

## 13 个绵羊品种的遗传多样性分析

郝怀志<sup>1</sup>, 咎林森<sup>1</sup>, 刘丑生<sup>2</sup>, 王志刚<sup>2</sup>, 张桂香<sup>2</sup>, 韩旭<sup>2</sup>, 郝荣超<sup>1</sup>

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

**【摘要】**【目的】探讨中国 13 个绵羊品种内的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(FAO)和国际动物遗传学会(ISAG)推荐的 11 对微卫星引物, 结合荧光-多重 PCR 技术, 检测了 10 个中国地方绵羊品种和 3 个引进品种的基因型; 通过计算基因频率、多态信息含量和遗传杂合度, 以 Nei's 遗传距离为基础, 采用非加权组对算术平均聚类法(UPGMA)和邻近结合法(NJ)构建聚类图。【结果】13 个中外绵羊品种被聚为 4 类: 威宁绵羊、昭通绵羊、汉中绵羊和迪庆绵羊为第 I 类, 豫西脂尾羊、太行裘皮羊、泗水裘皮羊、巴什拜羊和策勒黑羊为第 II 类, 腾冲绵羊为第 III 类, 3 个引进品种无角道赛特羊、萨福克羊和特克塞尔羊为第 IV 类。【结论】11 个微卫星座位可作为有效的遗传标记用于各绵羊品种的遗传多样性和系统发生关系分析。

**【关键词】** 绵羊品种; 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】** 1671-9387(2009)03-0007-08

## Analysis of genetic diversity in 13 sheep breeds

HAO Huai-zhi<sup>1</sup>, ZAN Lin-sen<sup>1</sup>, LIU Chou-sheng<sup>2</sup>, WANG Zhi-gang<sup>2</sup>,  
ZHANG Gui-xiang<sup>2</sup>, HAN Xu<sup>2</sup>, HAO Rong-chao<sup>1</sup>

(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)

**Abstract:** 【Objective】The genetic variability and genetic relationship of the thirteen sheep breeds were studied. 【Method】The genotypes of 10 indigenous Chinese sheep breeds and three introduced breeds were investigated using 11 microsatellite DNA markers recommended by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the International Society of Animal Genetics (ISAG) through fluorescence-multiplex PCR. The allele frequency, polymorphism information content (PIC), and heterozygosity were computed to estimate the genetic variation of each population. To determine the genetic relationships among the breeds, phylogenetic trees were constructed based on Nei's genetic distance using the unweighted pair-group method with arithmetic mean and neighbor-joining method. 【Result】13 breeds were clustered into four groups. The first group included Weining, Zhaotong, Hanzhong, Diqing, the second group Yuxi Fat-Tailed, Taihang Fur, Sishui Fur, Bashibai, Cele Black, the third group Tengchong and the fourth group foreign breeds such as Poll Dorset, Suffolk, and Texel. 【Conclusion】The eleven microsatellite loci were effective markers for the analysis of genetic relationship among sheep breeds.

**Key words:** sheep breed; microsatellite; genetic diversity

\* [收稿日期] 2008-05-12

[基金项目] 中国地方羊种遗传距离测定(农财发[2006]44号)

[作者简介] 郝怀志(1981—),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。E-mail: haohuazhi@sina.com

[通信作者] 刘丑生(1964—),男,甘肃泾川人,副研究员,博士,主要从事动物遗传资源保护与利用研究。

E-mail: liuchousheng@sina.com

地方绵羊品种是我国宝贵的遗传资源,具有抗严寒、耐粗饲、繁殖力高、肉质好和适应性强等特性。但是近年来,随着畜牧业的发展和生产性能高的外来品种的引进,再加上育种技术如人工授精、胚胎移植的广泛推广,地方绵羊品种的遗传多样性受到严重威胁。据 Ma 等<sup>[1]</sup>2003 年统计,兰州大尾羊受到严重威胁,汉中绵羊、青海黑藏羊也受到较大威胁。由此可见,对国内绵羊品种资源进行调查,开展保护及合理利用工作已迫在眉睫。微卫星 DNA 标记作为一种成熟的分子标记方法,具有分布广泛、多态性丰富、呈共显性遗传和检测方便快速等特点,已广泛应用于估测品种间的遗传距离、构建系统发生树及度量品种遗传多样性等方面。Peter 等<sup>[2]</sup>、Banabazi 等<sup>[3]</sup>、Arranz 等<sup>[4-5]</sup>、Baumung 等<sup>[6]</sup>分别利用微卫星标记对国外不同品种的绵羊进行了遗传结构分析;马月辉等<sup>[7]</sup>、Li 等<sup>[8]</sup>、吕慎金等<sup>[9]</sup>、杨燕等<sup>[10]</sup>也分别利用微卫星标记对部分中外绵羊品种的遗传结构进

行了分析;但涉及本试验的绵羊品种和微卫星座位研究还比较少。因此,本研究利用多重 PCR 和微卫星荧光标记,分析了中外 13 个绵羊品种的种内遗传变异和种间遗传关系,以期为我国绵羊品种的保护和合理利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试验样本 本研究中 13 个中外绵羊品种血样的采集地及样本数量见表 1,其中萨福克羊、无角道赛特羊和特克赛尔羊是我国引进绵羊品种。采样要求:个体具备品种的典型特征,并且在三代或二代内没有血缘关系。

颈静脉采血,每只羊采血 10 mL。新鲜血液加入等体积裂解液(100 mmol/L Tris · HCl, 100 mmol/L EDTA, 质量分数 2% SDS)裂解,常温运输,−20 ℃长期保存。

表 1 13 个绵羊品种的名称和采样情况

Table 1 Names, sampling locations, and sample sizes of 13 sheep breeds

| 来源 Source                             | 品种 Breed<br>名称 Breed       | 采集地<br>Sampling location   | 样本数<br>Sample size |
|---------------------------------------|----------------------------|--|--------------------|
| 中国<br>Indigenous<br>Chinese<br>breeds | 泗水裘皮羊 Sishui Fur(SSF)      | 山东省中部地区 Central section, Shandong Province                                   | 60                 |
|                                       | 豫西脂尾羊 Yuxi Fat-tailed (YX) | 河南省洛阳市 Luoyang City, Henan Province  | 60                 |
|                                       | 太行裘皮羊 Taihang Fur(TF)      | 河南省安阳市 Anyang City, Henan Province   | 60                 |
|                                       | 威宁绵羊 Weining(WN)           | 贵州省威宁县 Weining Country, Guizhou Province                                     | 60                 |
|                                       | 迪庆绵羊 Diqing(DQ)            | 云南省迪庆州 Diqing Autonomous Country, Yunnan Province                            | 58                 |
|                                       | 腾冲绵羊 Tengchong(TC)         | 云南省腾冲县 Tengchong Country, Yunnan Province                                    | 57                 |
|                                       | 昭通绵羊 Zhaotong(ZT)          | 云南省昭通市 Zhaotong City, Yunnan Province  | 60                 |
|                                       | 汉中绵羊 Hanzhong(HZ)          | 陕西省汉中市 Hanzhong City, Shaanxi Province                                       | 43                 |
|                                       | 巴什拜羊 Bashibai(BS)          | 新疆自治区塔城市 Tacheng City, Xinjiang Autonomous Region                            | 60                 |
|                                       | 策勒黑羊 Cele black(CB)        | 新疆自治区策勒县 Cele Country, Xinjiang Autonomous Region                            | 59                 |
| 引进<br>Introduced<br>breeds            | 萨福克羊 Suffolk(SF)           | 北京燕顺牧业种羊繁育有限责任公司<br>Beijing Yanshun sheep breeding limited-liability company | 35                 |
|                                       | 无角道赛特羊 Poll dorset(PD)     | 北京燕顺牧业种羊繁育有限责任公司<br>Beijing Yanshun sheep breeding limited-liability company | 54                 |
|                                       | 特克赛尔羊 Texel(TX)            | 北京燕顺牧业种羊繁育有限责任公司<br>Beijing Yanshun sheep breeding limited-liability company | 59                 |

1.1.2 主要试剂 *Taq* 酶、10×buffer 均购自宝生物工程(大连)有限公司, 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使用美国应用生物系统公司进口试剂。

### 1.2 绵羊血液基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 的提取采用常规酚-氯仿抽提法,具体操作见参考文献<sup>[11]</sup>。提取的基因组 DNA 经 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测合格后,用生物分光光度计测定其质量浓度,并稀释为 20~50 ng/μL,用于 PCR 扩增。

### 1.3 引物的选择与合成

本试验从联合国粮农组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISAG)联合推荐的引物中,选取 11 对微卫星引物。所选择的 11 对引物分 A、B 两组, A 组 6 个座位, B 组 5 个座位。经过选择优化将引物 MCM527 单独进行 PCR 扩增,其余 10 对引物两两组成双扩增体系。上游引物 5' 端标记 PET、VIC、NED 或 6FAM 荧光。引物由美国应用生物系统公司标记合成(表 2)。

表2 11对微卫星的DNA引物

Table 2 Information of 11 microsatellite

| ABI 检测组合<br>ABI group | 扩增组合<br>PCR group | 座位名称<br>Locus | 染色体<br>Chromosome | 片断范围/bp<br>Allele range | 荧光标记<br>Fluorescence<br>marker | 退火温度/℃<br>Annealing<br>temperature |    |
|-----------------------|-------------------|---------------|-------------------|-------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----|
| A                     | 1                 | OARAE129      | 5                 | 133~159                 | 6FAM                           | 55                                 |    |
|                       |                   | ILSTS005      | 7                 | 174~218                 | VIC                            | 55                                 |    |
|                       | 2                 | OARFCB304     | 19                | 150~188                 | PET                            | 56                                 |    |
|                       |                   | SRCRSP9       | 12                | 99~135                  | NED                            | 56                                 |    |
|                       |                   | OARFCB193     | 11                | 96~136                  | VIC                            | 59.5                               |    |
| B                     | 3                 | ILSTS011      | 9                 | 256~294                 | VIC                            | 59.5                               |    |
|                       |                   | OARVH72       | 25                | 121~145                 | VIC                            | 63.5                               |    |
|                       | 4                 | MAF214        | 16                | 174~282                 | VIC                            | 63.5                               |    |
|                       |                   | MCM527        | 5                 | 165~187                 | 6FAM                           | 58                                 |    |
|                       |                   | 5             | MCM140            | 6                       | 167~193                        | PET                                | 58 |
|                       |                   |               | MAF33             | 9                       | 121~141                        | 6FAM                               | 58 |

#### 1.4 多重PCR扩增及产物检测

PCR反应体系包括模板DNA (25 ng/ $\mu$ L) 2  $\mu$ L, 10 $\times$  buffer 1.5  $\mu$ L, Mg<sup>2+</sup> (25 mmol/L) 1.0~2.0  $\mu$ L, dNTPs (25 mmol/L) 0.2  $\mu$ L, 引物 (2 pmol/ $\mu$ L) 1.5~2.5  $\mu$ L, Taq 酶 (5 U) 0.3  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 加至 15  $\mu$ L。PCR反应程序:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94  $^{\circ}$ C 变性 1 min,55~63.5  $^{\circ}$ C (具体温度依据引物而定)复性 1 min,72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min,30 或 35 个循环 (引物 OARAE129、ILSTS005、OARFCB304、SRCRSP9、OARFCB193 和 ILSTS011 为 30 个循环,引物 OARVH72、MAF214、MCM527、MCM140 和 MAF33 为 35 个循环);最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 40 min。PCR产物用 80 g/L 聚丙烯酰胺凝胶检测,银染。对染色后目的条带清晰的 PCR 产物,加样到 ABI3100-Avant 全自动遗传分析仪中进行毛细管电泳检测。加样时每个上样孔中均加入分子量内标 LIZ500,以使判型更加精细、准确。微卫星基因型用仪器自带软件 GeneMapper Version3.2 进行分析。

#### 1.5 数据的统计与分析

采用 Microsatellite Toolkit 计算等位基因频

表3 13个绵羊品种在11个微卫星座位上的等位基因数

Table 3 Number of alleles in thirteen sheep breeds with eleven microsatellite loci

| 微卫星座位<br>Microsatellite locus | OARAE129 | ILSTS005 | OARFCB304 | SRCRSP9 | OARFCB193 | ILSTS011 |
|-------------------------------|----------|----------|-----------|---------|-----------|----------|
| 等位基因数<br>Number of alleles    | 9        | 13       | 23        | 9       | 20        | 11       |
| 微卫星座位<br>Microsatellite locus | OARVH72  | MAF214   | MCM527    | MCM140  | MAF33     |          |
| 等位基因数<br>Number of alleles    | 10       | 15       | 13        | 15      | 13        |          |

#### 2.2 13个绵羊种群体内的遗传变异

2.2.1 稀有等位基因及其频率 稀有等位基因,指在某一座位或同一座位的某一品种中所特有的等位

率、期望遗传杂合度 (Expected heterozygosity, He) 和观察遗传杂合度 (Observed heterozygosity, Ho)。多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC) 根据 Botstein 等<sup>[12]</sup> 的公式自编程序计算。用 DISPAN 软件包计算 Nei's 标准遗传距离 (Nei's standard genetic distance, DS)<sup>[13]</sup> 和 Nei's 遗传距离 (Nei's genetic distance, DA)<sup>[14]</sup>。采用非加权组对算术平均法 (Unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA) 和邻近结合法 (Neighbor-joining method, NJ) 进行聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 13个绵羊品种微卫星座位的等位基因分布

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内和品种间的差异。由表3可知,13个绵羊品种在11个微卫星座位中共检测到151个等位基因,平均每个座位的等位基因数为13.7个;OARFCB304座位的等位基因数最多,达到23个;OARAE129和SRCRSP9座位的等位基因数最少,均只有9个;其余座位的等位基因数为10~20个不等。

基因。由表4可以看出,除豫西脂尾羊 (YX) 外,10个中国地方绵羊品种在11个微卫星座位上至少拥有一个稀有等位基因,其中威宁绵羊 (WN) 和巴

什拜羊(BS)最多,达到 5 个;3 个外来品种中只有无 稀有等位基因频率均较低,为 0.01~0.10。  
角道赛特羊(PD)有 2 个稀有等位基因。各品种的

表 4 13 个绵羊品种的稀有等位基因及其频率

Table 4 Unique alleles and their frequencies in 13 sheep breeds

bp

| 座位<br>Locus | 绵羊品种 Sheep breed |    |               |               |               |               |               |               |               |               |    |               |    |
|-------------|------------------|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----|---------------|----|
|             | SSF              | YX | TF            | WN            | DQ            | TC            | ZT            | HZ            | BS            | CB            | SF | PD            | TX |
| OARAE129    |                  |    |               |               |               |               |               |               |               | 129<br>(0.01) |    |               |    |
| ILSTS005    |                  |    |               | 204<br>(0.04) |               |               |               |               | 196<br>(0.02) |               |    |               |    |
| OARFCB304   |                  |    |               |               |               |               |               |               | 199<br>(0.01) | 157<br>(0.10) |    |               |    |
|             |                  |    |               |               |               |               |               |               | 203<br>(0.01) | 159<br>(0.01) |    |               |    |
| SRCRSP9     |                  |    |               |               | 133<br>(0.01) |               |               |               |               |               |    |               |    |
| OARFCB193   |                  |    |               |               |               | 118<br>(0.05) |               |               | 96<br>(0.01)  |               |    |               |    |
| ILSTS011    |                  |    |               |               |               |               |               |               |               |               |    | 261<br>(0.02) |    |
| OARVH72     |                  |    |               |               | 120<br>(0.01) |               |               |               |               |               |    |               |    |
| MAF214      | 220<br>(0.01)    |    |               | 166<br>(0.02) |               |               |               |               |               |               |    |               |    |
|             |                  |    |               | 168<br>(0.02) |               |               |               |               | 214(0.03)     |               |    |               |    |
|             |                  |    |               | 204<br>(0.01) |               |               |               |               |               |               |    |               |    |
|             |                  |    |               | 208<br>(0.02) |               |               |               |               |               |               |    |               |    |
| MCM527      |                  |    | 183<br>(0.03) |               |               |               |               |               |               | 159<br>(0.01) |    |               |    |
| MCM140      |                  |    |               |               |               |               | 171<br>(0.03) | 203<br>(0.06) |               |               |    |               |    |
| MAF33       |                  |    |               |               |               |               |               |               |               |               |    | 142<br>(0.03) |    |

注:括号中的数据为等位基因频率。

Note: In brackets is allele frequency data.

2.2.2 优势等位基因及其频率 优势等位基因是指某品种在特定的基因座位上相对集中的等位基因。表 5 列出了 13 个中外绵羊品种基因频率大于 0.5 的优势等位基因。由表 5 可知,优势等位基因主要集中在 OARAE129、ILSTS005、OARFCB304、SRCRSP9、OARFCB193 等座位。在所研究的 13 个绵

羊品种中,策勒黑羊(CB)在 MCM140 座位上拥有 187 bp 优势等位基因,特克塞尔羊(TX)在 OARAE129 座位上拥有 145 bp 优势等位基因,萨福克羊(SF)在 OARFCB304 座位上拥有 173 bp 优势等位基因,无角道赛特羊(PD)在 ILSTS011 座位上拥有 279 bp 优势等位基因。

表 5 13 个绵羊品种的优势等位基因及其频率

Table 5 Dominant alleles and their frequencies in 13 sheep breeds

| 座位<br>Locus | 绵羊品种 Sheep breed |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|             | SSF              | YX   | TF   | WN   | DQ   | TC   | ZT   | HZ   | BS   | CB   | SF   | PD   | TX   |
| OARAE129    |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 145 bp      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0.87 |
| 147 bp      |                  |      |      | 0.58 | 0.68 | 0.53 | 0.81 | 0.67 |      | 0.74 |      | 0.58 |      |
| ILSTS005    |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 192 bp      | 0.53             | 0.83 | 0.80 | 0.69 | 0.75 | 0.67 | 0.72 | 0.69 | 0.60 | 0.70 | 0.60 |      |      |
| OARFCB304   |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 167 bp      | 0.53             |      | 0.52 | 0.65 |      | 0.84 | 0.63 | 0.64 |      | 0.64 |      |      |      |
| 173 bp      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0.51 |      |      |
| SRCRSP9     |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 109 bp      | 0.77             | 0.72 | 0.65 | 0.55 | 0.73 | 0.89 | 0.61 | 0.79 | 0.72 |      |      | 0.96 | 0.67 |
| OARFCB193   |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 114 bp      | 0.59             | 0.58 | 0.67 | 0.51 |      | 0.83 | 0.67 |      |      | 0.81 | 0.76 |      |      |

续表 5 Continue table 5

| 座位<br>Locus | 绵羊品种 Sheep breed |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      |      |      |
|-------------|------------------|------|----|------|------|------|------|------|----|------|------|------|------|
|             | SSF              | YX   | TF | WN   | DQ   | TC   | ZT   | HZ   | BS | CB   | SF   | PD   | TX   |
| ILSTS011    |                  |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      |      |      |
| 269 bp      |                  |      |    |      |      | 0.53 | 0.59 |      |    |      |      |      |      |
| 279 bp      |                  |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      | 0.62 |      |
| 283 bp      | 0.54             |      |    |      |      |      |      |      |    |      | 0.81 |      |      |
| MAF214      |                  |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      |      |      |
| 184 bp      |                  |      |    |      |      | 0.61 |      |      |    |      |      | 0.70 | 0.89 |
| MCM527      |                  |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      |      |      |
| 167 bp      |                  |      |    | 0.55 |      |      |      |      |    |      |      |      | 0.69 |
| MCM140      |                  |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      |      |      |
| 187 bp      |                  |      |    |      |      |      |      |      |    | 0.60 |      |      |      |
| MAF33       |                  |      |    |      |      |      |      |      |    |      |      |      |      |
| 120 bp      |                  | 0.52 |    |      |      |      | 0.51 |      |    |      |      |      |      |
| 132 bp      |                  |      |    |      | 0.55 |      |      | 0.60 |    |      | 0.78 | 0.56 |      |

13 个绵羊品种的平均等位基因数、多态信息含量、期望遗传杂合度和观察遗传杂合度见表 6。在 10 个地方绵羊品种中,腾冲绵羊(TC)的平均等位基因数最少(5.1),巴什拜羊(BS)拥有的平均等位基因数最多(8.6),3 个引进品种(SF、PD、TX)的平均等位基

因数较少(4.8~5.3)。除汉中绵羊(HZ)和无角道赛特羊(PD)的观察杂合度低于 0.5 外,其他绵羊群体的期望杂合度和观察杂合度均大于 0.5,其中巴什拜羊(BS)的期望遗传杂合度最高(0.711),太行裘皮羊(TF)的观察遗传杂合度最高(0.635)。

表 6 13 个绵羊品种的多态信息含量(PIC)、期望遗传杂合度(He)和观察遗传杂合度(Ho)

Table 6 Polymorphism information content, expected heterozygosity and observed heterozygosity of 13 sheep breeds

| 绵羊品种<br>Sheep breed | 平均等位基因数<br>Mean allele number | 多态信息含量<br>PIC | 期望遗传杂合度<br>Expected heterozygosity<br>He | 观察遗传杂合度<br>Observed heterozygosity<br>Ho |
|---------------------|-------------------------------|---------------|--|--|
| SSF                 | 7.8                           | 0.63          | 0.677                                    | 0.630                                    |
| YX                  | 7.2                           | 0.59          | 0.632                                    | 0.617                                    |
| TF                  | 7.3                           | 0.64          | 0.679                                    | 0.635                                    |
| WN                  | 8.1                           | 0.64          | 0.677                                    | 0.516                                    |
| DQ                  | 7.6                           | 0.63          | 0.667                                    | 0.568                                    |
| TC                  | 5.1                           | 0.52          | 0.561                                    | 0.509                                    |
| ZT                  | 6.6                           | 0.56          | 0.605                                    | 0.529                                    |
| HZ                  | 6.6                           | 0.60          | 0.643                                    | 0.452                                    |
| BS                  | 8.6                           | 0.67          | 0.711                                    | 0.610                                    |
| CB                  | 6.7                           | 0.56          | 0.610                                    | 0.585                                    |
| SF                  | 4.8                           | 0.55          | 0.601                                    | 0.581                                    |
| PD                  | 5.0                           | 0.52          | 0.574                                    | 0.476                                    |
| TX                  | 5.3                           | 0.55          | 0.599                                    | 0.598                                    |
| 平均值 Mean            | 6.7                           | 0.59          | 0.634                                    | 0.562                                    |

2.2.3 共有等位基因 共有等位基因可能是物种基因组中最为古老、保守的等位基因,其余等位基因则是在进化过程中由于插入、缺失等突变机制造成

的。表 7 表明,13 个绵羊品种在 11 个微卫星座位上有 22 个共有等位基因。

表 7 13 个绵羊品种在 11 个微卫星座位上的共有等位基因

Table 7 Common alleles of 11 microsatellite markers in 13 sheep breeds

| 微卫星座位<br>Microsatellite locus | OARAE129 | ILSTS005 | OARFCB304 | SRCRSP9 | OARFCB193 | ILSTS011 |
|-------------------------------|----------|----------|-----------|---------|-----------|----------|
| 共有等位基因/bp<br>Mutual allele    | 133      | 192      | 167       | 109     | 114       | 275      |
|                               | 145      | 200      | 173       | 115     |           | 283      |
|                               | 147      |          |           |         |           |          |
| 微卫星座位<br>Microsatellite locus | OARVH72  | MAF214   | MCM527    | MCM140  | MAF33     |          |
| 共有等位基因/bp<br>Mutual allele    | 124      | 184      | 165       | 187     | 120       |          |
|                               |          | 186      | 167       | 189     | 132       |          |
|                               |          |          | 169       |         |           |          |

### 2.3 13 个绵羊品种群体间的遗传变异

由表 8 可知,地方品种彼此之间的遗传距离均相对较小( $D_A=0.069\ 8\sim 0.206\ 2$ ,  $D_S=0.041\ 2\sim 0.244\ 3$ ),其中昭通绵羊(ZT)与威宁绵羊(WN)之间的遗传距离最小( $D_A=0.069\ 8$ ,  $D_S=0.041\ 2$ ),3

个引进品种萨福克羊(SF)、无角道赛特羊(PD)和特克塞尔羊(TX)与中国地方品种之间的遗传距离均较大( $D_A=0.183\ 1\sim 0.326\ 8$ ,  $D_S=0.167\ 3\sim 0.568\ 8$ )。

表 8 13 个绵羊品种间的 Nei's 遗传距离( $D_A$ )和 Nei's 标准遗传距离( $D_S$ )

Table 8 Nei's genetic distance and Nei's standard genetic distance among 13 sheep breeds

| 绵羊品种<br>Sheep breed | SSF     | YX      | TF      | WN      | DQ      | TC      | ZT      | HZ      | BS      | CB      | SF      | PD      | TX      |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| SSF                 | ***     | 0.094 9 | 0.088 5 | 0.153 0 | 0.127 3 | 0.158 5 | 0.138 1 | 0.142 6 | 0.103 3 | 0.136 1 | 0.202 7 | 0.259 4 | 0.240 3 |
| YX                  | 0.100 4 | ***     | 0.093 8 | 0.143 8 | 0.123 5 | 0.174 5 | 0.133 2 | 0.140 3 | 0.127 0 | 0.166 6 | 0.229 2 | 0.241 3 | 0.270 3 |
| TF                  | 0.045 1 | 0.104 6 | ***     | 0.138 3 | 0.107 5 | 0.159 8 | 0.147 4 | 0.145 8 | 0.105 3 | 0.169 5 | 0.193 4 | 0.251 8 | 0.260 9 |
| WN                  | 0.132 7 | 0.151 9 | 0.130 4 | ***     | 0.107 9 | 0.142 6 | 0.069 8 | 0.134 2 | 0.142 1 | 0.191 9 | 0.200 3 | 0.224 3 | 0.242 0 |
| DQ                  | 0.125 1 | 0.156 8 | 0.105 2 | 0.116 1 | ***     | 0.155 4 | 0.103 5 | 0.123 0 | 0.145 8 | 0.197 4 | 0.245 8 | 0.261 6 | 0.262 3 |
| TC                  | 0.111 5 | 0.168 0 | 0.103 2 | 0.108 0 | 0.165 8 | ***     | 0.114 2 | 0.184 3 | 0.163 7 | 0.190 4 | 0.209 7 | 0.183 1 | 0.239 1 |
| ZT                  | 0.159 5 | 0.150 8 | 0.145 3 | 0.041 2 | 0.100 2 | 0.097 3 | ***     | 0.112 1 | 0.143 4 | 0.170 9 | 0.232 6 | 0.221 5 | 0.283 5 |
| HZ                  | 0.103 8 | 0.137 7 | 0.126 9 | 0.113 9 | 0.104 9 | 0.185 7 | 0.118 0 | ***     | 0.152 7 | 0.206 2 | 0.261 8 | 0.253 5 | 0.289 7 |
| BS                  | 0.045 8 | 0.122 4 | 0.056 9 | 0.116 9 | 0.119 4 | 0.097 8 | 0.142 5 | 0.121 5 | ***     | 0.142 5 | 0.219 7 | 0.251 8 | 0.248 1 |
| CB                  | 0.122 3 | 0.144 6 | 0.148 3 | 0.174 4 | 0.244 3 | 0.151 5 | 0.160 3 | 0.235 7 | 0.130 9 | ***     | 0.224 7 | 0.283 2 | 0.326 8 |
| SF                  | 0.237 2 | 0.364 3 | 0.234 0 | 0.276 5 | 0.375 7 | 0.309 4 | 0.367 9 | 0.412 8 | 0.280 3 | 0.304 5 | ***     | 0.217 4 | 0.253 9 |
| PD                  | 0.269 8 | 0.297 9 | 0.267 4 | 0.260 5 | 0.324 1 | 0.167 3 | 0.251 7 | 0.322 9 | 0.246 8 | 0.312 8 | 0.298 2 | ***     | 0.238 5 |
| TX                  | 0.348 2 | 0.451 1 | 0.413 4 | 0.390 6 | 0.518 8 | 0.358 2 | 0.503 9 | 0.447 9 | 0.330 7 | 0.568 8 | 0.394 8 | 0.297 4 | ***     |

注:左下方数据为 Nei's 标准遗传距离( $D_S$ );右上方数据为 Nei's 遗传距离( $D_A$ )。

Note: The bottom left data are Nei's standard genetic distances, and the upper right data are Nei's genetic distances.

采用 Nei's 遗传距离( $D_A$ )进行 UPGMA 和 NJ 聚类分析,结果见图 1 和图 2。由图 1 和图 2 可以看出,13 个品种的总体聚类情况基本一致,但有些品种之间聚类的先后顺序有所差异。如在  $D_A$ /UPGMA 图(图 1)中,策勒黑羊(CB)作为单独的一支聚为一类;而在  $D_A$ /NJ 图(图 2)中,策勒黑羊(CB)先与巴什拜羊(BS)聚在一起,后与豫西脂尾羊(YX)、太行裘皮羊(TF)和泗水裘皮羊(SSF)聚为一类。有模拟研究表明,邻近结合法(NJ)优于非加权组对算术平均法(UPGMA),它是最有效的基于距离数据

重建系统发生树的方法之一<sup>[15]</sup>;再结合《中国羊品种志》的记载以及这些品种的地理分布,本研究将  $D_A$ /NJ 聚类图作为本研究的首选聚类图。由图 2 可知,威宁绵羊、昭通绵羊、汉中绵羊和迪庆绵羊聚为一类;豫西脂尾羊、太行裘皮羊、泗水裘皮羊、巴什拜羊和策勒黑羊聚为一类;腾冲绵羊作为单独的一支与上两类聚合;最后 3 个引进品种无角道赛特羊、萨福克羊和特克塞尔羊先聚在一起后再与地方品种相聚。除少数品种外,品种间的聚类情况与这些羊的育成史、分化及地理分布基本一致。

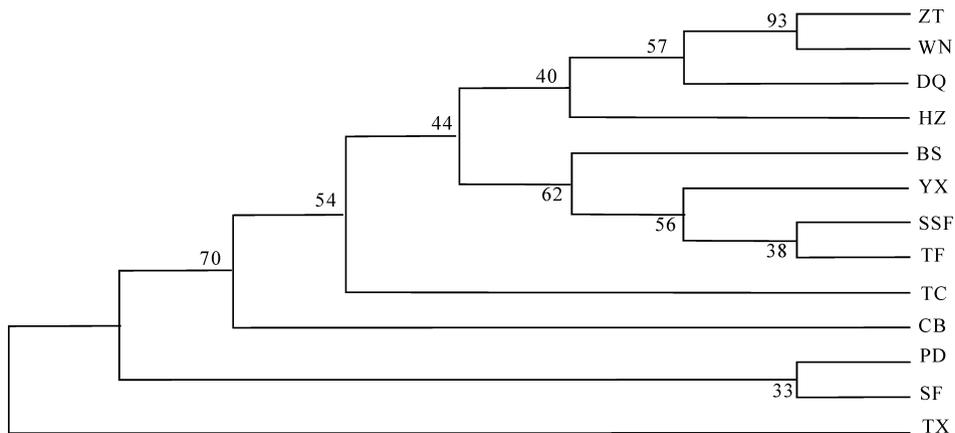


图 1 基于 Nei's 遗传距离( $D_A$ )的 13 个绵羊品种的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of 13 sheep breeds based on Nei's distance ( $D_A$ )

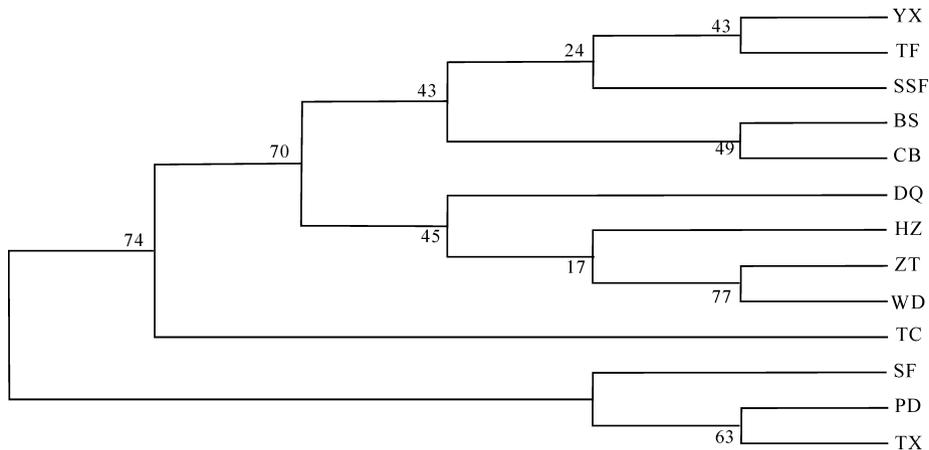


图2 基于 Nei's 遗传距离( $D_A$ )的13个绵羊品种的 NJ 聚类图

Fig. 2 NJ dendrogram of 13 sheep breeds based on Nei's distance ( $D_A$ )

## 3 讨论

### 3.1 绵羊群体内的遗传变异

对于分子遗传标记, Botstein 等<sup>[12]</sup>提出用多态信息含量(PIC)衡量基因变异程度高低, 反映遗传信息含量。本试验结果表明, 所选的11对微卫星全部为高度多态座位, 可作为有效的遗传标记, 用于绵羊品种间的遗传多样性分析。

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, 其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。本试验13个绵羊品种的平均期望杂合度为0.634, 这与 Peter 等<sup>[2]</sup>的研究相一致; 与3个引进绵羊品种相比, 地方绵羊(除腾冲绵羊外)品种的期望遗传杂合度都较高, 说明遗传多样性都很丰富。在10个地方绵羊品种中, 威宁绵羊、昭通绵羊、腾冲绵羊和汉中绵羊的观察遗传杂合度( $H_o=0.452\sim 0.529$ )较低, 说明这些群体中存在一定程度的选择和近交, 与其他绵羊品种之间的基因交流比较贫乏; 无角赛特羊的期望杂合度( $H_e=0.574$ )和观察遗传杂合度( $H_o=0.476$ )均较低, 推测这个群体的结构比较单一, 同质性较高, 经过高度专门化选育后, 已造成品种遗传多样性丢失。

### 3.2 绵羊群体间的遗传变异

我国固有绵羊按绵羊的起源系统和尾的长短及形状可划分为3大系统: 一是蒙古羊系统(脂尾型), 包括品种有蒙古羊、乌珠穆沁羊、豫西脂尾羊、河南大尾羊、晋中羊、鲁北羊及泗水裘皮羊等; 二是哈萨克羊系统(肥臀型), 包括哈萨克羊、阿勒泰羊及塔什库尔干羊; 三是藏羊系统(瘦尾型), 包含有藏羊(草地型)、迪庆羊、汉中黑耳羊、昭通绵羊、腾冲羊

等<sup>[16]</sup>。从本研究的聚类图(图2)可以看出: 豫西脂尾羊、泗水裘皮羊和太行裘皮羊之间的遗传距离较小( $D_A=0.0885\sim 0.0949$ )先聚在一起, 它们均属于蒙古羊系统(脂尾型); 巴什拜羊和策勒黑羊均属于新疆绵羊, 其先聚在一起后, 再与豫西脂尾羊、泗水裘皮羊和太行裘皮羊相聚, 它们彼此之间的遗传距离相对较大; 聚类图上的结果与这些羊的育成史、分化及地理分布基本一致, 也符合传统的分类方法。而马月辉等<sup>[7]</sup>的研究表明, 豫西脂尾羊与西藏绵羊品种聚在一起, 形成该结果的原因可能是多方面的, 不同聚类方法会产生不同甚至相矛盾的结果, 生物技术的应用不同程度地导致群体遗传结构的改变以及人工选择、迁移、突变等, 这些均会给研究分析带来影响。

威宁绵羊、昭通绵羊、汉中绵羊和迪庆绵羊聚为一类, 这4个绵羊品种均属于藏羊系统(瘦尾型), 聚类图上的结果与这些羊的育成史、分化及地理分布基本一致。马月辉等<sup>[7]</sup>认为, 与其他云南绵羊相比, 迪庆绵羊与西藏羊有更近的亲缘关系, 本研究支持该观点。但目前对藏系绵羊遗传多态性和品系分化方面的研究仍比较薄弱, 不仅表型方面的资料不全, 更没有足够的来自遗传学和分子生物学方面的信息, 因此很难对藏系绵羊进行更加深入、全面的分析和认识<sup>[10,17]</sup>。

据《云南省家畜家禽品种志》记载, 腾冲绵羊属于藏系短毛型绵羊, 是长期以来受自然选择与人工选择而形成的一个地方良种。本研究中, 云南的腾冲绵羊单独成为一支, 从遗传距离上看, 腾冲绵羊与其他2个云南绵羊品种之间的遗传距离相对较大; 并且腾冲绵羊的平均等位基因数、多态信息含量和期望遗传杂合度均最低。据此推测, 腾冲绵羊的遗

传多样性可能受到一定程度的威胁。而兰蓉等<sup>[18]</sup>认为,腾冲绵羊是较晚分离出来的类群,有可能受到昭通绵羊与德钦绵羊的影响。要想更加确切地了解腾冲绵羊与其他绵羊群体之间的遗传变异关系,还有待于进行增加检测的座位数、扩大样本量、综合考虑多种遗传标记的研究。

### [参考文献]

- [1] Ma Y H, Xu G F, Wang D Y, et al. Study on dynamic information of animal genetic resources in China [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2003, 2(1): 80-84.
- [2] Peter C, Bruford M, Perez T, et al. Erhardt and the econogene consortium genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds [J]. *Animal Genetics*, 2007, 38: 37-44.
- [3] Banabazi M H, Esmailkhanian S, Miraei Ashtiani S R, et al. Genetic variation within and between five Iranian sheep populations using microsatellite markers [J]. *Sci & Technol Agric & Natur Resour*, 2007, 10(4): 488-490.
- [4] Arranz J J, Bayon Y, San Primitivo F. Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites [J]. *Animal Genetics*, 1998, 29(4): 35-40.
- [5] Arranz J J, Bayon Y, San Primitivo F. Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites [J]. *Genetics Selection Evolution*, 2001, 33(5): 29-42.
- [6] Baumung R, Simianer H, Hoffmann I. Genetic diversity studies in farm animals—a survey [J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2004, 121(3): 61-73.
- [7] 马月辉, 赵倩君, 杨燕, 等. 利用微卫星标记分析 31 个中国地方绵羊品种的遗传多样性 [C]//中国畜牧兽医学学会 2006 学术年会论文集. [出版地不详]: [出版者不详], 2006: 146-150.  
Ma Y H, Zhao Q J, Yang Y, et al. Genetic variation and genetic relationship among 31 Chinese sheep breeds using microsatellite DNA markers [C]//Academic council of China Animal Husbandry and Veterinary Institute. [S. l.]: [s. n.], 2006: 146-150. (in Chinese)
- [8] Li X L, Gong Y F, Zhang J W. Study on polymorphisms of microsatellites DNA of six Chinese indigenous sheep breeds [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(11): 1203-1210.
- [9] 吕慎金, 马月辉, 杨燕, 等. 中国西部 7 个地方绵羊群体微卫星 DNA 的遗传多样性研究 [J]. *家畜生态学报*, 2006, 27(4): 18-22.  
Lü S J, Ma Y H, Yang Y, et al. Genetic diversity analysis on 7 indigenous sheep populations with microsatellite DNA in western China [J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2006, 27(4): 18-22. (in Chinese)
- [10] 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.  
Yang Y, Ma Y H, Lü S J, et al. Genetic diversity in seven Chinese indigenous sheep breeds based on microsatellite analysis [J]. *Biodiversity Science*, 2004, 12(6): 586-593. (in Chinese)
- [11] 卢圣栋, 李尹雄, 胡晓年, 等. 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, Li Y X, Hu X N, et al. *Current protocols for molecular biology* [M]. Beijing: Higher Education Press, 1993. (in Chinese)
- [12] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage maps in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Hum Genet*, 1980, 32: 314-331.
- [13] Nei M. Genetic distance between populations [J]. *American Naturalist*, 1972, 106: 283-292.
- [14] Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [J]. *J Mol Evol*, 1983, 19: 153-170.
- [15] 常青, 周开亚. 分子进化研究中系统发生树的重建 [J]. *生物多样性*, 1998, 6(1): 55-62.  
Chang Q, Zhou K Y. Phylogeny reconstruction in the study of molecular evolution [J]. *Biodiversity Science*, 1998, 6(1): 55-62. (in Chinese)
- [16] 耿社民, 刘小林. 中国家畜品种资源纲要 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 159-165.  
Geng S M, Liu X L. *Compendium of animal breed resources in China* [M]. Beijing: Agriculture Publisher of China, 2003, 159-165. (in Chinese)
- [17] 涂正超, 张亚平. 藏绵羊线粒体 DNA 遗传多样性研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 1998, 29(2): 132-135.  
Tu Z C, Zhang Y P. Mitochondrial DNA polymorphism and genetic diversity of Tibet sheep [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1998, 29(2): 132-135. (in Chinese)
- [18] 兰蓉, 洪琼花, 高源汉, 等. 云南绵羊线粒体 DNA 遗传多态性研究 [J]. *遗传*, 1998, 20(1): 20-23.  
Lan R, Hong Q H, Gao Y H, et al. Mitochondrial DNA polymorphism and genetic relationship of Yunnan sheep [J]. *Hereditas*, 1998, 20(1): 20-23. (in Chinese)