

利用微卫星标记分析 5 个山羊品种的遗传多样性和进化关系

李晓雨¹, 张纪刚², 狄冉¹, 刘秋月¹, 胡文萍¹,
王翔宇¹, 周忠孝², 刘文忠², 刘岚¹, 储明星^{1*}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 农业部畜禽遗传资源与种质创新重点实验室, 北京 100193;

2. 山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘要: 文登奶山羊、辽宁绒山羊和安徽白山羊分别为奶山羊、绒山羊和板皮用山羊的典型代表, 利用微卫星标记对其进行遗传多样性检测。同时以波尔山羊作为对照, 分析北京本地山羊与上述 3 个山羊品种的进化关系。结果显示, 上述 4 个中国山羊品种的有效等位基因数 (NEA)、Nei's 无偏基因多样性 (H) 和等位基因丰富度 (AR) 分别为 5.16~6.72、0.80~0.85 和 7.30~7.89, 表明中国 4 个山羊品种具有丰富的遗传多样性。然而, 杂合子缺失的结果提示波尔山羊和北京本地山羊品种内可能存在一定程度的近亲交配或人工选择。上述 5 种山羊品种间存在一定程度的遗传分化 ($F_{ST}=0.063$), 与之前报道的其他国家或地区的山羊结果类似。进化树和主成分分析显示, 北京山羊与辽宁绒山羊遗传关系最近, 与安徽白山羊的遗传关系较远, 与文登奶山羊的遗传关系最远, 这 4 个品种为进化的一个分支, 而波尔山羊为另一个分支。该进化关系与产区气候条件和育种目标一致。

关键词: 微卫星; 山羊; 遗传多样性; 进化关系

中图分类号: S827.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)04-0520-09

Genetic diversity and phylogenetic relationship of five goat breeds based on microsatellite markers

LI Xiaoyu¹, ZHANG Jigang², DI Ran¹, LIU Qiuyue¹, HU Wenping¹, WANG Xiangyu¹,
ZHOU Zhongxiao², LIU Wenzhong², LIU Lan¹, CHU Mingxing¹

(1. Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Germplasm Innovation of Ministry of Agriculture, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193;

2. College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

Abstract: The genetic diversity of Wendeng dairy goats, Liaoning cashmere goats, and Anhui white goats, three typical types of Chinese goats (dairy type, cashmere type and leather type), was evaluated using microsatellite markers. Boer goats were chosen as the control. Meanwhile, Beijing goats were tested to analyze their genetic relationship with the aforementioned three types of goats. The results showed that the number of effective alleles (NEA), Nei's unbiased gene diversity (H), and allelic richness (AR) of four Chinese goat breeds were from 5.16 to 6.72, 0.80 to 0.85, and 7.30 to 7.89, respectively, indicating the rich genetic diversity in Chinese goats. However, the results of heterozygote deficit indicated that the inbreeding or artificial selection occurred in Boer and Beijing goats. Genetic differentiation between these breeds was moderate, with a mean F_{ST} value of 0.063, similar to some goat breeds in other areas. Phylogenetic tree and principal component analyses indicated that Beijing goats were grouped with Liaoning cashmere goats, then clustered with Anhui white goats, and finally with Wendeng dairy goats. Boer goats, nevertheless, had their own branch. The phylogenetic relationship was consistent with the climatic condition and breeding objective.

Key words: microsatellite; goat; genetic diversity; phylogenetic relationship

收稿日期: 2014-11-16

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS13)和国家肉羊产业技术体系专项资金(CARS-39)共同资助。

作者简介: 李晓雨, 硕士研究生。E-mail: lixiaoyudongke@163.com

* 通信作者: 储明星, 博士, 研究员, 博士生导师。E-mail: mxchu@263.net

微卫星因具备数量多、分布广、多态性丰富、呈共显性遗传及检测快速方便等优点被广泛用于遗传连锁图谱构建、QTL 定位、个体及亲缘关系鉴定、遗传多样性评估等研究。其中, 遗传多样性分析是遗传资源保护和利用的一个重要环节, 家养动物遗传多样性的丢失将意味着人类农业生产资料的匮乏^[1]。近些年来, 研究人员利用微卫星标记检测了中国山羊^[2-10]、印度山羊^[11-12]、中东地区山羊^[13-14]、蒙古、日本等东亚国家山羊^[15]、欧洲山羊^[16-17]和非洲山羊^[16]的遗传多样性。

中国山羊资源十分丰富, 包括奶用、绒用、板皮用、肉用等多个类型的地方特色品种。奶用山羊代表品种-文登奶山羊哺乳期可长达 258 d, 产奶量可达 901 kg^[18]。绒山羊代表品种-辽宁绒山羊由于高产绒量(成年公羊产绒量平均为 1.368 kg、成年母羊产绒量平均为 0.641 kg^[18]) 成为世界著名的绒山羊品种之一。板皮用山羊代表-安徽白山羊因山羊皮而闻名世界, 其山羊皮被认为是皮革行业的完美材料。以上 3 个品种均为中国著名的地方山羊品种。然而, 北京地方山羊数量少、无显著特征, 对其研究较少, 因此它与其他中国山羊品种的进化关系尚不明确。因此, 本研究将分别对文登奶山羊、辽宁绒山羊和安徽白山羊这 3 种类型山羊品种进行遗传多样性评估, 同时以肉用山羊(波尔山羊)作为对照, 分析北京地方山羊与上述 4 个品种之间的遗传关系。本研究获得的遗传多样性评估结果能够为上

述山羊品种资源的保存和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和 DNA 提取

对 190 只山羊进行耳组织采集, 其中文登奶山羊 40 只、辽宁绒山羊 40 只、北京本地山羊 40 只、安徽白山羊 30 只和波尔山羊 40 只, 具体信息见表 1。用酚氯仿抽提法从耳组织中提取基因组 DNA^[19], 1×TE 缓冲液溶解 DNA, 保存于-20℃备用。所用的 Tris、EDTA、SDS、蛋白酶 K 等试剂购自天根生化科技(北京)有限公司。

1.2 PCR 扩增

对表 2 中的微卫星标记进行 PCR 扩增, 扩增体系总体积为 25 μL, 其中包含 50 ng 模板 DNA, 2.5 μL 的 10×扩增缓冲液{10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.0)、50 mmol·L⁻¹ KCl、0.1% Triton X-100}, 2.5 μL dNTPs 混合液(2.5 mmol·L⁻¹), 引物上下游各 2.0 μL (5 μmol·L⁻¹), 1 U *Taq* DNA 聚合酶和 MgCl₂ (添加量见表 2)。上述试剂购自天根生化科技(北京)有限公司。微卫星引物(引物信息见表 2)由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。扩增程序参数设置为: 94℃ 5 min; 94℃ 30 s、退火温度(见表 2) 30 s、72℃ 30 s, 30 个循环; 72℃ 10 min。

1.3 基因型判定

通过 ABI 3100 基因测序仪和 GeneMapper 软件(v3.2)测定每个样品的基因型。

表 1 5 个山羊品种的采样信息

Table 1 Sampling information of five goat breeds

品种 Breed	英文简称 Abbr.	类型 Type	采集地点 Collection site	产区气候 Climate	样本数量 Sample size
安徽白山羊	Anhui	皮用山羊	安徽省畜禽品种改良站	暖温带湿润季风气候	30
辽宁绒山羊	Liaoning	绒山羊	北京市门头沟区清水镇	温带大陆季风气候	40
文登奶山羊	Wendeng	奶山羊	北京市兴绿原农牧发展有限责任公司 (引自山东省)	温带大陆季风气候	40
北京本地山羊	Beijing	肉用	北京市门头沟区清水镇	温带大陆季风气候	40
波尔山羊	Boer	肉用山羊	安徽省畜禽品种改良站(引自南非)	亚热带草原气候	40

1.4 数据分析

利用 POPGENE 1.31 程序计算有效等位基因数(Number of effective alleles, NEA) 和 Nei's 无偏基因多样性(Nei's unbiased gene diversity, H)。等位基因丰富度(allelic richness, AR)是不依赖样品含量衡量群体等位基因多少的一个指标^[20], 本研究利用 FSTAT 软件计算等位基因丰富度、所有群体内各个亚群体的固定系数(Fixation index resulting from comparing subpopulations to the total population, F_{ST})

和亚群体内的个体固定系数(Fixation index of subpopulation, F_{IS}); 同时利用该软件分析基因多样性(gene diversity, Ht) 和杂合度缺失的显著水平。利用 Excel Microsatellite Toolkit Version 3.1 (<http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit>) 计算等位基因频率。品种之间的标准遗传距离(standard enetic distance, D_S)^[21]和遗传距离(genetic distance, D_A)^[22]由 DISPAN 程序计算获得, 然后利用 D_A 和 D_S 构建进化树, 包括非加权组平均法(unweighted pair

group method with arithmetic mean, UPGMA) 进化树和邻接 (neighbor joining, NJ) 树; 进化树的稳定性通过设置 bootstrap 值为 1000 来评估。另外,

利用 MVSP 3.1 (<http://www.kovcomp.com>) 的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 揭示遗传变异性的主要模式和品种聚类信息。

表 2 7 个微卫星座位的名称、引物序列、退火温度和 Mg^{2+} 最终浓度

Table 2 Names, primer sequences, annealing temperatures, Mg^{2+} ultimate concentrations of seven microsatellite loci

微卫星座位 Microsatellite loci	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度/°C Annealing temperature	Mg^{2+} 最终浓度/ $mmol \cdot L^{-1}$ Ultimate concentration of Mg^{2+}
TGLA337	F: TTTGTAAAGGATAGTAGGCTACT R: GCTCTCCCTTGGTTTCCTTG	62	1.75
BMS2258	F: CCAGCAGAAGAGAAAAGATACTGA R: AGTGGTAGAACTTCCATCTCACA	62	1.50
ILSTS087	F: AGCAGACATGATGACTCAGC R: CTGCCTCTTTTCTTGAGAGC	65	1.75
BM3011	F: TCCAACATCCCTCTACACAGG R: CTGTGATGTGATAGTGCGAGC	58	1.75
BM3412	F: GTCCCAGCAGACATCACATG R: ACAAAGAATATGTGCAGCAAGC	58	1.60
IDVGA027	F: TGGTCAGTCACAGAGAAGCACAG R: GAAAGCCTGGTACTCATGGAATA	62	1.50
BMS1561	F: ACCCACATGTTTGGGAGG R: AGGGAAAGGCCAAAGCAC	60	2.25

2 结果与分析

2.1 品种内遗传变异

表 2 显示了 7 个微卫星座位的信息, 其中 IDVGA027 和 BMS1561 在被测群体中均为单态, 因此以下只考虑 5 个有多态性的微卫星座位。

5 个山羊品种(文登奶山羊、辽宁绒山羊、安徽白山羊、北京本地山羊和波尔山羊)的 NEA、H 和 AR 变化范围分别为 3.97~6.72、0.66~0.85 和 6.35~7.89(表 3), 其中 4 个中国山羊品种的变化范围分别为 5.16~6.72、0.80~0.85 和 7.30~7.89。这 4 个中国山羊品种中, 北京山羊的 3 个遗传多样性指标均最高 ($H=0.85$; $NEA=6.72$; $AR=7.89$), 暗示北京山羊的遗传多样性最为丰富; 文登奶山羊的遗传多样性指标均最低 ($H=0.80$; $NEA=5.16$; $AR=7.30$), 表明此品种具有较低的遗传多样性。杂合度缺失结果表明波尔山羊和北京山羊分别存在 3 个和 4 个杂合子显著缺失的位点, 其中包含 3 个相同的位点, 分别是: TGLA337、BM3412 和 BM3011 (见表 3)。所有样本总群体内近交系数 (F_{IS}) 为 0.26 且达到极显著水平, 其中波尔和北京山羊近交系数分别为 0.282 和 0.34, 均达到极显著水平。上述杂合度缺失和近交系数的结果暗示波尔山羊和北京山羊采样群体内可能存在近交或在 TGLA337、BM3412 和 BM3011 位点上存在人工选择。

2.2 品种间遗传变异

5 个山羊品种间存在极显著的遗传分化, 遗传分化系数 (F_{ST}) 为 0.063。如表 4 所示, 除了北京山羊和辽宁绒山羊, 其他任何 2 个品种之间的遗传分化均达到显著水平 ($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。北京山羊和辽宁绒山羊之间的遗传距离最小 ($D_A=0.0585$), 而波尔山羊和文登奶山羊之间遗传距离最大 ($D_A=0.3620$)。

2.3 品种间的遗传关系

为了阐明这 5 个山羊品种之间遗传关系, 作者使用遗传距离 D_A 和 D_S 构建了进化树(图 1~图 4), 其中基于 D_A 值构建的 UPGMA 进化树(图 1)的节点自检值最高, 具有最高可信度, 能够真实反映群体间亲缘关系。然而基于 D_A 值构建的 NJ 树(图 2)、基于 D_S 值构建的 UPGMA 进化树(图 3)和基于 D_S 值构建的 NJ 树(图 4)自检值相对较低。基于自检值的高低, 选择了图 1 作为分析重点。图 1 表明中国山羊与波尔山羊处于不同的分支, 在中国山羊分支中北京山羊和辽宁绒山羊先聚为一类, 然后它们与安徽白山羊聚为一类, 最后与文登奶山羊聚在一起。这一结果得到了主成分分析(图 5)的有力支持: 第一主成分(占总遗传变异的 68.09%)将波尔山羊与其他山羊明显区分开来; 第二主成分(占总遗传变异的 16.58%)将文登奶山羊与其他 3 个品种区分开来, 而辽宁绒山羊和北京山羊归为一类。

表 3 5 个山羊品种 5 个微卫星座位的遗传变异
Table 3 Genetic variability of five microsatellite loci in five goat breeds

基因座 Loci	指标 Parameter	品种 Breed					均值 Mean	基因多样性 Gene diversity
		波尔山羊 Boer	安徽白山羊 Anhui	辽宁绒山羊 Liaoning	文登奶山羊 Wendeng	北京本地山羊 Beijing		
TGLA337	NEA	2.53	3.80	3.81	3.91	4.46	4.25	0.77
	H	0.61	0.75	0.75	0.75	0.79	0.73	
	AR	3.00	5.00	5.00	5.00	5.00	4.99	
	S	*	*	NS	NS	*		
	F_{IS}	0.635***	0.192	0.452***	0.855***	0.546***	0.539***	
BMS2258	NEA	3.08	5.84	6.22	3.06	4.77	5.73	0.83
	H	0.69	0.84	0.85	0.68	0.80	0.77	
	AR	5.00	7.97	7.00	5.93	6.00	7.61	
	S	NS	NS	NS	NS	NS		
	F_{IS}	0.081	0.104	0.226**	-0.121	0.275*	0.102	
ILSTS087	NEA	1.41	6.01	6.16	6.02	6.11	5.86	0.83
	H	0.29	0.85	0.85	0.85	0.85	0.74	
	AR	2.88	7.00	7.00	6.94	7.00	6.95	
	S	NS	NS	NS	NS	*		
	F_{IS}	0.270***	0.071	-0.053	0.235**	0.152	0.146*	
BM3412	NEA	6.87	5.59	7.98	5.7	10.50	9.29	0.90
	H	0.87	0.84	0.89	0.84	0.92	0.87	
	AR	11.90	9.90	10.39	9.68	12.45	11.93	
	S	*	NS	*	NS	*		
	F_{IS}	0.227***	0.230***	0.344***	0.538***	0.369***	0.333***	
BM3011	NEA	5.97	5.13	8.11	7.11	7.74	9.03	0.89
	H	0.85	0.82	0.89	0.87	0.88	0.86	
	AR	8.98	7.00	9.97	8.94	9.00	10.40	
	S	*	NS	NS	NS	*		
	F_{IS}	0.216**	0.113*	0.160	0.196**	0.279***	0.190**	
Mean	NEA	3.97	5.27	6.46	5.16	6.72	6.83	0.84
	H	0.66	0.82	0.84	0.80	0.85	0.79	
	AR	6.35	7.37	7.87	7.30	7.89	8.38	
	F_{IS}	0.282***	0.141	0.221	0.348	0.340***	0.26**	

注: NEA: 有效等位基因数; H: 无偏基因多样性; AR: 等位基因丰富度; S: 杂合子缺失的显著水平, * $P < 0.05$, NS: $P \geq 0.05$ (不显著); F_{IS} : 亚群体内的个体固定系数, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Note: NEA: number of effective alleles; H: Nei's unbiased gene diversity; AR: allelic richness; S: significant level of deficit in heterozygotes, * $P < 0.05$, NS: $P \geq 0.05$ (not significant); F_{IS} : Fixation index of subpopulation, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

表 4 5 个山羊品种间 F_{ST} (位于对角线上方) 和 Nei's 遗传距离 D_A (位于对角线下方)
Table 4 F_{ST} (above the diagonal) and Nei's genetic distance D_A (below the diagonal) among five goat breeds

品种 Breed	波尔山羊 Boer	安徽白山羊 Anhui	辽宁绒山羊 Liaoning	文登奶山羊 Wendeng	北京本地山羊 Beijing
波尔山羊 Boer		0.1316***	0.1084***	0.1710***	0.1217***
安徽白山羊 Anhui	0.3174		0.1050**	0.0335***	0.0177***
辽宁绒山羊 Liaoning	0.2399	0.0833		0.0193**	0.0050 ^{NS}
文登奶山羊 Wendeng	0.3620	0.1273	0.0881		0.0285***
北京本地山羊 Beijing	0.2649	0.1161	0.0585	0.1319	

注: 标准 Bonferroni 校正后的显著水平: *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; NS, $P \geq 0.05$ (不显著)。

Note: Significant values are indicated after standard Bonferroni correction: *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; NS, $P \geq 0.05$ (not significant)。

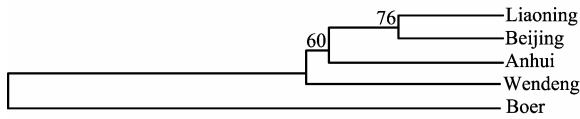


图 1 基于遗传距离 D_A 构建的 5 个山羊品种 UPGMA 进化树
Figure 1 UPGMA tree constructed from D_A distance among five goat breeds

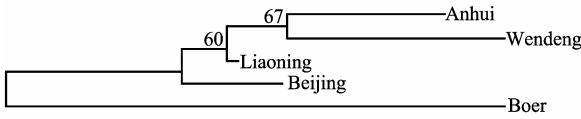


图 2 基于遗传距离 D_A 构建的 5 个山羊品种 NJ 进化树
Figure 2 NJ tree constructed from D_A distance among five goat breeds

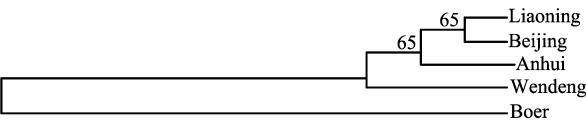


图 3 基于遗传距离 D_S 构建的 5 个山羊品种 UPGMA 进化树
Figure 3 UPGMA tree constructed from D_S distance among five goat breeds

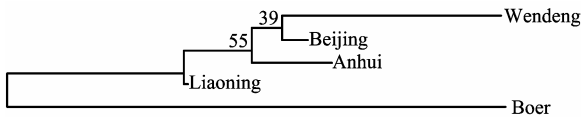
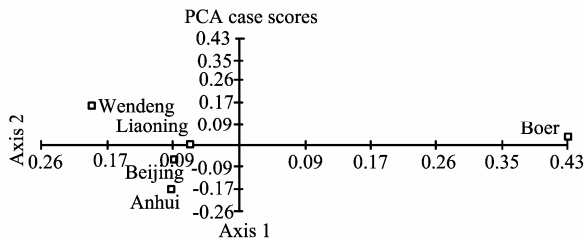


图 4 基于遗传距离 D_S 构建的 5 个山羊品种 NJ 进化树
Figure 4 NJ tree constructed from D_S distance among five goat breeds



Axis 1: 第一主成分; Axis 2: 第二主成分
Axis 1: the first factor; Axis 2: the second factor

图 5 基于 5 个山羊品种 5 个微卫星座位基因型数据的主成分分析散点图

Figure 5 Scatter plot of the first two factors in principal component analysis based on allele frequencies of five microsatellite loci in five goat breeds

2.4 微卫星标记的多态性

微卫星标记 IDVGA027 和 BMS1561 在被测群体内显示出单态性, 而其他 5 个标记 (TGLA337、BMS2258、ILSTS087、BM3011 和 BM3412) 均拥有丰富的多态性, 遗传多样性指标 NEA、H 和 AR 的变化范围分别为 4.25~9.29、0.73~0.87 和 4.99~

11.93, 平均值分别为 6.83、0.79 和 8.38。其中, BM3412 基因座拥有最多的等位基因数 (13 个), TGLA337 基因座具有最少的等位基因数 (5 个)。

主成分分析所得变量的 PCA 可变载荷 (PCA variable loadings) 数值大小可以反映该变量的变异对某主成分总变异的贡献大小。因此, 基于等位基因频率数据 (表 5) 计算获得了每个基因座每个等位基因的 PCA 可变载荷 (表 6)。结果暗示少数几个等位基因是影响总遗传变异的主要因素。例如, 第一主成分中对遗传变异较为重要的等位基因包括: *ILSTS087* 基因座的 155 (可变载荷=0.613); *TGLA337* 基因座的 114 (0.251); *BMS2258* 基因座的 164 (0.248)、160 (0.225) 和 154 (-0.202); *BM3011* 基因座的 147 (0.200)。第二主成分中对遗传变异较为重要的等位基因包括: *TGLA337* 基因座的 120 (可变载荷为-0.449); *BM3412* 基因座的 136 (-0.260); *BMS2258* 基因座的 154 (0.363); *BM3011* 基因座的 121 (0.253)、137 (-0.210)、135 (-0.204)。这些等位基因的变异对于上述山羊品种间的遗传变异起着关键作用。

3 讨论

3.1 遗传多样性

上述中国 4 个山羊品种遗传多样性指标-无偏基因多样性 (H) 在 0.8~0.85 之间、等位基因丰富度 (AR) 在 7.30~7.89 之间, 表明这 4 个山羊品种具有较高的遗传多样性, 具有很大的选育潜力。其中北京山羊的遗传多样性指标最高, 文登奶山羊的指标最低, 但是中国 4 个品种的遗传多样性均高于波尔山羊。其遗传多样性指标的数值范围与中国其他山羊品种 (河南地方山羊^[3]、麻城黑山羊^[6]、内蒙古绒山羊^[9]和中国肉用山羊品种^[7]) 相似, 但稍高于 Di 等^[10]、Li 等^[2]、郭丹等^[5]、王志刚等^[8]和樊月圆等^[4]所分析的中国山羊品种的多样性。Ganai 等^[11]报道印度山羊期望杂合度为 0.54, Canon 等^[13]检测的欧洲和中东 45 个山羊品种期望杂合度均值为 0.69; 非洲山羊的期望杂合度为 0.67~0.792^[16]。由此可见, 该研究的 4 个中国山羊品种遗传多样性稍高于印度、欧洲和中东、非洲的部分山羊品种。

杂合子缺失对动物养殖业的可持续发展极为不利, 尤其是杂合子完全缺失将导致某些基因从基因库中消失, 造成种群遗传多样性的降低, 从而降低动物适应环境的能力。该研究发现波尔山羊和北京山羊群体内分别存在 3 个和 4 个杂合子显著缺失的位点, 即这些位点的杂合度显著下降, 而且这 2 个

表 5 5 个山羊品种的等位基因频率
Table 5 Frequencies of alleles in five goat breeds

基因座 Loci	等位基因/bp Alleles	频率 Frequency (%)				
		北京本地山羊 Beijing	辽宁绒山羊 Liaoning	安徽白山羊 Anhui	文登奶山羊 Wendeng	波尔山羊 Boer
<i>TGLA337</i>	114	14.47	11.84	5.17	8.33	37.50
	116	23.68	31.58	27.59	31.94	48.44
	118	26.32	35.53	20.69	33.33	14.06
	120	26.32	11.84	36.21	11.11	0.00
	122	9.21	9.21	10.34	15.28	0.00
<i>BMS2258</i>	140	17.11	6.58	1.72	5.26	0.00
	150	0.00	0.00	8.62	6.58	0.00
	154	31.58	19.74	12.07	43.42	8.33
	158	5.26	14.47	25.86	35.53	3.33
	160	15.79	19.74	18.97	6.58	38.33
	164	21.05	18.42	18.97	2.63	40.00
	168	9.21	13.16	8.62	0.00	10.00
	170	0.00	7.89	5.17	0.00	0.00
<i>ILSTS087</i>	149	9.46	5.26	7.14	2.70	0.00
	153	6.76	13.16	10.71	18.92	1.56
	155	13.51	13.16	17.86	12.16	82.81
	159	16.22	11.84	17.86	10.81	0.00
	161	20.27	23.68	25.00	18.92	0.00
	163	22.97	14.47	12.50	20.27	0.00
	165	10.81	18.42	8.93	16.22	15.63
<i>BM3011</i>	121	0.00	10.53	5.17	21.62	3.23
	127	0.00	0.00	0.00	2.70	3.23
	131	9.72	10.53	13.79	10.81	9.68
	135	18.06	3.95	25.86	16.22	6.45
	137	8.33	19.74	24.14	5.41	22.58
	141	6.94	10.53	0.00	13.51	6.45
	143	9.72	7.89	5.17	9.46	16.13
	147	9.72	7.89	0.00	0.00	25.81
	155	12.50	3.95	0.00	0.00	6.45
	163	19.44	17.11	20.69	14.86	0.00
<i>BM3412</i>	175	5.56	7.89	5.17	5.41	0.00
	136	7.89	7.89	22.41	1.39	20.69
	138	9.21	14.47	10.34	6.94	6.90
	140	10.53	11.84	3.45	8.33	3.45
	142	9.21	17.11	15.52	15.28	18.97
	144	10.53	14.47	27.59	26.39	5.17
	146	13.16	11.84	12.07	25.00	0.00
	148	10.53	13.16	0.00	4.17	5.17
	150	5.26	2.63	3.45	6.94	1.72
	152	11.84	3.95	0.00	2.78	1.72
	160	3.95	0.00	1.72	0.00	1.72
	162	1.32	1.32	1.72	2.78	3.45
	164	5.26	0.00	0.00	0.00	10.34
	168	1.32	1.32	1.72	0.00	20.69

表 6 主成分分析中所有品种的第一主成分和第二主成分的可变载荷
Table 6 PCA variable loadings of the first and the second principal components for all breeds

基因座 Loci	等位基因/bp Alleles	PCA 可变载荷 PCA variable loading	
		第一主成分 The first principal component	第二主成分 The second principal component
<i>TGLA337</i>	114	0.251	0.115
	116	0.167	0.147
	118	-0.136	0.167
	120	-0.171	-0.449
	122	-0.107	0.047
<i>BMS2258</i>	140	-0.062	-0.005
	150	-0.042	-0.034
	154	-0.202	0.363
	158	-0.188	0.141
	160	0.225	-0.114
	164	0.248	-0.191
	168	0.040	-0.120
	170	-0.019	-0.069
<i>ILSTS087</i>	149	-0.047	-0.099
	153	-0.109	0.114
	155	0.613	0.120
	159	-0.119	-0.161
	161	-0.186	-0.149
	163	-0.161	0.041
	165	0.015	0.134
<i>BM3011</i>	121	-0.081	0.253
	127	0.017	0.050
	131	-0.013	-0.045
	135	-0.092	-0.204
	137	0.094	-0.210
	141	-0.022	0.208
	143	0.068	0.083
	147	0.200	0.050
	155	0.031	-0.024
	163	-0.152	-0.148
<i>BM3412</i>	175	-0.051	-0.010
	136	0.112	-0.260
	138	-0.020	-0.051
	140	-0.041	0.056
	142	0.040	0.034
	144	-0.147	-0.036
	146	-0.160	0.152
	148	-0.005	0.055
	150	-0.031	0.037
	152	-0.021	0.006
160	0.005	-0.037	
162	0.013	0.023	
164	0.082	0.010	
168	0.175	0.032	

群体的近交系数达到极显著水平, 提示波尔山羊和北京山羊采样群体内可能存在一定程度的近交或在上述位点上存在人工选择, 这可能与选育群体规模较小和定向选育持续时间较长有关。针对波尔山羊这一现象, 可能是由于最初引入国内作为终端肉用父系品种的波尔山羊数量有限, 因此在后期繁育过程中导致了较为严重的近交。如果缺乏科学的选配计划, 闭锁繁育的小群体就容易发生群体结构的退化和优势基因的流失, 从而影响品种的遗传进展, 所以在品种选育的过程中要有计划化地实施配种, 避免群体内过度近交。

3.2 微卫星基因座

本研究结果表明: 5 对多态性微卫星标记共检测到 44 个等位基因, 平均每个位点 8.8 个等位基因, 最多的为 *BM3412* (13 个), 最少的为 *TGLA337* (5 个)。其无偏基因多样性在 0.73 (*TGLA337*) ~0.87 (*BM3412*) 之间, 等位基因丰富度在 4.99 (*TGLA337*) ~11.93 (*BM3412*) 之间。5 个微卫星标记在 5 个群体中都显示出高度多态, 因此可作为有效的分子标记进行群体遗传多样性分析。

一般来讲, 决定总遗传变异的往往是某些特定的等位基因。本研究主成分分析结果表明 5 个微卫星标记的少数等位基因 (*ILSTS087* 基因座的 155; *TGLA337* 基因座的 114、120; *BMS2258* 基因座的 164、160 和 154; *BM3011* 基因座的 147、121、137 和 135; *BM3412* 基因座的 136) 的频率差异成为影响上述山羊品种之间总遗传分化的主要因素。

3.3 品种间的遗传关系

上述 5 个山羊品种间存在一定程度的遗传分化 (F_{ST} 平均值为 0.063), 该结果与之前报道的中国^[7,10]、欧洲和中东^[13]地区山羊品种间分化结果相近, 但是低于某些东南亚山羊间的分化系数^[15,23]。

Takezaki 和 Nei^[24]研究表明 D_A 距离最适合用来推测微卫星拓扑模型数据。Di 等^[10]、王志刚等^[8]、凌英会等^[7]相关研究也证明了 D_A 用来构建进化树的准确性。本研究中, 与其他进化树相比, 基于 D_A 构建的 UPGMA 进化树的确显示出更高的自检值。另外, UPGMA 的聚类结果和主成分分析结果基本一致, 证明上述山羊品种的聚类结果是可靠的。

本研究中山羊之间的遗传关系与产区气候条件和育种目标具有一致性。从气候角度来说, 辽宁绒山羊和北京山羊同处于温带大陆性季风气候, 同样的气候条件和生态环境使得这 2 个品种有着相似的遗传特征和表型。本研究的聚类图、遗传距离和 F_{ST} 值均表明这两个品种的遗传关系最近。然而, 另外

2 个品种所处的气候条件有很大差异: 安徽白山羊位于亚热带湿润季风气候区, 文登奶山羊位于温带海洋气候区; 本研究聚类结果也表明它们属于不同的进化分支。从育种角度来说, 辽宁绒山羊以高绒产量为育种目标, 安徽白山羊以优质板皮为主要育种目标, 文登奶山羊以高产奶量为主要育种目标; 本研究聚类结果也表明它们属于 3 个不同的分支。因此, 从上述两个角度来看, 不同的自然条件和育种目标是导致上述品种间遗传变异的外在因素。

参考文献:

- [1] Lawson H L, Byrne K, Santucci F, et al. Genetic structure of European sheep breeds[J]. *Heredity*, 2007, 99(6): 620-631.
- [2] Li M H, Zhao S H, Bian C, et al. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2002, 34(6): 729-744.
- [3] 陈冰, 刘德稳, 付彤, 等. 河南地方山羊品种的遗传多样性[J]. *应用生态学报*, 2010, 21 (4): 979-986.
- [4] 樊月圆, 余淑青, 曹振辉, 等. 云南红骨圭山山羊微卫星 DNA 位点遗传多样性分析[J]. *云南农业大学学报: 自然科学版*, 2013, 28(3): 329-335.
- [5] 郭丹, 韩迪, 王春艳, 等. 辽宁绒山羊 7 个微卫星位点的遗传多样性分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2010(12): 99-103.
- [6] 李晓锋, 马月辉, 熊琪, 等. 麻城黑山羊微卫星标记多态性分析[J]. *湖北农业科学*, 2013, 52(18): 4454-4457.
- [7] 凌英会, 张晓东, 丁建平, 等. 运用荧光标记微卫星分析 6 个肉山羊品种遗传多样性[J]. *安徽农业大学学报*, 2012, 39(2): 159-164.
- [8] 王志刚, 吴建平, 刘丑生, 等. 用微卫星标记分析中国山羊品种的遗传多样性和群体遗传结构[J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(5): 836-845.
- [9] 赵艳红, 王梦一, 苏蕊, 等. 内蒙古绒山羊 4 个群体遗传多样性分析[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(8): 1681-1683.
- [10] Di R, Farhad Vahidi S M, Ma Y, et al. Microsatellite analysis revealed genetic diversity and population structure among Chinese cashmere goats[J]. *Animal Genetics*, 2011, 42(4): 428-431.
- [11] Ganai N A, Yadav B R. Genetic variation within and among three Indian breeds of goat using heterologous microsatellite markers[J]. *Animal Biotechnology*, 2001, 12(2): 121-136.
- [12] Aggarwal R A K, Dixit S P, Verma N K, et al. Population genetics analysis of Mehsana goat based on microsatellite markers[J]. *Current Science*, 2007, 92(8): 1133-1137.
- [13] Canon J, Garcia D, Garcia-Atance M A, et al. Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East[J]. *Animal Genetics*, 2006, 37(4): 327-334.
- [14] Vahidi S M F, Tarang A R, Naqvi A U N, et al. Investigation of the genetic diversity of domestic *Capra hircus* breeds reared within an early goat domestication area in Iran[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2014, 46(1):27.
- [15] Nomura K, Ishii K, Dadi H, et al. Microsatellite DNA markers indicate three genetic lineages in East Asian in-

- digenous goat populations[J]. *Animal Genetics*, 2012, 43(6): 760-767.
- [16] Agha S H, Pilla F, Galal S, et al. Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism[J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2008, 125(3): 194-200.
- [17] Sechi T, Usai M G, Miari S, et al. Identifying native animals in crossbred populations: the case of the Sardinian goat population[J]. *Animal Genetics*, 2007, 38(6): 614-620.
- [18] 国家畜禽遗传资源委员会. 中国畜禽遗传资源志·羊志[M]. 北京:中国农业出版社, 2012.
- [19] Green M R, Sambrook J. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*[M]. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.
- [20] Petit R J, Ei Mousadik A, Pons O. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers[J]. *Conservation Biology*, 1998, 12(4): 844-855.
- [21] Nei M. Genetic distances between populations[J]. *The American Naturalist*, 1972, 106: 283-292.
- [22] Nei M, Tajima R, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1983, 19(2): 153-170.
- [23] Barker J S F, Tan S G, Moore S S, et al. Genetic variation within and relationships among populations of Asian goats[J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2001, 118(4): 213-233.
- [24] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA[J]. *Genetics*, 1996, 144(1): 389-399.