

14个中外黄牛品种的遗传多样性分析

张自富¹, 咎林森¹, 王志刚², 张桂香², 廖信军³,
贾善刚¹, 韩旭², 于福清², 张剑⁴

(1 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100; 2 全国畜牧兽医总站 畜禽牧草种质资源保存利用中心, 北京 100094;

3 扬州大学, 江苏 扬州 225009; 4 中国农业大学, 北京 100094)

[摘要] 利用12对微卫星DNA标记对14个中外牛品种进行了遗传多样性分析, 通过计算多态信息含量(PIC)、平均杂合度(H)、有效等位基因数(N_e)及聚类分析, 评估各品种内遗传变异和各品种间遗传相关。结果表明, 12个微卫星座位共检测到170个等位基因, N_e 为1.1947~11.1752, H为0.6189~0.7829; 12个位点均为高度多态位点, PIC为0.5281~0.8105。恩施黄牛与郧巴牛相聚, 枣北牛与南阳牛相聚, 然后二者聚为一类; 湘西牛自成一类; 郟县红牛与秦巴牛相聚, 再与黄陂黄牛聚为一类; 早胜牛与平陆山地牛聚为一类; 安西牛自成一类; 德国黄牛与西门塔尔牛相聚后, 再与夏洛来牛聚为一类。

[关键词] 微卫星; 黄牛品种; 遗传多样性

[中图分类号] S823.8+3.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)02-0027-06

Study of genetic diversity in some Chinese yellow cattle breeds

ZHANG Zi-fu¹, ZAN Lin-sen¹, WANG Zhi-gang², ZHANG Gui-xiang², LIAO Xin-jun³,
JIA Shan-gang¹, HAN Xu², YU Fu-qing², ZHANG Jian⁴

(1 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 Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 4 China Agriculture University, Beijing 100094, China)

Abstract: The genetic diversity of fourteen indigenous and foreign yellow cattle breeds was studied with twelve microsatellite markers. The paper calculated polymorphism information content (PIC), heterozygosity (H), effective number of alleles (N_e), Nei's genetic distance (D_A) and UPGMA cluster analysis to estimate the genetic variability and the genetic correlation between the yellow cattle. The results are as follows: one hundred and seventy alleles have been detected at 12 microsatellite loci. N_e is between 1.1947 and 11.1752. The mean heterozygosity is between 0.6189 and 0.7829 and PIC between 0.5281 and 0.8105. The twelve loci are all the ones of high polymorphism. The cluster analysis is: Enshi Yellow Cattle and Yunba Cattle are in the same group, Zaobei and Nanyang Cattle are in the second group, and the two groups are combined into the first category; Xiangxi Cattle is in the second category; Jiaxian Red Cattle and Qinba Cattle are in one group which is united with Huangpo Yellow Cattle into the third category; Anxi Cattle is in the fourth category; and German Yellow and Simmental are in the same group which is united with Charolais into the fifth category.

Key words: microsatellite; yellow cattle breed; genetic diversity

[收稿日期] 2006-05-16

[基金项目] 农财发[2002]9号科技部畜禽种质资源标准化整理、整合及共享试点项目(2004DKA30450-3); 陕西省重大科技专项(2006KZ07-G1); 西北农林科技大学拔尖人才支持计划项目

[作者简介] 张自富(1974-), 男, 河南信阳人, 在读硕士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

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

畜禽品种资源的保存和利用是畜牧业能否实现可持续发展的首要问题,而其合理的保护和利用有赖于对现有品种群体遗传结构和遗传关系的深入了解,这就需要通过先进的分子生物学技术对畜禽品种资源进行深入的研究。与其他一些遗传标记(如表型标记、血液蛋白多态性标记)相比,微卫星标记不仅多态性丰富,而且遗传稳定,不受组织、生理发育阶段及环境的影响;与其他分子标记(如 RFLP, RAPD 及小卫星DNA)相比,微卫星DNA 在基因组中数量多、分布广且均匀、多态信息含量高、分析方便,适合进行自动化和半自动化检测,因而被公认为是各类遗传标记中最有价值的一种,联合国粮农组织(FAO)已将微卫星作为优先推荐的分析工具。Arrane^[1]采用14个蛋白多态标记和5个微卫星标记分析了4个中欧洲牛的遗传关系,结果发现,用微卫星标记得到的遗传杂和度和遗传距离大于用蛋白质多态标记得到的结果,但聚类图相似。Barker等^[2]在分析11个亚洲水牛群的遗传关系时发现,由21个微卫星座位得到的系统发生树与这些牛群的地理分

布相同,用25个蛋白多态标记得到的结果与其地理分布不同。Machugh等^[3]用2个微卫星位点分析了6个不同品系的欧洲牛的遗传差异,并计算了遗传距离,建立了树状图,结果与已知的各品系牛的遗传历史一致。目前,国内使用联合国粮农组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISA G)联合推荐的微卫星DNA引物分析中国地方黄牛品种遗传多样性的研究尚未见报道。本研究采用微卫星DNA作为遗传标记,分析了11个中国地方黄牛品种和3个引进品种的遗传多样性,以揭示我国地方黄牛遗传多样性和群体结构,为我国地方牛种遗传资源评估、保护和开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 血样 试验采集11个中国地方黄牛品种和3个引入品种共计794份血液样品,每个品种随机采取约60个个体(表1),所有个体三代或两代内没有血缘关系,品种的外貌特征明显,其中公牛不少于5头。

表1 14个中外黄牛品种血液采集地及采集数量

Table 1 Blood-gathering places of 14 cattle breeds and the amount per breed

编号 Number	品种名称 Breed	采集地 Place for Gathering	采样数 Amount	公牛数 Ox number
01	枣北牛 Zaobei	湖北省枣阳市新市镇、太平镇 Xinshi town and Taiping town of Zaoyang in Hubei	60	9
02	恩施黄牛 Enshi Yellow	湖北省恩施市盛家坝、芭蕉镇 Shengjiaba town and Bajiao town of Enshi in Hubei	63	33
03	黄陂黄牛 Huangpo yellow	湖北省武汉市黄陂区泡桐镇 Paotong town of Wuhan in Hubei	61	5
04	郧巴牛 Yunba	湖北省十堰市竹山县得胜镇 Desheng town of Zhushan county of Shiyan in Hubei	64	11
05	湘西牛 Xiangxi	湖南省桑植县南滩牧场 Nantan fam of Sangzhi county in Hu'nan	61	10
06	南阳牛 Nanyang	河南省南阳市南阳黄牛场 Nanyang fam of Nanyang city of He'nan	60	6
07	郟县红牛 Jiaxian red	河南省郟县黄道乡王英沟村 Jiaxian county in He'nan	61	9
08	秦巴牛 Qinba	陕西省汉中市西镇良种场 Xizhen cattle breeding fam of Hanzhong in Shaanxi	60	12
09	早胜牛 Zaosheng	甘肃省宁县早胜镇、新庄乡 Ning county in Gansu	60	30
10	安西牛 Anxi	甘肃省安西县桥子乡 Anxi county in Gansu	60	6
11	平陆山地牛 Pinglu	山西省平陆县圣涧镇、三门镇 Pinglu county in Shanxi	63	12
12	西门塔尔牛 Simental	内蒙古通辽市高林屯种畜场 Gaolintun breeding fam of Tongliao in Inner Mongolia	61	16
13	夏洛来牛 Charolais	辽宁省肉牛繁育中心 Reproduction center of beef cattle in Liaoning	58	26
14	德国黄牛 German Yellow	河南省南阳市南阳黄牛场 Nanyang fam of Nanyang city in He'nan	34	9

1.1.2 微卫星DNA 标记的选择 本试验根据联合国粮农组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISA G)联合推荐的引物,选取了其中12 对微卫星引物(表2)

进行试验。引物由上海基康生物公司合成,5 端标记有绿色(FAM)或蓝色(HEX)荧光。

表2 12 个微卫星引物信息及等位基因数

Table 2 Information of 12 m icrosatellites

位点 Locus	染色体 Chromosom e	片段/bp A llele size	等位基因数 A llele number	退火温度/ A nnealing temperature	荧光标记 Fluorescent marker
ETH10	5	210~ 238	11	52 0	HEX
ETH152	5	192~ 204	10	62 0	FAM
ETH3	19	106~ 118	12	62 0	FAM
HEL9	8	143~ 165	18	52 0	FAM
L STS005	10	173~ 183	10	53 0	HEX
NRA 035	16	80~ 120	15	53 0	HEX
CSSM 66	14	168~ 202	15	56 5	FAM
ETH225	9	141~ 159	18	52 5	HEX
HAUT24	22	110~ 123	15	49 0	FAM
L STS006	7	280~ 300	18	56 5	FAM
L STS011	14	300~ 320	13	52 5	HEX
NRA 063	18	170~ 200	15	49 0	HEX

1.2 黄牛DNA 的提取

基因组DNA 的提取采用常规酚-氯仿抽提方法抽提后,用体积分数75% 乙醇洗涤2 次,自然晾干后溶于适量TE 中,4 保存。

1.3 黄牛DNA 的PCR 扩增

参考Crawford 等^[4]的方法。PCR 反应体系为15 μL,其中ddH₂O 7.5 μL,上样缓冲液1.5 μL,MgCl₂ 1.5 μL,上、下游引物各1 μL,dNTPs 0.3 μL,Taq DNA 酶0.2 μL,DNA 2 μL。反应程序为:95 预变性5min;94 变性1min,49~ 62 (具体依引物而定)退火1min,72 延伸1min,25~ 30 个循环;最后72 延伸50~ 60min,4 保存。

1.4 黄牛DNA PCR 扩增产物的检测

PCR 产物用80 g/L 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测后,用ABI3100-Avant 全自动遗传分析仪进行分析。

1.5 统计分析

将每个个体的基因型按三位数录入Excel 表,利用GENEPOP 软件先进行哈迪-温伯格平衡,再计算出14 个品种12 个座位的有效等位基因数(N_e),并以基因频率为基础计算平均杂合度(H);用Microsoft Excel 计算多态信息含量(PI_C)。根据文献[5],采用DISPAN 软件计算了各品种间的奈氏遗传距离。利用DISPAN 软件,采用非加权组对算术平均法(unweighted pair-group method with

arithmetic means,UPGMA)构建系统发生树。

2 结果与分析

2.1 14 个中外黄牛品种内的遗传变异

由表3 可知,14 个中外黄牛品种在12 个微卫星位点上,除西门塔尔牛在CSSM 66 位点上为低度多态(PI_C=0.1543)外,其余所有位点在14 个黄牛品种中均表现为高度多态或中度多态。11 个中国地方黄牛品种在所有位点均为高度多态或中度多态,说明11 个中国地方黄牛品种遗传多样性较外来品种相对丰富,具有一定的选择潜力,应对其给予保护,在保种过程中要避免遗传多样性的丢失。另外,14 个中外黄牛品种在12 个微卫星位点上的平均杂合度最高为0.8306,最低为0.5743;11 个中国地方黄牛品种在12 个位点上的杂合度明显比3 个引入品种要高很多,表明其遗传变异程度较高,但遗传一致性较差。可见,中国地方黄牛品种在未来保种过程中应进行进一步的纯繁选育,以提高该品种的遗传一致性及纯度。3 个引入品种的平均杂合度较低,说明其遗传变异较小,遗传一致性较高。

在12 个微卫星座位中,共检测出170 个等位基因(表2),其中ETH152 和L STS005 拥有的等位基因数最少(10 个),ETH225,HEL9 和L STS006 拥有的等位基因数最多(18 个),其余座位的复等位基

因数在11~ 18 个,平均为14 1 个。14 个黄牛品种在12 个微卫星位点上的有效等位基因数非常丰富,为1 194 7~ 11 175 2,其中有8 个微卫星位点的平均有效等位基因数(N_e)超过4 个,可以认为这些位点是优势位点。L STS006 和ETH152 位点的平均有效等位基因数最多,达6 个;而L STS011 和L STS005 位点的平均有效等位基因数最少,仅为2 个。11 个中

国地方黄牛品种在12 个位点上的有效等位基因数明显比3 个外来品种多。在11 个中国地方黄牛品种中,一共发现有21 个特有等位基因,每个品种都至少在某一微卫星位点上有1 个特有等位基因,其中恩施黄牛拥有的特有等位基因数最多,达4 个;陨巴牛和湘西牛各有3 个;黄陂黄牛、秦巴牛和安西牛各有2 个。

表3 14 个中外黄牛品种在12 个微卫星座位上的遗传变异参数

Table 3 Estimators of genetic variability of 14 cattle breeds at 12 microsatellite loci

座位 Locus	参数 Index of genetics	品种 Breed														平均 Mean
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	
ETH10	N_e	3 859 0	4 570 8	3 925 2	4 499 4	3 175 9	4 524 5	3 852 3	5 168 3	6 815 7	4 883 0	5 562 4	4 483 5	4 437 1	3 385 1	4 510 1
	PC	0 701 2	0 756 4	0 708 9	0 748 3	0 651 0	0 750 9	0 702 5	0 780 6	0 836 1	0 774 0	0 799 9	0 750 7	0 751 6	0 669 3	0 741 5
	H	0 740 8	0 781 2	0 745 2	0 777 7	0 685 1	0 778 9	0 740 4	0 806 5	0 853 2	0 795 2	0 820 8	0 776 9	0 774 6	0 704 5	0 770 0
ETH152	N_e	7 146 0	5 893 5	11 175 2	6 104 7	5 296 7	7 297 8	7 079 9	5 438 6	6 158 8	5 571 7	7 031 4	4 067 9	3 998 9	3 674 8	6 138 2
	PC	0 845 3	0 808 7	0 903 4	0 816 4	0 788 1	0 847 6	0 844 2	0 792 6	0 817 6	0 798 0	0 842 5	0 716 9	0 707 2	0 681 5	0 800 7
	H	0 860 0	0 830 3	0 910 3	0 836 1	0 811 2	0 862 9	0 858 7	0 816 1	0 837 6	0 820 5	0 857 7	0 754 1	0 749 9	0 727 8	0 823 8
ETH3	N_e	5 421 1	4 958 6	3 611 8	6 080 5	4 299 9	4 338 0	4 755 8	3 777 0	6 343 5	5 286 4	6 120 7	5 531 0	4 910 4	4 140 4	4 969 6
	PC	0 797 4	0 776 9	0 697 7	0 821 3	0 746 2	0 753 7	0 767 1	0 717 9	0 824 2	0 788 5	0 818 0	0 794 6	0 766 9	0 725 8	0 771 1
	H	0 815 5	0 798 3	0 723 1	0 835 5	0 767 4	0 769 4	0 789 7	0 735 2	0 842 3	0 810 8	0 836 6	0 819 2	0 796 3	0 758 4	0 792 6
HEL9	N_e	6 877 5	6 321 1	6 651 0	4 797 9	6 049 9	4 772 2	5 079 7	5 626 3	6 523 2	3 916 4	4 283 0	3 924 0	4 034 1	4 352 8	5 229 2
	PC	0 837 9	0 826 7	0 832 9	0 762 8	0 814 8	0 763 2	0 779 3	0 804 4	0 831 7	0 701 4	0 739 5	0 714 5	0 715 8	0 741 0	0 776 1
	H	0 854 6	0 841 4	0 849 6	0 791 5	0 834 7	0 790 4	0 803 1	0 822 2	0 846 7	0 744 7	0 766 5	0 745 1	0 752 1	0 770 2	0 800 9
L STS005	N_e	3 649 1	2 759 9	3 015 6	2 755 5	2 990 2	3 394 4	2 955 7	2 739 4	3 081 6	2 027 0	3 784 6	2 534 5	1 537 7	2 964 4	2 870 6
	PC	0 686 8	0 579 6	0 637 4	0 570 4	0 622 0	0 660 1	0 600 1	0 593 0	0 632 6	0 468 1	0 694 0	0 525 5	0 314 9	0 616 0	0 585 7
	H	0 725 9	0 637 6	0 668 3	0 637 1	0 665 8	0 705 4	0 661 6	0 634 9	0 675 5	0 506 6	0 735 7	0 605 4	0 349 4	0 662 6	0 633 7
NRA035	N_e	5 072 8	3 634 5	3 978 9	4 816 7	5 451 1	4 141 0	4 762 3	3 803 4	4 609 7	2 538 6	4 166 4	3 073 3	3 823 1	2 752 1	4 143 9
	PC	0 774 3	0 678 5	0 709 0	0 764 0	0 792 7	0 722 4	0 759 1	0 691 6	0 749 4	0 525 6	0 722 8	0 623 2	0 694 1	0 567 1	0 698 1
	H	0 802 8	0 724 8	0 748 6	0 792 3	0 816 5	0 758 5	0 790 0	0 737 0	0 783 0	0 606 0	0 759 9	0 674 6	0 738 4	0 636 6	0 740 6
CSSM66	N_e	5 197 1	5 010 0	5 159 9	5 627 7	3 193 5	4 734 8	6 094 2	4 223 8	4 245 7	3 978 2	4 950 7	1 194 7	1 891 9	2 121 1	4 115 9
	PC	0 779 6	0 771 8	0 777 9	0 799 5	0 635 5	0 758 1	0 815 4	0 726 1	0 735 5	0 709 7	0 770 8	0 154 3	0 414 1	0 482 4	0 666 4
	H	0 807 5	0 800 4	0 806 2	0 822 3	0 686 8	0 788 8	0 835 9	0 763 2	0 764 4	0 748 6	0 798 0	0 163 0	0 471 4	0 528 5	0 698 9
ETH225	N_e	3 440 3	2 894 7	2 291 0	3 475 2	3 016 0	3 568 8	5 453 5	4 121 4	5 756 2	4 840 2	4 894 6	3 765 7	3 203 4	3 273 9	3 856 7
	PC	0 668 5	0 624 2	0 537 0	0 677 5	0 637 7	0 630 4	0 791 8	0 729 0	0 804 0	0 763 3	0 767 3	0 690 4	0 637 9	0 688 9	0 689 1
	H	0 709 3	0 654 5	0 563 5	0 712 2	0 668 4	0 719 8	0 816 3	0 757 3	0 826 2	0 793 4	0 795 7	0 734 4	0 687 8	0 694 5	0 723 8
HAUT24	N_e	4 556 0	4 040 4	4 015 2	3 883 0	5 351 7	4 044 9	5 457 9	3 673 3	4 652 6	4 688 1	4 154 2	4 192 0	3 434 2	3 079 2	4 230 1
	PC	0 746 9	0 722 3	0 723 2	0 700 9	0 788 8	0 720 6	0 790 5	0 684 5	0 752 6	0 754 4	0 721 6	0 731 8	0 658 1	0 635 3	0 723 6
	H	0 780 5	0 752 5	0 750 5	0 742 4	0 813 1	0 752 7	0 816 7	0 727 7	0 785 0	0 786 6	0 759 2	0 761 4	0 708 8	0 675 2	0 758 0
L STS006	N_e	6 293 5	5 762 5	5 867 1	6 053 5	7 235 8	6 876 0	6 102 3	8 534 1	6 166 8	8 629 6	5 691 2	5 074 4	4 102 6	4 110 4	6 178 5
	PC	0 822 7	0 809 1	0 812 9	0 817 6	0 848 2	0 839 9	0 817 9	0 872 0	0 819 4	0 873 1	0 802 7	0 777 0	0 715 7	0 719 5	0 810 5
	H	0 841 1	0 826 4	0 829 5	0 834 8	0 861 8	0 854 5	0 836 1	0 882 8	0 837 8	0 884 1	0 824 2	0 802 9	0 756 2	0 756 7	0 830 6
L STS011	N_e	2 318 1	2 846 5	2 520 0	2 777 2	2 261 7	2 265 1	3 092 1	2 046 3	2 133 6	2 128 5	1 789 3	2 442 2	2 978 1	2 079 4	2 405 5
	PC	0 526 2	0 615 8	0 562 0	0 609 2	0 529 5	0 519 6	0 647 8	0 477 3	0 470 4	0 483 7	0 407 3	0 520 5	0 593 7	0 431 2	0 528 1
	H	0 568 6	0 648 6	0 603 1	0 639 9	0 557 8	0 558 5	0 676 6	0 511 3	0 531 3	0 530 1	0 441 1	0 590 5	0 664 2	0 519 1	0 574 3
NRA063	N_e	5 621 1	4 958 7	4 883 0	4 286 8	4 799 0	3 929 4	4 342 0	5 709 8	3 439 5	2 085 4	3 547 9	3 874 8	2 215 9	1 675 4	3 954 9
	PC	0 797 7	0 770 5	0 766 3	0 728 0	0 760 0	0 708 6	0 741 5	0 802 1	0 665 7	0 447 7	0 682 6	0 710 9	0 502 5	0 355 0	0 674 2
	H	0 822 1	0 798 3	0 795 2	0 766 7	0 791 6	0 745 5	0 769 7	0 824 8	0 709 2	0 520 4	0 718 1	0 741 9	0 548 7	0 403 1	0 711 0

2.2 14 个中外黄牛品种间的遗传距离及聚类结果

基于等位基因频率计算出奈氏遗传距离(N_e 's genetic distance, D_A), 根据奈氏遗传距离(表4)和等位基因频率数据构建了UPGMA 树(图1)。由图1 可知, 14 个中外黄牛品种聚为6 类。1 类: 湖北省的恩

施黄牛与湖北省的郧巴牛相聚, 湖北省的枣北牛与河南省的南阳牛相聚, 然后二者聚为一类; 2 类: 湖南省的湘西牛自成一类; 3 类: 河南省的郟县红牛与陕西省的秦巴牛相聚, 再与湖北省的黄陂黄牛聚为一类; 4 类: 甘肃省的早胜牛与山西省的平陆山地牛

聚为一类; 5 类: 甘肃省的安西牛自成一类; 6 类: 德国黄牛与西门塔尔牛相聚后, 再与夏洛来牛聚为一

表4 14 个中外黄牛品种的奈氏遗传距离

Table 4 Nei's genetic distance of 14 cattle breeds													
01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	
01													
02	0.073 4												
03	0.117 4	0.145 3											
04	0.078 3	0.072 8	0.148 9										
05	0.083 3	0.107 1	0.149 3	0.133 9									
06	0.061 6	0.099 4	0.141 6	0.101 7	0.117 9								
07	0.102 2	0.148 4	0.119 6	0.157 1	0.144 5	0.113 4							
08	0.114 9	0.121 5	0.113 5	0.135 1	0.150 5	0.125 8	0.112 1						
09	0.159 6	0.178 0	0.135 2	0.190 6	0.215 3	0.164 6	0.097 1	0.148 0					
10	0.199 9	0.264 7	0.246 8	0.272 2	0.285 1	0.199 5	0.169 1	0.246 2	0.169 0				
11	0.165 1	0.176 1	0.154 4	0.199 7	0.233 8	0.184 7	0.136 7	0.169	0.073 6	0.189 5			
12	0.352 8	0.377 4	0.367 4	0.403 2	0.428 2	0.360 7	0.298 7	0.350 5	0.211 3	0.273 8	0.210 6		
13	0.398 9	0.412 3	0.399 8	0.440 7	0.471 8	0.416 6	0.321 9	0.389 5	0.225 9	0.296 0	0.235 3	0.119 9	
14	0.399 0	0.441 1	0.388 7	0.443 6	0.450 3	0.393 0	0.323 5	0.383 0	0.241 7	0.263 9	0.292 9	0.129 4	0.111 8

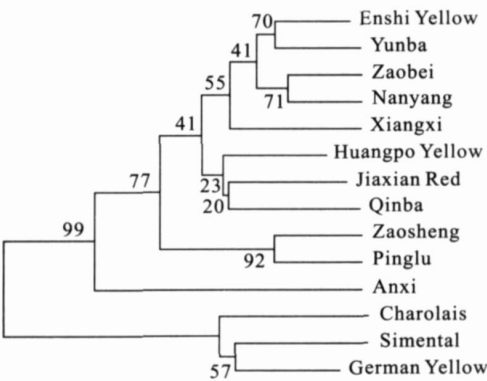


图1 14 个黄牛品种的UPGMA 树

Fig 1 UPGMA dendrogram of 14 cattle breeds based on D_a genetic distance

3 讨 论

3.1 群体遗传多样性分析

多态信息含量(PIC)是衡量片段多态性的指标。Botstein 等^[6]首先提出了用多态信息含量(PIC)衡量基因变异程度: 当 $PIC > 0.5$ 时, 该位点为高度的多态位点; 当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态性位点; 当 $PIC < 0.25$ 时, 为低度多态位点。在本试验的 12 个微卫星位点中, LSTS006 位点的平均多态信息含量最高, 为 0.810 5; LSTS011 位点的平均多态信息含量最低, 为 0.528 1, 其余 10 个位点在 0.528 1

~ 0.810 5, 均为高度多态。由此所见, 本研究所用的微卫星位点均具有很高的多态性, 能应用于分析品种的遗传多样性。

基因杂合度又称基因多样性, 表示在被检测的位点上各品种内的杂合子频率, 它是群体杂合度的度量单位, 被认为是度量品种遗传变异的一个最适参数。品种杂合度的高低反映了群体遗传的一致性程度, 品种杂合度越低, 表示该品种的遗传一致性越高, 遗传变异越低, 遗传多样性越低。本研究结果(表 3)显示, 郟县红牛的平均杂合度最高(为 0.782 9), 表明其遗传变异程度最高, 遗传多样性最丰富, 遗传一致性最差, 提示该牛品种在未来还可以进一步纯繁选育, 以提高该品种的遗传一致性。西门塔尔牛的平均杂合度最低(为 0.618 9), 遗传变异最小, 表明该品种的遗传一致性最高。11 个中国地方黄牛品种的平均杂合度为 0.704 6~ 0.782 9, 明显比 3 个外来引入品种平均杂合度高, 表明在以后的种质资源保存过程中, 在保存遗传多样性的同时应注意提高品种的纯度。吴伟等^[7]利用 4 种微卫星标记对 5 个中外牛品种进行了遗传结构研究, 结果表明部分中国黄牛品种变异较大, 遗传一致性较差, 与本试验研究结果相一致。单雪松等^[8]选择了牛第 1 号染色体上与 Weaver 基因连锁的 7 个微卫星位点, 并在新疆褐牛、荷斯坦牛群体

中对这些微卫星进行了群体遗传特征分析,结果表明7个微卫星位点中,3个属于高度多态位点,1个中等多态位点,3个属于低度多态位点,而且其中有4个位点可作为奶牛产奶性能分析的微卫星位点。

3.2 群体系统发生关系分析

遗传距离是用基因频率的函数表示的群体间遗传差异,通过遗传距离分析可估测品种结构和进化关系,从而使人们可以更好的区分品种。目前,可供使用的遗传距离有多种,但习惯上常采用奈氏标准遗传距离(D_s)和奈氏遗传距离(D_A)^[9]。Nei等在1983年,采用有限等位基因模型(infinite-allele model, IAM)进行计算机模拟时,发现 D_A 比包括 D_s 在内的其他遗传距离能更有效地得出正确的拓扑树。Takezaki等^[10]研究表明,用 D_A 构建系统发生树比用 D_s 更有效。赵庆明^[11]对中外7个黄牛品种进行了群体系统结构分析,结果表明,根据8个微卫星多态性计算的7个群体间遗传距离绘制的系统聚类图,能比较准确地反映其地理分布和亲缘关系。孙少华^[12]利用6个微卫星位点分析了8个肉牛杂交亲本群体,计算遗传距离并绘制出系统聚类图,清楚客观地反映了8个牛种群的地理分布、遗传分化特点及亲缘关系的远近。本研究根据奈氏遗传距离(D_A)和等位基因频率构建了14个中外黄牛品种的UPGMA系统树,聚类结果与地方黄牛品种的原产地相关,与品种的表型及经济性能不存在必然关系。但本研究结果与《中国牛品种志》稍有差异,在《中国牛品种志》中:湖北省的恩施黄牛和湖南省的湘西牛合称为巫陵牛;陕西省的秦巴牛和湖北省的隕巴牛合称为巴山牛。但从本试验的聚类结果来看,没有任何一种是湖北省的恩施黄牛和湖南省的湘西牛、陕西省的秦巴牛和湖北省的隕巴牛优先相聚。从奈氏遗传距离来看,湖北省的恩施黄牛和湖南省的湘西牛奈氏遗传距离($D_A = 0.1071$)比湖北省的恩施黄牛和湖北省的隕巴牛的奈氏遗传距离($D_A = 0.0728$)要大得多;陕西省的秦巴牛和湖北省的隕巴牛奈氏遗传距离($D_A = 0.1351$)比湖北省的恩施黄牛和湖北省的隕巴牛的奈氏遗传距离($D_A = 0.0728$)要大得多。如果从体型外貌、生产性能、地理分布及全国资源调查来看,这几个品种的形成关系密切。另

外,作者未见把湖北省的恩施黄牛、隕巴牛、湖南省的湘西牛、陕西省的秦巴牛和湖北省的黄陂黄牛放在一起进行研究的报道。故将湖北省的恩施黄牛和湖南省的湘西牛合称为巫陵牛,陕西省的秦巴牛和湖北省的隕巴牛合称为巴山牛还有待进一步的探讨,可在本研究的基础上从体型外貌、生产性能、品种的形成与分化、蛋白多态标记、线粒体DNA标记以及SNPs做进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Arranz J J. Comparison of protein makers and microsatellite in differentiation of cattle population[J]. Animal Genetics, 1996, 27: 415-419
- [2] Barker J S F, Moore S S, Hetzel D J S, et al. Genetic diversity of asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): microsatellite variation and a comparison with protein coding loci[J]. Anim Genet, 1997, 28: 103-115
- [3] MacHugh D E, Lofors R T, Bradley D G, et al. Microsatellite DNA variation within and among European Cattle breeds[J]. Proc Biol Sci, 1994, 256: 25-31
- [4] Crawford A M, Dodds K, Gand Ede A J. An autosomal genetic linkage map of the sheep genome[J]. Genetics, 1995, 140: 703-724
- [5] Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data[J]. J Mol Evol, 1983, 19: 153-170
- [6] 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 of Human Genetics, 1980, 32: 314-321
- [7] 吴伟, 王栋. 微卫星DNA标记对5个中外黄牛品种/群体遗传结构的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2000, 22(4): 5-10
- [8] 单雪松, 张沅. 奶牛Weaver基因连锁微卫星位点多态性分析[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25(2): 208-210
- [9] Nei M. Genetic distance between populations[J]. American Naturalist, 1972, 106: 283-292
- [10] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA[J]. Genetics, 1996, 144: 389-399
- [11] 赵庆明. 微卫星遗传标记与超声波活体测定相结合对肉牛主要产肉性能性状的研究[D]. 山西太谷: 山西农业大学, 2003
- [12] 孙少华. 肉牛微卫星DNA的群体遗传变异分析及其应用研究[D]. 北京: 中国农业大学, 1999