

黄淮杜泊羊线粒体 DNA 遗传多态性研究

韩浩园¹, 董鹏飞², 王献伟³, 张小雷⁴, 辛晓玲⁵, 张道江⁶,
张子军⁷, 郭廷军⁸, 李君¹, 赵金艳¹, 黄超男¹, 权凯^{1*}

(1. 河南牧业经济学院动物科技学院, 郑州 450046; 2. 舞阳县畜牧局, 舞阳 462400; 3. 河南省畜牧总站, 郑州 450008; 4. 鹤壁市畜牧工作站, 鹤壁 100193; 5. 河南省农业科学院畜牧兽医研究所, 郑州 450002; 6. 浚县鑫林牧业有限公司, 浚县 456282; 7. 安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036; 8. 濮阳市畜牧工作站, 濮阳 457000)

摘要: 线粒体 DNA 遗传变异丰富, 是研究群体遗传多样性的重要手段。通过对黄淮杜泊羊、杜泊羊、鲁西黑头羊和小尾寒羊的线粒体 D-loop 遗传变异进行检测, 分析 4 个品种的遗传多样性和品种间的遗传分化, 构建系统发育树, 并计算 4 个品种的遗传关系和遗传距离。结果表明, 黄淮杜泊羊群体遗传多样性丰富 (单倍型多样性 $h=0.984\ 21$, 核苷酸多样性 $P_i=0.015\ 50$), 遗传稳定; 系统发育树黄淮杜泊羊的黑头群体和白头群体聚为一类, 与鲁西黑头羊、杜泊羊和小尾寒羊明显区分; 黄淮杜泊羊与杜泊羊遗传距离最近 (0.055)、与小尾寒羊遗传距离最远 (0.070), 且黄淮杜泊羊与鲁西黑头羊、杜泊羊和小尾寒羊品种间遗传分化程度大。说明黄淮杜泊羊的遗传多样性丰富、遗传分化程度高, 在遗传上明显区别于鲁西黑头羊、杜泊羊和小尾寒羊, 黄淮杜泊羊黑头和白头群体的遗传一致, 且群体遗传稳定, 试验结果与育种设计方案相吻合, 说明黄淮杜泊羊具备了新品种的遗传条件。

关键词: 黄淮杜泊羊; mtDNA; 遗传关系; 遗传多样性

中图分类号: S826.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2019)05-0774-05

Study on mitochondria genetic polymorphism of Huanghuai Dorper sheep

HAN Haoyuan¹, DONG Pengfei², WANG Xianwei³, ZHANG Xiaolei⁴, XIN Xiaoling⁵, ZHANG Daojiang⁶,
ZHANG Zijun⁷, GUO Tingjun⁸, LI Jun¹, ZHAO Jinyan¹, HUANG Chaonan¹, QUAN Kai¹

(1. Henan University of Animal Husbandry and Economics, Zhengzhou 450046; 2. Wuyang County Animal Husbandry Bureau, Wuyang 462400; 3. Hena Husandry Breau, Zhengzhou 450008; 4. Hebi County Animal Husbandry Bureau, Hebi 458000; 5. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002; 6. Xunxian Xinlin Animal Husbandry Co. Ltd., Xunxian 456282; 7. School of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; 8. Puyang County Animal Husbandry Bureau, Puyang 457000)

Abstract: The genetic variations of mitochondria DNA are abundant, which is an important tool to analyze genetic diversity of populations. In this study, through genetic variations within D-loop sequences among Huanghuai Dorper sheep, Dorper sheep, Luxi sheep and Xiaowei Han sheep, the genetic diversity and genetic differentiation were analyze. The phylogenetic tree was constructed to determine genetic relationship and genetic distance among breeds. It showed that Huanghuai Dorper sheep had highly genetic diversity (haplotype diversity $h=0.984\ 21$ and nucleotide diversity $P_i=0.015\ 50$), it exhibits well hereditary stability and will not lead to population degradation. The phylogenetic tree showed that White head population and Black head population of Huanghuai Dorper sheep were clustered together, Luxi sheep and Xiaowei Han sheep were clustered together, then clustered with Dorper sheep. The genetic distance of Huanghuai Dorper was nearest to Dorper sheep (0.055) and farthest to Xiaowei Han sheep (0.070). Huanghuai Dorper sheep displayed highly genetic differentiation with other three sheep breeds. In conclusion, Huanghuai Dorper sheep showed abundant genetic diversity, well hereditary stability and the genetic distance of which was consistent with its breeding strategy. Therefore, Huanghuai Dorper sheep has reached the genetic request for a new sheep breed and could be carried forward for marketing.

收稿日期: 2019-02-24

基金项目: 博士启动基金 (906/24030103) 和 2019 河南省科技攻关项目 (192102110175) 共同资助。

作者简介: 韩浩园, 博士, 讲师。E-mail: hanhaoyuan@126.com

* 通信作者: 权凯, 博士, 副教授。E-mail: quankai1115@163.com

Key words: Huanghuai Dorper sheep; mt DNA; genetic relationship; genetic diversity

黄淮杜泊羊是以小尾寒羊和寒杂羊为母本、杜泊羊为父本, 采用传统育种与分子育种相结合的手段, 经过杂交创新阶段、横交固定阶段和群体扩繁 3 个阶段, 培育的适应黄淮平原地区饲养的专门化肉用品种。黄淮杜泊羊有黑头和白头群体, 均具有体型较大、体质结实丰满、体型呈桶状; 耐粗饲、对农区秸秆资源利用率高; 繁殖率高、每只母羊年提供断奶羔羊数 2.38 个; 肉用性能突出, 6 月龄公羊体重为(58.50±6.55)kg、母羊体重为(52.45±5.67)kg、屠宰率为(54.60±1.95)% (“黄淮杜泊羊”检测报告-农业农村部种羊及羊毛羊绒质量监督检验测试中心); 适合黄淮平原地区的气候环境等特点, 截至 2018 年底, 黄淮杜泊羊在黄淮地区的扩繁群数量超过 6 万只, 总存栏超过了 10 万只。

线粒体 DNA (mt DNA) 是细胞核外的遗传物质, 为母性遗传, 具有进化速度快、结构简单、分子质量小、无组织特异性及提取方便等特点, 是动物起源进化及群体遗传分化的理想研究对象^[1-2]。利用 mt DNA 测序方法分析品种的遗传多样性和品种间遗传变异得到了一致认可^[3-5]。本试验通过对黄淮杜泊羊与小尾寒羊、杜泊羊和鲁西黑头羊线粒体遗传多态性进行分析比较研究, 为评估黄淮杜泊羊的遗传多样性和遗传分化, 为该新品种的分子界定提供理论参考和依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

试验共采集了黄淮杜泊羊 ($n=20$, 黑头群体 10 只, 白头群体 10 只)、小尾寒羊($n=10$)、杜泊羊($n=10$)和鲁西黑头羊 ($n=10$) 共 50 个血液样本, 其中: 黄淮杜泊羊黑头羊来自浚县鑫林牧业有限公司, 黄淮杜泊羊白头羊和杜泊羊为河南绿源肉羊发展有限公司, 小尾寒羊血样为濮阳市畜牧工作站提供, 鲁西黑头羊血样来自聊城市兴堂牧业有限公司, 血样均为随机抽测, 利用 EDTA 抗凝管颈静脉采血 5 mL, -20 °C 保存备用。采用 DNA 提取试剂盒 (北京艾德莱生物科技有限公司) 提取全基因组 DNA。

1.2 PCR 扩增

采用生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成绵羊 D-loop 区引物序列, F: 5'-AGCCCCACTATC AACACC-3'; R: 5'-AAATAGTTACCCCCACAGTT AG-3'。PCR 扩增反应体系为 20 μ L: DNA 模板(100 ng· μ L⁻¹) 1 μ L, 正向引物和反向引物 (10 μ mol·L⁻¹) 各为 1 μ L, Taq PCR Master Mix 10 μ L (1 U Taq

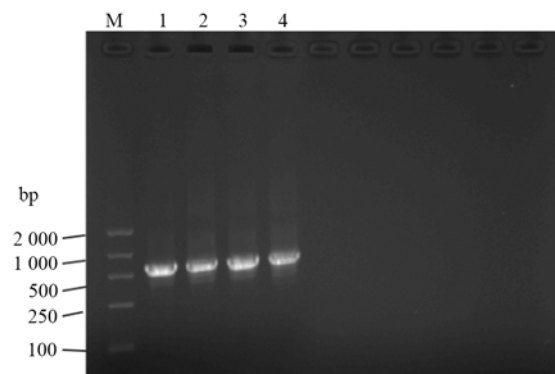
Polymerase、5 μ mol·L⁻¹ dNTP、0.2 mM Tris-HCl、1 mmol·L⁻¹ KCl、0.03 mmol·L⁻¹ MgCl₂), ddH₂O 7 μ L。PCR 扩增条件为: 95°C 预变性 3 min; 95°C 变性 30 s, 54°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 34 个循环; 72°C 延伸 5 min, 4°C 保存。

利用琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测, 确认产物大小与目的片段一致, 送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测序结果经由 MEGA 6.0 软件进行比对 (ClustalW) 分析^[6], 构建 Neighbour-Joining 系统发育树, 并采用 Kimura 2-parameter 距离模型^[7]计算品种间遗传距离。利用 DnaSP V5^[8]对 37 个个体的 mt DNA 序列进行单倍型多样性、核苷酸多样性、品种间遗传分化、种群间核苷酸平均差异数 (Kxy)、核苷酸歧义度 (Dxy) 等遗传学参数进行分析。

2 结果与分析

2.1 mtDNA 遗传多样性

50 个样本经过 PCR 扩增、凝胶电泳, 对条带单一、明亮、扩增条带大小与目的条带 (735 bp) 一致 (图 1) 的 37 个样本进行了后续测序分析。



M 为 Marker, 梯度分别为 2000 bp、1000 bp、500 bp、250 bp、100 bp; 1、2、3、4 分别为黄淮杜泊羊、杜泊羊、鲁西黑头羊和小尾寒羊 PCR 扩增检测结果

M: Marker, ladder: 2000 bp, 1000 bp, 500 bp, 250 bp, and 100 bp. 1, 2, 3, and 4 were PCR products of Huanghuai Dorper sheep, Dorper sheep, Luxi Black head sheep, and Xiaowei Han sheep

图 1 琼脂糖凝胶电泳检测结果

Figure 1 agarose gel electrophoresis results of PCR products

通过对 mt DNA D-loop 序列对比结果发现, 黄淮杜泊羊黑头和白头群体部分羊只出现了 D-loop 序列缺失; 黄淮杜泊羊与鲁西黑头羊和小尾寒羊比较, 部分黄淮杜泊羊 D-loop 序列缺失 76 bp; 黄淮杜泊羊与杜泊羊比较, 黄淮杜泊羊 D-loop 序列缺失 75 bp (图 2)。

2.2 遗传多样性评估

4个绵羊品种遗传多样性评估结果显示(表1),

4个绵羊品种遗传多样性均较高,黄淮杜泊羊的单倍型多样性为0.98421,核苷酸多样性为0.01550。

DO1 CATATAAGCAGCTACAT-AGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
DO2 CATATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCTCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
DO3 CATATAAGCAGCTACAT-AGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
DO4 CATATAAGCAGCTACAT-AGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
DO5 CATATAAGCAGCTACAT-AGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
DO6 CATATAAGCAGCTACAT-AGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
DO7 CATATAAGCAGCTACAT-AGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB1 CGTATAGGCAT-----GTACATTCA-----CTTCACTGA
HDB2 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB3 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB4 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB5 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCTCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB6 CATATAAGCAT-----GTACATTCA-----ATTCACTGA
HDB7 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB8 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB9 CATATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDB10 CATATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH1 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH2 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH3 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH4 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH5 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH6 CGTATAAGCAT-----GTACATTCA-----CTTCACTGA
HDH7 CGTATAAGCAT-----GTACATTCA-----CTTCACTGA
HDH8 CGTATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH9 CATATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
HDH10 CATATAAGCAGCTACAT-AATATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
LX1 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
LX2 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW1 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW2 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW3 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW4 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW5 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW6 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW7 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA
XW8 CATATAAGCAGCTATATTAGTATTAATGTAATATAGACATTATATGTATAAAGTACATTAAGTGATTACCCCATGCATATAAGCATGTACATTTGTTTCACTGA

DO为杜泊羊、HDH为黑头黄淮杜泊羊、HDB为白头黄淮杜泊羊、LX为鲁西黑头羊、XW为小尾寒羊

DO: Dorper sheep, HDH: Huanghuai Dorper sheep (black head), HDB: Huanghuai Dorper sheep (white head), LX: Luxi black head sheep, XW: Xiaowei Han sheep

图2 黄淮杜泊羊 mtDNA 缺失序列

Figure 2 mtDNA sequence deletion of Huanghuai Dorper sheep

表1 4个绵羊品种遗传多样性评估

Table 1 Genetic diversity of four sheep breeds

Table with 6 columns: 品种 Breeds, 多态位点数 n, 单倍型数 h, 单倍型多样性 Hd, 平均核苷酸差异度 k, 核苷酸多样性 Pi. Rows include Huanghuai Dorper sheep, Dorper sheep, Luxi black head sheep, Xiaowei Han sheep, and Total.

表2 4个绵羊品种间核苷酸平均差异数 Kxy (上) 和核苷酸歧异度 Dxy (下)

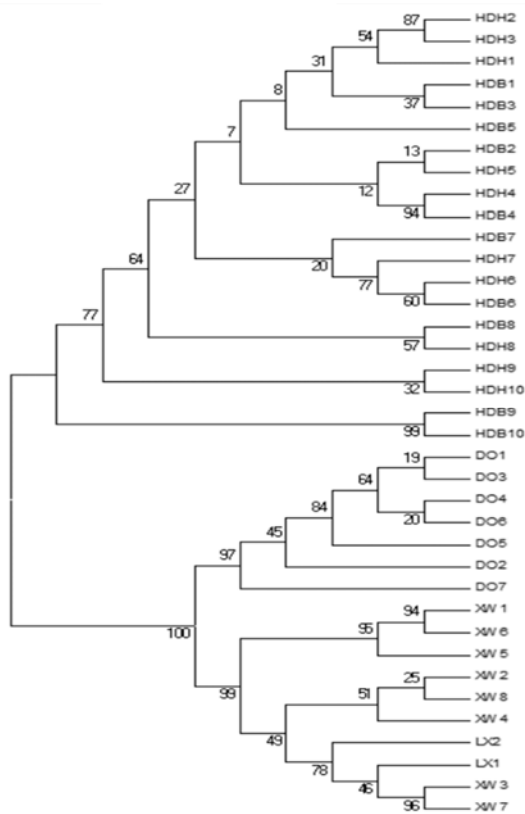
Table 2 Mean difference coefficient of nucleotide Kxy (up) and nucleotide discrepancy (down)

Table with 5 columns: 品种 Breeds, 黄淮杜泊羊 Huanghuai Dorper sheep, 杜泊羊 Dorper sheep, 鲁西黑头羊 Luxi black head sheep, 小尾寒羊 Xiaowei Han sheep. Rows compare pairs of breeds.

表3 4个绵羊品种间遗传分化系数 Gst (上) 和固定系数 Fst (下)

Table 3 genetic differentiation coefficient Gst (up) and fixity coefficient Fst (down)

Table with 5 columns: 品种 Breeds, 黄淮杜泊羊 Huanghuai Dorper sheep, 杜泊羊 Dorper sheep, 鲁西黑头羊 Luxi black head sheep, 小尾寒羊 Xiaowei Han sheep. Rows compare pairs of breeds.



DO 为杜泊羊、HDH 为黑头黄淮杜泊羊、HDB 为白头黄淮杜泊羊、LX 为鲁西黑头羊、XW 为小尾寒羊

DO: Dorper sheep, HDH: Huanghuai Dorper sheep (black head), HDB: Huanghuai Dorper sheep (white head), LX: Luxi black head sheep, XW: Xiaowei Han sheep

图 3 4 个绵羊品种系统发育树

Figure 3 phylogenetic tree of four sheep breeds based on Neighbour-Joining method.

2.3 遗传分化分析

遗传分化分析结果表明黄淮杜泊羊、杜泊羊、

鲁西黑头羊和小尾寒羊的核苷酸平均差异数范围为 9.375 00~41.031 25, 黄淮杜泊羊与杜泊羊间的 K_{XY} 最小, 与小尾寒羊差异最大; 核苷酸歧异度范围为 0.014 83~0.064 92, 同样, 黄淮杜泊羊与杜泊羊的 D_{XY} 差异最小, 与小尾寒羊差异最大, 与黄淮杜泊羊的血统来源相一致。4 个绵羊品种的遗传分化系数 (G_{ST}) 范围为 0.025 74~0.101 6, 分化系数越高证明品种间分化度越高, 4 个品种间 G_{ST} 均大于 0.25, 证明 4 个品种间的遗传分化程度大, 黄淮杜泊羊与鲁西黑头羊间的分化程度最高, 与小尾寒羊分化程度较低; 固定系数 (F_{ST}) 范围为 0.705 42~0.851 85, 黄淮杜泊羊与杜泊羊、鲁西黑头羊和小尾寒羊的 F_{ST} 差异不明显。

2.4 系统发育树和遗传距离

利用 Neighbour-Joining 方法进行 1 000 次自举检验, 基于转换、颠换信息构建黄淮杜泊羊、小尾寒羊、杜泊羊和鲁西黑头羊系统发育树。黄淮杜泊羊的黑头和白头群体聚为一类 (图 3), 说明这两个群体遗传差异小, 遗传稳定性高。鲁西黑头羊与小尾寒羊先聚为一类后, 接着与杜泊羊聚为一大类 (图 3), 证明鲁西黑头羊是小尾寒羊与杜泊羊杂交而来, 且小尾寒羊血统比例更大。

利用 MEGA 6.0 的 Kimura 2-parameter 距离模型和转换颠换信息分析品种间遗传距离, 黄淮杜泊羊与杜泊羊遗传距离为 0.055, 与鲁西黑头羊遗传距离为 0.063, 与小尾寒羊遗传距离为 0.070 (表 4), 均属于亚种间遗传距离 (0.02~0.20)。黄淮杜泊羊与杜泊羊遗传距离最近, 其次是鲁西黑头羊, 与小尾寒羊遗传距离较远。

表 4 品种间遗传距离

Table 4 Genetic distance between breeds

品种 Breeds	黄淮杜泊羊 Huanghuai Dorper sheep	杜泊羊 Dorper sheep	鲁西黑头羊 Luxi black head sheep	小尾寒羊 Xiaowei Han sheep
黄淮杜泊羊 Huanghuai Dorper sheep	—			
杜泊羊 Dorper sheep	0.055	—		
鲁西黑头羊 Luxi black head sheep	0.063	0.070	—	
小尾寒羊 Xiaowei Han sheep	0.070	0.053	0.016	—

3 讨论与结论

3.1 mtDNA 遗传多样性

线粒体遗传变异丰富, 是研究群体遗传多样性、群体遗传关系和遗传稳定性的重要手段^[9-13]。根据单倍型多样度和核苷酸遗传多样性定义范围^[14], 黄淮杜泊羊的单倍型多样性为 0.984 21, 远高于 0.5; 核苷酸多样性为 0.015 50, 远高于 0.005, 表明黄淮杜泊羊的遗传多样性丰富、且遗传稳定。黄淮杜泊

羊是利用杜泊羊作为父本、小尾寒羊和寒杂羊作为母本培育而成, 小尾寒羊主要分布在黄河中下游的河南、山东和河北境内, 在河南省小尾寒羊的存栏近 800 万只, 再加 2000 年以来利用引入的萨福克羊、杜泊羊和特克赛尔羊的杂交改良, 因此, 黄淮杜泊羊母本数量庞大, 血统来源广泛, mtDNA 遗传多样性分析结果也从分子层面证实了黄淮杜泊羊遗传多样性丰富。

部分黄淮杜泊羊个体 D-loop 序列缺失 75 bp, 由

于线粒体DNA D-loop区是一个高度多态性和突变性的区域, mtDNA多态性的原因是由碱基的增加、缺失和置换造成的^[15], 其长度多态性大部分来源于40 bp~10.4 kb的串联重复序列(绵羊中串联重复序列的长度为75 bp), 此外还有长度不等的插入或缺失^[16], mtDNA D-loop区域的基因多态性与衰老^[17-18]以及多种疾病的发生有关, 如血液透析^[19]、冠状动脉疾病^[20]、癌症^[21]和慢性肾病^[22]等。从遗传角度, 由于小尾寒羊、鲁西黑头羊和杜泊羊均未发现该缺失。因此, 对部分黄淮杜泊羊个体D-loop序列缺失还有待进一步研究。

3.2 遗传分化分析

系统发育树结果表明, 黄淮杜泊羊在遗传上明显区别于鲁西黑头羊、杜泊羊和小尾寒羊, 黄淮杜泊羊与杜泊羊、鲁西黑头羊和小尾寒羊的遗传距离分别为0.055、0.063和0.070, 均属于亚种间遗传距离(0.02~0.20)。由于黄淮杜泊羊的培育过程中, 杜泊羊的血统为75.00%、小尾寒羊和寒杂羊为25.00%, 并且经过了4代以上的横交选育, 因此, 黄淮杜泊羊与杜泊羊遗传距离最近, 鲁西黑头羊与小尾寒羊遗传距离最近, 结果与王金文等的研究一致^[23], 也与黄淮杜泊羊的育种路线有关, 黄淮杜泊羊黑头和白头群体遗传一致, 由于黑头和白头群体母本一致, 父本分别采用了黑头杜泊羊和白头杜泊羊, 黑头杜泊羊和白头杜泊羊虽然头部颜色不同, 却是遗传相同的同一个品种, 因此, 在黄淮杜泊羊也形成了黑头和白头群体, 但遗传一致。

本研究计算得到的遗传距离证明黄淮杜泊羊与杜泊羊关系最近, 与小尾寒羊最远, 品种间 K_{XY} 和 D_{XY} 数值与遗传距离结果一致, 验证了黄淮杜泊羊具有较丰富的遗传多样性和群体有效含量, 该结果也与黄淮杜泊羊的育种目的相一致。

黄淮杜泊羊遗传多样性丰富, 遗传分化程度较高, 部分黄淮杜泊羊个体D-loop序列缺失75 bp; 黄淮杜泊羊在遗传上明显区别于鲁西黑头羊、杜泊羊和小尾寒羊, 与杜泊羊遗传距离最近; 黄淮杜泊羊黑头和白头群体的遗传一致, 且群体遗传稳定。

参考文献:

- [1] XU W, JAMESON D, TANG B, et al. The relationship between the rate of molecular evolution and the rate of genome rearrangement in animal mitochondrial genomes[J]. *J Mol Evol*, 2006, 63(3): 375-392.
- [2] 张亚平, 施立明. 动物线粒体DNA多态性的研究概况[J]. *动物学研究*, 1992, 13(3): 289-298.
- [3] FAN H Y, ZHAO F P, ZHU C Y, et al. Complete mitochondrial genome sequences of Chinese indigenous sheep with different tail types and an analysis of phylogenetic evolution in domestic sheep[J]. *Asian Australas J Anim Sci*, 2016, 29(5): 631-639.
- [4] ZHAO E H, YU Q, ZHANG N Y, et al. Mitochondrial DNA diversity and the origin of Chinese indigenous sheep[J]. *Trop Anim Health Prod*, 2013, 45(8): 1715-1722.
- [5] HIENDLEDER S, LEWALSKI H, WASSMUTH R, et al. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype[J]. *J Mol Evol*, 1998, 47(4): 441-448.
- [6] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0[J]. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [7] KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. *J Mol Evol*, 1980, 16(2): 111-120.
- [8] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [9] 梁瑞圆, 陈晓勇, 孙洪新, 等. 五个地方绵羊种群mtDNA D-loop区系统进化及遗传多样性分析[J]. *华北农学报*, 2018, 33(1): 135-142.
- [10] 元鹏. 利用 mtDNA D-Loop 序列多态性挖掘四川绵羊遗传资源[D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- [11] 韩旭, 刘丑生, 刘刚, 等. 中国地方绵羊线粒体DNAD-loop区遗传多样性研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2015, 51(7): 10-15.
- [12] 臧胜芹, 陈晓勇, 杨凌, 等. 绵羊Cytb基因生物信息学分析[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(18): 24-27.
- [13] 王富强, 杨孝朴. 青藏高原阿旺绵羊线粒体基因组研究[J]. *中国草食动物科学*, 2016, 36(1): 1-4.
- [14] GRANT W, BOWEN B. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. *J Hered*, 1998, 89(5): 415-426.
- [15] 包鹏甲. 中国5个绵羊群体mtDNA D-环序列差异及系统进化分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2007.
- [16] 牛华锋, 陈玉林, 任战军, 等. 9个地方绵羊品种mtDNA D-loop高变区序列分析[J]. *西北农业学报*, 2008, 17(4): 5-9.
- [17] SONDEHEIMER N, GLATZ C E, TIRONE J E, et al. Neutral mitochondrial heteroplasmy and the influence of aging[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(8): 1653-1659.
- [18] DO ROSÁRIO MARINHO A N, DE MORAES M R, SANTOS S, et al. Human aging and somatic point mutations in mtDNA: a comparative study of generational differences (grandparents and grandchildren)[J]. *Genet Mol Biol*, 2010, 34(1): 31-34.
- [19] CHEN J, YANG Y, LEE W, et al. Sequence-based polymorphisms in the mitochondrial D-loop and potential SNP predictors for chronic Dialysis[J]. *Plos One*, 2012, 7(7): e41125.
- [20] MUELLER EE, EDER W, EBNER S, et al. The mitochondrial T16189C polymorphism is associated with coronary artery disease in Middle European populations[J]. *Plos One*, 2012, 6(1): e16455.
- [21] ZHANG R X, ZHANG F B, WANG C J, et al. Identification of sequence polymorphism in the D-Loop region of mitochondrial DNA as a risk factor for hepatocellular carcinoma with distinct etiology[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29(1): 130.
- [22] 艾晓璐. 线粒体DNA D-loop基因多态性与慢性肾脏病发病风险关系的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [23] 王金文, 崔绪奎, 陶卫东, 等. 鲁西黑头羊 mtDNA D-loop区遗传多样性与遗传分化研究[J]. *山东农业科学*, 2016, 48(9): 115-118.