

波尔山羊及其杂交改良后代群体遗传结构与亲缘关系研究

李祥龙¹, 巩元芳¹, 刘铮铸¹, 张增利²

(1. 河北职业技术师范学院动物科学系, 昌黎 066600; 2. 河北农业大学动物科学与医学学院, 保定 071001)

摘要: 利用 RAPD 标记和 POPGENE、PHYLIP 及 SPSS 等统计分析软件, 研究了波尔山羊及其杂交改良后代群体的遗传结构及遗传亲缘关系。结果表明, 波尔山羊与其杂交改良后代间特别是高代杂种间具有相似的多态基因座百分率、等位基因数和基因多样性。随着级进杂交改良代数的递增, 高代杂种之间以及与改良亲本之间的群体遗传结构的差异逐渐缩小, 群体间的基因分化降低, 基因流动和遗传相似性增加, 遗传距离缩小, 高代杂种与波尔山羊间具有更近的遗传亲缘关系。

关键词: 波尔山羊; 杂交后代; 遗传结构; 亲缘关系; RAPD

中图分类号: Q953

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2003)04-0397-04

Studies of Genetic Structure and Genetic Relationship of Boer Goat and Its Upgrading Offspring to Tangshan Diary Goat

LI Xiang-Long¹, GONG Yuan-Fang¹, LIU Zheng-Zhu¹, ZHANG Zeng-Li²

(1. Department of Animal Science, Hebei Vocation-technical Teachers College, Changli 066600, China;

2. College of Animal Science and Medicine, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Abstract: The genetic structure and relationship of Boer goat and its upgrading offspring to Tangshan Diary goat were studied using the RAPD marker and some statistical program, such as POPGENE, PHYLIP and SPSS. The results indicated that there were the similar percentage of polymorphic loci, observed and effective number of alleles, gene diversity between Boer goat and its upgrading offspring, especially higher upgrading offspring. With the increasing of upgrading, the difference of population structure decreased as well as the genetic distance and differentiation among higher upgrading offspring and their improving parental, but gene flow and genetic identity increased. There was a close genetic relationship between higher upgrading offspring and Boer goat.

Key words: Boer goat; upgrading offspring; genetic structure; genetic relationship; RAPD

目前, RAPD 标记已被广泛用于动植物群体遗传变异及遗传分化的研究中。随着波尔山羊纯种繁育以及杂交改良进程的推进, 利用分子生物学技术研究波尔山羊及其杂交改良后代群体遗传结构就具有十分重要的意义。李祥龙等^[1] 利用 RAPD 技术研究了波尔山羊及其杂交改良后代间的遗传亲缘关系, 但仅

限于杂交一代与杂交亲本之间, 而且对群体遗传结构也没有进行详细描述。为进一步了解波尔山羊及其杂交改良后代间群体的遗传结构, 我们利用 RAPD 技术对波尔山羊、唐山奶山羊及其级进杂交改良一代、二代和三代群体的遗传结构及亲缘关系进行了研究, 以为波尔山羊的杂交改良工作提供科学依据。

收稿日期: 2002-07-15; 修回日期: 2003-03-18

基金项目: 河北省教育厅项目(编号: 2001249)部分研究内容; 河北省自然科学基金项目(编号: 399278)

作者简介: 李祥龙(1963-), 男, 河北丰南人, 博士, 教授, 主要从事动物遗传育种的研究。E-mail: Lixianglongcn@yahoo.com

1 材料和方法

试验材料来自“秦皇岛市波尔山羊繁育改良研究中心”(河北职业技术师范学院)的科研羊群,共分析了 5 个山羊群体 119 个样本,其中波尔山羊 38 只,唐山奶山羊 7 只,杂交一代 8 只,杂交二代 51 只,杂交三代 15 只。各山羊群体均采血样以酚抽提法提取基因组 DNA。基因组 DNA 的提取、纯化和 PCR 扩增条件与文献[2]相同。

试验首先利用 60 种随机引物进行筛选,最后选出 21 种条带清晰、重复性好的引物(表 1)进行扩增,试验所用 Taq 酶和相应的缓冲液,以及 dNTP 等均为 Promega 公司产品。

表 1 21 种随机引物碱基序列

Table 1 The base sequences of 21 arbitrary primers

引物名称 Arbitrary primer	碱基序列 Base sequence	引物名称 Arbitrary primer	碱基序列 Base sequence
OPO02	ACGTAGCGTC	OPP06	GTGGGCTGAC
OPO04	AAGTCCGCTC	OPP09	GTGGTCCGCA
OPO07	CAGCACTGAC	OPP16	CCAAGCTGCC
OPO10	TCAGAGCGCC	OPP17	TGACCCGCCT
OPO11	GACAGGAGGT	OPQ01	GGGACGATGG
OPO12	CAGTGCTGTG	OPQ04	AGTGCCTGA
OPO13	GTCAGAGTCC	OPQ06	GAGCGCCTTG
OPO15	TGGCGTCCTT	OPQ12	AGTAGGGCAC
OPO20	ACACACGCTG	OPQ16	AGTGCAGCCA
OPP03	CTGATACGCC	OPQ18	AGGCTGGGTG
OPP04	GTGTCTCAGG		

波尔山羊及其杂交改良后代群体的遗传多样性采用 POPGENE 软件(Version 1.31, ftp://ftp. microsof. com/Softlib/MSLFILES/HPGL. EXE)进行计算,主要包括各群体的观察等位基因数(observed number of alleles)、有效等位基因数(effective number of alleles)、基因多样性(gene diversity)、Shanno 信息指数(Shannon's information index)、群体内基因多样性(H_s)、总群体基因多样性(H_t)、群体间基因多样性(G_{st})、群体间的基因流动(estimate of gene flow, N_m)^[3]和遗传相似度(genetic identity)^[4]。根据各基因座基因频率,利用 Internet 统计软件([http://jay. au. poznan. pl/~tomjan/ds. htm](http://jay.au.poznan.pl/~tomjan/ds.htm))计算各群体的多态信息含量(polymorphic information content, PIC)和群体间的 Nei's 标准遗传距离(standard genetic distance),并利用 PHYLIP 程序(Version 3.6a2.1)中的 UPGMA 方法进行群体间的聚类分析。对于各群体

中每个基因座的观察等位基因数、有效等位基因数、基因多样性、Shanno 信息指数和 PIC,利用 SPSS (Version 10.0)统计软件进行群体间的统计检验。为与以往的结果比较,另采用 Shannon 多样性指数^[5]计算各群体的遗传多样性指数(H_o)。

2 结果和讨论

2.1 波尔山羊及其杂交改良后代群体基因多样性

利用 21 种随机引物共扩增出 64 条清晰且多态性丰富的条带(图 1),即 64 个多态基因座。各群体的多态基因座数及多态基因座百分率有较大差异(见表 2),从杂交亲本来看,波尔山羊的多态基因座百分率为 79.69%,高于唐山奶山羊的 60.94%,而杂交一代羊的 40.62%则显著低于两个杂交亲本。这进一步说明了杂交降低了群体的杂合度,使群体趋向一致。而随着级进杂交代数的提高,杂交二代羊达到 92.19%,说明基因又出现了较大程度的分离。杂交三代羊 81.25%的多态基因座百分率与波尔山羊的 79.69%已十分接近,说明随着级进杂交代数的提高,高代杂种群体多态基因座逐渐接近于杂交改良的父本品种。

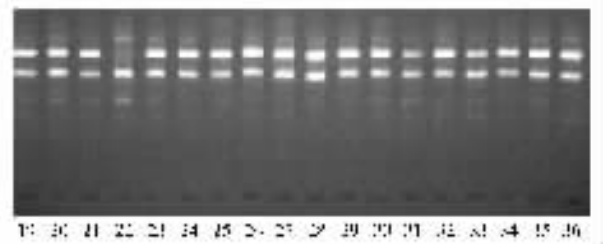


图 1 引物 OPP09 的扩增产物

Fig. 1 Amplified products of primer OPP09

(19~36 均为波尔山羊)

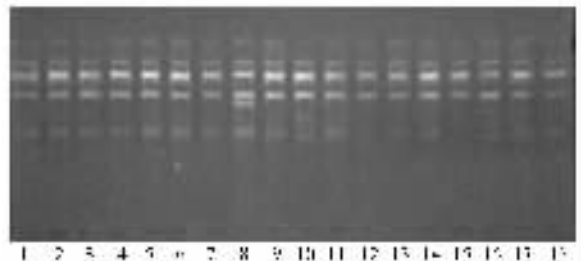


图 2 引物 OPP17 的扩增产物

Fig. 2 Amplified products of primer OPP17

(1~8 为杂交一代羊,9~18 为波尔山羊)

表 2 杂交亲本和级进杂交后代群体等位基因数及遗传多样性

Table 2 number of alleles and genetic diversity of Boer goat and its upgrading offspring to Tangshan diary goat

项 目 Item	波尔山羊 Boer goat	杂交一代 F ₁	杂交二代 F ₂	杂交三代 F ₃	唐山奶山羊 Tangshan diary goat
多态基因座数 Number of polymorphic loci	51	26	59	52	39
多态基因座百分率 Percentage of polymorphic loci	79.69 %	40.62 %	92.19 %	81.25 %	60.94 %
观察等位基因数 Observed number of alleles	1.80±0.41a	1.41±0.50b	1.92±0.27a	1.81±0.39a	1.61±0.49c
有效等位基因数 Effective number of alleles	1.48±0.34ac	1.29±0.39b	1.57±0.30a	1.57±0.35a	1.43±0.40c
基因多样性 Gene diversity	0.29±0.18ac	0.16±0.21b	0.34±0.14a	0.32±0.18a	0.24±0.21c
Shanno 信息指数 Shannon's information index	0.43±0.25ac	0.23±0.30b	0.50±0.19a	0.47±0.26a	0.35±0.30c
PIC	0.23±0.14a	0.16±0.22b	0.27±0.11a	0.26±0.14a	0.19±0.16a
遗传多样性指数 Genetic diversity index	0.12±0.05	0.10±0.24	0.15±0.10	0.14±0.35	0.23±0.79

注:各列间的相应值标以不同字母者表示差异显著, $P < 0.05$ 。

利用 POPGENE 软件所计算的各群体观察等位基因数、有效等位基因数、基因多样性和 Shanno 信息指数, 以及利用 SPSS 统计分析软件对上述指标进行的各群体的统计检验结果如表 2 所示。观察等位基因数、有效等位基因数、基因多样性、Shanno 信息指数(反映基因多样性的指标之一)和多态信息含量(PIC)在各群体间的变异表现出与多态基因座百分率类似的结果, 均是杂交一代的相应值不仅显著低于杂交亲本($P < 0.05$)而且显著低于杂交二代和三代($P < 0.05$)。另外, 杂交二代和三代之间以及与波尔山羊之间的相应值已无显著差异($P > 0.05$), 而与唐山奶山羊之间的差异已达显著水平($P < 0.05$)。遗传多样性指数(H_o)的变化与上述各指标的变化趋势基本一致, 只是唐山奶山羊的该值高于波尔山羊, 与其他指标在这两个群体间的变异稍有差异, 但在杂交亲本与杂交后代间总的变异趋势是一致的。以上结果进一步说明, 杂交结果使杂交一代的群体杂合度降低, 符合杂交的遗传学效应, 并且随着级进杂交改良代数的递增, 高代杂种之间, 以及与改良亲本之间的差异逐渐在缩小, 与被改良的亲本之间差异在加大, 杂交三代的各指标与波尔山羊已十分接近, 而且已无显著差异。

在我们以往利用 5 个随机引物的研究结果中^[1], 波尔山羊(18 只)、唐山奶山羊(24 只)以及杂交一代羊(33 只)的群体遗传多样性指数(H_o)分别为 0.65、0.55 和 0.62, 与本文所得到的 0.12、0.23

和 0.10 绝对值的差异较大, 可能与样本数和利用的引物多少有关, 但杂交后代群体遗传多样性的总体变化趋势仍然是一致的。

表 3 给出了利用 POPGENE 软件计算得到的包含不同群体情况下基因多样性在总群体、群体内和群体间的变异及群体间的基因流动情况。由表 3 可看出, 当所包含的群体依杂交代数增加而减少时, 基因多样性(杂合度)在总群体内(H_t)的变异不大, 在群体内随杂交代数的提高而呈提高趋势(H_s)。群体间的基因多样性(G_{st} , 基因分化系数)表明, 随级进杂交代数的提高, 群体间的基因分化在降低, 而基因的流动(Nm)在增加。在总的遗传变异中, 只有 6% 左右存在于波尔山羊、杂交二代以及杂交三代之间, 大约 94% 的遗传变异存在于群体内部。以上结果表明, 波尔山羊对唐山奶山羊的级进杂交改良已经使杂交改良后代群体的遗传结构和基因多样性逐渐接近于波尔山羊, 这与杂交改良后代特别是高代杂种的体重生长发育接近波尔山羊的测定结果是一致的^[9]。应该指出的是, 波尔山羊与杂交三代间的基因分化系数(0.0612)还稍高于有杂交二代存在时的情形, 这似乎与理论和实际不符, 可能与杂交三代的样品数较少有关。

2.2 波尔山羊及其杂交改良后代间的亲缘关系

各群体间的遗传相似度和标准遗传距离如表 4 所示^[8], 利用 UPGMA 方法所得到的各群体间的分子聚类关系见图 3。

表 3 群体遗传分化分析

Table 3 The analysis of genetic differentiation of population

所包含群体 Including populations	H_t	H_s	G_{st}	N_m
B, F ₁ , F ₂ , F ₃ , T	0.3327±0.0152	0.2699±0.0137	0.1887	2.1494
B, F ₁ , F ₂ , F ₃	0.3077±0.0129	0.2774±0.0176	0.0985	4.5751
B, F ₂ , F ₃	0.3357±0.0168	0.3162±0.0169	0.0579	8.1371
B, F ₃	0.3249±0.0215	0.3050±0.0211	0.0612	7.6695

注: B, F₁, F₂, F₃ 和 T 分别表示波尔山羊、杂交一代、杂交二代、杂交三代和唐山奶山羊。

表 4 各群体间的遗传相似度和遗传距离

Table 4 The genetic identity and the average index of genetic distance between populations

	B	F ₁	F ₂	F ₃	T
B		0.9561	0.9818	0.9536	0.8304
F ₁	0.0756		0.9512	0.9348	0.8215
F ₂	0.0665	0.1194		0.9639	0.8432
F ₃	0.0587	0.1049	0.0923		0.8365
T	0.3408	0.3345	0.3723	0.3506	

注: 上三角为遗传相似度, 下三角为遗传距离。

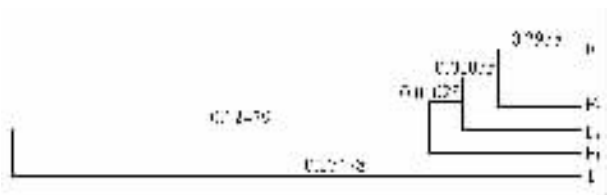


图 3 波尔山羊及其杂交后代与本地山羊 UPGMA 聚类图

Fig. 3 The UPGMA dendrogram of Boer goat and its upgrading offspring to Tangshan dairy goat

(The data in figure are the length of branches)

各群体间的遗传相似度、遗传距离和分子聚类关系基本反映了波尔山羊及其杂交改良后代间的遗传亲缘关系。波尔山羊与其级进杂交改良后代间具有较大的遗传相似度(0.9536~0.9818), 而与唐山奶山羊之间仅为 0.8304; 同时, 波尔山羊与其杂交改良后代也有较近的遗传距离(0.0587~0.0756), 而与唐山奶山羊间达到 0.3408。此外, 杂交改良后代也呈现出较高的遗传相似度和较小的遗传距离。波尔山羊首先与杂交三代聚为一类, 然后依次是杂交二代、一代, 最后是唐山奶山羊。这一聚类结果与其级进杂交改良关系是一致的。同时, 由各群体间的分子聚类图中的各分支的长度也可以看出, 波尔山羊及其杂交改良后代与唐山奶山羊之间已经出现了明显的遗传分化。研究结果表明, 波尔山羊对唐山奶山羊的级进杂交改良, 已经使杂交改良后

代群体与波尔山羊间具有了较近的遗传亲缘关系, 而与唐山奶山羊之间具有了明显的遗传分化。这与杂交改良后代特别是高代杂种的体重生长发育接近波尔山羊的测定结果也是一致的^[6]。

综上所述, 波尔山羊与其杂交改良后代间特别是高代杂种间具有相似的多态基因座百分率、等位基因数和基因多样性, 随着级进杂交改良代数的递增, 高代杂种之间, 以及与改良亲本之间的差异逐渐在缩小, 群体间的基因分化在降低, 而基因的流动(N_m)在增加, 杂交改良后代与波尔山羊间的遗传相似度在增加, 遗传距离在缩小, 高代杂种与波尔山羊间具有更近的遗传亲缘关系。结果表明, 波尔山羊对唐山奶山羊的级进杂交改良已经使杂交改良后代群体与波尔山羊间具有了相似的群体遗传结构、基因多样性和较近的遗传亲缘关系, 改良效果从遗传角度来讲是显著的。

参考文献(References):

- [1] LI Xiang-Long, TIAN Qing-Yi, MA Guo-Qiang, LIU Jin-Fu, FENG Min-Shan, NIU Yi-Bing, SUN Nai-Quan, MA Guang-Xing, GUO Run-Min. Studies of random amplified polymorphic DNA(RAPD) of different goat populations crossbred by Boer goat[J]. Hereditas(Beijing), 2000, 22(2): 75~77.
李祥龙, 田庆义, 马国强, 刘金福, 冯敏山, 牛一兵, 孙乃权, 马广星, 郭润民. 波尔山羊杂交后代及其亲本随机扩增多态 DNA 研究[J]. 遗传, 2000, 22(2): 75~77.
- [2] GONG Yuan-Fang, LI Xiang-Long, LIU Zheng-Zhu, LI Jin-Quan. Studies of random amplified polymorphic DNA(RAPD) of main indigenous sheep breeds in China[J]. Hereditas(Beijing), 2002, 24(4): 423~426.
巩元芳, 李祥龙, 刘铮铸, 李金泉. 我国主要地方绵羊品种随机扩增多态 DNA 研究[J]. 遗传, 2002, 24(4): 423~426.
- [3] Nei. Molecular Evolutionary Genetics[M]. Columbia University Press, New York, 1987.
- [4] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978, 89: 583~590.
- [5] Wachria F N, Waugh R, Hackett C A, et al. Detection of genetic diversity in tea(Camellia Sinensis) using RAPD markers[J]. Genome, 1995, 38: 201~209.
- [6] LI Xiang-Long, LIU Zheng-Zhu, GONG Yuan-Fang, ZHANG Shao-Qing. Study on body weight variation of Boer goat and its upgraded offspring[J]. Journal of Hebei Vocation-Technical Teachers College, 2001, 15(4): 1~4.
李祥龙, 刘铮铸, 巩元芳, 张少庆. 波尔山羊及其杂交改良后代体重变异研究[J]. 河北职业技术师范学院学报, 2001, 15(4): 1~4.