根据标准 PBR322/ Msp Marker,利用科达影像分析软件(Kadak Digital Science ID Image Analysis Software)计算扩增片段大小。

1.4 统计分析

1.4.1 微卫星标记的等位基因频率估计 微卫星标记各等位基因呈共显性遗传,表型直接反映基因型,故等位基因频率可根据简单计算算出。

1.4.2 群体杂合度计算 群体杂合度的计算公式为:

式 中 , h 为各位点的杂合度; H 为各位点的平均杂合度; r 为位点数; P_i 为第 k 个位点第 i 个等位基因的频率。

1.4.3 多态信息含量 多态信息含量 PIC 的计算公式为:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2 P_i P_j^2 = 2 \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k P_i P_j (1 - P_i P_j)$$

式 中 , k 为等位基因数目; P_i 和 P_j 分别表示第 i 和 j 个等位基因的频率。

1.4.4 有效等位基因数 (N_e) N_e 是基因一致度的倒数,反映了等位基因间的相互影响,也可作为群体遗传变异的一个测度。其计算公式为:

$$N_e = \frac{1}{\sum_{i=1}^n P_i^2}$$

式 中 , N_e 为有效等位基因数; P_i 为第 i 个有效等位基因的频率。

1.4.5 群体间标准遗传距离的比较 其计算公式为:

$$D = - \ln I$$
$$I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x J_y}}$$

$$J_y = \frac{1}{m} \sum_j \sum_i^k Y_{ij}^2, J_x = \frac{1}{m} \sum_j \sum_i^k X_{ij}^2;$$
$$J_{xy} = \frac{1}{m} \sum_j \sum_i^k X_{ij} Y_{ij}$$

式中, D 为群体间标准遗传距离; I 为群体 x, y 的遗传同一性; m 为座位数, k 为某一座位的等位基因数; X_{ji}, Y_{ji} 分别为 X 群体和 Y 群体第 j 座位上第 i 个等位基因的频率。

1.4.6 群体间亲缘程度比较 群体间亲缘程度用两群体内的亲缘距离系数来判别,其计算公式为:

$$R = \frac{L_1}{L_0}$$

式中, R 为两群体的亲缘距离系数 (Phylogenetic distance conficiency); L_1 为两待判群体的 Nei 氏标准遗传距离; L_0 为参照群体与待判群体间的平均

Nei 氏标准遗传距离,参照群体与待判群体之间的血缘关系事实为已知。

2 结果与分析

2.1 7 个绵羊微卫星 DNA 标记在 3 个绵(山)羊群体中的扩增结果

OarFCB11, OarFCB128, OarFCB304, OarFCB48,MAF70,MAF33,OarAE101 7 个微卫星座位上分别检测到 26,29,36,25,19,25 和 24 个等位基因,3 个绵(山)羊群体中共检测到 184 个等位基因,每个座位在每个群体都检测到 7 个以上等位基因,说明所选择微卫星标记的遗传信息比较丰富。7 个微卫星座位的等位基因数和等位基因大小在不同群体中的分布如表 2 所示。

表 2 7 个微卫星标记在绵(山羊)群体中扩增效果的比较

Table 2 The comparison of 7 microsatellite primers amplifying results in sheep (goat) populations

位点 Locus	湖羊 Hu		同羊 Tong		长江三角洲白山羊 Csb	
	等位基因数 Allele number	片段大小/ bp Size	等位基因数 Allele number	片段大小/ bp Size	等位基因数 Allele number	片段大小/ bp Size
OarAE101	10	93113	14	85119	21	75131
MAF33	20	116160	16	120154	7	110126
OarFCB48	23	141197	21	127181	17	153189
OarFCB11	22	120170	19	120160	13	136174
MAF70	16	133165	17	135169	16	137167
OarFCB128	16	99141	17	93137	14	91159
OarFCB304	20	140194	20	158198	22	126182

由表 2 可见,无论是等位基因数还是等位基因的大小,群体间都存在极大差异,反映了不同品种、不同物种由于地理隔离以及进化过程的不同,而表现出遗传上的差异。这些等位基因是否为各自群体所特有,还需加大样本来进一步验证。

2.2 微卫星座位的杂合度 (H)、多态信息含量 (PIC) 和有效等位基因数 (Ne)

由表 4 可见,7 个微卫星座位在湖羊、同羊、长江三角洲白山羊群体中均呈高度多态性(当 $PIC >$

0.5 时为高度多态性)。湖羊、同羊、长江三角洲白山羊群体的基因平均杂合度分别为 0.909 2,0.917 7 和 0.886 7,群体基因平均多态信息含量分别为 0.902 4,0.911 6 和 0.877 4。基因平均杂合度和多态信息含量均以同羊群体最高,长江三角洲白山羊群体最低。对 3 种绵(山)羊群体间 H , PIC 和 Ne 两两配对的差异显著性检验表明,群体间均无显著性差异。

表 3 7 个微卫星座位在 3 个绵(山)羊群体中的杂合度、多态信息含量和有效等位基因数

Table 4 Heterozygosity, polymorphism information contents and effective numbers of alleles of 7 microsatellite loci at sheep (goat) populations

座位 Loci	湖羊 Hu			同羊 Tong			长江三角洲白山羊 Csb		
	H	PIC	Ne	H	PIC	Ne	H	PIC	Ne
OarAE101	0.866 6	0.852 0	7.483 9	0.906 0	0.898 7	10.647 4	0.937 6	0.934 3	16.063 7
MAF33	0.905 6	0.898 5	10.596 0	0.905 9	0.898 6	10.631 2	0.714 4	0.686 9	3.501 4
OarFCB48	0.925 4	0.924 0	13.973 8	0.931 3	0.925 2	14.204 3	0.919 4	0.913 8	12.418 3
OarFCB11	0.943 7	0.940 9	17.777 2	0.924 6	0.919 8	13.268 3	0.875 3	0.863 8	8.021 8
MAF70	0.900 8	0.892 6	10.079 6	0.894 0	0.885 6	9.438 2	0.906 2	0.899 2	10.667 6
OarFCB128	0.912 2	0.905 5	11.367 3	0.928 8	0.924 2	14.035 1	0.913 3	0.906 8	11.538 5
OarFCB304	0.910 1	0.903 6	11.128 5	0.933 1	0.929 1	14.952 0	0.940 5	0.937 4	16.823 7
平均值 Average	0.909 2	0.902 4	11.772 3	0.917 7	0.911 6	12.453 8	0.886 7	0.877 4	11.290 7

2.3 绵(山)羊微卫星 DNA 的 PCR 扩增效率

对绵(山)羊 3 个群体经过退火温度和镁离子浓度优化,分别获得适应于不同微卫星座位的 7 个最适体系。当退火温度为 5163 ,镁离子浓度为1. 25 2. 25 mmol/L 时,每个群体经 34 个 PCR 扩增重复,产生有效条带的百分率即样本有效扩增效率如表 4 所示。由表 4 可见,微卫星 PCR 效率以长江三角洲白山羊最高,湖羊次之,同羊最低。进一步进行品种

间和座位间的 LSD 显著性检验,结果表明,同羊与湖羊、长江三角洲白山羊间扩增效率存在显著性差异,湖羊与长江三角洲白山羊间差异不显著。各微卫星座位间,OarFCB128 与其他 6 个座位的扩增效率差异显著;OarAE101 除与 OarFCB128 存在显著差异外,还与 MAF33 和 OarFCB304 间存在显著差异。提示微卫星扩增效率存在品种间和位点间的显著性差异。

表 4 3 个绵(山)羊群体微卫星 DNA 的扩增效率

Table 4 The efficiency of PCR amplifying on microsatellite loci of 3 sheep (goat) populations					%
座位 Locus	湖羊 Hu	同羊 Tong	长江三角洲山羊 Csb	$\bar{X} \pm \sigma$	LSD 检验 LSD test
OarFCB304	64.00	73.00	97.00	78.00 $\pm$ 17.06	a
MAF33	80.00	63.00	83.00	75.33 $\pm$ 10.79	ab
OarFCB48	80.00	65.00	73.00	72.67 $\pm$ 7.51	abc
MAF70	84.00	51.00	80.00	71.67 $\pm$ 18.01	abc
OarFCB11	74.00	67.00	70.00	70.33 $\pm$ 3.51	abc
OarAE101	66.00	46.00	63.00	58.33 $\pm$ 10.97	c
OarFCB128	32.00	32.00	50.00	38.00 $\pm$ 10.39	d
$\bar{X} \pm \sigma$	68.57 $\pm$ 17.77	56.71 $\pm$ 14.36	73.71 $\pm$ 15.015	66.33	
LSD 检验 LSD test	a	b	a		

注:LSD 检验中不同字母者表示组间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Note:LSD test ,mean values with different letter within columns or rows were significantly different ($P < 0.05$) .

2.4 群体间标准遗传距离比较

由表 5 可见,山羊与绵羊群体间微卫星资料获得的标准遗传距离,远大于绵羊群体之间的标准遗传距离。

另据计算,山羊与绵羊间的平均标准 Nei 氏距离 $L_0 = 1.167$,湖羊与同羊的标准 Nei 氏距离 $L_1 =$

0.232 1,以山羊作参照群体,则湖羊与同羊的亲缘距离系数 $R = \frac{L_1}{L_0} = \frac{0.2321}{1.1617} = 0.1998$ 。若定义绵羊和山羊近缘种间亲缘距离为 1.0,则两绵羊群体间的亲缘距离系数为 0.1998。

表 5 3 个绵(山)羊群体间的标准遗传距离

Table 5 The standard genetic distances among 3 sheep (goat) populations			
品种 Species	湖羊 Hu	同羊 Tong	长江三角洲白山羊 Csb
湖羊 Hu	0.000 0	0.232 1	1.231 3
同羊 Tong	0.232 1	0.000 0	1.092 1
长江三角洲白山羊 Csb	1.231 3	1.092 1	0.000 0

3 讨论与结论

3.1 群体内、群体间的遗传变异

杂合度 (H) 和多态信息含量 (PIC) 都是群体内遗传变异的测度,其值的高低反映了群体内个体的均匀度,若数值高,表明遗传变异大,反之则群体的遗传变异就小。储明星等^[8]用 5 个微卫星标记揭示的小尾寒羊平均杂合度为 0.456 9;Arranz 等^[7]用 19 个微卫星标记研究了西班牙的 5 个本地绵羊品种 (Churra, Lalxa, Manchega, Rasa-Aragonesa 和 Merino) 与 Awassi 绵羊的遗传分化,结果表明群体的平均杂合度为 0.7130.771。本研究涉及的 3 个

绵(山)羊群体,平均杂合度为 0.886 70.917 7,均高于以上的研究结果,这一方面与选择的微卫星标记有关,另一方面则提示 3 个绵(山)羊群体在长期的风土驯化过程中,适应了各自的生境,造就了丰富的遗传变异。

群体间的遗传距离是群体间遗传变异的尺度,比较湖羊、同羊及长江三角洲白山羊的平均多态信息含量、杂合度及有效等位基因数,均以同羊为最高,湖羊次之,山羊最低,这一结果基本吻合于结构基因座的研究结果^[21]。根据微卫星标记获得的绵山羊间遗传距离远大于绵羊群体间的遗传距离,这一基本事实从侧面反映了微卫星 DNA 标记的可靠

性。

3.2 7 个微卫星标记的多态性

本研究所选择的微卫星座位主要考虑应来自不同的染色体(OarFCB11 和 OarFCB12 位于同一染色体),7 个微卫星座位在 3 个绵(山)羊群体中均检测到 7 个以上等位基因,各座位的多态信息含量为 0.686 90.940 9。根据 Bolstein^[22]提出的基因变异程度衡量指标,本研究涉及的 7 个微卫星座位均属高度多态基因座,因此,初步认为 OarFCB11, OarFCB128,MAF20,OarAE101,MAF33,OarFCB48 和 OarFCB304,是普遍适合于绵羊及其近缘山羊种遗传分化的多态标记。

3.3 关于利用绵羊的微卫星标记检测山羊群体

根井正利^[23]认为,多型基因在一个群体中的保持时间要比种的寿命长得多,因此一个种某一座位

的基因多样性就可能与一个近缘种的基因多样性紧密相关。微卫星侧翼序列的保守性使之可存在于多个物种中,某一物种的微卫星引物可应用于相关的近缘物种,Yang 等^[18]利用 6 个绵羊微卫星标记,研究我国固有的西藏山羊、内蒙古山羊、辽宁山羊、大行山羊和马头山羊等 5 个山羊品种,每个位点均获得 8 个以上等位基因。本研究采用公布的 7 个绵羊微卫星标记引物同时扩增绵(山)羊群体,其中 3 个位点(OarFCB11,OarFCB48 和 OarFCB304)与前者所选一致,且 3 座位在长江三角洲白山羊群体中的等位基因大小范围与前者的研究结果基本一致。由 7 个微卫星标记获得的 722 个等位基因提示,所选 7 个微卫星标记可用于检测山羊群体的遗传多样性,并可进一步用于分析绵山羊近缘种间遗传分化的研究。

[参考文献]

- [1] Barendse W,Vaiman D,Kemp S J,et al. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome[J]. *Mammalian Genome*,1997,8:21 - 28.
- [2] de Gortari M J,Fraking B A,Cuthbertson R P. A second-generation linkage map of the sheep genome[J]. *Mammalian Genome*,1998,9(3):204 - 209.
- [3] Rohrer G A L,Alexander L J,Hu Z,et al. A comprehensive map of the porcine genome[J]. *Genome Research*,1996,6:371 - 391.
- [4] Buchanan F C,Adams L J,Little John R P,et al. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites[J]. *Genomics*,1994,15(2):397 - 403.
- [5] Moore S S,Sargeant L L,King T J,et al. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterogeneous PCR primer pairs in closely related species[J]. *Genomics*,1991,10:654 - 660.
- [6] Mary Joseph,Mattapallil,Sherali. Analysis of conserved microsatellite sequences closer relationship between water buffalo *Bubalus Bubalis* and sheep *Ovis aries* [J]. *DNA and Cell Biology*,1999,18(6):513 - 519.
- [7] Arranz J J,Bayon Y,San Primitivo F. Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites[J]. *Animal Genetics*,1998,29(6):435 - 440.
- [8] Yang L,Zhao S H,Li K,et al. Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers [J]. *Animal Genetics*,1999,30(6):452 - 455.
- [9] 储明星,王吉振,王爱国,等. 小尾寒羊五个微卫星基因座遗传多态性研究[J]. *遗传学报*,2002,29(6):502 - 506.
- [10] 常洪. 家畜遗传资源学纲要[M]. 北京:中国农业出版社,1995. 56 - 58;67 - 68.
- [11] 铃木正三. 比较血型学[M]. 程光潮,韩建林,杨华林,等译. 北京:中国科学技术出版社,1991. 162 - 163.
- [12] 佐佐木清纲. 家畜的血液型及其应用[M]. 李世安,译. 上海:上海科学技术出版社,1982. 45 - 51.
- [13] 李雪梅,龚先长,赵书红,等. 现场裂解猪全血提取 DNA[J]. *河北农业大学学报(自然科学版)*,1997,20(4):84 - 86.
- [14] 熊远. 猪生化及分子遗传实验导论[M]. 北京:中国农业出版社,1999. 39 - 42.
- [15] Buchanan F C,Crawford A M. Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAF 70 Locus[J]. *Animal Genetics*,1992,23:185.
- [16] Buchanan F C,Crawford A M. Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAF 33 Locus[J]. *Animal Genetics*,1992,23:186.
- [17] Buchanan F C,Crawford A M. Ovine microsatellites at the Oar FCB11, Oar FCB128, Oar FCB193, OarFCB266 and OarFCB304 Loci[J]. *Animal Genetics*,1993,24:145.
- [18] Montgomery G W,Crawford A M,Penty J M,et al. The ovine booroola fecundity gene (FECB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q[J]. *Nature Genet*,1993,4:410.
- [19] Crawford A M,Dodds K G,Eade A J,et al. An autosomal genetic linkage map of the sheep genome[J]. *Genetics*,1995,140:703 - 724.
- [20] Talbot J,Haih J,Plante Y A. Parentage evaluation test in North American Elk (Wapiti) using microsatellites of ovine and bovine origin[J]. *Animal Genetics*,1996,27:117 - 119.
- [21] 杨章平. 绵羊群体间亲缘关系评价及其分析方法的研究[D]. 南京:南京农业大学,2002.
- [22] Bolstein D,White R L,Skolick M,et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J].

Animal Journal, 1980, 32: 314 - 331.

[23] 根井正利. 分子群体遗传学和进化论[M]. 王家玉, 译. 北京: 农业出版社, 1983. 15 - 154.

Investigation on polymorphism of 7 sheep microsatellite markers in sheep (goat) populations

YANG Zhang-ping¹, CHANG Hong¹, SUN Wei¹, GENG Rong-qin¹,
REN Zhan-yun², MAO Yong-jiang¹

(1 College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

2 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract : 7 sheep microsatellite markers (OarFCB11, OarFCB128, MAF70, OarAE101, MAF33, OarFCB48 and OarFCB304) located on chromosome 2, 4, 6, 9, 17 and 19 respectively, were selected for examining the samples of Hu sheep, Tong sheep and Yantse River Delta White Goat (Csb) through PCR amplifying. The results displayed that: There are more than 7 alleles for each microsatellite locus. Mean heterozygosity (H) for Hu sheep, Tong sheep and Csb goat reached 0.909 2, 0.917 7 and 0.886 7 respectively. The mean polymorphism information contents (PIC) for Hu sheep, Tong sheep and Csb goat was 0.902 4, 0.911 6 and 0.877 4 separately. Mean effective number of alleles (Ne) was 11.772 3, 12.453 8 and 11.610 4. Tong sheep had highest level on above 3 indexes. By the standard of producing effective band, there were obvious difference in efficiency of PCR amplifying among populations and loci. Csb population and OarFCB128 locus had highest efficiency of PCR amplifying. The standard genetic distances between populations were computed based on alleles frequency of 7 microsatellite loci. The genetic distances between sheep and goat were much larger than between sheep populations. The phylogenetic distance coefficient (R) between Hu sheep and Tong sheep was 0.199 8. This study indicates: All 7 sheep microsatellite loci displayed high polymorphism; There were rich genetic variations existed in Hu, Tong sheep and Csb goat according to the analysis of the 7 microsatellite loci; The 7 microsatellite loci can be used for research on genetic differentiation between sheep and goat.

Key words : microsatellite DNA marker; PCR amplifying; heterozygosity; polymorphism information content; effective number of alleles; standard genetic distance