

滇南小耳猪与巴马小型猪 SLA-DQA 基因多态分析

李 华^{1*}, 于 辉¹, 蒋岸岸^{1,2}, 李学伟², 田允波¹, 赵海全¹, 陈 云¹

(1. 佛山大学动科系, 南海 528231; 2. 四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014)

摘 要: 对滇南小耳猪和巴马小型猪的 SLA-DQA 基因的部分内含子 1、完整的外显子 2 和部分内含子 2 共 341bp 片段进行了 PCR-RFLP 酶切分型, 结果表明: 2 品种经 *EcoR* I 酶切后 BB 基因型频率(0.468 8) 高于 AB 型(0.375 0), AA 型最低(0.156 3), B 为优势基因(0.656 3), A 为劣势基因(0.343 7)。经 *Alu* I 酶切后, 滇南小耳猪 MM 基因型频率(0.500 0) 高于 MN 型(0.321 4) 和 NN 型(0.178 6); 而巴马猪则以 MN 基因型频率(0.485 3) 高于 MM 型(0.338 2) 和 NN 型(0.176 5); 2 个品种中 M 等位基因(0.604 2) 频率高于 N 等位基因(0.395 8)。经分析表明, 2 猪种在两酶切位点上各分型已达 Hardy-Weinberg 平衡。巴马小型猪和滇南小耳猪中分别存在 9 种和 7 种 PCR-RFLP 组合基因型, 其中 BBMN 为优势组合基因型, AAMN 为劣势组合基因型; AAMM 组合基因型在 2 品种间差异显著($P < 0.05$)。遗传多态参数分析表明: SLA-DQA 基因外显子 2 的两酶切位点在 2 猪种间均表现为中度多态, *Alu* I 的基因多样性略高于 *EcoR* I, 巴马小型猪杂合性略高于滇南小耳猪, 2 品种间遗传距离为 0.000 4。

关键词: 小型猪; SLA-DQA 基因; PCR-RFLP

中图分类号: S828.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2006)05-0430-06

Studies on the Polymorphism of SLA-DQA Gene between Diannan Small-ear Pig and Bama Pig

LI Hua^{1*}, YU Hui¹, JIANG An-an^{1,2}, LI Xue-wei², TIAN Yun-bo¹,
ZHAO Hai-quan¹, CHEN Yun¹

(1. Animal Science Department, Foshan University, Nanhai 528231, China; 2. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China)

Abstract: The partial intron 1, complete exon 2 and partial intron 2 of SLA-DQA gene was amplified and a uniform fragment of 341bp was obtained in Diannan small-ear pigs (DN) and Bama miniature pigs (BM). After PCR products were purified and digested by *EcoR* I and *Alu* I, the results showed that the genotype frequency of BB (0.468 8) at *EcoR* I-RFLP site was higher than that of AB (0.375 0) and AA (0.156 3), respectively. By comparing with the allelic frequency, the predominant allele was B(0.656 3), while the inferior allele was A (0.343 7). To the *Alu* I-RFLP site, the genotype frequency of MM (0.500 0) was higher than that of MN(0.321 4) and NN(0.178 6) in DN, respectively. While the genotype frequency of MN (0.485 3) was higher than that of MM (0.338 2) and NN (0.176 5) in BM, respectively. The allelic frequency of M (0.604 2) was higher than that of N(0.395 8) in two breeds. The results of χ^2 analysis showed that genotypes of the SLA-DQA gene in two breeds fit Hardy-Weinberg equilibrium. There are nine and seven composite genotype of SLA-DQA gene in BM and DN, respectively. Among them, the most favorable was BBMN, while the inferior was AAMN, the genotype frequency of AAMM were found to be significantly different between two pig breeds($P < 0.05$). The results

收稿日期: 2005-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(30300246) 资助

作者简介: 李 华(1969-), 女, 四川雅安人, 副教授, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: okhua4@yahoo. com. cn

* 通讯作者: 李 华

of genetic parameters showed that there were moderate polymorphic in exon 2 of SLA-DQA gene, the polymorphism information content (PIC) at *Alu* I site was higher than that at *EcoR* I site, the slightly higher heterozygote existed in BM than that in DN, the Nei's unbiased genetic distance is 0.000 4 between two breeds.

Key words: miniature pigs; SLA-DQA gene; PCR-RFLP

中国小型猪主要产于长江以南,在温暖高湿和长期地理隔离环境下,逐渐形成了资源丰富的小型猪。分布在我国南部热带和亚热带的滇南小耳猪和广西巴马小型香猪等是我国特有的 2 种小型猪资源,具有体重小、抗逆性强、性成熟早、肉质好、节约饲料等特点,因而受到了国内外畜牧业生产和医学领域广泛关注和重视。目前对它们的分子水平研究主要集中在在线粒体 mtDNA、RAPD、AFLP、DNA 指纹、微卫星标记等多态分析上^[1~6],对其进行核基因的研究主要集中在肉质以及矮小机制的分析上,但报道较少^[7,8]。考虑到猪的主要组织相容性复合体 MHC(SLA)在阐明种群间(品种)的变异和适应性方面比微卫星更具有优越性,已成为保护遗传学和进化遗传学的研究热点,但在猪品种遗传多样性研究中报道有限^[9~16]。国外目前主要对微型猪 SLA 的经典 I 类和 II 类基因进行了研究,国内近年来开始启动 SLA 分子分型技术,但研究品种非常有限,研究的指标、检测方法和分析方法均与国外还有一定的差距。本研究将参照已发表的 SLA I 类和尚未发表的 II 类基因的最新命名规则(国际动物遗传学会 ISAG 下的 SLA 命名委员会最近对 SLA II 类基因及新等位基因的命名工作刚完成,课题组与 NIH 的 SLA 命名委员会主席 Smith 博士交流)^[13],结合我们已有对中国大部分地方猪品种 SLA-DQB 基因的分型经验^[12],重点在分子分型的思路和分析方法进行创新性探讨。

猪主要组织相容性复合物(SLA)是一群紧密连锁的基因群,位于 7 号染色体上,包括 I、II 和 III 类基因及相关基因,它在畜牧业生产、医学和进化等多学科领域一直是研究的热点^[8]。SLA II 类基因具有丰富的多态,SLA-DQA 作为单拷贝基因,其全序列约 5.5 kb,编码 255 个氨基酸,包含 4 个外显子和 3 个内含子^[15]。目前对 SLA-DQA 基因多态性的研究报道较少,对其多态性定量化的研究国内外尚未报道^[9~16]。考虑到 SLA-DQA 基因多态性主要集中在细胞外功能区的第 2 外显子上,它是编码抗原结合部位和新等位基因分子分型的基础^[12],我们将

GenBank 中已发表的 SLA-DQA 基因序列经 Blast 分析后发现该基因第 2 外显子中存在一个 *EcoR* I 酶切位点和两个 *Alu* I 酶切位点,这些酶切位点在不同猪种群中的分布情况国内外尚未见报道。本试验旨在采用中等分辨率的 PCR-RFLP 方法分析我国华南型滇南小耳猪和巴马小型猪 SLA-DQA 基因的遗传结构多态性,为下一步序列多态性的量化和进化分析的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料、主要试剂及 DNA 的提取

应用随机抽样法在云南西双版纳采集滇南小耳猪(DN)28 头,采集来自于一般生产育种群的广西巴马小型猪 55 头(BM1)和来自于广州中医药大学经过负向选择的实验化选育巴马小型猪 13 头(BM2)耳组织样品,共计 96 头为试验材料。分别对每 1 头猪剪取耳组织约 20mg,用酚氯仿法抽提,无水乙醇纯化后 TE 溶解,于 -20℃ 保存备用。*Taq* DNA 聚合酶、限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Alu* I、PCR 回收试剂盒均购自大连宝生公司。

1.2 引物设计与 PCR 反应体系的优化

根据 GenBank 报道的 AY303988 序列,用 Primer Premier 5 软件设计一对引物由上海生工合成。上游引物为 5'-TCCCTTTGTTGTCCACCT-3',下游引物为 5'-GCCTGATGTGAACGGGTA-3'。运用正交设计优化 PCR 反应体系,优化出最佳反应体系为:DNA 模板约 100 ng,10×PCR 缓冲液 2.5 μL,25 mmol/L MgCl₂ 2 μL,2.5 mmol/L dNTPs 0.8 μL,10 pmol/μL 上下游引物各 0.3 μL,*Taq* 酶 0.25 μL,加水至总体积为 25 μL。扩增条件为:94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 1 min,53℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 1.5 min,35 个循环,最后 72℃ 延伸 7 min,4℃ 保存。PCR 扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 限制性内切酶酶切

PCR 产物纯化后,分别采用 *EcoR* I 和 *Alu* I 2 种限制性内切酶酶切 PCR 扩增产物,酶切体系为:

PCR 产物 12 μ L, 酶切缓冲液 2 μ L, 酶 1 μ L, 加水至 20 μ L, 37 $^{\circ}$ C 反应 4 h。酶切产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析。

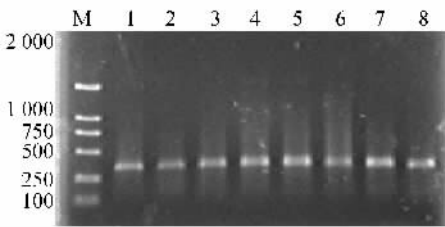
1.4 数据处理

首先用 Excel 初步统计数据, 然后采用根据卡方检验原理编写的 Hwsim 程序 (<http://krunch.med.yale.edu/hwsim/>) 对各品种每个酶切位点的基因型分布分别进行 Hardy-Weinberg 平衡的卡方适合性检验。用 SPSS 11.5 计算酶切基因型及其等位基因在不同猪种中的分布频率, 并进行显著性检验。对群体遗传多态参数分析主要运用 Popgene Version1.31 和 Dispan 软件分别计算期望杂合度 H_e 、有效等位基因数 N_e 、多态信息含量 (PIC)、基因多样性 I 、固定指数 F_{is} 、基因的分歧系数 F_{st} 以及品种间标准遗传距离和遗传一致性参数^[18~21]。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

根据我们设计的引物, 结果得到一条 341 bp 特异性片段, 该片段包括了部分第 1 内含子, 完整第 2 外显子和部分第 2 内含子 (图 1)。



M. DL2000 marker; 1-8. PCR products (341 bp)

图 1 SLA-DQA 的 PCR 扩增产物

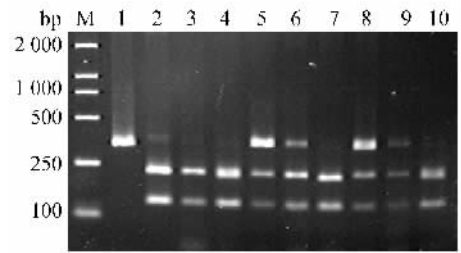
Fig. 1 PCR products of SLA-DQA

2.2 PCR-RFLP 多态性分析

SLA-DQA 基因外显子 2 中存在一个 *EcoR* I 多态性酶切位点, 定义等位基因 A (341 bp), B (216 + 125 bp) (图 2), 还存在 2 个 *Alu* I 酶切位点 (166、117 和 58 bp 3 个片段), 其中在 167 bp (即 AY303988 序列的 4 026 bp) 处为多态性酶切位点, 当这个酶切位点因变异而消失时, 166 和 58 bp 片段合并产生 224 bp 的片段。定义等位基因 M (166 + 117 + 58 bp), N (224 + 117 bp) (图 3)。

2.3 基因型及基因频率的分布

由表 1 可见: 在 *EcoR* I-RFLP 位点上, 2 个猪品种中均以纯合子 BB 基因型居多 (0.468 8), 杂合

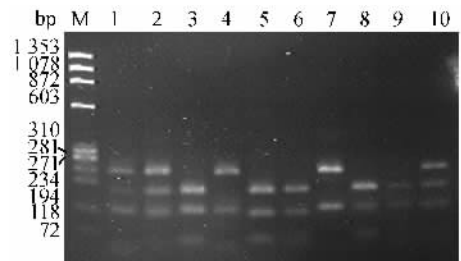


1. AA; 2, 5, 6, 8, 9. AB; 3, 4, 7, 10. BB;

M. DL2000 marker

图 2 SLA-DQA 的 *EcoR* I-RFLP 酶切

Fig. 2 *EcoR* I-RFLP patterns of SLA-DQA



1, 2, 10. MN; 3, 5, 6, 8, 9. MM; 4, 7. NN;

M. Φ X174 *Hae* III digest marker

图 3 SLA-DQA 的 *Alu* I-RFLP 酶切

Fig. 3 *Alu* I-RFLP patterns of SLA-DQA

子 AB 型次之 (0.375 0), AA 型最少 (0.156 3), B 为优势等位基因 (0.656 3), A 为劣势等位基因 (0.343 7)。在 *Alu* I-RFLP 位点上, 滇南小耳猪以 MM 型居多 (0.500 0), MN 型次之 (0.321 4), NN 型最少 (0.178 6); 巴马小型猪则以 MN 型居多 (0.485 3), MM 次之 (0.338 2), NN 型最少 (0.176 5)。两群体合并分析后, 表现为 MN 基因型频率高于 MM 型, NN 型最少; M 为优势等位基因, N 为劣势等位基因。巴马小型猪和滇南小耳猪各基因型频率差异不显著 ($P > 0.05$); 巴马小型猪的两亚群之间比较, M 为优势等位基因, N 为劣势等位基因, BM2 的 MM 基因型频率显著高于 BM1 ($P < 0.05$), 而 MN 基因型频率则显著低于 BM1 ($P < 0.05$)。2 酶切位点的卡方适合性检验值均低于显著水平 ($P > 0.05$), 表明 2 个猪品种已经达到了 Hardy-Weinberg 平衡状态; 其中巴马小型猪 2 个亚群 (BM1 和 BM2) 的基因频率和基因型频率的分布趋势类同, 2 酶切位点在巴马小型猪的 2 个亚群内均也达到 Hardy-Weinberg 平衡状态。

由表 2 可知, 综合 *EcoR* I 和 *Alu* I 双酶切的

结果分析后表明:2 大品种中 SLA-DQA 基因共有 9 种组合基因型,这 9 种组合基因型高低依次排列为:BBMN 是优势组合基因型,依次为 ABMN、BBMM、ABMM,而 AAMM 和 BBNN、ABNN 和 AANN 居中、AAMN 型出现频率最低。在滇南小耳猪中共检测出 7 组合基因型,没有检测到 ABNN 和 AAMN,除 AANN 型频率稍低外,其余检测出的 6 种组合基因型频率高低差别不大(见表 2)。巴

马小型猪存在全部 9 种组合基因型,其基因型的频率较高的组合依次为 BBMN、ABMN、BBMM、ABMM;其余几种组合基因型稍低。两品种间比较表明:滇南小耳猪的 AAMM 组合基因型频率显著高于巴马小型猪($P < 0.05$),其余 8 种组合基因型频率差异不显著($P > 0.05$)。巴马小型猪的两亚群之间,各组合基因型频率差异也不显著($P > 0.05$)。

表 1 二群体 SLA-DQA 基因单酶切 PCR-RFLP 基因型频率及基因频率

Table 1 The frequencies of genotype and allele of SLA-DQA observed with two different restriction endonucleases in two population

类群 Groups	品 种 Breeds	EcoR I PCR-RFLP 分型					χ^2 值	Alu I PCR-RFLP 分型					χ^2 值	
		基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Allele frequency			基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Allele frequency			
		AA	AB	BB	A	B		MM	MN	NN	M	N		
滇南小耳猪(DN=28)		5(17.85±7.37)	9(32.14±8.99)	14(50.00±9.62)	33.93	66.07	2.243 6	14(50.00±9.62)	9(32.14±9.00)	5(17.86±7.37)	66.07	33.93	0.102 8	
华 南 型	巴马 BM1 (n=55)	8(14.55±4.80)	22(40.00±6.67)	25(45.45±6.77)	34.55	65.45	0.733 7	14(25.45±5.93 ^b)	30(54.55±6.77 ^a)	11(20.00±5.44)	52.73	47.27	0.487 7	
	小型猪 BM2 (n=13)	2(15.39±10.42)	5(38.46±14.04)	6(46.15±14.39)	34.62	65.38	0.293 8	9(69.23±3.32 ^a)	3(23.08±12.16 ^b)	1(7.69±7.69)	80.77	19.23	0.859 8	
	(BM=合计 (n=68)	10(14.71±4.33)	27(39.71±5.98)	31(45.59±6.09)	34.56	65.44	1.014 8	23(33.82±5.78)	33(48.53±6.11)	12(17.65±4.66)	58.09	41.91	0.000 8	
	68)	96	15 (15.63±3.73)	36(37.50±4.97)	45(46.88±5.12)	34.38	65.62	2.736 4	37(38.54±4.99)	42(43.75±5.09)	17(17.71±3.92)	60.42	39.58	0.698 5

χ^2 值为对各品种内不同基因型分布的 Hardy-Weinberg 平衡检验值。表 1 内基因型及等位基因频率值均 $\times 100$,其表达形式为平均值 \pm 标准误;同列未标注者表示没有达到显著水平($P > 0.05$),下同

Score values of χ^2 means Hardy-Weinberg test of genotype in different breeds, the frequencies of genotypes and alleles were given by $n \times 100$, score values were given mean \pm SE. All the values with no any superscripts were showed no significant difference($P > 0.05$) in table 1, the same as below

表 2 SLA-DQA 基因 EcoR I 和 Alu I 双酶切基因型在不同猪种中的分布频率

Table 2 Genotypic frequencies about EcoR I and Alu I of SLA-DQA gene in two population pigs

EcoR I 和 Alu I 酶切组合基因型 Composite genotype	华南型				
	滇南小耳猪	巴马小型猪(BM)			
	DN (n=28)	BM1 (n=55)	BM2 (n=13)	合计(n=68)	合计 (n=96)
AAMM	4(14.29±6.73 ^a)	2(3.64±2.55)	1(7.69±7.69)	3(4.41±2.51 ^b)	7(7.29±2.67)
ABMM	5(17.86±7.37)	6(10.91±4.24)	3(23.08±12.16)	9(13.24±4.14)	14(14.58±3.62)
BBMM	5(17.86±7.37)	6(10.91±4.24)	5(38.46±14.04)	11(16.18±4.50)	16(16.67±3.82)
AANN	1(3.57±3.57)	4(7.27±3.53)	0(0.00±0.00)	4(5.88±2.88)	5(5.21±2.28)
ABNN	0(0.00±0.00)	4(7.27±3.53)	1(7.69±7.69)	5(7.35±3.19)	5(5.21±2.28)
BBNN	4(14.29±6.73)	3(5.45±3.09)	0(0.00±0.00)	3(4.41±2.51)	7(7.29±2.67)
AAMN	0(0.00±0.00)	2(3.64±2.55)	1(7.69±7.69)	3(4.41±2.51)	3(3.13±1.79)
ABMN	4(14.29±6.73)	12(21.82±5.62)	1(7.69±7.69)	13(19.12±4.80)	17(17.71±3.92)
BBMN	5(17.86±7.37)	16(29.09±6.18)	1(7.69±7.69)	17(25.00±5.29)	22(22.92±4.31)

同行上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Means with different small letter in the same row are significantly different($P < 0.05$)

2.4 2 品种小型猪 SLA-DQA 基因的遗传特性分析

由表 3 可知,不同的酶切位点之间,滇南小耳猪、巴马小型猪在 EcoR I 和 Alu I 两酶切位点均显示遗传纯合度(H_o)高于杂合度(H_e),其中滇南小耳猪中 2 酶切位点的基因多样性(I)、多态信息含量(PIC)、有效等位基因均一样;巴马小型猪中 Alu I 酶切位点的杂合性、基因多样性(I)、多态信息含量

(PIC)、有效等位基因(N_e)略高于 EcoR I 位点,但实验化的巴马小型猪(BM2)亚群在 Alu I 酶切位点的多样性略低于 EcoR I 位点。不同品种两酶切位点上比较表明:巴马小型猪 H_e 、I 值均高于滇南小耳猪,巴马小型猪的杂合性(0.469 6)略大于滇南小耳猪(0.448 3),用于生产 BM1 育种群的杂合性(0.475 4)高于试验化负向选择的 BM2(0.381 7)。

综合分析可见,2 猪种在 2 酶切位点表现为中度多态(PIC 为 0.260 4~0.374 3),2 品种中的 2 酶切位点的遗传分歧度为 0.003 5,巴马小型猪的两亚群体间遗传分歧度为 0.088 6,所有的差异主要体现在

*Alu*I 酶切位点上,在 *Eco*R I 位点上没有差异。滇南小耳猪和巴马小型猪的遗传一致性为 0.999 6,遗传距离为 0.000 4;2 群体 BM1 和 BM2 间的遗传一致性为 0.940 3,遗传距离为 0.059 7。

表 3 二群体 *SLA-DQA* 基因 PCR-RFLP 的遗传多态参数的检测

Table 3 The genetic polymorphic parameters based on PCR-RFLP gene typing about *SLA-DQA* gene in two populations

限制酶 Restriction endonuclease	遗传参数 Genetic parameters	华南型				合计 DN and BM (n=96)
		滇南小耳猪 DN(n=28)	巴马小型猪		合计 BM (n=68)	
			广西巴马猪 BM1 (n=55)	实验化巴马猪 BM2 (n=13)		
<i>Eco</i> R I	He	0.448 3	0.452 2	0.452 7	0.452 3	0.451 2
	Ne	1.812 7	1.825 6	1.827 0	1.825 9	1.822 1
	PIC	0.347 9	0.350 0	0.350 2	0.350 0	
	I	0.640 6	0.644 6	0.645 0	0.644 7	0.643 5
	Fis	0.283 1	0.115 5	0.150 3	0.122 2	0.168 8
	Fst				0.000 0	0.000 0
<i>Alu</i> I	He	0.448 3	0.498 5	0.310 7	0.486 9	0.478 3
	Ne	1.812 7	1.994 1	1.450 6	1.949 0	1.916 8
	PIC	0.347 9	0.374 3	0.260 4	0.368 4	0.363 9
	I	0.640 6	0.691 7	0.489 6	0.680 0	0.671 3
	Fis	0.283 1	-0.094 2	0.257 1	0.003 3	0.085 3
	Fst				0.088 6	0.006 8
<i>Eco</i> R I and <i>Alu</i> I	He	0.448 3±0.000 0	0.475 4±0.032 7	0.381 7±0.100 4	0.469 6±0.024 5	0.464 7±0.019 2
	Ne	1.812 7±0.000 0	1.909 8±0.119 1	1.638 8±0.266 1	1.887 4±0.087 1	1.869 4±0.067 0
	I	0.640 6±0.000 0	0.668 1±0.033 3	0.567 3±0.109 9	0.662 3±0.025 0	0.657 4±0.019 7
	Fst				0.045 9	0.003 5

3 讨论

3.1 分子分型思路、方法与数据处理

SLA-DQA 基因的分子分型技术目前国内外主要应用了 PCR-RFLP^[14,17], SNP^[13]、PCR-SSP^[14]、克隆测序等^[9,10,16]。考虑到实用简便以及与国际接轨,我们首先运用 PCR-RFLP 技术初步对 *SLA-DQA* 的完整外显子 2 进行了中等分辨率筛选,然后选择不同组合基因型个体克隆测序,对测序中疑问序列重新用高保真的 *Pfu* 酶进行扩增验证,这样保证试验的准确性和进一步深入探讨。这相对比 Nielsen 等^[17]、刘榜等^[10]用单一的酶切或用不完整的外显子 2 检测等位基因的多态更为可靠与国际接轨,一旦在外显子 2 发现了新等位基因,可进一步采用 RT-PCR 扩增 *SLA-DQA* 的 mRNA 序列,这就避免了一开始用较为繁琐的 RT-PCR 技术结合克隆测序来研究多态更为简便和经济^[11,16],也便于大规模研究群体多态。在分析方法上,考虑到限制

性酶切多态(RFLP)、微卫星(MS)、单核苷酸多态(SNP)均为共显性的 3 代遗传标记,尽管其多态产生机理、分子分型检测原理上不尽相同,但在分析方法上却能找到一定的共识。根据群体遗传和分子进化的有关原理,RFLP 的资料一般有 3 种处理方式,其中大量的 RFLP 座位被用来检验近缘群体和物种时,可以根据序列大小和酶切位点的多少将其划分成限制性片断和限制性位点数据,这时可以用 RESTDATA、RESTSITE 以及 PHILIP 等软件包处理,但在 DNA 的一个片断上检测到等位基因数目较小时,通常用等位基因频率的差异来测定,此时可以开发和运用基于分子遗传标记的软件包^[18~21]。本次试验中,我们率先应用 POPGENE 和 DISPAN 软件处理 *SLA-DQA* 基因中 341bp 片断的酶切分型,达到了非常好的效果,指标更为全面。

3.2 群体的筛选以及结果预测

本试验采集的滇南小耳猪样品是目前云南省地方基层组织认为最纯的原始基础群,是云南农业大

学选择出最高近交系数的版纳微型猪的原始素材,由于其地理位置非常偏僻,已经形成一个天然的隔离群,该群体未受外来家养猪种血缘的影响。巴马小型猪来自于两个亚群,其中用于生产选育、记录详实的群体(BM1)主要用于提供优质的肉质,满足烤乳猪的需要;BM2 群体选育目标为实验化培育,负向选择指标主要体现在体型小、体重轻和进一步高度近交等。由于其它因素的限制,挑选具有代表性的 13 头 BM2 样本,相较于 BM1 群体而言,样本含量略为偏少,但这并不显著影响分析结果(表 1~3),每一种酶切分型和群体遗传参数均表明两群体在不同的选育目标下,群体分歧逐步加大,表现为品种内分歧大于品种间的分歧,这就暗示人工选择强压下,实验化培育猪群中不断淘汰不利基因,纯化有利基因,使群体基因型趋于纯合;两品种遗传一致性很高,表明其具备相当程度的种质均质性,符合封闭群动物的要求,这与用其他分子遗传标记研究结果一致^[1~6]。2 品种基因频率和基因型频率的高低,与其适应进化过程中的选择机制有关,BBMN、ABMN、BBMM、ABMM 为优势组合,AAMN、AANN 等为劣势组合。初步可以预测巴马小型猪中基于 PCR-RFLP 分型的 AAMN 和 ABNN 将分离出至少 4 种不同于滇南小耳猪的新等位基因(表 2),这将在基于克隆测序进行序列多态位点的连锁分析得到证实,其序列多态性和选择机制的深入探讨将为小型猪的抗病性强提供科学的理论依据。

参考文献:

- [1] 刘中禄,魏泓,曾养志,等.中国三种实验用小型猪 mtDNA D-loop 多态性分析[J].动物学报,2001,47(4):425~430.
- [2] 樊斌,刘榜,余梅,等.中国小型猪品种遗传多样性的 RAPD 研究[J].华中农业大学学报,2003,22(3):240~242.
- [3] 吴丰春,魏泓,王爱德. AFLP 技术用于巴马小型猪遗传多样性的研究[J].中国实验动物学杂志,2002,12(4):207~209.
- [4] 陈丙波,王传广,周建华,等.广西巴马小型猪和贵州小型香猪的 DNA 指纹分析[J].第三军医大学学报,2003,25(7):620~22.
- [5] 牛荣,黄中波,商海涛,等.应用微卫星 PCR 对中国 3 个品系实验用小型猪的遗传检测[J].中国兽医学报,2002,22(2):198~199.
- [6] 王昕,曹红鹤,耿社民,等.利用微卫星标记对中国 4 种小型猪的遗传多样性研究[J].畜牧兽医学报,2002,33(6):530~532.
- [7] 李 楨,曹红鹤,储明星,等.中外 11 个猪种 H-FABP 基因 PCR-RFLP 的研究[J].畜牧兽医学报,2003,34(4):313~317.
- [8] LI Hua. A survey of swine leukocyte antigen[J]. Animal Biotechnology Bulletin,2004,1:251~256.
- [9] 刘 榜,朱正茂,余 梅,等.猪 MHC-II 类区 DQA 新等位基因及新突变位点的发现[J].遗传学报,2003,30(10):955~960.
- [10] 刘 榜,杨金娥,樊 斌,等.一个新的猪 SLA-DQA 等位基因的分离与分析[J].农业生物技术学报,2004,12(2):228~229.
- [11] 陈福祥,谢 晋,张 勇,等.中国猪种 DQA 新等位基因的克隆和分析[J].中国免疫学杂志,2004,20(2):111~116.
- [12] 李 华,罗怀容,张亚平,等. SLA 的分型与检测[J].遗传,2004,26(2):211~214.
- [13] 刘 榜.15 个猪品种 MHC II 类区 4 个基因的 SNPs 分析及免疫性状的关联[D].武汉:华中农业大学,2003.
- [14] Ando A, Ota M, Sada M, *et al.* Rapid assignment of the swine major histocompatibility complex (SLA) class I and II genotypes in Clawn miniature swine using PCR-SSP and PCR-RFLP methods[J]. Xenotransplantation, 2005,12: 121~126.
- [15] Smith D M, Lunney J K, Martens G W, *et al.* Nomenclature for factors of the SLA class-I system, 2004 [J]. Tissue Antigens, 2005, 65(2): 136~149.
- [16] Hirsch F, Germana S, Gustafsson K, *et al.* Structure and expression of class II α genes in miniature swine [J]. The Journal of Immunology, 1992,149(3):841~846.
- [17] Nielsen V H, Thomsen B. Pvu II RFLPs at SLA class II loci:DQA and DRA[J]. Animal Genetics, 1997,28(2):151~152.
- [18] Nei M. Genetic distance between populations[J]. Am Nat, 1972, 106:283~292.
- [19] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Natl Acad Sci, 1973, 70: 3 321~3 323.
- [20] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978,89:583~590.
- [21] Nei M, Kumar S. 分子进化与系统发育[M]. 吕宝忠,钟扬,高莉萍,等译.北京:高等教育出版社,2002.