

内蒙古绒山羊 *KAP* 基因与经济性状关系的研究

张亚妮,张恩平,吴迪,陈玉林*

(西北农林科技大学 动物科技学院,杨凌 712100)

摘要: 以 60 只内蒙古绒山羊为研究对象,利用 PCR-SSCP 技术,选取 *KAP* 基因作为候选基因,并利用 SPSS 软件下的 GLM 程序分析了 *KAP* 基因与产绒量性状、体重性状和绒细度性状的关系。结果表明:在产绒量性状上,S1 位点的 BB 基因型和 S2 位点的 BB 基因型可以作为标记基因型;在体重性状上,S2 位点的 BB 基因型和 S3 位点的 AA 基因型可以作为标记基因型,在绒细度性状上,S5 位点的 BB 基因型可以作为标记基因型。在体重和产绒量性状上 S2 位点的 BB 基因型,可以作为多性状标记辅助选择的标记基因型。

关键词: 内蒙古绒山羊;*KAP*;经济性状

中图分类号:S827.2

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2007)05-0447-05

Relationship between *KAP* Gene and Economic Traits in Inner Mongolia Cashmere Goats

ZHANG Ya-ni, ZHANG En-ping, WU Di, CHEN Yu-lin*

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Choosing *KAP* gene as candidate gene, the genetic relationship between *KAP* gene and economic traits (cashmere yield, weight and cashmere fineness) of 60 Inner Mongolia Cashmere goats were analyzed by PCR-SSCP method, using GLM procedure of SPSS software. The result showed: BB genotype at S1 site and BB genotype at S2 site was favorable marker genotype for cashmere yield trait, BB genotype at S2 site and AA genotype at S3 site was favorable marker genotype for weight trait. BB genotype at S5 site was favorable marker genotype for cashmere fineness trait. BB genotype at S2 site can be the marker genotype of multi-trait marker in assistance selection.

Key words: Inner Mongolia Cashmere goat; *KAP*; economic traits

内蒙古绒山羊以产绒量高,品质优良而著称于世,当前对绒山羊的研究主要集中在产绒量、体重和绒细度性状上,这 3 个性状决定着绒山羊饲养者的经济利益。尽管利用传统的数量遗传学和群体遗传学在绒山羊的育种上已经取得了较好结果,但是也具有许多不足之处,例如费用高、不能准确估计与多性状相关联的 QTL。因此,在绒山羊育种上探索与 QTL 相连锁的遗传标记成为当前全球研究的

重点。

近年来,国内外关于绒山羊从血液酶和蛋白质的结构基因与经济性状关系的研究已有许多报道^[1~3],也有一些学者利用微卫星分子标记对绒山羊的遗传多样性和经济性状进行了研究^[4~10],但是利用 PCR-SSCP 方法,选取编码绒纤维的结构蛋白 *KAP*^[11,12](角蛋白辅助蛋白)基因作为候选基因来研究其与产绒性能的关系,目前尚未见有报道。本

收稿日期:2006-04-03

基金项目:国家科技攻关项目(2002BA514A-8);“863”国家高科技研究发展计划项目(2002AA242051);教育部科技研究重点项目(02076)

作者简介:张亚妮(1977-),女,陕西渭南人,博士生,主要从事生物技术与分子生物学研究,E-mail:zhynwd@yahoo.com

* 通讯作者:陈玉林(1964-),教授,博导,主要从事动物遗传资源研究,E-mail:myxy11@263.net

研究拟从标记位点与经济性状的选择反应着手,为建立绒山羊经济性状新型选种奠定基础。

1 材料方法

1.1 样本来源

应用随机抽样法在内蒙古自治区鄂托克旗内蒙古绒山羊种羊场抽取 60 只羊的血样,加有抗凝剂的血样冷冻保存在 -40 °C 冰箱中备用。采取血样的同时记录相应个体的产绒量、体重并抓取绒样。

1.2 试验方法

1.2.1 PCR-SSCP 引物 根据 KAP1.1、KAP1.3 和 KAP6.1 设计引物,引物设计软件为 Primer 5.0,序列、退火温度如表 1。

1.2.2 PCR 扩增反应及其反应程序 PCR 扩增反应体系为 10 × buffer (含 20 mmol/L 的 MgCl₂) 1.5 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 1.0 μL, 引物 (5 pmol/μL) 1.0 μL, Taq DNA 聚合酶 (0.5 U/μL) 2.7 μL, 模板 DNA (50 ng/μL) 2.0 μL, 加纯水使体积达 12 μL。反应程序为 94 °C 预变性 5 min; 34 个循环 (94 °C 变性 30 s, 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s)

后; 72 °C 延伸 10 min; 4 °C 保存。反应结束后取 2 μL PCR 产物置于 PCR 管中,加 7 μL 变性 Buffer, 98 °C 变性 10 min, 迅速冰浴 10 min, 电泳 12~14 h 后,用硝酸银染色法显色。观察并记录结果,应用 UDP GDS800 成像仪照相。电泳结果如图 1 所示。

表 1 5 个位点的序列、退火温度

位点 Sites	序列 Sequence	退火温度/°C Annealing temperature
S1	F:TCTACCCGAGAACAACCT R:CTACGGTGCTTTCTGAGA	58
S2	F:GCTTCGTGCCCTCTACAT R:ATTTGAACAAGTTATACCTTAG	66.8
S3	F:GTGAGACCGGCTGTGGCATTG R:GGGTGGACGAGGGTTGGGTA	66
S4	F:ACTTCTCCAAGCATCCCA R:ACACTCTGGCCGACACCG	64.5
S5	F:GACGGGCTGTGGCATTGGT R:AGGACGACGGCGGTAGGAT	68



图 1 S3 位点 SSCP 结果
Fig. 1 Patterns of SSCP for S3 site

1.3 资料的统计分析

所有数据用 SPSS (11.0) 统计软件进行分析 [13,14]。

1.3.1 原始数据的最小二乘校正 绒山羊不同生产水平群体经济性状资料的最小二乘校正数学模型消除年龄、性别等因素对遗传分析的影响。

$$Y_{ijk} = \mu + Age_i + Sex_j + e_{ijk}$$

Y_{ijk} 为个体表型值, μ 为群体均值, Sex_j 为性别效应值, Age_i 为年龄效应值, e_{ijk} 为随机误差

1.3.2 各位点基因型经济性状最小二乘均值 (LSM) 和最小二乘效应值 (LSE) 的数学模型

$$Y_{ij} = \mu + Marker_i + e_{ij}$$

Y_{ij} 为个体表型记录, μ 为总体均数, Marker_i 为标记基因型效应, e_{ij} 为随机误差

由此模型估计出群体均值 (μ) 和标记基因型效应 (Marker_i), 各基因型经济性状的最小二乘均值 LSM = μ + Marker_i, 而最小二乘效应值 LSE = Y - μ, 并对各位点基因型间的 LSM 进行差异显著性检验。

1.3.3 遗传方差分析 设 p 和 q 分别为 A₁ 和 A₂ 的等位基因频率, a = 1/2(LSM_{A₁A₁} - LSM_{A₂A₂}), d = LSM_{A₁A₂} - 1/2(LSM_{A₁A₁} + LSM_{A₂A₂}), 则基因型的加性方差 (V_A) = 2pq[a + d(q-p)]²; 显性方差 (V_D) = (2pqd)²; 遗传方差 (V_G) = V_A + V_D。其中 A₁A₁、A₂A₂ 分别代表纯合基因型, A₁A₂ 代表杂合基因型。

1.3.4 标记位点与经济性状间的遗传相关 (r_{AG}) 估计

$$R_{AG} = i_A \sigma_G r_{AG}$$

由于: $r_{AG} = COV_{AG} / (V_A V_G)^{1/2}$; $COV_{AG} = COV_{AP} = V_A$; $V_G = V_D + V_A$; $V_D = (2pqd)^2$; $V_A = 2pq[a + d(q-p)]^2$

所以: $r_{AG} = (V_A / V_G)^{1/2}$

式中: V_A 为标记性状的加性方差; V_D 为标记性状的显性方差。

2 结果与分析

2.1 绒山羊产绒量、体重和绒细度性状标记基因型的效应分析

表 2 列出了产绒量性状、体重性状和绒细度性状在 5 个位点上不同基因型间的最小二乘均值 (LSM) 和最小二乘效应值 (LSE)。对各个位点不同基因型值间进行显著性检验, 结果表明, 产绒量性状上, S1 位点 BB 基因型的 LSM 显著高于 AA 基因型 ($P < 0.05$), AB 基因型和 AA 基因型的 LSM 差异不显著 ($P > 0.05$); S2 位点 BB 基因型的 LSM 显著高于 AA 基因型和 AB 基因型 ($P < 0.05$), AA 基

因型和 AB 基因型间的 LSM 差异不显著 ($P > 0.05$), 表明 S2 位点的 BB 基因型可作为产绒量的首选标记基因型; 在 S3, S4 和 S5 位点, 各基因型间的 LSM 差异不显著 ($P > 0.05$)。各位点体重性状的标记效应进行多重比较发现, 在 S1 位点、S4 位点和 S5 位点上各基因型的 LSM 差异不显著 ($P > 0.05$); S2 位点 BB 基因型的 LSM 显著高于 AA 基因型 ($P < 0.05$), 与 AB 基因型差异不显著 ($P > 0.05$), 表明 S2 位点的 BB 基因型可作为体重性状的首选标记基因型; S3 位点 AA 基因型的 LSM 与 BB 基因型间差异极显著 ($P < 0.01$), 与 AB 基因型差异不显著 ($P > 0.05$)。对各位点绒细度性状的标记效应进行 F 检验和多重比较发现, 除 S5 位点外, 其余各位点的基因型间的 LSM 差异不显著 ($P > 0.05$), S5 位点 BB 基因型 LSM 与 AA 基因型和 AB 基因型间差异显著 ($P < 0.05$), 表明在对绒细度进行选择时, S5 位点的 BB 基因型可以作为首选的标记基因型。

表 2 5 个位点各基因型的产绒量、体重和绒细度性状的 LSM 和 LSE

Table 2 LSM and LSE for cashmere yield, weight and cashmere fineness trait at 5 sites

位点 Sites	基因型 Genotype	产绒量/g Cashmere yield		体重/kg Weight		绒细度/ μm Cashmere fineness	
		LSM	LSE	LSM	LSE	LSM	LSE
S1	AA	313.45 ^b	-25.15	34.03	-11.52	15.430	0.03
	AB	347.78 ^{ab}	9.20	36.24	4.76	14.839	-0.67
	BB	354.53 ^a	15.95	37.27	6.27	16.136	0.64
S2	AA	292.25 ^b	-19.01	32.63 ^b	-2.59	15.354	0.24
	AB	296.17 ^b	-15.09	34.75 ^b	-0.47	15.349	0.08
	BB	345.35 ^a	34.09	38.29 ^a	3.53	15.585	-0.32
S3	AA	310.42	-14.11	35.27 ^A	13.25	15.443	0.20
	AB	317.39	-7.34	35.06 ^A	3.04	15.423	0.18
	BB	345.78	21.25	25.73 ^B	-6.29	14.870	-0.38
S4	AA	317.25	-5.030	36.10	-0.96	15.401	-0.30
	AB	327.48	4.85	34.70	0.44	16.230	0.53
	BB	323.18	0.55	34.63	0.51	15.455	-0.23
S5	AA	316.26	4.02	36.58	-1.81	15.512 ^a	0.07
	AB	314.12	1.88	34.97	0.20	15.350 ^a	-0.08
	BB	306.35	-5.90	32.75	-2.02	14.965 ^b	0.15

表中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Different small letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$)

2.2 绒山羊经济性状标记位点的遗传方差组分分析

表 2~4 分别对各个标记位点与经济性状的遗

传方差, 加性方差和显性方差进行了剖析, 结果表明, 无论是产绒量还是体重 S2 位点的遗传方差都最大, 而且加性方差分别占到 72% 和 63%, 说明 S2 位

点对绒山羊多性状标记辅助选择具有一定的可靠性;绒细度上 S5 位点的遗传方差最大,加性方差占 71%。

从单个位点标记而言,在产绒量上 S1 位点的遗传方差仅次于 S2 位点,加性方差占到 96%;体重上

S3 位点的遗传方差仅次于 S2 位点,但其遗传方差的 70%来自于显性方差;在绒细度性状上,S1 位点的遗传方差仅次于 S5 位点,显性方差占遗传方差的 57%;S1 位点、S2 位点和 S3 位点绒细度的遗传方差主要来自于显性方差(57%以上)。

表 3 绒山羊产绒量性状单位点标记基因的遗传方差组分及选择反应

Table 3 The variance analysis, genetic correction and selection reaction of cashmere yield

位点 Sites	方差分析 Variance analysis			选择反应 Selection reaction			遗传相关 correlation r_{AG}
	V_A	V_D	V_G	R_A	R_D	R_{AG}	
S1	199.567 2	7.965 7	207.522 9	0.961 5	0.038 5	14.203 9	0.986 0
S2	359.895 9	139.630 0	499.529 9	0.720 4	0.279 6	18.968 5	0.848 7
S3	22.305 8	6.124 0	28.429 8	0.784 6	0.215 4	4.722 5	0.885 7
S4	122.452 8	1.504 6	123.957 3	0.987 8	0.012 1	10.864 1	0.849 3
S5	10.430 7	0.336 8	10.767 4	0.968 7	0.031 2	3.228 8	0.984 0

表 4 绒山羊体重性状单位点标记基因的遗传方差组分及选择反应

Table 4 The variance analysis, genetic correction and selection reaction of weight

位点 Sites	方差分析 Variance analysis			选择反应 Selection reaction			遗传相关 correlation r_{AG}
	V_A	V_D	V_G	R_A	R_D	R_{AG}	
S1	1.232 2	0.026 9	1.259 1	0.978 6	0.021 4	1.108 5	0.794 6
S2	6.450 7	3.763 5	10.214 2	0.631 5	0.368 5	2.539 5	0.987 9
S3	0.469 6	1.110 7	1.579 8	0.297 2	0.702 3	0.685 1	0.545 1
S4	0.345 4	0.023 6	0.369 0	0.936 0	0.004 0	0.587 7	0.967 4
S5	0.582 6	0.003 9	0.586 5	0.993 1	0.006 9	0.763 2	0.996 5

由这些结果可见,每个位点对经济性状的效应是不同的,有的位点之间甚至相差很大,而且不同位点基因型的效应并不完全相同,同一位点不同基因型的效应也不相同,在不同位点基因型效应中加性效应和显性效应所占比例亦不相同,这完全符合数量遗传学中表型值剖分的有关理论。

2.3 标记位点选择反应的预测

表 3~5 分别列出了 5 个位点分别作为遗传标记时与经济性状的遗传相关和选择反应。尽管 S1 位点与产绒量性状的遗传相关最大,S5 位点与体重性状的遗传相关最大,S4 位点与绒细度的遗传相关最大,但是通过对各位点在标记选择强度(i_A)等于 1 时的选择反应进行估计,产绒量和体重上 S2 位点的选择反应最大,绒细度上 S5 位点的选择反应最大,这就进一步表明 S2 位点是绒山羊产绒量性状和体重性状标记辅助选择中理想的遗传标记,S5 位点是绒细度性状理想的遗传标记。结合基因型的选择,S2 位点的 BB 型分别可以作为产绒量性状和体重性

状的首选标记基因型,S5 位点的 BB 型可以作为绒细度性状的首选标记基因型。

3 讨论

众所周知,任何一个数量性状的表型值都受到以下两种遗传方式控制,其一是微效多基因的作用(包含基因的加性效应,显性效应和互作效应),其二是主基因和微效多基因的共同作用。在本试验中,对每个位点的基因型值之间进行了显著性检验,找出了首选的标记基因型,还对优势基因型进行规定:基因型的 LSE 超过群体 LSM 1 个标准差的定义为优势基因型,可选择 S2 位点的 BB 基因型作为产绒量的优势基因型,S2 位点的 BB 基因型和 S3 位点的 AA 基因型作为体重性状的优势基因型,S5 位点的 BB 基因型作为绒细度性状的优势基因型。S2 位点的 BB 基因型为产绒量和体重两个经济性状的优势标记基因型,是否 S2 位点与绒山羊这两个经济性状的数量性状位点存在连锁关系还有待于进一步研究。

表 5 绒山羊绒细度性状单位点标记基因的遗传方差组分及选择反应

Table 5 The variance analysis, genetic correction and selection reaction of cashmere fineness

位点 Sites	方差分析 Variance analysis			选择反应 Selection reaction			遗传相关 Genetic
	V_A	V_D	V_G	R_A	R_D	R_{AG}	correlation r_{AG}
S1	0.028 3	0.037 9	0.066 2	0.427 6	0.572 4	0.427 1	0.653 2
S2	0.000 2	0.000 8	0.001 0	0.200 0	0.800 0	0.014 1	0.447 2
S3	0.002 0	0.004 0	0.006 0	0.333 3	0.666 7	0.044 7	0.577 3
S4	0.007 3	0.000 5	0.007 8	0.935 8	0.064 2	0.058 4	0.967 3
S5	0.087 5	0.034 3	0.121 8	0.718 4	0.281 6	0.295 8	0.847 5

在对绒山羊经济性状进行标记选择时,着眼点应是标记的基因型值,而其又包含了基因的加性效应和显性离差,并且能真实遗传的仅是基因的加性效应。本研究中计算了显性效应值和加性效应值,进一步确定基因型值到底是由显性效应还是加性效应产生的,例如在体重性状上虽然 S3 位点各基因型值间差异显著,但是通过对基因型值进行剖分,这种效应主要是由于显性效应造成的,不能真实遗传给后代,因此不能作为标记位点,所以加性效应是标记选择的重点,进一步也可以用标记性状的育种值和经济性状的遗传方差之间的遗传相关来预测选择反应。我国的绒山羊品种大多都是作为绒肉兼用的品种,所以选择目标经常涉及到产绒量和体重两个性状,本研究通过方差分析和对选择反应的预测,发现具备双重优势的标记为 S2 位点,其在产绒量性状上的选择反应(18.968 5 g)和体重性状上的选择反应(2.539 5 kg)超过其它几个可以用于产绒量性状和体重性状选择的位点,因此选择 S2 位点作为产绒量性状和体重性状的首选标记位点。

4 结 论

产绒量性状上,S1 位点的 BB 基因型和 S2 位点的 BB 基因型可以作为标记基因型;在体重性状上,S2 位点的 BB 基因型和 S3 位点的 AA 基因型可以作为标记基因型;绒细度性状上,S5 位点的 BB 基因型可以作为标记基因型。在体重和产绒量性状上 S2 位点的 BB 基因型可作为多性状标记辅助选择的标记基因型。

参考文献:

[1] 朱海. 辽宁绒山羊和辽新杂交羊血液蛋白多态性研究[J]. 新疆农业科学, 1992, 2: 86~88.
 [2] Geng S M, Qin G Q, Wang X, *et al.* Linkage analysis between marker sites of blood protein and economic

trait QTLs on the cashmere goat[J]. *Animal Biotechnology Bulletin*, 2000, 7: 226~229.

- [3] 耿社民, 常洪, 秦国庆, 等. 绒山羊结构基因标记座位与经济性状关系的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2003, 34(1): 24~27.
 [4] Buchanan F C, Adams L J, Little John R P. Determination of evolutionary relationship among sheep breeds using micro-satellite[J]. *Genomics*, 1994, 15, 22(2): 397~403.
 [5] Li M H, Zhao S H. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous population base on micro-satellite analysis [J]. *Genet Sel Evol*, 2002, 34(6): 729~744.
 [6] 刘迎春, 张润梧, 尹俊, 等. 利用微卫星 DNA 标记研究绒山羊群体遗传多样性[J]. *生物技术通讯*, 2005, 16(1): 28~30.
 [7] Jin M, Guo C L, Hu J H. Correlation analysis of economic traits in Liaoning new breed of Cashmere goats using micro-satellite DNA marker [J]. *Acta Genetic Sinica*, 2006, 33(3): 230~235.
 [8] Parsons Y M, Copper D W, Piper L R, *et al.* Evidence of linkage between high-glycine-tyrosine keratin gene loci and wool fibre diameter in a Merino half-sib family [J]. *Animal Genetics*, 1994, 25: 105~108.
 [9] Dunn S M, Keough R A, Rogers G E, *et al.* Regulation of a hair follicle keratin intermediate filament gene promoter [J]. *Journal of Cell Science*, 1998, 111 (23): 3 487~3 496.
 [10] Montgomery G W, Penty J M, Henry H M, *et al.* Sheep linkage mapping: RFLP markers for comparative mapping studies [J]. *Animal Genetics*, 1995, 26: 249~259.
 [11] Rogers G R, Hickford J G H, Bickerstaffe R, *et al.* Polymorphism in two genes for B2 high sulfur proteins of wool [J]. *Animal Genetics*, 1994, 25: 407~415.
 [12] Zhou H M, Allain D, Li J Q, *et al.* Effects of non-genetic factors on production traits of Inner Mongolia cashmere goats in China [J]. *Small Rumin Res*, 2003, 47(1): 85~89.
 [13] Lande R, Thompson R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits [J]. *Genetics*, 1990, 124: 743~756.
 [14] 盛志廉, 陈瑶生. 数量遗传学 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.