

西藏牦牛的 RAPD 遗传多样性及其分类研究

柴志欣¹, 赵上娟¹, 姬秋梅², 张成福², 信金伟², 钟金城^{1*}

(1. 西南民族大学 动物遗传育种学国家民委—教育部重点实验室, 成都 610041;

2. 西藏自治区农业科学院畜牧兽医研究所, 拉萨 850000)

摘要: 为了解西藏地区牦牛品种或类群的遗传多样性和亲缘关系, 本研究从 33 个 RAPD 多态性引物中筛选出 8 个条带清晰且多态性丰富的引物对西藏地区的巴青牦牛、类乌齐牦牛、丁青牦牛、桑日牦牛、工布江达牦牛、江达牦牛、康布牦牛、桑桑牦牛、嘉黎牦牛、帕里牦牛、斯布牦牛等 11 个类群的核基因组 DNA 进行了 RAPD 分析, 并用 Nei 氏标准距离和 UPGMA 聚类法分析了类群间的亲缘关系。结果表明: (1) 西藏牦牛类群的遗传多样性指数变异范围在 0.185 7~0.405 3 之间, 其中帕里牦牛最小(0.185 7), 说明相对较纯, 群体较整齐; 而工布江达牦牛最大(0.405 3), 显示该群体内部具有较多的遗传变异。(2) 在 11 个类群中, 其遗传多样性指数大小分别为: 工布江达牦牛(0.405 3) > 江达牦牛(0.353 6) > 斯布牦牛(0.344 8) > 康布牦牛(0.342 8) > 嘉黎牦牛(0.332 3) > 桑日牦牛(0.282 3) > 巴青牦牛(0.279 3) > 桑桑牦牛(0.269 8) > 丁青牦牛(0.259 7) > 类乌齐牦牛(0.224 1) > 帕里牦牛(0.185 7), 具有西藏东部牦牛类群遗传多样性相对较高, 而西部牦牛类群遗传多样性相对较低的趋势, 预示着西藏东部可能是牦牛的起源地之一。(3) 遗传距离构建的分子聚类关系图表明: 西藏 11 个牦牛类群可分为 2 大类, 帕里牦牛(PL)为一类, 其余 10 个牦牛类群为另一类。综上所述, 西藏牦牛具有较丰富的遗传多样性, 品种或种群内的遗传分化显著, 这是西藏牦牛业持续发展和牦牛适应外界环境的遗传基础, 是将来培养牦牛新品种或品系的重要基因资源; 西藏牦牛品种可分为 2 大类群。

关键词: 西藏牦牛; RAPD; 遗传多样性

中图分类号: S823.85; Q346.5

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2011)10-1380-07

Study on Genetic Variation in Tibetan Yak by RAPD Technique

CHAI Zhi-xin¹, ZHAO Shang-juan¹, JI Qiu-mei², ZHANG Cheng-fu²,

XIN Jin-wei², ZHONG Jin-cheng^{1*}

(1. Key Laboratory of Animal Genetics and Breeding of State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China; 2. Institute of Animal Science and Veterinary, Academy of Agricultural Sciences, Tibet Autonomous Region, Lhasa 850000, China)

Abstract: To understand the genetic diversity of Yak populations from Tibetan and the relationship among them, a total of 33 polymorphic primers were used in RAPD analysis in 11 populations including Baqing Yak, Leiwuqi Yak, Dingqing Yak, Sangri Yak, Gongbujiangda Yak, Jiangda Yak, Kangbu Yak, Sangsang Yak, Jiali Yak, Pali Yak, Sibu Yak, 8 of them were selected for RAPD analysis of DNA of 11 Yak populations. Genetic distance indexes among breeds and genetic similarity indexes within breeds were calculated by Nei and the phylogenetic tree was constructed by UPGMA cluster analysis. The result showed that genetic diversity index of Tibet yak breeds or groups varied between 0.185 7 and 0.405 3. Among them Pali Yak was 0.185 7, which indicated that Pali Yak was relatively pure, the group was neat. And Gongbu-

收稿日期: 2010-11-08

基金项目: 西藏自治区重点科研项目计划资助(20092-1)

作者简介: 柴志欣(1984), 女, 山西大同人, 硕士, 主要从事基因组与生物信息学研究, Tel: 028-85522285, E-mail: chaizhixin2525@163.com

* 通讯作者: 钟金城, E-mail: zhongjincheng518@126.com

jiangda Yak was 0.405 3, which displayed that group internal have more variations. In 11 breeds or groups, the genetic diversity index respectively were: Gongbuijiangda Yak(0.405 3) > Jiangda Yak (0.353 6) > Sibuyak(0.344 8) > Kangbu Yak(0.342 8) > Jiali Yak(0.332 3) > Sangri Yak (0.282 3) > Baqing Yak(0.279 3) > Sangsang(0.269 8) > Dingqing Yak(0.259 7) > Leiwuqi Yak (0.224 1) > Pali Yak(0.185 7). The eastern Tibet yak breeds or groups had higher genetic diversity, and the western Tibet yak had lower genetic diversity, which indicated that eastern Tibet may be the origin of yak. The molecular clustering relationship chart showed that Tibet 11 yak breeds or groups could be divided into two clusters. Pali Yak was a cluster, the others were another cluster. The result indicate that Tibet yak have abundant genetic diversity and significant genetic difference among the breeds or groups.

Key words: Tibetan yak; RAPD; genetic diversity

随机扩增多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, RAPD) 技术是一种分子遗传标记技术, 由于其具有独特的检测 DNA 多态性的方式及灵活、快速等特点, 所以被广泛应用于动物遗传育种研究^[1-4]。为研究品种或类群间的亲缘关系和分类提供了一个快速、简便、有效的方法, 由于此方法不需要获得原始 DNA 序列信息更适合稀有物种的研究。在品种和类群的鉴定、杂种优势预测以及基因定位、遗传图谱构建和标记辅助选择等方面具有广泛的应用前景, 为提高动物育种的选择效率, 研究种群间的关系提供了更为科学、准确的理论依据^[5-7]。

牦牛 (*Bos grunniens*) 是分布在海拔 3 000 m 以上的青藏高原及其毗邻高寒地区的珍稀牛种, 它能充分利用高寒草地牧草资源且对高寒生态条件有极强的适应能力, 是经长期自然选择和人工选择形成的牛种之一, 被称为“高原之舟”, 在遗传资源上是一个极为宝贵的基因库^[8]。用现代分子生物学技术研究牦牛的遗传多样性, 对于发掘、保护和利用牦牛遗传资源具有举足轻重的作用。目前对牦牛品种起源、演化、分类及亲缘关系鉴定等最常用的研究方法当属分子遗传标记。据相关研究显示, RFLP、SS-CP、RAPD、SNP、SSR、DNA 指纹等分子标记技术已成功用于牦牛遗传多样性的研究。

西藏自治区作为我国牦牛的主要产区之一, 全区 71 个县均有牦牛分布, 各地区由于自然生态环境条件的差异形成了不同的品种或类群, 丰富的遗传资源对于研究、保存和利用牦牛这一物种提供了素材。中国牦牛科学研究始于 20 世纪 60 年代, 早期

的研究主要集中在牦牛生产性能方面, 进入 20 世纪 90 年代以后, 学者们利用分子遗传标记、细胞遗传标记、生化遗传标记等对牦牛品种的遗传多样性进行了较多的研究。但在不同标记层次上获得的结果不尽相同, 不能取得令人信服的结果, 加之对西藏牦牛的研究仅限于少数品种或类群, 很少从 DNA 水平上对遗传分化、遗传结构进行系统的研究分析, 利用 RAPD 标记研究西藏多个牦牛品种或类群的遗传多样性、亲缘关系及其分类尚属空白^[9]。因此, 本研究利用 RAPD 标记研究了巴青牦牛、类乌齐牦牛、丁青牦牛、桑日牦牛、工布江达牦牛、江达牦牛、康布牦牛、桑桑牦牛、嘉黎牦牛、帕里牦牛、斯布牦牛等 11 个西藏牦牛类群的遗传多样性, 并进行了聚类分析, 结合地理学、考古学、历史学、人类学等资料探讨西藏牦牛品种或类群的起源、演化和分类关系。

1 材料与amp;方法

1.1 试验动物

从 11 个西藏牦牛类群中, 选取健康成年牦牛 483 头 (表 1), 采集耳组织, 75% 乙醇保存带回实验室, 存于 -80 ℃ 的冰箱中备用。

1.2 引物及主要试剂

随机扩增多态性 DNA 引物均购自上海 In-vitrogen 生物技术有限公司, 并从中选取 G、C 含量丰富的 33 个引物, 经反复筛选从中选取条带清晰、多态性丰富、重复性好的 8 个引物 (表 2)。Taq DNA 聚合酶及相应的缓冲液、DNA Marker DL2000、dNTP、MgCl₂ 均购自 TaKaRa 公司。

表 1 供试牦牛类群、数量及采样地点

Table 1 List of samples used for analyses

类群 Population	代码 Code	样品数量 Number of samples	采样地点 Location
桑桑牦牛	SS	50	桑桑县
帕里牦牛	PL	50	帕里县
康布牦牛	KB	50	康布县
嘉黎牦牛	JL	50	嘉黎县
巴青牦牛	BQ	50	巴青县
丁青牦牛	DQ	10	丁青县
类乌齐牦牛	LWQ	25	类乌齐县
江达牦牛	JD	50	江达县
桑日牦牛	SR	50	桑日县
工布江达牦牛	GB	50	工布江达县
斯布牦牛	SB	48	斯布县
合计		483	

表 2 8 个 RAPD 随机引物序列

Table 2 8 RAPD random sequence of primers

编号 No.	引物序号 Primer number	引物序列 (5'-3') Primer sequence
1	Z100511-2054	GTCCCCACTC
2	Z100511-2062	CCCACCTGAG
3	CPZ356-04	GGTGACGCGAG
4	CPZ356-17	CCGCCTAGTC
5	CPZ356-18	TGACGCGCGGT
6	NSO-153542-003	CCGCATCTAC
7	NSO-153542-004	CTCTCCGCCA
8	NSO-153542-007	CCGATCTCCC

1.3 基因组 DNA 的提取及检测

采用常规的酚-氯仿法提取基因组 DNA^[10], 用 1% 的琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计双重检测 DNA 的纯度和浓度, 并将所提 DNA 产物置于 -20 ℃ 保存备用。

1.4 PCR 扩增体系

PCR 反应体系为 25 μL , 包括 10 \times buffer 2.5 μL 、dNTP 2.0 mmol \cdot L⁻¹、MgCl₂ 2.0 mmol \cdot L⁻¹、引物 2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、TaqDNA 聚合酶 1 U、模板 DNA 100 ng、ddH₂O 15.2 μL 。反应条件为: 95 ℃ 预变性 2 min; 95 ℃ 变性 1 min, 36 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 2 min, 35 个循环; 72 ℃ 延伸 5 min; 8 ℃ 保存。PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳, 70 V 恒压电泳 2 h, 2 000 bp Ladder Marker 作对照, EB 染色, 自动凝胶成像系统拍照检测。

1.5 谱带分析及数据统计处理

根据不同牦牛品种或类群基因组 DNA 的 RAPD 标记检测结果, 选取清晰可辨且有多态的谱

带用于数据分析。对扩增图谱观察记录, 将结果中条带清晰可辨的记为“1”, 否则记为“0”。

将数据以 0/1 形式录入 Excel 表格, 形成二元矩阵, 利用 DCFA 及 Popgen 32 Version 1. 32 和 NTSYS2. 1 等软件计算: Nei 氏遗传多样性指数 (H_o)、片段共享度 (F)、遗传距离 (D)、遗传分化指数 (G_{st})、群体总的遗传多样性 (H_t) 以及群体内遗传多样性 (H_s), 并根据相应的遗传距离采用非加权配对算术平均法 (Unweighted pairgroup method arithmetic average, UPGMA) 构建品种或类群间的系统聚类关系图。

应用 Nei 氏公式计算牦牛品种或类群遗传多样性指数 $H_o = -\sum \pi_i \ln \pi_i$, π_i 为一条扩增带在群体内的出现频率; 片段共享度 $F = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$, 其中 N_{xy} 为 x 、 y 群体 DNA 样品扩增产物中分子量相同的片段总数, N_x 、 N_y 为个体 x 和 y 的 DNA 样品扩增产物 DNA 片段总数; 遗传距离 $D = -\ln(I)$, 其中, $I = I_{xy} / (I_x I_y)^{1/2}$, $I_x = \sum X_i^2$, $I_y = \sum Y_i^2$, $I_{xy} =$

$\sum X_i Y_i$, 其中 X_i, Y_i 分别是 X, Y 种群中的第 i 个等位基因频率; 遗传分化指数 $G_{st} = D_{st} / H_T$, 其中 $D_{st} = H_T - H_s, H_T$ 为总的遗传多样性, D_{st} 为群体间遗传多样性; 基因流 $N_m = 0.5(1 - G_{st}) / G_{st}$ 。

2 结 果

2.1 西藏牦牛的 RAPD 遗传多样性

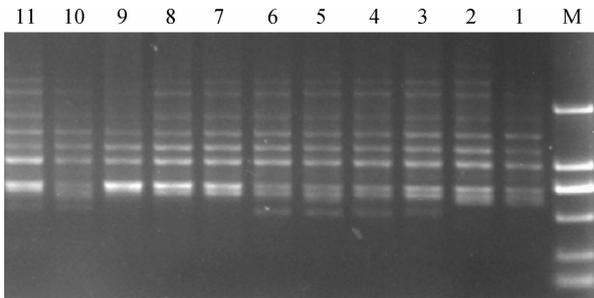
在 33 个随机引物中, 有 8 个引物经过 PCR 扩增可获得清晰可辨的谱带, 并且所选的 8 个引物的扩增产物均表现出多态性(表 3), 谱带数相对较多

的巴青牦牛和谱带数相对较少且类型差异较大的工布江达牦牛的电泳结果见图 1、图 2。在整个试验过程中, 凝胶电泳缓冲液、凝胶浓度及电压都保持一致, 并且进行了 2 次重复, 保证多态类型的稳定。多态频率有 7 个引物是 100%, 1 个引物是 85.71%, 8 个引物共扩增出 60 个条带, 扩增出的条带全部表现出多态性。同一随机引物扩增不同品种 DNA 所产生的谱带在 11 个牦牛类群间有较大的差异, 表明 RAPD 在研究不同品种或类群间的遗传多样性方面具有较高的准确性及灵敏度。

表 3 西藏 11 个牦牛类群的 RAPD 扩增结果

Table 3 The result of RAPD among 11 yak populations

引物 Primer	标记数 Number of marker	标记多态数 Variation of marker	多态频率/% Polymorphism frequency
1	7	7	100
2	8	8	100
3	7	7	100
4	4	9	100
5	11	11	100
6	7	7	100
7	9	9	100
8	7	6	85.71
总数	60	59	

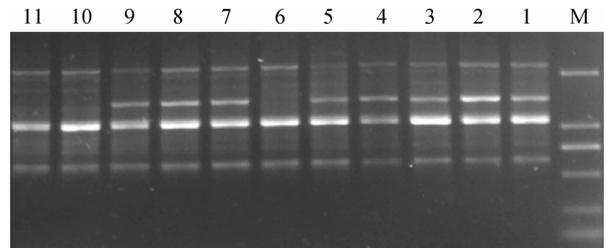


1~11. 巴青牦牛的不同个体; M. DNA 相对分子质量标准

1-11. The different individual of Baqing Yak; M. DNA marker

图 1 引物 NSO-153542-004 随机扩增巴青牦牛 DNA 产物电泳结果

Fig. 1 The electrophoresis patterns of RAPD products from DNA randomly amplified by primer NSO-153542-004



1~11. 工布江达牦牛的不同个体; M. DNA 相对分子质量标准

1-11. The different individuals of Gongbujiangda Yak; M. DNA marker

图 2 引物 CPZ356-04 随机引物扩增工布江达牦牛 DNA 产物电泳结果

Fig. 2 The electrophoresis patterns of RAPD products from DNA randomly amplified by primer CPZ356-04

根据 Nei 氏公式计算 RAPD 扩增结果, 得到 11 个西藏牦牛类群的遗传多样性指数 H_o 。结果表明: 工布江达牦牛、江达牦牛、斯布牦牛、康布牦牛、嘉黎牦牛、桑日牦牛、巴青牦牛、桑桑牦牛、丁青牦

牛、类乌齐牦牛、帕里牦牛等 11 个西藏牦牛类群的遗传多样性指数大小分别为 0.405 3、0.353 6、0.344 8、0.342 8、0.332 3、0.282 3、0.279 3、0.269 8、0.259 7、0.224 1、0.185 7, 变异范围在 0.185 7~0.405 3 之间, 具有较丰富的遗传多样性。其中帕里牦牛最小(0.185 7), 说明相对较纯, 群体较整齐; 而工

布江达牦牛最大(0.405 3),显示该群体内部具有较多的变异。11 个类群具有西藏东部牦牛类群遗传多样性相对较高,而西部牦牛类群遗传多样性相对较低的趋势,预示着西藏东部可能是牦牛的起源地。

2.2 西藏牦牛品种或类群间的遗传分化及分类

对 8 个 RAPD 多态引物的扩增结果用 Popgen 32 软件计算各类群间的遗传距离 D (表 4)。结果表明:工布江达牦牛与桑日牦牛间遗传距离最小,仅有 0.056 4;帕里牦牛与康布牦牛间的遗传距离最大为

0.555 1,同时帕里牦牛与其他各牦牛类群间的遗传距离均较大。

根据种群内遗传多样性 H_s 、种群间遗传差异在总的遗传差异中所占比例 G_{st} (表 5)可知:群体总的遗传多样性 $H_t=0.361 3$ 大于群体内遗传多样性 $H_s=0.211 5$,种群内遗传多样性比例($1-G_{st}$)为 58.55%,种群间遗传多样性比例(基因分化系数) G_{st} 为 41.45%,表明种内的遗传变异较种间大,则本试验所研究西藏牦牛的遗传变异主要存在于种群内。

表 4 各牦牛类群间的片段共享度和遗传距离

Table 4 The fragments shared together by every breeds and the average index of genetic distance among populations

品种	PL	GB	LWQ	KB	SR	BQ	JD	SB	JL	SS	DQ
PL		0.825 5	0.766 1	0.574 0	0.752 3	0.760 4	0.624 4	0.710 4	0.656 6	0.695 2	0.702 9
GB	0.191 8		0.853 3	0.753 2	0.945 2	0.844 5	0.857 6	0.842 1	0.828 7	0.835 4	0.870 5
LWQ	0.266 4	0.158 6		0.707 1	0.842 0	0.836 5	0.758 2	0.781 5	0.739 3	0.755 7	0.871 1
KB	0.555 1	0.283 4	0.346 5		0.754 2	0.751 2	0.860 6	0.741 6	0.759 3	0.759 1	0.689 5
SR	0.284 7	0.056 4	0.172 0	0.282 0		0.888 5	0.821 0	0.822 6	0.749 1	0.839 8	0.845 4
BQ	0.273 9	0.169 0	0.178 5	0.286 1	0.118 2		0.725 0	0.803 6	0.745 8	0.796 6	0.782 5
JD	0.471 0	0.153 6	0.276 9	0.150 2	0.197 2	0.321 6		0.826 9	0.829 8	0.847 2	0.773 6
SB	0.342 0	0.171 9	0.246 6	0.298 9	0.195 3	0.218 7	0.190 1		0.814 2	0.859 1	0.881 5
JL	0.420 8	0.187 9	0.302 1	0.275 4	0.288 9	0.293 3	0.187 3	0.205 5		0.7362	0.776 5
SS	0.363 6	0.179 8	0.280 1	0.275 7	0.174 6	0.227 4	0.165 9	0.151 8	0.306 3		0.776 6
DQ	0.352 5	0.138 7	0.138 0	0.371 8	0.168 0	0.245 3	0.256 7	0.126 1	0.252 9	0.252 8	

表中数据上三角是片段共享度,下三角是遗传距离

The data above triangle are fragments shared, below triangle are the average index of genetic distance among populations

表 5 西藏牦牛品种或类群的遗传多样性

Table 5 Genetic diversity of Tibet yak populations

指标 Index	群体总的遗传多样性 H_t	群体内遗传多样性 H_s	基因分化系数 G_{st}	基因流 N_m
平均 Mean	0.361 3	0.211 5	0.414 5	0.706 9
标准差 St. dev	0.020 1	0.013 7		

根据表 4 中的遗传距离,用 UPGMA 法构建了西藏 11 个牦牛类群的分子聚类关系图(图 3)。结果表明:西藏 11 个牦牛类群可分为 2 大类,帕里牦牛(PL)为一类,其余 10 个牦牛类群为另一类。在由 10 个牦牛类群组成的这一类中,工布江达牦牛(GD)与桑日牦牛(SR)先聚在一起后同巴青牦牛(BQ)聚为一类,然后类乌齐牦牛(LWQ)与这 3 个牦牛类群聚为一大类;斯布牦牛(SB)与丁青牦牛(DQ)聚为一类后与前一大类聚为更大的一类,再与桑桑牦牛(SS)聚为一类;康布牦牛(KB)与江达牦牛(JD)相聚后同嘉黎牦牛(JL)聚为一类,最后与之前 7 个牦牛类群聚成的一大类聚合在一起。由此可知,工布江达牦牛、桑

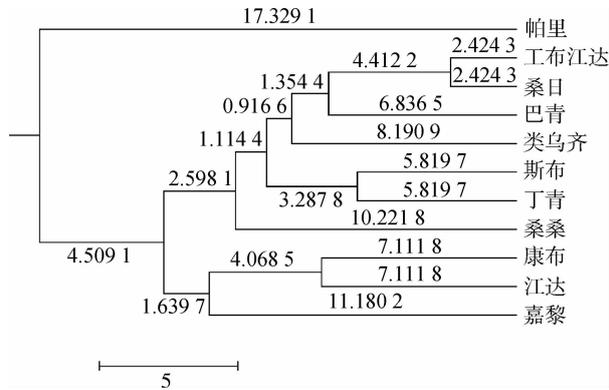
日牦牛、巴青牦牛、类乌齐牦牛这些类群的亲缘关系较近,可能与其所处的地理位置有一定的相关性。

3 讨 论

3.1 关于西藏牦牛品种或类群的遗传多样性

20 世纪 90 年代之前,对牦牛遗传多样性的研究主要集中在形态学方面,之后的研究逐渐从生化和 DNA 两个水平展开。从生化水平,主要以蛋白质或同工酶为遗传标记,对血红蛋白(Hb)、血清白蛋白(Alb)、后白蛋白(Pa)、碱性磷酸酶(APK)、乳酸脱氢酶(LDH)等位点进行了相关研究;在 DNA 水平上,主要以微卫星 DNA、RFLP、RAPD 等相关

技术进行研究。涂正超^[11]对九龙牦牛、麦洼牦牛、嘉黎牦牛、亚东牦牛、环湖牦牛、天祝牦牛 6 个品种或类群进行了血液蛋白座位的多态性分析,结果表明群体间亲缘关系与地理分布无关;涂正超等^[12]还对我国西北、西南地区的 5 个牦牛群体进行了 mtDNA 的 RFLP 分析,结果显示牦牛群体间的分化程度较低,并估算出牦牛、普通牛和瘤牛的分化时间;赖松家等^[13]通过测定 4 个牦牛品种和 1 个犏牛类群共 33 个个体的 mtDNA 调控区(D-loop)的全序列,共检测到 24 种单倍型,表明我国牦牛遗传多样性丰富;肖玉萍等^[14]利用 RAPD 技术对 4 个牦牛品种进行了多样性分析,结果表明 4 个牦牛品种中品种内遗传变异大于品种间遗传变异,牦牛品种的遗传变异主要存在于品种内部。



图中数字为分支长度

The data in figure are the length of branches

图 3 西藏 11 个牦牛类群间的 UPGMA 分子聚类关系图

Fig. 3 The UPGMA dendrogram of 11 yak populations

在本研究中,8 个引物均表现出多态性,多态频率有 7 个引物是 100%,1 个引物是 85.71%,8 个引物共扩增出 60 个条带,扩增出的条带全部表现出多态性;西藏牦牛类群的遗传多样性指数变异范围在 0.185 7~0.405 3 之间,西藏牦牛具有丰富的遗传多样性。其中帕里牦牛最小(0.185 7),说明相对较纯,群体较整齐;而工布江达牦牛最大(0.405 3),显示该群体内部具有较多的变异。在 11 个类群中,其遗传多样性指数大小分别为:工布江达牦牛(0.405 3)>江达牦牛(0.353 6)>斯布牦牛(0.344 8)>康布牦牛(0.342 8)>嘉黎牦牛(0.332 3)>桑日牦牛(0.282 3)>巴青牦牛(0.279 3)>桑桑牦牛(0.269 8)>丁青牦牛(0.259 7)>类乌齐牦牛(0.224 1)>帕里牦牛(0.185 7),具有西藏东部牦牛类群遗传多样性相对

较高,而西部牦牛类群遗传多样性相对较低的趋势,预示着西藏东部可能是牦牛的起源地。本研究中的遗传多样性指数与肖玉萍等^[14]研究的麦洼牦牛(0.262)、九龙牦牛(0.311)、大通牦牛(0.252)、天祝白牦牛(0.216)的 H_o 值相接近,而比伍红等^[15]研究的麦洼牦牛(0.990)的对应值略低,说明同一物种因地理位置及品种间的差异而表现出不同的遗传多样性和遗传分化过程。

在本研究中,8 个引物全部扩增出条带清晰的多态性谱带,检出率及多态率均较高,引物扩增的片段数在 4~11 之间,这稍少于肖玉萍等^[14]所研究的 4 个牦牛品种 RAPD 分析所扩增的片段数,但与伍红等^[15]的报道相一致;扩增片段的大小在 500~2 600 bp 之间,与伍红等^[15]的研究结果相一致,但又有别于肖玉萍等^[14]的报道。这可能与研究的牦牛品种或类群及所选的引物体系不同有关。本研究共有 11 个牦牛类群的 483 个个体,类群和个体数量均很大,研究结果具有较大的可靠性;加之,在西藏的 11 个牦牛类群中,除帕里牦牛、嘉黎牦牛和斯布牦牛有过一些零星的报道外,对其余 8 个牦牛类群的遗传多样性研究至今尚未见报道和记录。因此,本研究结果对认识西藏牦牛品种或类群的遗传多样性及今后的开发利用具有重要的理论意义。

3.2 关于西藏牦牛品种或类群的分类

牦牛品种或类群是西藏畜牧业生产的主要工具,对其资源的认识和正确分类有助于揭示他们之间的历史渊源及亲缘关系,阐明其生物学特性,亦为在育种工作中充分发挥各品种或类群的潜力作用,合理地利用和保存这些优良基因库提供正确的理论依据。

在本研究中,根据遗传距离,用 UPGMA 法构建的分子聚类关系图表明:西藏 11 个牦牛类群可分为 2 大类,帕里牦牛(PL)为一类,其余 10 个牦牛类群为另一类。在由 10 个牦牛类群组成的这一类中,工布江达牦(GB)与桑日牦牛(SR)先聚在一起后同巴青牦牛(BQ)聚为一类,然后类乌齐牦牛(LWQ)与这 3 个牦牛类群聚为一大类;斯布牦牛(SB)与丁青牦牛(DQ)聚为一类后与前一大类聚为更大的一类,再与桑桑牦牛(SS)聚为一类;康布牦牛(KB)与江达牦牛(JD)相聚后同嘉黎牦牛(JL)聚为一类,最后与之前 7 个牦牛类群聚成的一大类合在一起。由此可知,工布江达牦牛、桑日牦牛、巴青牦牛、类乌齐牦牛这些类群的亲缘关系较近。从其所处的地理位置看,工布江达牦牛位于林芝地区,桑日牦牛位于山

南地区,两地地理位置较近,同时由于较近的地理位置产生的放牧、引种等因素使 2 个品种之间的亲缘关系较近;巴青牦牛位于那曲地区与山南地区的桑日牦牛相距较远,加之巴青牦牛与青海地区的牦牛有部分种群交流,故巴青牦牛应列为单独一类;从考古和历史学角度分析,类乌齐牦牛有着丰富的遗传多样性也应单独划为一类。但对于这 11 个类群中的多数牦牛类群的研究都相对较少,可以验证分类的资料缺乏^[16-18],今后有待于从牦牛的地理分布、生态条件、品种育成史以及其他 DNA 标记等多方面进一步验证。

3.3 关于西藏牦牛品种或类群的遗传稳定性与保护

王义权等^[19]利用 RAPD 技术对 6 种蛇的遗传多样性进行研究,发现锦蛇属 3 个种间的片段共享度在 0.426 7~0.510 1 之间,而异属种之间则在 0.198 6~0.328 6 之间,说明 2 个物种间的亲缘关系越近,基因组的序列相似性越高,用同一引物扩增的共有片段也越多,片段共享度也越高。遗传相似指数越高,物种的表型也就越相似,遗传稳定性越高。较高的遗传相似指数对于保持物种的优良性状稳定遗传至关重要^[20]。在本研究中,片段共享度表明,帕里牦牛和康布牦牛的遗传差异较小,其值为 0.574 0,显示这 2 个群体具有一定的遗传稳定性。可能是由于它们分别分布在西藏的亚东县和日喀则地区,交通相对落后,与外界没有或很少发生基因交流,长期进行纯种繁育,使基因型的纯合度提高,加之当地对牦牛品种的定性选择和优良配种及淘汰的结果。

4 结 论

本研究通过对西藏自治区 11 个牦牛类群进行 RAPD 遗传多样性及其起源、进化和分类研究,表明西藏牦牛具有较丰富的遗传多样性,这是西藏牦牛业持续发展和牦牛适应外界环境变化的遗传基础,也是将来培育牦牛新品种或品系的重要基因资源;西藏牦牛品种可分为 2 大类群,即帕里牦牛为一类,其余 10 个牦牛类群为另一类。

参 考 文 献:

[1] 杜立新,万海伟,王爱华,等. 用 RAPD 技术筛选中国荷斯坦牛产奶量性状遗传标记[J]. 畜牧兽医学报, 2005,36(9):882-886.

[2] 王学峰,经荣斌,宋成义. RAPD 技术及其在动物遗传育种中的应用[J]. 畜牧兽医杂志,2002,1(21):18-21.

[3] 李祥龙,张亚平,陈圣偶,等. 我国主要地方山羊品种

随机扩增多态 DNA 研究[J]. 畜牧兽医学报,2000,31(5):416-422.

- [4] 王 杰,徐金瑞,白文林,等. 四川几个山羊品种(群体)与岩羊 RAPD 分析[J]. 畜牧兽医学报,2003,34(5):434-437.
- [5] SHARMA A K, BHUSHAN B, KUMAR S, et al. Molecular characterization of rathi and tharparkar indigenous cattle (*Bos indicus*) breeds by RAPD-PCR[J]. *Asian Aust J Anim Sci*,2004, 17(9):1204-1209.
- [6] ANDERSON L J, BOHME L, PETERSON P A, et al. Genomic hybridization of bovine class II major histocompatibility genes; Extensive polymorphism of DQ α and DQ β genes[J]. *Anim Genet*,1986,17:95-112.
- [7] BAIRD E, BLAND S C, WAUGH M D. Molecular characterization of inter and into specific somatic hybrids of potato using random amplified polymorphic DNA(RAPD) marker[J]. *Mol General Genet*, 1992, 223(3):469-475.
- [8] 《中国牦牛学》编委会. 中国牦牛学[M]. 成都:四川科学技术出版社,1989.
- [9] 赵新全,祁得林,杨 洁. 青藏高原代表性土著动物分子进化与适应研究[M]. 北京:科学出版社,2008.
- [10] SAMBROOK J, FRITSCH E H, MAIATIS T. 分子生物学实验指南[M]. 金东雁,黎孟枫,候云德,等译. 第 2 版,北京:科学出版社,1998.
- [11] 涂正超. 中国牦牛遗传多样性及遗传分化研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,1996.
- [12] 涂正超,张亚平,邱 怀. 中国牦牛线粒体 DNA 多态性及遗传分化[J]. 遗传学报,1998,25(3):205-212.
- [13] 赖松家,王 玲,刘益平. 中国部分牦牛品种线粒体 DNA 遗传多样性研究[J]. 遗传学报,2005,32(5):463-470.
- [14] 肖玉萍,钟金城,金 双. 4 个牦牛品种的 RAPD 遗传多样性研究[J]. 中国牛业科学,2007,6(33):5-10.
- [15] 伍 红,饶开晴,钟金城,等. 麦洼牦牛的 RAPD 分析[J]. 四川畜牧兽医,2002,29(9):19-20.
- [16] 蔡 立. 中国牦牛[M]. 北京:中国农业出版社,1991:45-47.
- [17] 钟金城. 牦牛遗传与育种[M]. 成都:四川科学出版社,1996.
- [18] 郑 汕. 西藏发展史[M]. 云南:云南民族出版社,1992.
- [19] 王义权,周开亚,秦树臻. 用 RAPD 标记检测六个蛇基因组 DNA 多态性[J]. 动物学报,1996,42(2):172-182.
- [20] 杨家大,简承松,魏 鸿,等. 乌羊和小香羊的 RAPD 分析[J]. 遗传学报,2001,23(6):521-525.