

# 微卫星技术在绵羊品种级进杂交育种中的应用

吴江鸿<sup>1</sup>, 刘国平<sup>2</sup>, 张文广<sup>1</sup>, 李虎山<sup>2</sup>, 王文义<sup>2</sup>, 李金泉<sup>1</sup>

(1. 内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古巴彦淖尔市家畜改良站, 临河 015000)

**摘要:** 分析了 10 个微卫星基因座 10 个微卫星标记在 7 个绵羊群体(德美♂×当地羊♀级进杂交一代、级进杂交二代、级进杂交三代、德克赛尔、道赛特羊、德国美利奴羊、当地羊)205 只绵羊中的遗传多态性。结果表明, 这 10 个微卫星标记在 7 个绵羊群体中的等位基因数分别为 12、22、26、23、14、21、29、17、24 和 14, 由多态信息含量/有效等位基因数/杂合度可知其中 AGLA269 的遗传变异最大, BMS1714 最小。基于 Nei 氏距离和共祖遗传距离, 采用 UPGMA 方法构建了系统发生树。该发生树将德美×当地羊级进杂交一代、二代、三代和德国美利奴羊归为一类后又与当地羊聚为一大类, 将德克赛尔、道赛特羊归为另一类。绵羊微卫星基因分型技术为检查品种(群体)之间的遗传关系提供了一个有用的工具。

**关键词:** 微卫星; 遗传多态性; 分子系统发生; 贝叶斯模型; 级进杂交育种

中图分类号: S826.2      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2008)01-0079-03

## Genetic Structure of Grading Breeding in Sheep by Microsatellite Marker Technology

WU Jiang-hong<sup>1</sup>, ZHANG Guo-ping<sup>2</sup>, ZHANG Wen-guang<sup>1</sup>, LI Hu-shan<sup>2</sup>, WANG Wen-yi<sup>2</sup>, LI Jin-quan<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, 010018; 2. Inner Mongolia Bayannaoer Domestic Animal Improvement Station, Linhe 015001)

**Abstract:** The genetic polymorphisms of ten microsatellite loci and ten microsatellite markers were analyzed in 205 sheep of seven sheep populations (grading crossing F<sub>1</sub> of Germany Merino ♂× local sheep ♀, grading crossing F<sub>2</sub> of Germany Merino ♂× local sheep ♀, grading crossing F<sub>3</sub> of Germany Merino ♂× local sheep ♀, Texel sheep, Dorset sheep, Germany Merino, local sheep). The numbers of alleles for BMS574, BMS1678, BMS1248, BM 304, BMS695, BMS710, BM3501, MB009, AGLA269 and BMS1714 were 12, 22, 26, 23, 14, 21, 29, 17, 24 and 14 in seven sheep populations, respectively. The results indicated the greatest genetic variation at AGLA269 locus and the lowest at BMS1714. The dendrograms was created by the method of unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) dendrograms based on Nei's DA distance and Nei's DS standard genetic distance. The grading crossing F<sub>1</sub> of Germany Merino ♂× local sheep ♀, grading crossing F<sub>2</sub> of Germany Merino ♂× local sheep ♀, grading crossing F<sub>3</sub> of Germany Merino ♂× local sheep ♀, and Germany Merino were grouped together, then with local sheep. The Texel sheep and Dorset sheep also clustered together. Microsatellite genotyping in sheep provided a useful tool for examining the genetic relationships among varieties (populations).

**Key words:** microsatellites; genetic polymorphism; molecular phylogenetics; Bayesian model; grading breeding

现代肉羊业已通过广泛利用级进杂交方法, 把引进的外来品种获得最大产出率作为主要发展目标之一。因而, 探索合理有效地利用级进杂交途径, 在理论和实践上均有很大意义。近年来, 我国从国外

引进了许多优良肉用绵羊, 而对这些肉用绵羊的利用方法, 一是直接杂交, 利用其杂交优势; 二是采用级进杂交的方式。而对级进杂交多少代比较合理, 长期以来都是用改良品种“血液”的多少和性状表型进行确定, 出现肉羊育种进展缓慢, 如要加快肉羊选育的遗传进展, 利用基因型分析是有效的途径之一。微卫星在度量品种遗传多样性、估测品种间遗传距离及构建系统发生树等研究中显示出巨大的优势, 被认为是各类遗传标记中最有价值的一种<sup>[1-2]</sup>。

收稿日期: 2007-09-06  
基金项目: 内蒙古农业大学横向联合项目(2006-12)  
第一作者简介: 吴江鸿(1982-), 男, 内蒙古土左旗人, 在读硕士, 从事动物遗传育种研究。Tel: 13611815946; E-mail: wujiang-honglong@126.com.  
通讯作者: 李金泉, 男, 教授, 博士生导师, 从事绒山羊育种原理与方法研究。

迄今,虽然国内外已有应用微卫星标记技术分析绵羊遗传多样性的报道<sup>[3-6]</sup>,但利用微卫星技术分析肉用绵羊级进杂交后代遗传结构的研究尚不多见报道<sup>7</sup>。本研究利用 10 个微卫星位点对内蒙古巴彦淖尔当地肉用绵羊品种级进杂交一代、二代和三代羊群进行遗传学检测,旨在探讨各群体的遗传多样性和遗传分化关系及其遗传结构和遗传关系,为进一步提高杂交优势率、培育肉羊新品种提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试羊群及基因组

本试验共采用 7 个绵羊群体的 205 个个体。其中 GROUP1、2、3 为当地杂交选育绵羊群体, GROUP4、6 为当地引入的国外肉羊品种, GROUP5 为当地尚未引入的国外肉羊品种, GROUP7 为当地杂交用母本群体。以上绵羊血液/耳组织样本均由

内蒙古巴彦淖尔市家畜改良站提供。

1.2 引物合成及 PCR 条件

本试验所用的 10 对引物均是 Gene Bank 公开发表的微卫星引物,所有引物均由北京赛百盛生物技术有限公司合成。引物信息见表 1。

1.3 电泳检测和基因型的判定及群体间遗传变异分析

PCR 产物用 8%~12%非变性聚丙烯酰胺凝胶检测,用美国 EASTMAN KODAK EDAS 电泳凝胶数字图像定量分析系统计算微卫星等位基因大小。分析计算 7 个绵羊群体的等位基因频率、多态信息含量 (polymorphism information content, PIC),有效等位基因数、多态信息含量、F—统计量、杂合度和遗传距离等;应用贝叶斯模型对来自 7 个绵羊群体的各个个体进行隶属关系判别,构建系统发生树<sup>[8-9]</sup>。

表 1 微卫星位点引物序列

位点	上游引物	下游引物	染色体位置
*BMS574	A TGT TCT TTT GACC ACAT GGATT	CAACAAGCA TT CTG ACCA TAGC	1
*BMS1678	TCTTCTCTGCACTTTGGTTGC	ATAGCTGACA TCCACTGGGC	2
BMS1248	GTAATGT ACCTTTTGTGCCG	TCACCAACA TGAGA TAGTGTGC	3
*BM304	CTGGTGTTCCCTTTCATATCA ACC	GGCACGTACTAACCTGTAAAAACC	3
BMS695	CAATTAAAAAACCTGACAGCA	TGTCCAAGAAGATCAGGTCTCA	3
BMS710	TTCTACTCTCCAGCCTCCTCC	GTTGGCTCCAAGAGCAAGTC	3
BM3501	CCAACGGGTTAAAAAGCACTG	TTCTGTTCCTTCCTCATCTG	3
*MB009	GATCACCTTGCCACTATTTTCCT	GATCACCTTGCCACTATTTTCCT	9
*AGLA269	CTTTCAA TGTA TTTGCTTA TTTGTT	GACACTAGTAGATTTGAAACCCA	23
*BMS1714	TTTA TCCCAAGAGG TTCCACC	AGGTGCTTGCAGTGAATCTG	25

2 结果与分析

2.1 微卫星 DNA 多态性的检测结果

图 1 表示和 BMS1248 微卫星在不同个体扩增产物的电泳结果,从中可以看出,同一微卫星对不同个体扩增产物不同,存在多态性。

2.2 10 个微卫星基因座在 7 个群体中的等位基因频率

运用 POPGENE 软件,对群体内 10 个微卫星位点进行 1 000 次重复模拟的中性测试结果表明:10 个位点均处符合中性测试要求。从 10 个微

卫星基因座在绵羊群体中的基因频率可以看出同一个微卫星位点上,7 个群体所具有的等位基因频率表现出明显差异。如果两个群体在某一个位点上有相同的等位基因频率分布,则就该位点而言,它们之间的遗传距离为零;如果对于一个位点两个群体具有完全不同的等位基因,则遗传距离最大<sup>[10-12]</sup>。10 个微卫星在 7 个绵羊群体中的统计学指标见表 2。可见 7 个品种在这 10 个位点上具有丰富的遗传多样性。7 个绵羊群体的平均遗传多态性见表 3。

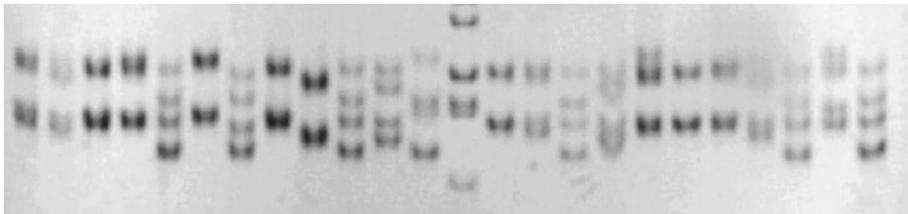


图 1 微卫星 BMS1248 的 PCR 产物电泳结果

表 2 10 个微卫星基因座在 7 个绵羊群体中的统计学指标

基因座	多态信息含量	有效等位基因数	杂合度	观察杂合度
BMS574	0.7980	5.5732	0.8226	0.7475
BMS1678	0.8526	7.4180	0.8674	0.6162
BMS1248	0.8761	8.7662	0.8884	0.7500
BM304	0.8504	7.1638	0.8626	0.6837
BMS695	0.8436	7.0616	0.8623	0.2545
BMS710	0.8832	9.2613	0.8954	0.8674
BM3501	0.8848	9.3412	0.8957	0.8485
M B009	0.8406	6.9085	0.8574	0.8424
AGLA269	0.91701	2.8436	0.9244	0.8663
BMS1714	0.7323	4.0732	0.7563	0.6244

表 3 7 个绵羊群体的平均遗传多态性

基因座	多态信息含量	有效等位基因数	杂合度	平均等位基因数
级进一代	0.7844	5.856	0.832	9.70
级进二代	0.8369	7.081	0.8671	2.78
级进三代	0.8059	6.143	0.8311	3.22
德克赛尔	0.7767	5.576	0.822	9.70
道赛特	0.6796	4.607	0.746	7.00
德国美利奴	0.7972	6.378	0.8341	1.80
当地母羊群	0.7604	5.704	0.808	10.00

2.3 7 个绵羊群体之间的遗传关系分析

7 个绵羊群体之间的遗传距离见表 4。遗传距离是研究物种遗传多样性的基础,它反映了所研究群体的系统进化,用来描述群体的遗传结构和品种间的差异。标准遗传距离的系统聚类图见图 2。

表 4 7 个绵羊群体的遗传距离矩阵

	GROUP1	GROUP2	GROUP3	GROUP4	GROUP5	GROUP6	GROUP7
GROUP1		0.878439	0.872930	0.641565	0.587846	0.857835	0.685853
GROUP2	0.018932		0.726682	0.673447	0.874038	0.772037	
GROUP3	0.022372	0.024749		0.747151	0.830200	0.798607	
GROUP4	0.047047	0.036530	0.039744		0.601681	0.60003	
GROUP5	0.059586	0.054374	0.047387	0.030219		0.56579	
GROUP6	0.004062	0.014831	0.027147	0.044177	0.060490		0.74828
GROUP7	0.027249	0.029257	0.029123	0.032596	0.046184	0.034866	

注:上三角矩阵为 Nei 氏标准遗传距离;下三角矩阵为共祖距离。

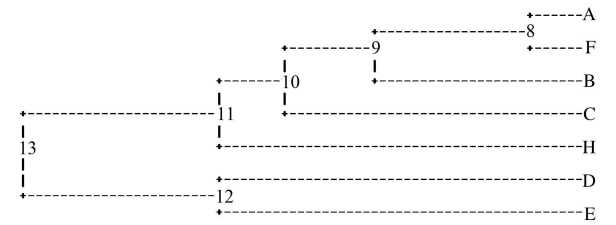


图 2 7 个绵羊群体的系统聚类图

5、6 具有较好的遗传聚集性。为进一步对群体 3、4、5、6 的遗传聚集性进行比较,把当地杂交用母本群体 7 同时做贝叶斯判别分析(见图 3)。

Number of Observations and Percent Classified into G:							
From G	3	4	5	6	7	Total	
1	8	2	1	7	2	20	20%
2	10	0	2	11	4	27	27%
3	37.04	0.00	7.41	40.74	14.81	100.00	100.00%
4	4	0	2	5	2	13	13%
5	83.02	0.00	3.77	9.43	3.77	100.00	100.00%
6	0	13	1	1	1	16	16%
7	0.00	81.25	6.25	6.25	6.25	100.00	100.00%
8	0	2	7	0	1	10	10%
9	0.00	20.00	70.00	0.00	10.00	100.00	100.00%
10	5	1	0	35	2	43	43%
11	11.63	2.33	0.00	81.40	4.65	100.00	100.00%
12	4	0	1	6	8	19	19%
13	21.05	0.00	5.26	31.58	42.11	100.00	100.00%

图 3 贝叶斯判别分析结果

其中,群体 1、2 中的个体隶属比较杂,即不能判定群体 1、2 中的个体来自群体 4、5、6、7 中的哪一个。群体 3 的隶属关系比较稳定,准确率超过 83%,被错误判别分类的个体依次被分到群体 6、7、5,其中最高比例不到 10%。群体 7 中的个体隶属关系比较差,正确判别的个体不到 43%。

所以,利用微卫星对级进杂交改良的肉用绵羊进行了遗传学检测,可实际分析出肉用绵羊的遗传多样性和遗传分化关系,以揭示其遗传结构、遗传关系,弥补了传统“血液”表示方法存在的缺憾。本文

3 讨论

根据 10 个微卫星标记的检测结果,筛选出在 7 个群体中扩增效果比较好的分布在不同染色体上的 6 个微卫星位点(见表 1 中标记 \* 的位点),判定 188 个个体的基因型,根据贝叶斯模型对 7 个绵羊群体的每个个体作判别分析,综合考虑可以看出:当地选择群体 1 和 2 的遗传聚集性比较低,国外肉用绵羊品种 4 和 6 的遗传聚集性比较高,5 的敏感性较低,但是也达到了 60%,而且整个样本中的 80%被分配到 4 和 5 中。考虑到这是一个引入品种,其判别分析的敏感性比群体 4 和 6 低的原因可能是供分析的样品数仅为 10 个所致。群体 7 为当地的杂交用母本群体,无论其敏感性和阳性预报率都比较低,说明该群体的遗传聚集性比较差。

综上分析,当地选育的群体 3、国内引入品种 4、

# 同位素示踪技术在动物营养中的应用

孙金艳

(黑龙江省农业科学院畜牧研究所, 哈尔滨 150086)

**摘要:** 同位素示踪技术是 20 世纪 20 年代开始用于动物试验。到目前这一技术已得到广泛应用, 并不断深入和发展。从定性研究、定量研究以及定位分析测定方面介绍了同位素示踪技术在动物营养中的应用情况和研究进展。

**关键词:** 同位素示踪; 动物试验; 应用

中图分类号: S124.2; S8      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2008)01-0082-02

## Application of Isotope Tracing Technology on Animal Nutrition

SUN Jin-yan

(Animal Husbandry Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

**Abstract:** Isotope tracing technology was used on animal experiment since 1920s. It has been used extensively and developed continuously. In this article, application and study development of isotope tracing technology on animal nutrition were introduced from qualitative study, quantitative study and mapping analysis.

**Key words:** isotope tracing; animal experiment; application

1896 年发现天然放射性, 核技术的发展已有近百年的历史。作为一门应用技术, 同位素示踪技术已得到广泛应用。尤其在动物试验上研究更是不断

的深入和发展。1924 年, George de Hevesy 第一次将放射性应用于动物研究中。直到 20 世纪 40 年代, 大部分的动物研究仍沿用经典的常规方法。从 1950 年开始, 放射性同位素与辐射技术被广泛应用于动物代谢和临床研究中。本文就近几年来这方面的最新资料、结合几十年来的发展情况对同位素示踪技术在动物营养中应用做以简要综述。

收稿日期: 2007-08-16  
作者简介: 孙金艳(1973-), 女, 黑龙江省大庆人, 硕士, 助理研究员, 主要从事动物营养与饲料科学方面的研究。Tel: 0451-87502330, 13009855340; E-mail: sunjinyan2001@163.com。

提出用级进杂交的方法改良家畜的遗传学分析具有重要意义。

### 参考文献:

[1] 储明星, 程金华, 过伟. 微卫星标记 OarAE101 和 BM1329 在 5 个绵羊品种中的初步研究[J]. 遗传学报, 2001, 28(6): 510-517.

[2] 储明星, 王吉振, 王爱国, 等. 小尾寒羊 4 个微卫星座位的克隆及序列分析[J]. 遗传学报, 2002, 29(5): 402-405.

[3] 储明星, 王吉振, 王爱国, 等. 小尾寒羊 5 个微卫星基因座遗传多态性研究[J]. 遗传学报, 2002, 29(6): 502-506.

[4] 杜立新, 曹顶国. 小尾寒羊微卫星与 RAPD 标记的研究[J]. 遗传学报, 2003, 30(11): 1041-1044.

[5] 贾斌, 陈杰, 赵茹茜, 等. 新疆 8 个绵羊品种遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析[J]. 遗传学报, 2003, 30(9): 847-854.

[6] 侯冠月, 马月辉. 微卫星 DNA 在草食动物遗传育种中的研究与应用[J]. 中国草食动物, 2003, 23(3): 39-40.

[7] 张英杰, 刘月琴, 孙少华, 等. 利用微卫星 DNA 多态性预测绵羊杂种优势[J]. 中国草食动物, 2004(21): 1076-1082.

[8] Soysal M I, Tuna Y T, Grcan E K, et al. Evaluation of polymorphism in ten microsatellite loci in Uruguayan sheep flocks[J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2005, 8(2): 186-189.

[9] Tomasco Ivanna, Wlasiuk G, Lessa E P. Genetic structure of Indian populations based on fifteen autosomal microsatellite loci[J]. Genetics and Molecular Biology, 2002, 25(1): 37-41.

[10] 王吉振, 储明星, 王爱国, 等. 我国 6 个地方绵羊品种微卫星 DNA 多态性研究[J]. 遗传, 2004, 26(5): 637-643.

[11] 李祥龙, 阮元芳, 张建文, 等. 我国 6 个地方绵羊品种 DNA 多态性研究[J]. 遗传学报, 2004, 31(11): 1203-1210.

[12] 雷雪芹, 徐廷生, 陈玉林, 等. 6 个中国固有绵羊品种遗传关系的微卫星标记研究[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2006, 22(1): 81-85.