

中国9个南方黄牛品种和3个引进品种的遗传多样性分析

王均辉¹, 咎林森¹, 张桂香², 王志刚², 齐国强¹, 韩旭², 王冬蕾³

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 全国畜牧总站 畜禽牧草种质资源保存利用中心, 北京 100094; 3 扬州大学 畜牧兽医学院, 江苏 扬州 225009)

[摘要] **【目的】**探讨中国9个南方黄牛和3个引进品种的品种内遗传变异情况及各品种间的亲缘关系。**【方法】**选用联合国粮农组织和国际动物遗传学会联合推荐的15个微卫星DNA标记,对中国9个南方黄牛品种和3个引进品种的遗传多样性进行分析。**【结果】**在15个微卫星座位上共检测到237个等位基因,每个座位平均为15.8个;各座位的平均多态信息含量为0.597 2~0.821 7,均表现出高度多态性;各品种的平均杂合度均较高,为0.665 1~0.800 3,平均杂合度最高的是迪庆黄牛,最低的是德国黄牛;12个黄牛品种聚为4类,吉安黄牛、徐闻牛、隆林黄牛、皖南牛和涠洲黄牛聚为第一类;威宁黄牛、务川黑牛和迪庆黄牛聚为第二类;三江牛自成第三类;西门塔尔牛、夏洛来牛和德国黄牛聚为第四类。**【结论】**15对微卫星座位可作为有效的遗传标记,用于各个黄牛品种的遗传多样性和系统发生关系分析。

[关键词] 微卫星;地方黄牛;遗传多样性

[中图分类号] S823.8⁺1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2008)03-0001-07

Analysis of genetic diversity on nine native yellow cattle breeds in southern China and three introduced breeds

WANG Jun-hui¹, ZAN Lin-sen¹, ZHANG Gui-xiang², WANG Zhi-gang²,
QI Guo-qiang¹, HAN Xu², WANG Dong-lei³

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 National Center for Preservation and Utilization of Genetic Resources of Domestic Animals and Forages, National Animal Husbandry & Veterinary Service, Beijing 100094, China; 3 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: **【Objective】**The genetic variability and genetic relationship of the nine yellow cattle breeds in southern China and three introduced breeds from Europe were studied. **【Method】**The genetic diversity of twelve cattle breeds, including nine native breeds in southern China and three introduced breeds from Europe, was analyzed by using fifteen microsatellite markers recommended by FAO and ISAG. **【Result】**The results showed that totally 237 alleles were detected from fifteen microsatellite loci, and averaged about 15.8. All microsatellite loci were highly polymorphic, with the mean PIC ranging from 0.597 2 to 0.821 7. All breeds showed high heterozygosity with the highest value of 0.800 3 for Diqing yellow cattle and the lowest value of 0.665 1 for German yellow cattle. Twelve yellow cattle breeds were clustered into four groups based on the UPGMA tree. The first group included Ji'an yellow cattle, Xuwen cattle, Wannan cat-

* [收稿日期] 2007-04-05

[基金项目] 中国地方牛种遗传距离测定项目(农财发【2002】9号)

[作者简介] 王均辉(1980—),男,陕西扶风人,在读硕士,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: ffwjh80@163.com

[通讯作者] 张桂香(1972—),女,山东烟台人,畜牧师,在读博士,主要从事动物遗传资源保护和利用研究。
E-mail: gxzhang27@hotmail.com

tle,Longlin yellow cattle and Weizhou yellow cattle breeds,the second group Weining yellow cattle,Wuchuan black cattle and Diqing yellow cattle breeds,the third group included Sanjiang cattle,the fourth group simmental cattle and Charolais cattle and Germany yellow cattle breeds.【Conclusion】 The fifteen microsatellite loci were effective markers for analysis of genetic relationship among yellow cattle breeds.

Key words: microsatellite;native yellow cattle breeds;genetic diversity

利用生化、分子等遗传标记分析畜禽品种的遗传多样性,对阐明品种的起源、分化、遗传变异等具有十分重要的意义。20 世纪 80 年代,人们主要通过蛋白质结构基因座多态性分析畜禽品种的遗传结构,之后随着分子生物学技术的发展,尤其是 PCR 技术的发展,越来越多地利用限制性片段长度多态 DNA(RFLP)、随机扩增多态 DNA(RAPD)和微卫星等技术来分析畜禽品种的遗传结构。与以往的一些遗传标记(如表型标记、血液蛋白多态标记)和其他分子标记(如 RFLP、RAPD、及小卫星 DNA)相比,微卫星标记不仅多态性丰富,遗传稳定,不受组织、生长发育阶段及环境的影响^[1],而且在基因组中数量多、分布广且均匀、多态信息含量高、等显性遗传、分析方便,适合于自动化和半自动化检测分析。微卫星标记被认为是各类遗传标记中分析畜禽品种遗传结构最有价值的一种^[2-4],已广泛应用于畜禽品种间和品种内的遗传变异分析、群体遗传结构分析以及物种的进化、分类、遗传图谱等研究上^[5-8]。我国幅员辽阔,自然条件多样,地方黄牛品种资源丰富。近年来,由于国内一些地方过度追求肉牛的经济效益,盲目引进外来品种杂交,使国内地方黄牛品种的数量日趋减少甚至濒临灭绝,许多宝贵的基因

资源也将随之丢失。任何一个品种都是一座宝贵的基因库,对国内黄牛品种资源进行调查、研究、保护及合理利用,已成为一项刻不容缓的工作。但目前,国内在黄牛品种的微卫星多态性研究方面报道甚少。为此,本研究选用 15 个微卫星 DNA 作为遗传标记,对 9 个中国南方黄牛品种和 3 个引进品种进行遗传结构分析,以期在从分子水平上探讨中国黄牛与国外黄牛的遗传多样性,为开展我国地方黄牛品种的遗传质量监测及品种资源的评估、保护和利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 血 样 采集 9 个中国南方黄牛品种和 3 个引进品种的血液样品,共计 697 份,各品种采血个体在两代或三代内没有血缘关系,品种的外貌特征明显,其中公牛不少于 10 头。血样采集地及样本数量见表 1。每头牛前腔静脉采血 10 mL。新鲜血液用 1 : 1(体积比)的裂解液(100 mmol/L Tris · HCl + 100 mmol/L EDTA + 2% SDS)裂解,常温下运输, - 20 ℃ 长期保存。

表 1 供试 12 个黄牛品种的血样采集地及样本数量
Table 1 Sampling location and quantity of 12 yellow cattle breeds

品种 Breed	采样地 Sample Location	采样数 Quantity
皖南牛 Wannan cattle (WN)	安徽省休宁县 Xiuning County, Anhui	54
吉安黄牛 Jian yellow cattle (JA)	江西省吉安市 Jian City, Jiangxi	60
威宁黄牛 Weining yellow cattle (WNY)	贵州省毕节市 Bijie City, Guizhou	61
务川黑牛 Wuchuan black cattle (WCB)	贵州省安顺市、遵义市 Anshun and Zunyi City, Guizhou	56
隆林黄牛 Longlin yellow cattle (LL)	广西壮族自治区隆林县 Longlin County, Guangxi Zhuang Autonomous Region	59
涠洲黄牛 Weizhou yellow cattle (WZ)	广西壮族自治区北海市 Beihai City, Guangxi Zhuang Autonomous Region	60
迪庆黄牛 Diqing yellow cattle (DQ)	云南省迪庆藏族自治州 Diqing Tibet Autonomous State, Yunnan	59
三江牛 Sanjiang cattle (SJ)	四川省阿坝州汶川县 Wenchuan County, Aba State, Sichuan	57
徐闻牛 Xuwen cattle (XW)	广东省湛江市徐闻县 Xuwen County, Zhanjiang City, Guangdong	59
西门塔尔牛 Simmental cattle (SMT)	内蒙古通辽市繁育场 The breed field in Tongliao, Inner Mongolia Autonomous Region	56
夏洛来牛 Charolais cattle (CRL)	辽宁省肉牛繁育中心 The center of beef breeding, Liaoning	52
德国黄牛 Germany yellow cattle (GY)	河南省南阳牛场 The field of Nanyang cattle, Henan	64

1.1.2 微卫星引物 从联合国粮农组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISAG)联合推荐的引物中,选取

15 对微卫星引物(表 2),上游引物 5' 端标记红色荧光标记(Pet)、绿色荧光标记(Vic)、黑色荧光标记

(Ned)或者蓝色荧光标记(6fam),内标标记 Liz 荧光,引物由美国应用生物系统公司(ABI)合成。

表 2 所选取的 15 对微卫星引物的信息

微卫星 Microsatellite	染色体 Chromosome	预期扩增片段长度/bp Amplified allele size	退火温度/℃ Annealing temperature	荧光标记 Fluorescent marker
BM1818	23	248~278	54.3	Vic
ETH185	17	214~246	60.5	6fam
HEL13	11	177~200	51	Pet
ILSTS034	5	128~200	51	Vic
ILSTS054	21	126~144	56	6fam
INRA005	12	135~149	54.3	Ned
INRA032	11	160~204	50	Vic
MM12	9	105~145	56	6fam
TGLA227	18	75~105	54.3	Pet
BM1824	1	176~198	57	6fam
HEL5	21	145~171	53	Vic
SPS115	15	234~258	55	Vic
TGLA122	21	136~184	57	Ned
TGLA126	20	115~131	57	Vic
TGLA53	16	143~191	55	Pet

1.1.3 主要试剂 *Taq* 酶、10×buffer、Mg²⁺ 均为宝生物工程(大连)有限公司产品,dNTPs 购自上海生工生物工程技术服务有限公司。POP4 胶、甲酰胺等电泳检测试剂均为美国应用生物系统公司产品。

1.2 黄牛基因组 DNA 的提取

参考《现代分子生物学实验技术》^[9],采用常规酚、氯仿抽提法,从黄牛血液中提取基因组 DNA。

1.3 黄牛 DNA 的 PCR 扩增

PCR 反应体系包括:模板 DNA(25 ng/μL)2 μL、10×buffer 1.5 μL、Mg²⁺ (25 mmol/L)1.0~1.5 μL、dNTPs (25 mmol/L)0.2 μL、引物(2 pmol/μL)1.0~2.5 μL、*Taq* 酶(5 U)0.3 μL、ddH₂O 加至 15 μL。PCR 反应程序:95℃预变性 4 min;94℃变性 1 min,50~60.5℃(具体温度依据引物而定)复性 1 min,72℃延伸 1 min,35 或 40 个循环(引物 BM1818、ETH185、HEL13、ILSTS034、ILSTS054、INRA005、INRA032、MM12 和 TGLA227 为 40 个循环,引物 BM1824、HEL5、SPS115、TGLA122、TGLA126 和 TGLA53 为 35 个循环);最后 72℃延伸 60 或 40 min(引物 BM1818、ETH185、HEL13、ILSTS034、ILSTS054、INRA005、INRA032、MM12 和 TGLA227 延伸 60 min,引物 BM1824、HEL5、SPS115、TGLA122、TGLA126 和 TGLA53 延伸 40 min),4℃保存。

1.4 PCR 扩增产物的检测与统计分析

PCR 产物先用 80 g/L 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,选择效果好的 PCR 扩增产物用

ABI3100-Avant 全自动遗传分析仪进行毛细管电泳检测,用仪器自带软件 GenMapper Version 3.2 分析微卫星基因型。利用 GENEPOP Version 3.2 软件计算等位基因频率、杂合度(*H*)^[10]、多态信息含量(*PIC*)和有效等位基因数(*Ne*)^[11]。用 DISPAN 软件计算遗传分化系数(*G_{ST}*)、总群体杂合度(*H_T*)和亚群体杂合度(*H_S*),同时计算 *Nei* 氏遗传距离(*D_A*)^[12]。采用非加权组对算术平均法(Unweighted pair-group method with arithmetic averaging,UPGMA)进行聚类分析,构建系统发生树,并利用 bootstrap test 检验所得聚类结果的可靠性。

2 结果与分析

2.1 黄牛微卫星座位的等位基因分布

不同品种在同一微卫星座位上等位基因数目和频率的差异,可以反映出家畜品种间的差异,并可借此区分品种的微卫星座位类型。12 个黄牛品种在 15 个微卫星座位上共检测到 237 个等位基因,平均每个座位的等位基因为 15.8 个;ILSTS034 座位的等位基因最多,达 26 个,其片段长度为 128~200 bp;HEL13、ILSTS054 和 BM1824 座位的等位基因最少,只有 10 个;其他座位的等位基因为 11~22 个(见表 3)。表明 ILSTS034 微卫星座位的变异最大,HEL13、ILSTS054 和 BM1824 微卫星座位的变异较小。

2.2 黄牛的遗传变异分析

由表 4 可以看出,12 个黄牛品种的平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数均比

较高,遗传变异均较大。在 9 个中国南方黄牛品种中,除涠洲黄牛外,其他品种的平均杂合度、平均多态信息含量均高于引进品种,这说明中国地方黄牛品种的遗传变异较大,遗传多样性丰富。迪庆黄牛的 平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数均最高,分别为0.800 3,0.774 4 和 5.357 3,表明其遗传变异程度最高,遗传多样性最丰富,但也

反映了该品种的遗传一致性最差,提示在未来还可以对该品种进一步进行纯繁选育,以提高该品种的遗传一致性。德国黄牛的 平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数均最低,分别为 0.665 1,0.620 3 和 3.330 8,说明其遗传变异最小,即该品种的遗传一致性最高。

表 3 12 个黄牛品种在 15 个微卫星座位上的等位基因数

Table 3 Number of alleles in twelve yellow cattle breeds with fifteen microsatellite loci								
微卫星座位 Microsatellite locus	BM1818	ETH185	HEL13	ILSTS034	ILSTS054	INRA005	INRA032	MM12
等位基因数 Number of alleles	12	19	10	26	10	15	14	18

Table 3 Number of alleles in twelve yellow cattle breeds with fifteen microsatellite loci							
微卫星座位 Microsatellite locus	TGLA227	BM1824	HEL5	SPS115	TGLA122	TGLA126	TGLA53
等位基因数 Number of alleles	19	10	18	11	21	12	22

表 4 12 个黄牛品种的平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数

Table 4 Values of Mean heterozygosity, Mean PIC and Mean Ne in twelve yellow cattle breeds												
指标 Index	WN	JA	WNY	WCB	LL	WZ	DQ	SJ	XW	SMT	CRL	GY
平均杂合度 Mean <i>H</i>	0.774 2	0.734 0	0.782 2	0.788 9	0.768 5	0.678 9	0.800 3	0.722 1	0.707 3	0.672 9	0.699 5	0.665 1
平均多态 信息含量 Mean <i>PIC</i>	0.747 0	0.704 7	0.753 5	0.762 8	0.742 0	0.645 6	0.774 4	0.682 9	0.673 4	0.632 3	0.665 1	0.620 3
平均有效 等位基因数 Mean <i>Ne</i>	4.815 6	4.071 1	4.847 2	5.121 4	4.712 0	3.415 2	5.357 3	3.857 8	3.745 2	3.510 9	4.169 4	3.330 8

由表 5 可以看出,在 15 个微卫星座位中,IL-STS034 的平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数均最高,分别为 0.834 9,0.821 7 和 6.743 1;HEL13 的均最低,分别为 0.640 4,0.597 2

和 3.104 8,表明 15 个微卫星座位中 ILSTS034 遗传变异最大,HEL13 遗传变异最小。15 个微卫星座位的平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数均比较高,呈现高度多态。

表 5 黄牛在 15 个微卫星座位上的平均杂合度、平均多态信息含量和平均有效等位基因数

Table 5 Values of Mean heterozygosity,Mean <i>PIC</i> and Mean <i>Ne</i> in twelve yellow cattle breeds with fifteen microsatellite loci									
指标 Index	微卫星座位 Microsatellite locus								
	BM1818	ETH185	HEL13	ILSTS034	ILSTS054	INRA005	INRA032	MM12	
平均杂合度 Mean <i>H</i>	0.734 4	0.770 8	0.640 4	0.834 9	0.716 7	0.748 9	0.737 2	0.772 1	
平均多态信息含量 Mean <i>PIC</i>	0.699 1	0.748 7	0.597 2	0.821 7	0.673 4	0.710 1	0.706 6	0.742 3	
平均有效等位基因数 Mean <i>Ne</i>	3.936 4	4.996 3	3.104 8	6.743 1	3.779 1	4.515 4	4.467 2	4.604 8	

指标 Index	微卫星座位 Microsatellite locus						
	TGLA227	BM1824	HEL5	SPS115	TGLA122	TGLA126	TGLA53
平均杂合度 Mean <i>H</i>	0.682 4	0.667 4	0.766 2	0.705 4	0.761 0	0.680 5	0.774 1
平均多态信息含量 Mean <i>PIC</i>	0.658 4	0.619 6	0.734 3	0.667 5	0.727 0	0.643 4	0.755 7
平均有效等位基因数 Mean <i>Ne</i>	3.636 0	3.137 5	4.571 4	3.592 7	4.418 4	3.401 6	4.787 2

2.3 黄牛的遗传分化程度分析

总群体杂合度(H_T)、亚群体杂合度(H_S)和遗传分化系数(G_{ST})是反映群体间遗传变异的量度。遗传分化系数是衡量群体在多个座位上遗传分化的参数。亚群内平均杂合度越高,表明群体内大多数为杂合座位,仍可能进一步分化。遗传分化系数是亚群间基因分化相对量一个测试指标。由表 6 可

知,各座位的总群体杂合度为 0.742 6~0.886 5,平均为 0.814 6,具有很高的杂合性;亚群体杂合度为 0.640 4~0.834 9,平均为 0.732 8,低于总群体杂合度;各个座位的遗传分化系数为 0.058 2~0.164 6,平均为 0.100 8,也就是说各个品种间的遗传分化达到 10.08%的水平。上述结果表明,黄牛各品种间的遗传分化不大,遗传变异主要来自品种内。

表 6 12 个黄牛品种在 15 个微卫星座位上的 H_T 、 H_S 和 G_{ST}

Table 6 Total genetic diversity (H_T), Average heterozygosity within each population (H_S) and Coefficient of gene differentiation (G_{ST}) in 12 Yellow cattle breeds with fifteen microsatellite							
座位 Locus	总群体杂合度 H_T	亚群体杂合度 H_S	遗传分化系数 G_{ST}	座位 Locus	总群体杂合度 H_T	亚群体杂合度 H_S	遗传分化系数 G_{ST}
BM1818	0.790 9	0.734 4	0.071 4	TGLA227	0.792 3	0.682 4	0.138 8
ETH185	0.860 0	0.770 8	0.103 7	BM1824	0.759 0	0.667 4	0.120 6
HEL13	0.766 6	0.640 4	0.164 6	HEL5	0.840 8	0.766 2	0.088 7
ILSTS034	0.886 5	0.834 9	0.058 2	SPS115	0.775 6	0.705 4	0.090 5
ILSTS054	0.809 4	0.716 7	0.114 6	TGLA122	0.839 2	0.761 0	0.093 2
INRA005	0.810 0	0.748 9	0.075 4	TGLA126	0.742 6	0.680 5	0.083 7
INRA032	0.847 0	0.737 2	0.129 5	TGLA53	0.844 2	0.774 1	0.083 1
MM12	0.854 6	0.772 1	0.096 6	平均值 Mean	0.814 6	0.732 8	0.100 8

2.4 黄牛品种间的遗传距离及聚类分析

遗传距离最早是用来估计不同群体之间遗传分化程度的指标^[13]。微卫星标记能客观地反映品种间的遗传变异与分化。微卫星座位大部分位于非编码区,仅少数位于编码区,而自然选择和人工选择均是根据适应性和外形进行的选择,也就是对编码基因的选择,因而微卫星受到的选择压力就很小^[14],所以依据微卫星标记计算出的遗传距离能比较准确地揭示出各品种的分化程度。

由表 7 可以看出,在 12 个黄牛品种中,涠洲黄

牛与德国黄牛的遗传距离最大,达到 0.502 0;威宁黄牛和务川黑牛的最小,为 0.052 8。中国 9 个地方黄牛品种间的遗传距离差异不大,为 0.052 8~0.264 7,原因可能是其均属于南方黄牛,都带有瘤牛的血统,所以亲缘关系比较接近。

由图 1 可以看出,吉安黄牛和徐闻牛首先聚在一起,然后与隆林黄牛、皖南牛、涠洲黄牛聚为一类;威宁黄牛、务川黑牛和迪庆黄牛聚为一类;三江牛与其他地方品种间的亲缘关系相对较远,自成一类;西门塔尔牛、夏洛来牛和德国黄牛聚为一类。

表 7 12 个黄牛品种间的 D_A 遗传距离

Table 7 D_A genetic distance in twelve yellow cattle breeds												
品种 Breed	WN	JA	WNY	WCB	LL	WZ	DQ	SJ	XW	SMT	CRL	GY
WN												
JA	0.073 3											
WNY	0.106 3	0.117 8										
WCB	0.103 7	0.105 2	0.052 8									
LL	0.080 6	0.071 7	0.079 2	0.078 6								
WZ	0.128 6	0.099 8	0.186 0	0.167 1	0.106 0							
DQ	0.154 6	0.181 4	0.072 6	0.086 1	0.141 5	0.258 8						
SJ	0.184 3	0.205 8	0.137 3	0.153 5	0.173 8	0.264 7	0.155 9					
XW	0.097 7	0.064 6	0.135 8	0.122 5	0.075 7	0.070 6	0.216 7	0.229 0				
SMT	0.317 2	0.360 6	0.228 3	0.233 7	0.327 6	0.475 4	0.200 3	0.328 1	0.408 9			
CRL	0.302 1	0.338 5	0.239 2	0.225 0	0.320 8	0.452 2	0.202 9	0.289 1	0.397 7	0.109 7		
GY	0.364 5	0.404 2	0.268 3	0.282 3	0.359 6	0.502 0	0.230 9	0.351 1	0.447 2	0.133 0	0.167 6	

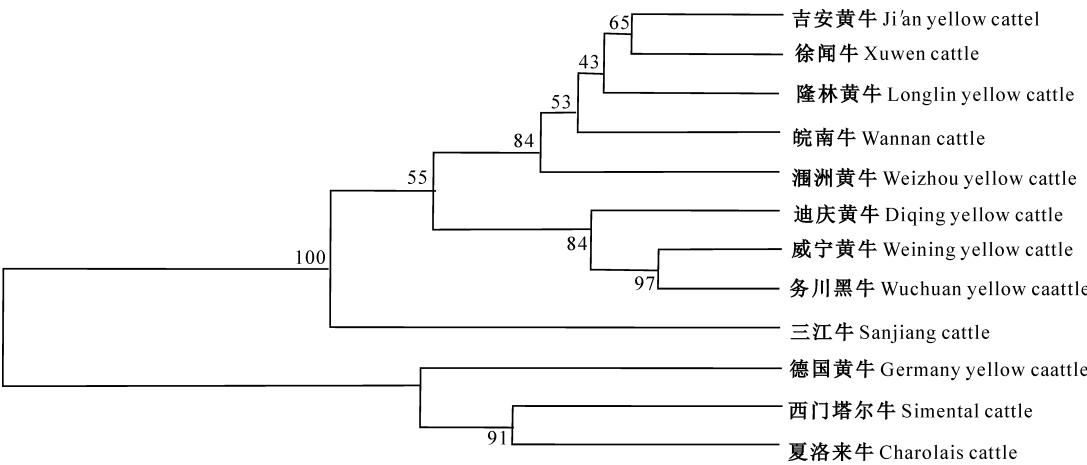


图 1 12 个黄牛品种的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 The UPGMA dendrogram of twelve cattle breeds based on D_A genetic distance

3 讨 论

3.1 品种内的遗传变异

杂合度又称基因多样性,反映了群体在多个基因座上的遗传变异情况。平均基因杂合度的大小能近似地反映出遗传结构变异程度的高低;杂合度越大,表明该品种的遗传变异程度越高,遗传多样性越高,遗传一致性越低。本研究 12 个黄牛品种的平均杂合度为 0.665 1~0.800 3,略高于杨国忠等^[15]报道的草原红牛和其杂种牛的平均杂合度(0.640)及马月辉等^[16]报道的延边牛、南阳牛、西门塔尔牛、皮埃蒙特牛和韩国牛的平均基因杂和度(0.660)。12 个黄牛品种的杂合度均较高,说明这些黄牛品种内的遗传变异较大,群体近交程度较弱,遗传多样性较丰富,可以作为宝贵的种质资源加以保护及利用。

PIC 通常用来表示微卫星座位的杂合程度,是衡量等位基因片段多态性的理想指标。某微卫星座位的多态信息含量关系到该座位的可用性及使用效率,多态信息含量越大,在一个群体中,则该座位杂合子的比例越大,提供的遗传信息就越多。本试验 12 个黄牛品种在 15 个微卫星座位上的平均多态信息含量为 0.597 2~0.821 7,和亏开兴等^[17]对 BMY 牛和婆罗门牛的研究结果相似。王敏强等^[18]研究表明,鲁西黄牛、渤海黑牛和秦川牛的平均多态信息含量分别为 0.797,0.798 和 0.795,平均杂合度分别为 0.820,0.821 和 0.819,平均有效等位基因数分别为 6.163,6.354 和 6.285,这 3 项指标均略高于本试验结果。根据 Botstein 等^[19]提出的衡量基因变异程度标准可知,本研究所选的 15 个微卫星座位全部为高度多态座位,可以作为有效的遗传标记用于牛品种间的遗传多样性和系统发生关系分析。

3.2 品种间的遗传变异与系统聚类

品种间的遗传变异通常由以等位基因频率为基础的遗传距离来表示,通过遗传距离分析可以估测品种结构和进化的关系。关于遗传距离的统计分析,许多学者根据不同的标记特点提出了不同的统计方法,目前仍没有大家认可的公式,一般较通用的是 Nei 氏遗传距离(D_A)和 Nei 氏标准遗传距离(D_S)。有学者对计算群体间遗传距离的各种计算公式的优劣进行了综合比较,认为在用微卫星标记进行分析时,用 D_A 构建系统发育树较好,而在推测进化时间时,用 D_S 比较精确^[20-21]。陈红菊等^[22]认为,在用微卫星标记分析品种的遗传多样性时,基于 D_A 遗传距离的 UPGMA 聚类法比其他方法更可

靠,所以本研究利用 D_A 遗传距离进行 UPGMA 聚类。本试验 12 个黄牛品种的聚类结果与其分布基本一致。雷初朝等^[23]利用 Y 染色体多态性研究了中国黄牛的起源和分类,指出西藏牛的 Y 染色体为中或亚中着丝点,属北方黄牛。本研究威宁黄牛、务川黑牛和迪庆黄牛都属于西南云贵高原地区的黄牛品种,主要分布于地理环境和气候条件一致的横断山区,因为这里接近西藏,故此 3 种黄牛可能带有西藏牛血统,是瘤牛和西藏牛的杂合体,也很可能带有一部分北方黄牛遗传结构特征。本研究的三江牛属于南方黄牛,分布于四川盆地西北部,这里各民族融和,可能带来北方黄牛的血统,故三江牛很可能是北方黄牛和瘤牛杂合体;另外,三江牛与威宁黄牛、务川黑牛和迪庆黄牛的遗传距离相对较近,这也说明三江牛、威宁黄牛、务川黑牛和迪庆黄牛可能均含有北方黄牛血统。吉安黄牛、徐闻牛、隆林黄牛、皖南牛和涠洲黄牛分布于长江以南地区,地理位置较接近,相互间的交流比较多,瘤牛的特征非常明显,遗传距离近,聚为一类。涠洲黄牛和徐闻牛起源于雷州半岛,但却没有最先聚在一起,这与《中国牛品种志》的记录有些不符,值得进一步研究。3 个引进品种均来自欧洲,属于普通牛类型,聚为一类。9 个南方黄牛品种以瘤牛血统为主,兼有普通牛血统,这与聚类结果相符合。

由于中国地方黄牛品种资源十分丰富,要确切地掌握种内遗传变异和种间遗传关系,还要增加检测的座位数目和扩大样本量,综合考虑多种遗传标记的研究。

[参考文献]

- [1] Arranz J J, Bayon Y, Primivo F. Comparision of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle population [J]. *Animal Genetics*, 1996, 27(6): 415-419.
- [2] 刘 榜, 张庆德, 李 奎. 微卫星 DNA 作为遗传标记的优点及前景 [J]. *湖北农业科学*, 1997, 36(2): 49-51.
Liu B, Zhang Q D, Li K. Advantages and prospects of microsatellite DNA as genetic marker [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 1997, 36(2): 49-51. (in Chinese)
- [3] 吴登俊. 家畜基因组遗传多态标记 [J]. *国外畜牧科技*, 1999, 26(1): 33-35.
Wu D J. Research on polymorphic genetic marker microsatellite markers in animal genome [J]. *Animal Science Abroad*, 1999, 26(1): 33-35. (in Chinese)
- [4] Pemberton J M, Coltman D W, Wolf L L, et al. Microsatellite as a marker of fitness in free-living population [J]. *Animal Genetics*, 1998, 29(suppl): 1.
- [5] Zhou H J, Lamont S J. Genetic characterization of biodiversity

- in highly inbred chicken lines by microsatellite markers[J]. *Animal Genetics*, 1999, 30(4): 256-264.
- [6] 杨 勇, 朱 庆, 胡刚安. 利用微卫星标记分析家鸡的群体遗传变异[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2000, 32(suppl): 148-152.
- Yang Y, Zhu Q, Hu G A. The use of microsatellite markers for detection of population genetic variation in chicken [J]. *Journal of Sichuan University: Natural Science Edition*, 2000, 32(Suppl): 148-152. (in Chinese)
- [7] Romanov M N, Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers[J]. *Poultry Science*, 2001(80): 1057-1063.
- [8] 牛 荣, 商海涛, 魏 泓, 等. 西双版纳小耳猪近交系 5 家系 35 个微卫星座位的遗传分析 [J]. *遗传学报*, 2001, 28(6): 518-526.
- Niu R, Shang H T, Wei H, et al. Genetic analysis of 35 microsatellite loci in 5 lineages of Xishuangbanna miniature pig inbred line [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(6): 518-526. (in Chinese)
- [9] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1993.
- Lu S D. Experimental techniques in Modern molecular biology [M]. Beijing: Higher Education Press, 1993. (in Chinese)
- [10] 储明星, 程金华, 过 伟. 微卫星标记 OarAE101 和 BM1329 在 5 个绵羊品种中的初步研究 [J]. *遗传学报*, 2001, 28(6): 510-517.
- Chu M X, Cheng J H, Guo W. Studies of microsatellite markers OarAE101 and BM1329 in five sheep breeds [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(6): 510-517. (in Chinese)
- [11] 欧阳叙向, 施启顺, 邓灶福, 等. 微卫星标记 OarAE101 和 BM143 在 4 个山羊品种中的研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(7): 640-645.
- Ou Yang X X, Shi Q S, Deng Z F, et al. Studies of microsatellite markers OarAE101 and BM143 in four goat breeds [J]. *Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2006, 37(7): 640-645. (in Chinese)
- [12] Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [J]. *Molecular Evolution*, 1983, 19(2): 153-170.
- [13] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [J]. *Genetics*, 1996, 144: 389-399.
- [14] 李雪梅, 谷中新, 李 奎, 等. 应用微卫星标记对中国 10 个品种猪遗传变异的研究 [J]. *山东农业大学学报: 自然科学版*, 2000, 31(3): 261-264.
- Li X M, Gu Z X, Li K, et al. The genetic diversity of ten pig breeds in China by using microsatellite loci [J]. *Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science Edition*, 2000, 31(3): 261-264. (in Chinese)
- [15] 杨国忠, 任文陟, 张嘉保, 等. 草原红牛及其杂种牛群体微卫星 DNA 遗传多态性研究 [J]. *吉林农业大学学报*, 2005, 27(4): 442-445.
- Yang G Z, Ren W Z, Zhang J B, et al. Study on genetic polymorphism of microsatellite DNA in grassland red cattle and its hybrid population [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2005, 27(4): 442-445. (in Chinese)
- [16] 马月辉, 曹红鹤, 陈幼春, 等. 部分黄牛品种(群体)遗传多样性分析[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(6): 696-699.
- Ma Y H, Cao H H, Cheng Y C, et al. Study on genetic diversity of some cattle breeds [J]. *Scientia Agriculture Sinica*, 2003, 36(6): 696-699. (in Chinese)
- [17] 丐开兴, 朱芳贤, 吴桂生, 等. 用 6 个微卫星座位研究 BMY 牛和婆罗门牛的遗传多样性和群体遗传结构[J]. *遗传*, 2006, 28(3): 285-290.
- Qu K X, Zhu F X, Wu G S, et al. Genetic diversity and population structure of BMY and Brahman cattle revealed by six microsatellite loci [J]. *Hereditas*, 2006, 28(3): 285-290. (in Chinese)
- [18] 王敏强, 李萍莉, 陈礼学, 等. 用 20 个微卫星标记研究鲁西黄牛和渤海黑牛的遗传多样性[J]. *河北农业大学学报*, 2006, 29(6): 76-81.
- Wang M Q, Li P L, Chen L X, et al. Genetic diversity analysis of Shandong native cattle breeds using 20 microsatellite markers [J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2006, 29(6): 76-81. (in Chinese)
- [19] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *American Journal Human Genetics*, 1980, 32: 314-331.
- [20] 王惠影, 常 洪, 徐 伟, 等. 家鸭与野生日本鸣鸭群体微卫星 DNA 标记的遗传学分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(4): 367-371.
- Wang H Y, Chang H, Xu W, et al. Genetic analysis of microsatellite DNA markers in domestic quail and wild Japanese quail populations [J]. *Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2004, 35(4): 367-371. (in Chinese)
- [21] 朱 庆, 李 亮. 不同地方乌骨鸡种群遗传多样性的微卫星 DNA 分析 [J]. *畜牧兽医学报*, 2003, 34(3): 213-216.
- Zhu Q, Li L. Genetic diversity in Black-bone chicken lines as revealed by microsatellite DNA markers [J]. *Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2003, 34(3): 213-216. (in Chinese)
- [22] 陈红菊, 岳永生, 樊新忠, 等. 山东地方鸡种遗传距离与聚类分析方法比较研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(1): 33-36.
- Chen H J, Yue Y S, Fan X Z, et al. Study comparatively on genetic distance and genus analysis measures in Shandong Indigenous chicken breeds [J]. *Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2004, 35(1): 33-36. (in Chinese)
- [23] 雷初朝, 陈 宏, 胡沈荣. Y 染色体多态性与中国黄牛起源和分类研究[J]. *西北农业学报*, 2000, 9(4): 43-47.
- Lei C Z, Chen H, Hu S R. Studies on Y chromosome polymorphism and the origin and classification of Chinese yellow cattle [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2000, 9(4): 43-47. (in Chinese)