

利用微卫星标记对中国 4 种小型猪的遗传多样性研究

王 昕¹, 曹红鹤², 耿社民¹, 李宏滨², 马月辉², 郑友民²

(1. 西北农林科技大学畜牧兽医学院, 杨凌 712100; 2. 中国农业科学院畜牧研究所, 北京 100094)

摘 要: 本研究通过 10 个微卫星位点对我国特有的 4 种小型猪种(五指山猪、滇南小耳猪、贵州小型香猪、巴马香猪)进行了遗传学检测, 结果表明: 除 S0003 位点表现为单态外, 其它 9 个位点均为高度或中度多态位点; 4 种小型猪种群体内的遗传多样性比较高, 平均基因杂合度分别为 0.7165、0.6611、0.6602、0.5990; 多态信息含量在 0.5774~0.6871 之间; 五指山猪与贵州小型香猪的遗传距离较近, 与滇南小耳猪次之, 它们与巴马香猪都较远。

关键词: 微卫星; 小型猪; 遗传多样性

中图分类号: S813.3

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2002)06-0530-03

我国是世界上地方猪种最多的国家。分布在我国南部热带和亚热带的滇南小耳猪、五指山小型猪、贵州小型香猪及广西巴马小型香猪等是我国特有的 4 种小型猪资源, 在分类上属于华南型猪, 一般成年体重在 40 kg 左右, 具有体重小、抗逆性强、性成熟早、肉质好、节约饲料等特点, 因而受到了国内外有关学者和生产者的关注和重视。

微卫星 DNA 又称短串联重复序列(Short tandem repeat, STR), 在生物基因组中一般以 1~6 核苷酸为其核心序列、首尾相连组成串联重复序列, 重复数 10~20 次。微卫星标记与其它分子标记技术相比, 具有多态信息含量高、呈共显性遗传等优点, 因此在品种资源分类及畜禽遗传多样性的评估和保存中, 微卫星被作为重要的遗传标记之一。本研究通过 Rohrer 等(1994)发表的猪微卫星引物序列^[6], 对我国 4 种小型地方猪种从分子水平上揭示其遗传变异程度、品种间的亲缘关系, 为品种资源的保存、利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源 实验所用的样本分别采自海南省海口市五指山猪原种场(五指山猪, 60 头), 西双版纳种猪场(滇南小耳猪, 59 头), 贵州省畜禽良种场(香猪, 60 头)。巴马香猪样品(46 头)由第三军医大学魏泓教授惠赠。

1.2 DNA 提取 采用新鲜血液加裂解液的方法。

参照《分子克隆实验指南》中的酚抽提法^[2]。

1.3 微卫星多态性检测 10 个猪微卫星引物序列(Rohrer 等, 1994^[6])由北京赛百盛公司合成。PCR 扩增, 产物进行垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)。固定、染色后, 利用 KODAK 凝胶成像系统进行照相并保存。

1.4 统计分析 计算 4 种小型猪在 10 个微卫星位点上的基因频率、平均杂合度(H)、多态信息含量(PIC)和有效等位基因数(N_e); 利用 PHYLIP 软件计算 Nei 氏遗传距离, 并进行 UPGMA 聚类^[4]。

2 结果

2.1 4 种小型猪的遗传距离分析 由表 1 可知, 4 种小型猪的 Nei 氏标准遗传距离中, 五指山猪与巴马香猪的遗传距离最远, 与滇南小耳猪次之, 与贵州小型香猪的距离最近。滇南小耳猪和巴马香猪的遗传距离较远。此结果与应用 Cavalli-Sforza 和 Edwards 余弦距离所得的结果一致。根据 Nei 氏遗传距离绘制 4 种小型猪的 UPGMA 聚类结构见图 1。

表 1 4 种小型猪的遗传距离

Table 1 The genetic distance of the four miniature pig breeds

品种 Breed	WZ	DN	GZ	BM
WZ	0.0000	0.4172	0.3612	0.5795
DN	0.1026	0.0000	0.5293	0.6749
GZ	0.0979	0.1243	0.0000	0.8085
BM	0.1315	0.1573	0.1584	0.0000

注: 1. 上三角为 Nei 氏标准遗传距离, 下三角为 Cavalli-Sforza 和 Edwards 余弦距离。2. WZ: 五指山猪, DN: 滇南小耳猪, GZ: 贵州小型香猪, BM: 巴马香猪。

收稿日期: 2001-12-13

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目资助(G2000016106)

作者简介: 王昕(1975-), 女, 硕士, 主要从事动物遗传资源研究。

通讯作者: 曹红鹤(1961-), 女, 博士, 副研究员。

2.2 4 种小型猪的遗传变异分析 10 个微卫星位点中共检测到 9 个多态性位点。4 种小型猪种在这 9 个微卫星位点上的平均基因杂合度、多态信息含量和有效等位基因数计算结果见表 2。由表 2 的分析结果可知, 4 种小型猪的平均杂合度较高, 在 0.5990~0.7165 之间; 多态信息含量在 0.5774~0.6871 之间, 属于高度多态; 平均有效等位基因数在 3.1265~3.8811 之间。

2.3 PAGE 电泳结果 贵州小型香猪在 Sw995 位点的部分电泳图谱见图 2。

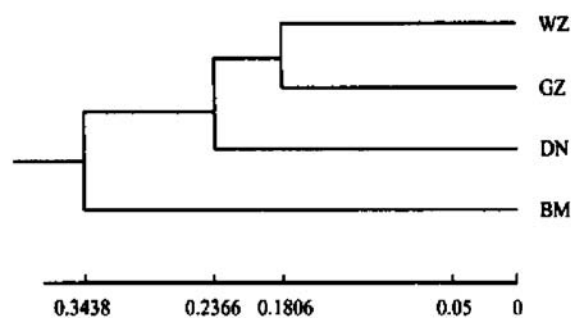
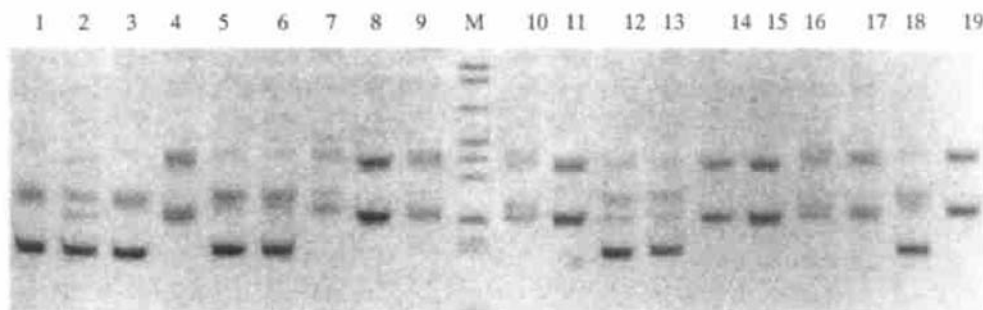


图 1 4 种小型猪的 UPGMA 聚类图
Fig. 1 UPGMA dendrogram of four miniature pig breeds from Nei's genetic distance



1-19: 贵州小型香猪 1-19 号个体, M: PBR322DNA/mspI Marker

图 2 GZ 在 Sw995 位点的部分 PAGE 图谱

Fig. 2 The partial PAGE pictures of GZ pig at Sw995 micro-satellite loci

3 讨论

3.1 品种内的遗传多样性 用多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC) 描述微卫星位点的变异程度, 当 $PIC > 0.5$ 时, 为高度多态; $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态; 而当 $PIC < 0.25$ 时为低度多态。本研究除 S0003 位点表现为单态外 ($PIC = 0$), 在其它位点均表现为中度或高度多态 (其中 Sw790 位点为中度多态, 平均 $PIC = 0.4671$), 这说明中国地方品种的遗传多样性较高。Li 等 (2000) 用微卫星方法估计了中国 7 个猪种的遗传多样性, 结果表明, 中国地方猪种的遗传多样性高于外来品种, 这说明微卫星位点的变异程度能反应品种间的特异性^[8]。

由于微卫星标记比血型、蛋白质位点更具有多态性, 由其计算出的基因杂合度一般在 0.3~0.8 之间, 因此在估测遗传距离, 尤其是亲缘关系较近的群体间就更为精确。Van Zeveren 等 (1995) 利用 7 个微卫星标记对 4 个比利时猪种进行了研究, 通过等位基因频率、多态信息含量 (PIC)、遗传杂合度、有效等位基因数及品种内个体相似概率等 5 个指标的比较, 得出了品种内的遗传差异和遗传关系, 其平均杂

合度在 0.54~0.67 之间^[9]。Kacirek (1998) 采用 18 个微卫星标记研究了约克夏等 3 个品种的遗传差异^[7]。樊斌等 (1999) 用 27 个微卫星位点对通城猪、清平猪和阳新猪的遗传分析结果发现, 其平均杂合度在 0.6293~0.7489 之间, PIC 值为 0.6094~0.7433^[1]。本文通过 9 个多态性微卫星位点对 4 种小型猪的研究结果发现, 各品种的平均杂合度在 0.5990~0.7165 之间, PIC 值为 0.5774~0.6871 之间, 有效等位基因数在 3.1265~3.8811 之间。与樊斌等的研究结果相比较, 小型猪的平均杂合度较其他地方猪种的杂合度低, 这可能与小型猪的长期闭锁繁育有关。

3.2 品种间的遗传距离 遗传距离常用来反映品种间的亲缘关系, 研究发现五指山猪和贵州小型香猪之间的遗传距离较近 (0.3612), 而与巴马香猪较远 (0.5795)。贵州小型香猪和巴马香猪之间的遗传距离最远 (0.8085)。而商海涛等 (2001) 利用 35 个微卫星标记对贵州小型香猪、广西巴马小型猪、版纳小耳猪近交系进行了遗传学分析, 结果表明 3 个品系的小型猪其基因纯合率均较高, 版纳小耳猪近交

表 2 4 种小型猪的平均基因杂合度、多态信息含量和有效等位基因数

Table 2 The average heterozygosity, polymorphism information content and effective numbers of alleles in the four miniature pig breeds

位点 Locus		WZ	DN	GZ	BM
IGF-1	H	0.6996	0.6148	0.7703	0.6643
	PIC	0.6473	0.5391	0.7359	0.6291
	N _e	3.2992	2.5961	4.3573	3.1299
S0005	H	0.6703	0.6875	0.6249	0.6366
	PIC	0.6441	0.6360	0.5453	0.5677
	N _e	3.0331	3.2000	2.6660	2.7518
S0008	H	0.7428	0.7292	0.7351	0.7564
	PIC	0.7013	0.6849	0.6870	0.7169
	N _e	3.8880	3.6928	3.4364	4.1051
S0010	H	0.7693	0.4975	0.7213	0.5244
	PIC	0.7678	0.3738	0.6736	0.4690
	N _e	4.9092	1.9900	3.5881	2.1026
Sw769	H	0.7407	0.6903	0.7498	0.7867
	PIC	0.7180	0.6376	0.7073	0.7555
	N _e	3.8565	3.2289	3.9968	4.6882
Sw781	H	0.7142	0.7032	0.6077	0.0000
	PIC	0.6788	0.6563	0.5614	0.0000
	N _e	3.4990	3.3693	2.5491	1.0000
Sw790	H	0.5115	0.5369	0.4494	0.3705
	PIC	0.4715	0.5136	0.3484	0.4555
	N _e	2.2297	2.1594	1.8162	1.5886
Sw995	H	0.7721	0.7662	0.7354	0.8686
	PIC	0.7484	0.7378	0.6923	0.8547
	N _e	4.3879	4.2722	3.7793	7.6104
Sw1032	H	0.8284	0.7245	0.5475	0.7832
	PIC	0.8065	0.6833	0.4441	0.7484
	N _e	5.8275	3.6298	2.2099	4.6125
平均	H	0.7165	0.6611	0.6602	0.5990
	PIC	0.6871	0.6069	0.5995	0.5774
	N _e	3.8811	3.1265	3.1555	3.5099

系的基因纯合率最高; PIC 和平均杂合度均较低, 贵州小型香猪和广西巴马小型猪亲缘关系较近, 它们之间的遗传距离为 0.2472^[3]。造成此差异的原因是所用样本为随机取样, 而商海涛等所用样本均为利用原产地近交程度较高的基础群经过 10 余年封闭或近交培育而建立的品系; 另外, 所选的微卫星位点数目不同是导致结果不同的另一重要原因。

参考文献:

- [1] 樊斌, 李奎, 彭中镇, 等. 湖北省三品种猪 27 个微卫星位点的遗传变异[J]. 生物多样性, 1999, 7(2): 91~96.
- [2] 萨姆布鲁克, 弗里奇等著. 金冬雁, 黎孟枫等译. 分子克隆实验指南(第二版), 科学出版社, 1992.
- [3] 商海涛, 牛荣, 黄中波, 等. 三品系小型猪 35 个微卫星基因座的遗传学研究[J]. 遗传, 2001, 23(1): 17~20.
- [4] 吴登俊, 马丁. 费尔斯特. 家畜基因组遗传多态标记—微卫星标记研究进展(上)[J]. 国外畜牧科技, 1999, 26(1): 33~35.
- [5] Gary A Rohrer, Leeson J Alexander, John W Keele, et al. A microsatellite linkage of the porcine genome[J]. Genetics, 1994, 136: 231~245.
- [6] Kacirek SL, Rogers AR, Banshad M, et al. Variation at microsatellite loci in the Large White, Yorkshire and Hampshire breeds of swine. Proc 6th WCGALP, 1998, 23: 640~643.
- [7] X Li, K Li, B Fan, et al. The genetic diversity of seven pig breeds in China, Estimated by means of microsatellites[J]. Asiarr Aus J Anim Sci, 2000, 13(9): 1193~1195.
- [8] Varr Zeveren A, Peelman L, Van de Weghe A, et al. A genetic study of four Belgian pig populations by means of seven microsatellite loci[J]. J Anim Breed Genet, 1995, 112(3): 191~204.

Chinese Miniature Pigs' Genetic Diversity by Using Micro-satellite Marker

WANG Xin¹, CAO Hong-he², GEN She-min¹, LI Hong-bin², MA Yue-hui², ZHENG You-min²

(1. College of Anim Sci and Vet Med, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, 712100; 2. Institute of Animal Science, CAAS, Beijing, 100094)

Abstract: The study was on the Chinese four miniature pigs by using ten micro-satellite loci. The result was showed that: 9 of the 10 microsatellite loci were medium or high polymorphism, but S0003 was single. The genetic diversity in the four populations was higher, and the average genetic heterozygosity was 0.7165, 0.6611, 0.6602, 0.5990, respectively. The average polymorphism information content was between 0.5774 and 0.6871. The genetic distance between Wuzhishan Pig and Guizhou Miniature Xiang Pig is the nearest and between Wuzhishan and Diannan Xiaoe is nearer. They are all far from Bama Xiang Pig.

Key words: Microsatellite; Miniature pig; Genetic diversity