

网络出版时间:2013-03-27 15:46  
网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130327.1546.001.html>

# 4 个绒山羊群体 *KAP13-1* 基因的遗传多态性分析

李明娜,刘秀,王继卿,李少斌,罗玉柱

(甘肃农业大学 动物科学技术学院,甘肃省草食动物生物技术重点实验室,甘肃 兰州 730070)

**[摘要]** 【目的】对中国河西绒山羊、内蒙古绒山羊、辽宁绒山羊和陇东绒山羊 4 个绒山羊群体 *KAP13-1* 基因的遗传特征进行分析,为揭示绒山羊遗传特征和生产利用提供基础数据。【方法】采用 PCR-SSCP 方法,检测河西绒山羊、内蒙古绒山羊、辽宁绒山羊及陇东绒山羊(共 721 只) *KAP13-1* 基因的多态性。同时基于  $D_A$  遗传距离用 UPGMA 法进行聚类分析,以明确各群体间的遗传关系。【结果】基因组 DNA 扩增后得到 491 bp 的扩增产物,经 SSCP 分析,从 4 个绒山羊群体 *KAP13-1* 基因中共发现 6 种基因型,4 个等位基因中存在 5 个变异位点,这些多态位点主要为点突变,且均处于编码区,其中转换位点 3 个(占 60%),颠换位点 2 个(占 40%)。在 170 和 197 位分别发生了 T→G, C→G 的错义突变,导致氨基酸分别由 Leu, Thr 变为 Arg, Ser。该基因在河西绒山羊与陇东绒山羊中均存在 4 个等位基因,而内蒙古绒山羊未检测到 C 和 D 等位基因,辽宁绒山羊未检测到 D 等位基因。聚类结果显示,河西绒山羊与陇东绒山羊之间的遗传距离较小,在系统发生树中聚为一支,辽宁绒山羊与内蒙古绒山羊聚为一支。【结论】*KAP13-1* 基因在 4 个绒山羊群体中呈中度多态,群体间存在差异。生态学作用对 4 个绒山羊品种的进化过程有一定的影响。

**[关键词]** *KAP13-1* 基因; 绒山羊; PCR-SSCP; 遗传多态性

**[中图分类号]** S827.9<sup>+</sup>1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2013)04-0007-07

## Genetic polymorphism of *KAP13-1* gene of four cashmere goat populations in China

LI Ming-na, LIU Xiu, WANG Ji-qing, LI Shao-bin, LUO Yu-zhu

(Gansu Key Laboratory of Herbivorous Animal Biotechnology, Faculty of Animal Sci-Tech,  
Gansu Agriculture University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** 【Objective】The objectives of this study were to analyze the genetic variations of *KAP13-1* gene of Hexi cashmere goat, Inner Mongolia cashmere goat, Liaoning cashmere goat and Longdong cashmere goat, and provide data for future studies on cashmere traits. 【Method】*KAP13-1* genes were amplified using PCR-single stranded conformational polymorphism (PCR-SSCP) analysis to detect genetic variations in 721 cashmere goats (Hexi cashmere goat, Inner Mongolia cashmere goat, Liaoning cashmere goat, Longdong cashmere goat) in China. Then we constructed UPGMA tree by genetic distances ( $D_A$ ). 【Result】The PCR amplification obtained *KAP13-1* gene with 491 bp, and six genotypes were revealed from the four cashmere goat populations. Five nucleotide polymorphism sites, which mainly came from point mutation, were identified in four alleles. There were three transition sites (60%) and two transversion sites (40%). The mutation of 170 and 197 T→G, C→G resulted in Leu→Arg and Thr→Ser missense mutation. Four

〔收稿日期〕 2012-07-24

〔基金项目〕 甘肃省科技重大专项(1102NKDM024);2012 年甘肃省高等学校基本科研业务费项目;甘肃省青年科技基金计划项目(1107RJYA060)

〔作者简介〕 李明娜(1987—),女,甘肃景泰人,在读硕士,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:limingnay@163.com

〔通信作者〕 罗玉柱(1962—),男,甘肃景泰人,教授,博士生导师,主要从事草食动物遗传育种与现代生物技术研究。

E-mail:luoyz@gau.edu.cn

alleles were found in Hexi and Longdong cashmere goat populations, while there was no alleles C and D in Inner Mongolia cashmere goats, and allele D had not been detected in Liaoning cashmere goat populations. Clustering results showed that Hexi and Longdong cashmere goat populations clustered together firstly, and then Liaoning and Inner Mongolia cashmere goat populations clustered together. 【Conclusion】 All of the four cashmere goat populations are moderately polymorphic in *KAP13-1* gene, and there are rich genetic diversities among the four cashmere goat populations. Ecological factors have certain effects on the evolution of these four cashmere goat breeds.

**Key words:** *KAP13-1* gene; cashmere goat; PCR-SSCP; genetic polymorphism

中国是羊绒生产大国,羊绒产量约占世界总产量的 70%,近年来我国绒山羊产绒量呈迅速上升趋势,2010 年中国绒山羊产绒量达 18 518 t。内蒙古绒山羊、辽宁绒山羊、河西绒山羊及陇东绒山羊是在当地生态环境下经过长期选育形成的优秀地方品种。2007 年,河西绒山羊、辽宁绒山羊和内蒙古绒山羊被列入国家级畜禽遗传资源保护品种名录。中国绒山羊不同群体间存在明显的遗传多样性<sup>[1]</sup>。角蛋白关联蛋白(Keratin Associated Proteins, KAP)基因的多态性与绒品质显著相关<sup>[2-6]</sup>。随着分子遗传学技术的发展,在基因组水平上探讨控制羊绒纤维结构基因的进化机制,对保护和利用我国绒山羊遗传资源具有重要的意义。

*KAP* 是羊绒纤维的重要结构蛋白,角蛋白微丝蛋白(Keatin Intermediate Filament, KRT-IF)包埋在其形成的基质中,二者通过二硫键相连<sup>[3-4]</sup>,共同决定羊绒纤维的基本特性。角蛋白对人类的毛发抵抗外界刺激及保持高稳定性有重要的作用<sup>[5]</sup>,因此从分子生物学角度研究 KRT-IF 和 KAPs 对于探究毛发及羊绒的理化性质至关重要。目前,人们已发现人类毛发中有 *KAP1~KAP25* 等 25 个 *KAP* 家族<sup>[6-7]</sup>,山羊有 5 个<sup>[4]</sup>。人类 *KAP13* 基因位于 21 号染色体,有 *KAP13-1~KAP13-4* 等 4 个成员,与老鼠 *KAP13-1* 基因序列有较高的同源性<sup>[8-11]</sup>。Fang 等<sup>[12]</sup>研究揭示, *KAP* 基因的多态性可能与山羊羊绒纤维的直径及绒品质相关。李长青等<sup>[13]</sup>研究表明,山羊毛囊兴盛期 *KAP13-1* 基因在毛母质上部和皮质层起始部分表达强烈。王立文等<sup>[14]</sup>应用 PCR-RFLP 方法对博格达绒山羊 *KAP13-1* 基因进行了遗传多态性检测,结果证明该基因具有丰富的多态性。目前,对 *KAP13-1* 基因的遗传特征分析相对较少,在绵羊上尚未见相关报道,在山羊上的研究也仅限于国内新疆绒山羊和博格达绒山羊。为合理开发和保护我国绒山羊遗传资源,本研究对河西绒山羊、辽宁绒山羊、内蒙古绒山羊和陇东绒山羊

4 个绒山羊群体的 *KAP13-1* 基因遗传特征进行了分析,旨在明确 *KAP13-1* 基因的遗传特征,丰富我国绒山羊基因组学研究内容,为绒山羊遗传资源保护和利用及绒山羊生产性能的提高提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

采集 4 个绒山羊群体共 721 份血样(无血缘关系),其中河西绒山羊 415 份,采自甘肃省酒泉市肃北县牧民羊群;陇东绒山羊 35 份、辽宁绒山羊 179 份、内蒙古绒山羊 92 份,均采自甘肃省环县惠农公司。颈静脉采血 10 mL, ACD 抗凝, -20 ℃ 冻存,以备基因组 DNA 提取。蛋白酶 K, 购自北京天根生物公司; *Taq* DNA 聚合酶, 购于大连宝生物工程有限公司。其他常规试剂均为进口或国产分析纯级产品。

### 1.2 基因组 DNA 提取

采用常规的苯酚-氯仿抽提法<sup>[15]</sup>从冻存绒山羊血样中提取基因组 DNA。

### 1.3 *KAP13-1* 基因的 PCR 扩增

参照 GenBank 中山羊的 *KAP13-1* 基因序列(GenBank 登录号:AY510115.1),利用引物设计软件 Primer5.0 设计 1 对引物,交由大连宝生物工程有限公司合成。上游引物序列为:5'-CCATCGTA-ACTCACATCA-3', 下游引物序列为:5'-GGAAAGAAAGAGACAGGC-3'。以提取的 DNA 为模板,扩增 4 个绒山羊品种的 *KAP13-1* 基因,PCR 反应体系为:总体积 20 μL, 其中 10×buffer 2 μL, 模板 DNA (50 ng/μL) 0.8 μL, 引物 (10 pmol/μL) 0.4 μL, dNTPs (10 mmol/L) 1.5 μL, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.4 μL, 去离子水补足 20 μL。PCR 反应条件:95 ℃ 预变性 4 min; 95 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共 35 个循环; 最后 72 ℃ 延伸 10 min, 4 ℃ 保存。PCR 产物用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测。

### 1.4 KAP13-1基因的SSCP分析

取2 $\mu$ L PCR产物加入8 $\mu$ L变性上样缓冲液(包括98%去离子甲酰胺、0.25 g/L溴酚蓝、0.25 g/L二甲苯青和pH为8.0的3.722 g/L EDTA),98℃变性10 min后,立即冰浴10 min。于120 g/L的非变性聚丙烯酰胺凝胶(Arc:Bis=37.5:1)上样,350 V、4℃电泳20 h后银染法显影,并照相辨型。

### 1.5 KAP13-1基因的测序及序列分析

经过SSCP分析之后,选取不同基因型个体PCR扩增产物送至北京六合华大基因科技股份有限公司测序。利用BioEdit及DNAMAN软件对目的核苷酸序列进行同源序列比对、核苷酸翻译。碱基组成完全一致的序列为同种的等位基因;碱基组成有差别的为不同的等位基因。用DISPAN软件包计算Nei's标准遗传距离(Nei's standard genetic distance, $D_S$ )和Nei's遗传距离(Nei's genetic distance, $D_A$ )<sup>[16]</sup>。基于Nei's遗传距离,采用非加权组对算术平均法(Unweighted pair-group method with arithmetic mean,UPGMA)对4个群体进行系统发生树的构建,利用Bootstrap Test检验所得聚类结果的可靠性。

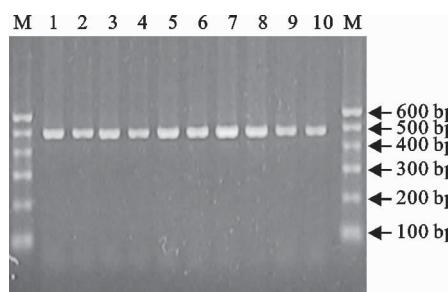


图1 绒山羊KAP13-1基因的PCR扩增  
M. Marker; 1~3. 河西绒山羊; 4~6. 辽宁绒山羊;  
7、8. 内蒙古绒山羊; 9、10. 陇东绒山羊

Fig. 1 PCR amplification of KAP13-1 gene  
M. Marker; 1—3. Hexi cashmere goat; 4—6. Liaoning cashmere goat; 7 and 8. Inner Mongolia cashmere goat;  
9 and 10. Longdong cashmere goat

### 2.2 KAP13-1的基因型频率和等位基因频率

由表1可知,4个绒山羊群体KAP13-1基因的基因型频率及等位基因频率分布各异。4个绒山羊群体均表现为多态,且各个群体间存在差异,河西绒山羊与陇东绒山羊均存在6种基因型,4个等位基因;辽宁绒山羊与内蒙古绒山羊均未检测到AD基因型和D等位基因,内蒙古绒山羊还未检测到BC、AC基因型和C等位基因。其中AB基因型在河西

### 1.6 群体的遗传学分析

利用spss13.0软件计算基因型频率、等位基因频率、有效等位基因数( $N_e$ )、纯合度( $H_o$ )及杂合度( $H_e$ ),利用PIC软件计算多态信息含量(PIC),利用Popgen软件进行卡方( $\chi^2$ )检验。

$$N_e = 1 / \sum_{i=1}^n p_i^2; H_o = \sum_{i=1}^n p_i^2; H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2;$$

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2.$$

式中: $p_i$ 和 $p_j$ 分别为某一特定基因位点上第*i*和*j*个等位基因的频率,*n*为某一特定基因位点上的等位基因数。

## 2 结果与分析

### 2.1 KAP13-1基因的PCR-SSCP检测

基因组DNA经PCR扩增后得到491 bp的扩增产物,经10 g/L琼脂糖凝胶电泳检测,得到1条特异性较好的电泳条带(图1),适合做PCR-SSCP分析。

PCR扩增产物进行SSCP分析后,在所检测的721只绒山羊样品中共发现6种基因型,分别指定为AA、BB、AB、BC、AC、AD(图2)。

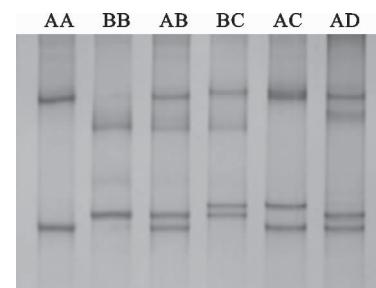


图2 绒山羊KAP13-1基因的PCR-SSCP检测  
Fig. 2 Detection of KAP13-1 gene in cashmere goats by PCR-SSCP

绒山羊、陇东绒山羊、辽宁绒山羊和内蒙古绒山羊4个群体中的频率均较高,分别达到了0.45,0.37,0.48和0.53,可见该基因型为优势基因型。等位基因A在4个绒山羊群体中频率均最高,分别为0.56,0.54,0.69和0.53;其次是等位基因B,因此单倍型A为优势等位基因。经 $\chi^2$ 适合性检验,4个绒山羊群体均处于Hardy-Weinberg平衡状态,其 $\chi^2$ 值依次为10.32,2.86,3.98和0.36,这是长期自

然选择的结果。经  $\chi^2$  独立性检验表明,基因型在群体间的分布差异极其显著( $P < 0.01, \chi^2 = 66.858 > \chi^2_{0.01(15)} = 30.58$ ),说明该位点基因型的分布有显著差异。

表 1 4 种绒山羊群体的基因型频率和等位基因频率

Table 1 Genotype frequencies and allele frequencies in four cashmere goat populations

群体 Population	基因型频率 Genotype frequencies						等位基因频率 Allele frequencies				$\chi^2$ 值 $\chi^2$ value
	AA	BB	AB	AD	BC	AC	A	B	C	D	
河西绒山羊 Hexi cashmere goat	0.29	0.16	0.45	0.01	0.02	0.07	0.56	0.39	0.04	0.01	10.32
陇东绒山羊 Longdong cashmere goat	0.28	0.14	0.37	0.09	0.06	0.06	0.54	0.36	0.06	0.04	2.86
辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	0.44	0.06	0.48	0	0.01	0.01	0.69	0.30	0.01	0	3.98
内蒙古绒山羊 Inner Mongolia cashmere goat	0.26	0.21	0.53	0	0	0	0.53	0.47	0	0	0.36

### 2.3 KAP13-1 基因的核苷酸位点突变类型与多样性

由图 3 可知,绒山羊 KAP13-1 等位基因序列与已有山羊 KAP13-1 基因序列(GenBank 登录号为:AY510115.1)具有很高的同源性,但绒山羊序列存在 5 个核苷酸多态位点,约占分析位点总数的 1.02%,分别为 51 位 G→A,99 位 T→C,108 位 C→T,170 位 T→G,197 位 C→G,多态位点均处于编码区。5 个多态位点中有转换位点 3 个,占核苷酸多态位点的 60%,包括 1 个 A/G 转换位点以及 2 个 T/C 转换位点;颠换位点 2 个,占 40%,包括 1 个

T/G 颠换位点以及 1 个 G/C 颠换位点。

绒山羊 KAP13-1 基因编码的氨基酸序列见图 4。由图 4 可知,绒山羊 KAP13-1 等位基因编码的氨基酸序列与山羊 KAP13-1 基因编码的氨基酸序列(GenBank: AAS00522.1)具有很高的同源性,仅有 2 个氨基酸变异位点,占分析氨基酸总数的 1.30%,为 170 和 197 位的核苷酸位点突变所致,分别使氨基酸 Leu (CTG) 变为 Arg (CGG), Thr (ACC) 变为 Ser (AGC)。这与核苷酸多态位点反映的规律一致。

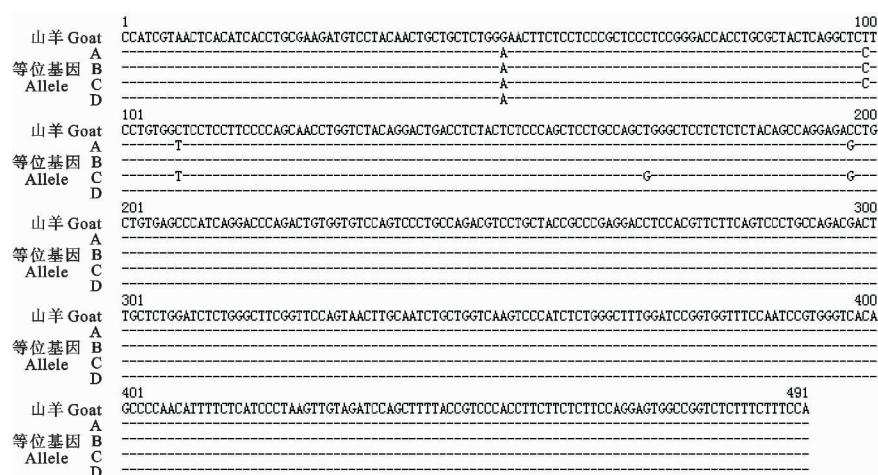


图 3 绒山羊 KAP13-1 等位基因与山羊 KAP13-1 基因的核苷酸的比对结果

Fig. 3 Nucleotide sequence alignments of cashmere goat KAP13-1 alleles compared with known KAP13-1 sequences from goat

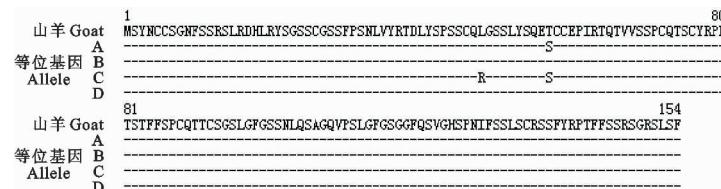


图 4 绒山羊 KAP13-1 等位基因氨基酸序列与山羊 KAP13-1 氨基酸序列的比对结果

Fig. 4 Amino acid sequence alignments of cashmere goat KAP13-1 sequences compared with known KAP13-1 sequences from goat

## 2.4 KAP13-1基因的纯合度、杂合度、有效等位基因数和多态信息含量

多态信息含量(PIC)、杂合度( $H_e$ )和有效等位基因数( $N_e$ )都是度量群体内遗传变异的参数,不同遗传参数体现各群体的遗传差别,遗传变异大,度量数值就高。4个绒山羊群体KAP13-1基因在扩增区域的遗传多态性信息(表2)表明,陇东绒山羊的

$H_e$ 、 $N_e$ 、PIC均最高,分别为0.57、2.33和0.49,显示该群体内部具有较多的变异;辽宁绒山羊的上述3个指标均最低,说明其遗传变异相对较小,群体较整齐;根据4个群体的PIC值,可判断KAP13-1基因为中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ )。总体而言,群体的多态信息含量分布比较均匀,各群体绒山羊均达到中度多态,说明群体的基因变异不大。

表2 绒山羊KAP13-1基因纯合度、杂合度、有效等位基因数和多态信息含量

Table 2  $H_o$ ,  $H_e$ ,  $N_e$  and PIC of the cashmere goats KAP13-1 gene

绒山羊 Cashmere goat	遗传多态参数 Genetic polymorphism parameters				
	等位基因数 Number of alleles	纯合度( $H_o$ ) Homozygosity	杂合度( $H_e$ ) Heterozygosity	有效等位基因数( $N_e$ ) Effective number of alleles	多态信息含量(PIC) Polymorphism information content
河西绒山羊 Hexi cashmere goat	4	0.46	0.54	2.22	0.44
陇东绒山羊 Longdong cashmere goat	4	0.43	0.57	2.33	0.49
辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	3	0.51	0.49	1.96	0.34
内蒙古绒山羊 Inner Mongolia cashmere goat	2	0.47	0.53	2.13	0.37

## 2.5 群体遗传特征

表3和图5结果显示,河西绒山羊与陇东绒山羊之间的遗传距离较小( $D_A = 0.0095$ ,  $D_S = 0.0031$ ),在系统发生树中聚为一支,辽宁绒山羊与

内蒙古绒山羊聚为一支。此外,由于系统树上标记的Bootstrap Values很高,表明该聚类具有较强的可靠性。

表3 绒山羊群体间的Nei's遗传距离和Nei's标准遗传距离

Table 3 Nei's genetic distances and Nei's standard genetic distances among different cashmere goat populations

绒山羊 Cashmere goat	河西绒山羊 Hexi cashmere goat	辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	内蒙古绒山羊 Inner Mongolia cashmere goat	陇东绒山羊 Longdong cashmere goat
河西绒山羊 Hexi cashmere goat	—	0.0178	0.0262	0.0095
辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	0.0193	—	0.0175	0.0404
内蒙古绒山羊 Inner Mongolia cashmere goat	0.0056	0.0468	—	0.0541
陇东绒山羊 Longdong cashmere goat	0.0031	0.0084	0.0047	—

注:对角线右上方为Nei's遗传距离( $D_A$ ),左下方为Nei's标准遗传距离( $D_S$ )。

Note: Upper right side of diagonal is Nei's genetic distance( $D_A$ ), and bottom left of diagonal is Nei's standard genetic distance( $D_S$ )。

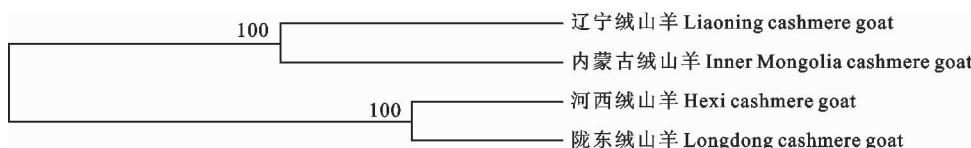


图5 基于 $D_A$ 的4个绒山羊群体的UPGMA聚类结果

Fig. 5 Result of UPGMA dendrogram based on  $D_A$  in four cashmere goat populations

结果的可靠性。

KAP编码区的多态性反映不同品种间毛发表型的差异<sup>[12]</sup>,因此绒山羊KAP基因可能影响绒的品质<sup>[2]</sup>。有研究表明,氨基酸的改变可能影响蛋白质在翻译后修饰过程中磷酸化位点的丢失与否,同时导致蛋白质的净电荷发生改变<sup>[17]</sup>。本研究在绒

## 3 讨论

### 3.1 绒山羊KAP13-1基因的多态性

由于本试验目的产物片段较长,采用PCR-SSCP方法初检,结合测序方法验证,选择较低的凝胶质量浓度,在高压下通过延长电泳时间来提高分析

山羊 KAP13-1 基因编码区发现 5 个单核苷酸多态位点,与山羊 KAP13-1 基因序列比对后发现,170 和 197 位分别发生了 T→G、C→G 的突变,导致氨基酸 Leu(CTG) 变为 Arg(CGG), Thr(ACC) 变为 Ser(AGC), 这与 Fang 等<sup>[12]</sup>、王立文等<sup>[14]</sup>的研究结果一致。2 个错义突变导致氨基酸的改变,可能影响蛋白质的构型及表达,甚至会影响羊绒纤维结构及绒品质。KAP13-1 基因编码的蛋白质作为羊绒纤维的组成成分,将该基因作为羊绒经济性状的候选基因具有一定的生物学基础。

### 3.2 发现新等位基因的理论依据与实践意义

某些基因 2 个等位基因之间的小 DNA 片段的交换可以产生新等位基因<sup>[18]</sup>。本试验中山羊 KAP13-1 基因序列与等位基因 A 在 51 和 99 位点的碱基交换 G→A、T→C 产生了等位基因 B; 山羊 KAP13-1 基因序列与等位基因 A 在 170 位的碱基交换 T→G 产生了等位基因 C; 山羊 KAP13-1 基因序列与等位基因 A 在 51 位的碱基交换 G→A 产生了等位基因 D。表明 KAP13-1 基因中存在基因转换现象,这是该基因产生新等位基因的机制之一,进而产生多态。

Fang 等<sup>[12]</sup>通过对新疆不同绒山羊群体 KAP13-1 基因多态性分析检测到 2 个等位基因。本研究在河西绒山羊、辽宁绒山羊、内蒙古绒山羊及陇东绒山羊群体中发现了 4 个等位基因,表明我国绒山羊群体具有丰富的遗传多样性,新等位基因的出现可能与群体所处地理环境及气候条件有关。在羊毛及羊绒纤维经济性状分析中,KAP 基因家族已被证实是重要的候选基因家族<sup>[3,8]</sup>,可用于绒山羊育种实践。本试验中河西绒山羊与陇东绒山羊检测到 4 个等位基因,内蒙古绒山羊只检测到其中 2 个等位基因,辽宁绒山羊检测到 3 个。内蒙古绒山羊和辽宁绒山羊是中国古老的地方绒山羊品种,育成时间较长,遗传相对稳定。河西绒山羊和陇东绒山羊是甘肃省重要的绒山羊遗传资源,二者检测到相同的等位基因,可能是由于地理环境相似及空间分布较近,育成者相同及遗传资源相似等原因造成;相对于内蒙古绒山羊和辽宁绒山羊,河西绒山羊和陇东绒山羊育成时间短,变异较大,发展潜力大,其可能蕴藏着未被利用到的遗传资源,因此,利用分子遗传学技术研究其主要经济性状的遗传特征具有遗传基础。

### 3.3 绒山羊的遗传特征分析

品种是物种遗传多样性的特殊形式,遗传多样

性研究是保护种质资源的首要工作。本研究结果表明,KAP13-1 基因在河西绒山羊、辽宁绒山羊、内蒙古绒山羊及陇东绒山羊群体中均呈中度多态,遗传多样性数值与 Fang 等<sup>[12]</sup>研究的南疆绒山羊 ( $PIC=0.372$ ) 相近,与博格达绒山羊 ( $PIC=0.057$ )、新疆绒山羊 ( $PIC=0.009$ ) 相差较大,可能是试验群体来源及样本量不同所致,有待于扩大绒山羊群体及数量加以验证。以上分析说明,同一物种因地理位置及群体间的差异而表现出不同的遗传多样性和遗传分化过程。 $\chi^2$  适合性检验表明,从本研究 4 个绒山羊群体中检测到的 6 种基因型在 4 个群体中均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。经  $\chi^2$  独立性检验表明,群体间基因型分布差异极显著,可能与人工选择有关,这与 Fang 等<sup>[12]</sup>的研究结果相一致,即变异累加造成了不同绒山羊群体羊绒理化性质的差异。

生态学作用对品种的进化过程有一定的影响。运用  $D_A$  和  $D_S$  遗传距离获得系统发生树,UPGMA 法优于 NJ 法<sup>[19-20]</sup>。本试验采用 UPGMA/ $D_A$  作图,反映出绒山羊群体的遗传变异分布格局与地理分布一致<sup>[21]</sup>。河西绒山羊和陇东绒山羊均为甘肃省地方品种,地理分布较近,因此在本试验中聚为一类,符合地理距离隔离机制。狄冉等<sup>[22]</sup>通过分析微卫星座位将辽宁绒山羊和内蒙古绒山羊分为 2 类,后与河西绒山羊聚为一类,这与本研究结果一致。本研究结果也为开展我国地方绒山羊种质特性研究及资源保护和利用提供了依据。

### [参考文献]

- [1] 马 宁.中国绒山羊研究 [M].北京:中国农业出版社,2011:254-274.
- [2] Ma N. The research of cashmere goats in China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011:254-274. (in Chinese)
- [3] Gong H, Zhou H T, Dyer J M, et al. Identification of the ovine KAP11-1 gene (KRTAP11-1) and genetic variation in its coding sequence [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(8):1-5.
- [4] Powell B C, Rogers G E. The role of keratin proteins and their genes in the growth, structure and properties of hair [M]// Jolles P, Zahn H, Hocker E. Formation and structure of human hair. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 1997:59-148.
- [5] Gong H, Zhou H T, McKenzie G W, et al. Emerging issues with the current keratin-associated protein nomenclature [J]. Int J Trichology, 2010, 2(2):104-105.
- [6] Barba C, Mendez S, Marti M, et al. Water content of hair and nails [J]. Thermochimica Acta, 2009, 494(1/2):136-140.
- [7] Powell B C, Rogers G E. Differentiation in hard keratin tissues: Hair and related structures [M]// Leigh I, Watt F, Lane

- E B. Keratinocyte handbook. Cambridge:Cambridge University Press,1994;401-436.
- [7] Rogers M A, Winter H, Langbein L, et al. Characterization of human KAP24.1, a cuticular hair keratin-associated protein with unusual amino-acid composition and repeat structure [J]. Invest Dermatol, 2007, 127(5):1197-1204.
- [8] Rogers M A, Langbein L, Winter H, et al. Characterization of a first domain of human high glycine-tyrosine and high sulfur keratin associated protein (KAP) genes on chromosome 21q22.1 [J]. Biol Chem, 2002, 277(50):48993-49002.
- [9] Takaishi M, Takata Y, Kuroki T. Isolation and characterization of a putative keratin-associated protein gene expressed in embryonic skin of mice [J]. Journal of Investigative Dermatology, 1998, 111(1):128-132.
- [10] Rogers M A, Langbein L, Praetzel-Wunder S, et al. Human hair keratin-associated proteins (KAPs) [J]. Int Rev Cytol, 2006, 251:209-263.
- [11] Wu D D, Irwin D M, Zhang Y P. Molecular evolution of the keratin associated protein gene family in mammals, role in the evolution of mammalian hair [J]. BMC Evol Biol, 2008, 8:241.
- [12] Fang Y, Liu W J, Zhang F Q, et al. The polymorphism of a novel mutation of KAP13.1 gene and its associations with cashmere traits on Xinjiang local goat breed in China [J]. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 2010, 5(1):34-42.
- [13] 李长青,李玉荣,尹俊,等. 绒山羊KAP13-1基因在毛囊中的表达 [J]. 中国草食动物, 2006(2):111-114.  
Li C Q, Li Y R, Yin J, et al. mRNA expression of KAP13-1 in hair follicles [J]. China Herbivores, 2006 (2): 111-114. (in Chinese)
- [14] 王立文,王琼,付竹艳,等. 博格达绒山羊KAP13.1基因的多态性研究 [J]. 新疆农业科学, 2010, 47(12):2452-2456.  
Wang L W, Wang Q, Fu Z Y, et al. The polymorphism of KAP13.1 gene in Bogeda cashmere goats [J]. Xinjiang Agricul-
- cultural Sciences, 2010, 47(12):2452-2456. (in Chinese)
- [15] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning [M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
- [16] Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [J]. Journal of Molecular Evolution, 1983, 19(2):153-170.
- [17] Gong H, Zhou H T, Dyer J M, et al. Identification of the keratin-associated protein 13-3 (KAP13-3) gene in sheep [J]. Open Journal of Genetics, 2011, 1(3):60-64.
- [18] Gong H, Zhou H T, Hickford J G H. Polymorphism of the ovine keratin-associated protein 1-4 gene (KRTAP1-4) [J]. Mol Biol Rep, 2010, 37(7):3377-3380.
- [19] Takahashi H, Nirasawa K, Nagamine Y, et al. Genetic relationships among Japanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms [J]. The Journal of Heredity, 1998, 89(6):543-546.
- [20] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual [J]. Genetic, 1978, 89(3):583-590.
- [21] 狄冉,何晓红,韩建林,等. 中国绒山羊遗传多样性现状和系统发生关系的微卫星分析 [J]. 生物多样性, 2007, 15(5):470-478.  
Di R, He X H, Han J L, et al. Genetic diversity and phylogenetic relationship of Chinese cashmere goats based on microsatellite DNA markers [J]. Biodiversity Science, 2007, 15(5):470-478. (in Chinese)
- [22] 狄冉,何晓红,关伟军,等. 中国4个绒山羊品种微卫星DNA遗传多样性和亲缘关系的初步分析 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2008, 36(4):15-21.  
Di R, He X H, Guan W J, et al. Initial analysis of genetic diversity status and phylogenetic relationship of Chinese cashmere goats breeds using microsatellite markers [J]. Journal of Northwest A&F University:Nat Sci Ed, 2008, 36(4):15-21. (in Chinese)