

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01427

猪 5 个群体 *SLA* 微卫星遗传多样性

于辉¹, 刘荣辉^{1,4}, 李华¹, 左启祯¹, 李岩², 吴珍芳³

1. 佛山科学技术学院动物科学系, 南海 528231;
2. 广东东莞畜牧研究所, 东莞 511700;
3. 华南农业大学动物科技学院, 广州 510642;
4. 开县畜牧兽医局, 重庆 405400

摘要: 文章旨在比较广东地方猪、华南野猪(*S.s. chirodontus*)和引入品种白细胞抗原复合体(Swine leukocyte antigen complex, *SLA*)的遗传多样性, 为猪的抗病选育提供理论依据。在 *SLA* 区域内选取 18 个多态性丰富的微卫星(*SLA-MS*), 分别对皮特兰、杜洛克、大花白、蓝塘猪以及华南野猪进行遗传分型。结果表明, *SLA* 不同区域平均遗传多样性高低依次为 *SLA II* ($He=0.628, PIC=0.581$) > *SLA I* ($He=0.530, PIC=0.474$) > *SLA III* ($He=0.526, PIC=0.458$); 5 个群体间分子多样性指数(*MDI*)依次为华南野猪(0.716) > 蓝塘猪(0.614) > 大花白(0.559) > 皮特兰(0.550) > 杜洛克(0.507)。总体看来, *SLA-MS* 的遗传多样性高低依次为华南野猪 > 广东地方猪 > 引入品种。基于 Garza-Williamson 指数(*GWI*)分析, 杜洛克和大花白相较于华南野猪瓶颈效应严重; 遗传距离分析表明蓝塘猪和华南野猪首先聚为一类, 然后与大花白聚为一大类, 而皮特兰和杜洛克则单独聚为一支。文章为广东地方猪种质资源的保护、抗病选育和配套系的生产提供了理论基础。

关键词: 猪白细胞抗原复合体; 微卫星; 遗传多样性

Genetic diversity based on swine leukocyte antigen complex microsatellites(*SLA-MS*) in five pig populations

YU Hui¹, LIU Rong-Hui^{1,4}, LI Hua¹, ZUO Qi-Zhen¹, LI Yan², WU Zhen-Fang³

1. Department of Animal Science, Foshan University, Nanhai 528231, China;
2. Dongguan Institute of Animal Science, Dongguan 511700, China;
3. College of Animal Science and Technology of South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
4. The Kai Xian Bureau of Husbandry and Veterinary, Chongqing 405400, China

Abstract: The genetic diversity of swine leukocyte antigen complex (*SLA*) was studied among Guangdong local pigs, Huanan wild boars (*S.s. chirodontus*) and introduced pigs, which aimed at providing a theoretical foundation for further pig anti-disease resistance breeding. Pietrain pigs, Duroc pigs, Large black-white pigs, Lantang pigs, and Huanan wild boars were genotyped by employing 18 microsatellites in swine leukocyte antigen complex (*SLA-MS*). The result showed that the

收稿日期: 2012-08-23; 修回日期: 2012-10-21

基金项目: 广东省高等学校高层次人才项目, 广东省重大科技攻关项目(编号: 2008020100001-5), 广东省科技攻关(编号: 2007B020706001)和广东现代生猪产业体系资金资助

作者简介: 于辉, 讲师, 副教授, 研究方向: 动物分子遗传。E-mail: yu71hui@yahoo.cn

通讯作者: 李华, 教授, 研究方向: 动物遗传繁育。E-mail: okhua4@yahoo.com.cn

致谢: 衷心感谢云南大学生物资源与保护利用重点实验室张亚平院士为本实验提供了平台!

average diversity in *SLA II* was higher ($He=0.628$, $PIC=0.581$) than that in *SLA I* ($He=0.530$, $PIC=0.474$) and in *SLA III* ($He=0.526$, $PIC=0.458$). The molecular diversity indices (*MDI*) of Huanan wild boars was the highest(0.716), followed by Lantang pigs (0.614), Large black-white pigs (0.559), Pietrain pigs (0.550) and Duroc pigs (0.507). As a whole, the genetic diversity of Huanan wild boars was the highest over Guangdong native pigs and introduced pigs. Large black-white pigs and Duroc pigs had ever happened a severe bottleneck by comparison with the Garza-Williamson index (*GWI*) in Huanan wild boar. From the genetic distance, one clade was that Lantang pigs were first clustered with Huanan wild boar, and then grouped together with Large black-white pigs; another clade was that Pietrain pigs were independently clustered with Duroc pigs in the NJ tree. The results would establish the foundation for pig conservation of germplasm resource, disease resistance breeding, and multiplicative strains.

Keywords: swine leukocyte antigen complex (*SLA*); microsatellites; genetic diversity

猪白细胞抗原复合体(Swine leukocyte antigen complex, *SLA*)位于猪的 7 号染色体上, 它是一组不连续的基因群, 包括 *SLA I*、*SLA II*、*SLA III* 类基因, 它具有单倍型遗传、高度多态性与特异性以及连锁不平衡等特点, 它所编码的细胞表面糖蛋白不仅在抗原递呈、机体移植、免疫应答及其调控方面有着重要的作用, 而且还与抗病力、生长、繁殖、肉质等生物学功能有关^[1,2]。近年来, 国外分别启动了*SLA*区域的微卫星(*SLA-MS*)分型以及基因芯片等分子分型技术^[3-8], 以便于尽快应用到群体遗传分析和抗病育种的研究上^[9]。目前, 国外逐步开发了*SLA*区域的微卫星, 多应用于国外的小型猪、杜洛克猪等的遗传多样性以及基因组结构的分析^[3-9], 但国内目前尚未利用*SLA-MS*标记分析广东地方猪遗传多样性。广东作为我国集约化养猪大省和种猪资源的强省, 其瘦肉型引入品种占据主体, 脂肪型地方猪尚待进一步开发利用。为了有效评估新引入品种、现有地方猪和海南野猪的遗传多样性, 加大广东地方猪抗病选育和配套系生产, 本研究以*SLA I-III*区域中多态性较丰富的微卫星为研究对象进行了遗传多样性研究, 旨在为广东地方猪的遗传资源保护、抗性选育及配套系的生产提供分子理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本研究在广东华农温氏畜牧股份有限公司采集皮特兰(Pietrain, P)90 头, 杜洛克(Duroc, D)99 头, 在

广东韶关板岭原种猪场采集血缘关系清楚的大花白种猪(Large black-white, LBW)35 头, 蓝塘猪(Lantang, LT)50 头和海南野猪(Huanan wild boar, HWB)32 头。剪取耳组织, 采用传统的酚-氯仿方法进行 DNA 提取, 再用核酸蛋白仪测定 DNA 浓度保证在 50 ng/ μL 左右, 于 -20°C 保存备用。

1.2 微卫星引物及 PCR 扩增

参照 Tanaka 等^[4]的报道, 在*SLA*区域内选取 18 个微卫星座位, 合成了 18 对引物(由上海生物工程技术服务有限公司合成), 每个座位均在上游引物的 5'端标记 FAM(蓝色)荧光染料(表 1)。PCR 扩增反应采用 10 μL 体系: 无菌去离子水 7.46 μL , 10 \times buffer (含 Mg^{2+})1 μL , dNTP(2.5 mmol/L) 0.4 μL , 上、下游引物(10 pmol/L)各 0.12 μL , DNA 聚合酶(5 U/ μL)0.1 μL , 基因组 DNA 模板(20 ng/ μL)0.8 μL 。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 7 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 完成后, 每个样品取 1 μL 稀释 20 ~ 50 倍, 取稀释后的 PCR 产物 1 μL , 加 0.5 μL 荧光分子量内标(GeneScan-500 LIZ)和 9 μL Hi-Di 缓冲液, 混匀经变性后于 ABI 3730 遗传分析仪上检测。

1.3 数据分析

在电泳分析仪 ABI3730 上电泳结束后, 利用 Genemapper 4.0(Applied Biosystems, USA)对收集的原始数据进行分析, 辅以人工校正。利用 Microsa-

表 1 微卫星座位的引物信息

标记名称	上游引物	下游引物	重复类型	片段范围 (bp)
<i>SLA II-MS047</i>	(FAM)AAAAGAGGCAATGAGGTCCA	AGTGGGATGTTTTGGTCCAG	(CA)14	211~241
<i>SLA II-MS092</i>	(FAM)TCTCTCTCCCTCCCACTCTG	CTGCTCTCATTGCCTTCCTT	(CA)21	280~300
<i>SLA II-MS048</i>	(FAM)CCTTCACCTTCCAGAACCT	CTCCAGCCTCACCTACCTC	(TG)14	189~214
<i>SLA II-MS049</i>	(FAM)AATAGAAGCGCTCCAAAGA	CAAGGTGATGGGAAATACAAGG	(GA)27	289~331
<i>SLA II-MS050</i>	(FAM)CTCTCGGTCCATAACTCTGA	TGAGAGGGGAGACAACAACC	(TA)24	117~155
<i>SLA II-MS051</i>	(FAM)TGCTATGTTTCCTTGTCATAATCT	TGTTACAGTCAATGATTTGGAG	(TTTA)6	260~270
<i>SLA II-MS052</i>	(FAM)TGTGCAGACTAGGAGTGAGGA	CACAGGGACACCAaGGATG	(TG)13	214~242
<i>SLA II-MS095</i>	(FAM)TCATGGCTGTGACCTTGGTA	CCTGCTCCTTGCTCTGTAGG	(TG)13TA(TG)5	228~236
<i>SLA II-MS094</i>	(FAM)TCCAACGTCTGGGACTCCT	TAGTGGGGGAAATGGAATTG	(TTTATTG)2(TTTA)3	391~395
<i>SLA III-MS056</i>	(FAM)CAACCACGAAGACCTGCCTAAT	GTTGCTGTAGCTCTGGTGTAGA	(CA)15	278~284
<i>SLA III-MS098</i>	(FAM)GACAGGCAGTCACCAGAACA	CTCCACCCACCTATTGCCTA	(TTG)5	329~335
<i>SLA III-MSA13</i>	(FAM)AACAAACCAGCAAGGAGATG	TGAGGCCAAGATAGAGACCAA	(CAG)22	201~237
<i>SLA I-MS057</i>	(FAM)AAGCTGTGATTCTAACCTG	GGGGTACCACATAGAGATTC	(TAA)6	114~120
<i>SLA I-MS055</i>	(FAM)CACTCAGATCTGACGTTGCTGT	CATGGTTAAGAACTTCCATA	(AAAT)6	212~222
<i>SLA I-MSA02</i>	(FAM)CAGGAAGTCATATTTGGCAAGA	CATGTAGCATTAGTGTCCCTGGT	(TTG)5	391~406
<i>SLA I-MS035</i>	(FAM)CCTGTGTTTCTATGGCTGTGC	CAGGGAAGGAACCCACATC	(CA)20	210~252
<i>SLA I-MSA00</i>	(FAM)GTGGTTTCTGGGCAGATGA	TTGGACATGATCTGTCAGGTG	(TG)10	205~215
<i>SLA I-MS034</i>	(FAM)CCAGGTGGCTGACTTAGGAG	TCCTTTTGCCACAAAGAAC	(CA)9	305~335

tellite toolkit 软件计算观测杂合度 (Observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度 (Expected heterozygosity, H_e)、多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC)；利用 Arlequin 3.11^[10] 进行分子方差分析 (Analyses of molecular variance, AMOVA)，计算了分子多样性指数 (Molecular diversity indices, MDI)、Garza 和 Williamson 指数 (Garza-Williamson index, GWI) 和分化系数 F_{st} 。其中： MDI 是对分子水平几个多样性指数的估计 (如 Θ 和 π)； GWI 是表示微卫星座位等位基因数与等位基因长度范围比值关系的指标，是衡量小群体是否发生瓶颈效应而趋于稳定群体的一个参数。

对于遗传距离系统聚类分析，利用 Microsatellite toolkit 软件将收集整理的数据转换成 Dispan 格式，再用 Dispan 软件^[11] 计算群体间的 Nei's D_A ^[12] 遗传距离并构建 N-J 树，用 Bootstrap Test 检验聚类结果。

2 结果与分析

2.1 微卫星多态分析

对 18 个微卫星座位的多态性研究表明，除了 *SLA II-MS094* 座位多态性低外，其余座位均表现较

高的多态 (表 2)。从 5 个群体水平总体来看，观测杂合度 (H_o) 在 0.126 (*SLA II-MS094*) ~ 0.789 (*SLA III-MSA13*) 之间，期望杂合度 (H_e) 在 0.216 (*SLA II-MS094*) ~ 0.790 (*SLA II-MS092*) 之间，多态信息含量 (PIC) 处于 0.183 (*SLA II-MS094*) ~ 0.750 (*SLA II-MS092*) 之间。蓝塘猪和杜洛克中 *SLA II-MS094* 均纯合，杜洛克中 *SLA III-MS056* 纯合。5 个群体的中、低度多态微卫星分别为 *SLA II-MS094*、*SLA III-MS056*、*SLA III-MS098* (蓝塘猪除外)、*SLA I-MS057*、*SLA I-MS055* 和 *SLA I-MSA02*；高度多态座位分别为 *SLA II-MS092*、*SLA II-MS052*、*SLA III-MSA13* 和 *SLA I-MS035*。

2.2 SLA 区域多样性比较

从图 1A 可见，杜洛克、大花白和华南野猪中 *SLA-MS* 的期望杂合度 (H_e) 高低依次为 *SLA II* 类 ($D: 0.528$, $LBW: 0.630$, $HWB: 0.777$) > *SLA I* ($D: 0.510$, $LBW: 0.497$, $HWB: 0.554$) > *SLA III* ($D: 0.436$, $LBW: 0.470$, $HWB: 0.551$)，蓝塘猪中为 *SLA II* 类 (0.662) > *SLA III* (0.624) > *SLA I* (0.554)，皮特兰为 *SLA III* (0.551) > *SLA II* (0.540) > *SLA I* (0.536)；从图 1B 可得杜洛克、大花白和华南野猪中 *SLA-MS* 的多态信息含量 (PIC) 高低依次为 *SLA II* 类 ($D: 0.493$, $LBW: 0.555$, $HWB:$

表 2 5 个群体 SLA 微卫星多态性

座 位	蓝塘猪			大花白			皮特兰		
	观测杂 合度(H_o)	期望杂 合度(H_e)	多态信息 含量(PIC)	观测杂 合度(H_o)	期望杂 合度(H_e)	多态信息 含量(PIC)	观测杂 合度(H_o)	期望杂 合度(H_e)	多态信息 含量(PIC)
<i>SLA II-MS047</i>	0.735	0.786	0.754	0.778	0.617	0.540	0.667	0.640	0.601
<i>SLA II-MS092</i>	0.820	0.815	0.781	0.889	0.733	0.674	0.533	0.702	0.649
<i>SLA II-MS048</i>	0.760	0.704	0.665	0.444	0.671	0.591	0.544	0.519	0.452
<i>SLA II-MS049</i>	0.600	0.787	0.747	0.059	0.565	0.493	0.389	0.433	0.415
<i>SLA II-MS050</i>	0.551	0.805	0.767	0.167	0.790	0.733	0.467	0.515	0.492
<i>SLA II-MS051</i>	0.511	0.563	0.482	0.722	0.665	0.571	0.449	0.499	0.440
<i>SLA II-MS052</i>	0.735	0.835	0.805	0.889	0.632	0.565	0.478	0.554	0.527
<i>SLA II-MS095</i>	0.680	0.666	0.610	1.000	0.641	0.544	0.689	0.638	0.584
<i>SLA II-MS094</i>	0.000	0.000	0.000	0.444	0.356	0.286	0.185	0.360	0.302
<i>SLA III-MS056</i>	0.440	0.586	0.492	0.167	0.208	0.190	0.578	0.512	0.390
<i>SLA III-MS098</i>	0.531	0.646	0.566	0.056	0.532	0.409	0.256	0.346	0.292
<i>SLA III-MSA13</i>	0.680	0.640	0.573	0.833	0.670	0.609	0.944	0.795	0.760
<i>SLA I-MS057</i>	0.000	0.040	0.038	0.278	0.246	0.211	0.256	0.532	0.442
<i>SLA I-MS055</i>	0.440	0.536	0.480	0.500	0.489	0.404	0.411	0.517	0.420
<i>SLA I-MSA02</i>	0.460	0.524	0.403	0.278	0.338	0.300	0.178	0.274	0.238
<i>SLA I-MS035</i>	0.694	0.782	0.740	0.944	0.711	0.639	0.889	0.764	0.733
<i>SLA I-MSA00</i>	0.600	0.791	0.752	0.444	0.552	0.441	0.256	0.432	0.350
<i>SLA I-MS034</i>	0.640	0.653	0.603	0.611	0.646	0.573	0.633	0.695	0.632
$\bar{x} \pm s$	0.549± 0.229	0.620± 0.240	0.570± 0.234	0.528± 0.317	0.559± 0.169	0.487± 0.158	0.489± 0.223	0.540± 0.144	0.485± 0.150
<i>MDI</i>		0.614±0.313			0.559±0.292			0.550±0.281	
<i>GWl</i>		0.337±0.088			0.335±0.144			0.355±0.104	

座 位	杜洛克			华南野猪			总体		
	观测杂 合度(H_o)	期望杂 合度(H_e)	多态信息 含量(PIC)	观测杂 合度(H_o)	期望杂 合度(H_e)	多态信息 含量(PIC)	观测杂 合度(H_o)	期望杂 合度(H_e)	多态信息 含量(PIC)
<i>SLA II-MS047</i>	0.404	0.385	0.359	0.844	0.824	0.785	0.685	0.651	0.608
<i>SLA II-MS092</i>	0.798	0.816	0.790	0.645	0.884	0.856	0.737	0.790	0.750
<i>SLA II-MS048</i>	0.727	0.670	0.623	0.781	0.851	0.820	0.651	0.683	0.630
<i>SLA II-MS049</i>	0.101	0.114	0.107	0.719	0.840	0.804	0.373	0.548	0.513
<i>SLA II-MS050</i>	0.788	0.863	0.845	0.656	0.930	0.909	0.526	0.780	0.749
<i>SLA II-MS051</i>	0.596	0.576	0.504	0.630	0.625	0.538	0.582	0.586	0.507
<i>SLA II-MS052</i>	0.929	0.767	0.730	0.871	0.871	0.842	0.780	0.732	0.694
<i>SLA II-MS095</i>	0.566	0.564	0.477	0.839	0.807	0.766	0.755	0.663	0.596
<i>SLA II-MS094</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.364	0.325	0.126	0.216	0.183
<i>SLA III-MS056</i>	0.000	0.000	0.000	0.300	0.389	0.321	0.297	0.339	0.279
<i>SLA III-MS098</i>	0.172	0.559	0.458	0.323	0.482	0.362	0.267	0.513	0.417
<i>SLA III-MSA13</i>	0.798	0.749	0.711	0.688	0.782	0.740	0.789	0.727	0.679
<i>SLA I-MS057</i>	0.384	0.389	0.312	0.219	0.201	0.183	0.227	0.282	0.237
<i>SLA I-MS055</i>	0.414	0.439	0.380	0.207	0.249	0.227	0.394	0.446	0.382
<i>SLA I-MSA02</i>	0.485	0.446	0.380	0.548	0.554	0.474	0.390	0.427	0.359
<i>SLA I-MS035</i>	0.606	0.729	0.697	0.750	0.874	0.843	0.777	0.772	0.730
<i>SLA I-MSA00</i>	0.414	0.557	0.502	0.533	0.664	0.608	0.449	0.599	0.531
<i>SLA I-MS034</i>	0.455	0.503	0.467	0.563	0.784	0.741	0.580	0.656	0.603
$\bar{x} \pm s$	0.480± 0.279	0.507± 0.259	0.463± 0.251	0.562± 0.252	0.665± 0.236	0.619± 0.243	0.521± 0.213	0.578± 0.175	0.525± 0.179
<i>MDI</i>		0.507±0.259			0.716±0.371		/	/	/
<i>GWl</i>		0.335±0.072			0.388±0.098		/	/	/

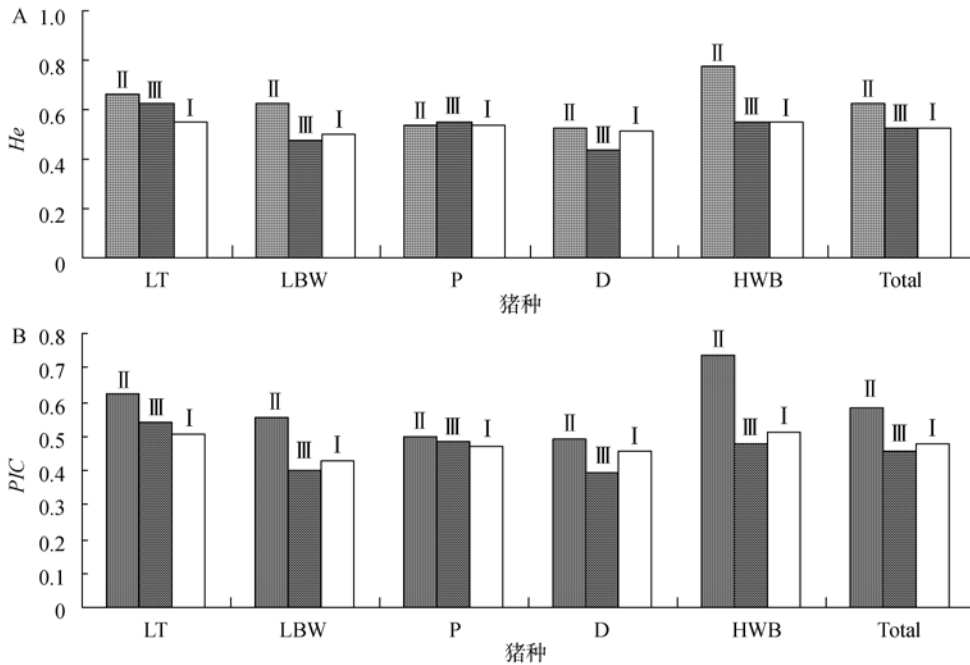


图 1 5 个猪种 *SLA* I-III 区域微卫星遗传多样性
 LT: 蓝塘猪; LBW: 大花白; P: 皮特兰; D: 杜洛克; HWB: 华南野猪。

0.738)>*SLA* I(D:0.456, LBW:0.428, HWB:0.513)>*SLA* III(D:0.390, LBW:0.403, HWB:0.474); 蓝塘猪和皮特兰猪中为 *SLA* II 类(LT:0.623, P:0.496)>*SLA* III (LT:0.544, P:0.481)>*SLA* I(LT:0.503, P:0.469)。总体比较这两个遗传指标, 遗传多态性均值高低依次为 *SLA* II-MS(He:0.628, PIC:0.581)>*SLA* I-MS(He:0.530, PIC:0.474)>*SLA* III-MS (He:0.526, PIC:0.458)。

2.3 群体遗传结构分析

分子方差分析(AMOVA)表明: 群体间、个体间和个体内的方差组分分别为 1.732、0.456 和 4.559,

分别占总方差的 26.854%、7.064%和 70.665%, 可见群体的变异来源主要是个体内部微卫星座位的变异。群体间比较 *GW*I 和 *MD*I (表 1), 华南野猪的 *GW*I 和 *MD*I 最高(0.388, 0.716), 最低为杜洛克(0.335, 0.507), 此结果与利用多态信息含量(*PIC*)比较广东地方猪、引入品种及华南野猪的结果一致(图 2A)。选取 *SLA* I、II 类经典基因附近且多态性丰富的微卫星座位(*SLA* I-MS057 *SLA* I-MSA00、*SLA* I-MS034 和 *SLA* II-MS050、*SLA* II-MS051、*SLA* II-MS095)比较(图 2B), 在 *SLA* I 类区域, 华南野猪的 *PIC* 最高

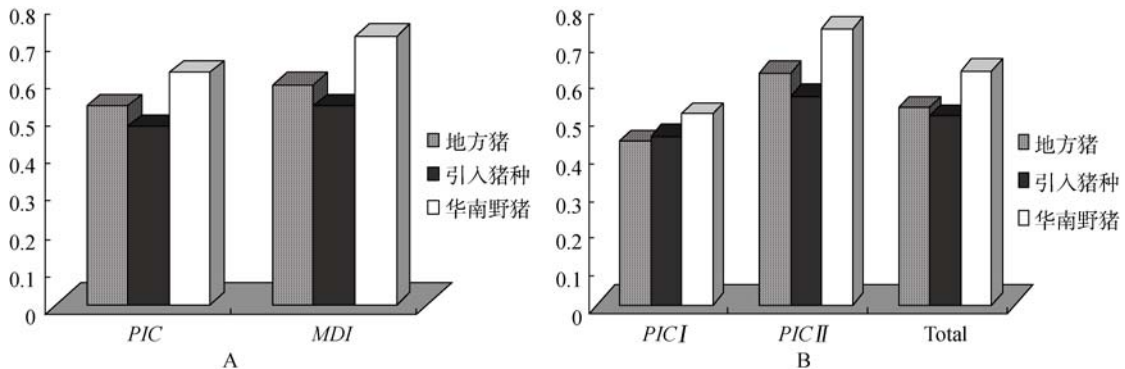


图 2 *SLA* 微卫星遗传多样性比较
 A: *SLA* 区域多态信息含量和分子多样性比较; B: *SLA* 区域经典基因附近多态信息含量比较。

(0.511), 其次为引入品种(0.451), 最低的为地方猪(0.436); 但在 *SLA II* 区, 华南野猪的 *PIC* 最高(0.738), 其次为地方猪(0.618), 最低的为引入品种(0.557)。总体来看, 华南野猪(0.625) > 广东地方猪(0.527) > 引入品种(0.504)。

2.4 群体分化及聚类评价

由表 3 可见, 皮特兰与杜洛克之间的分化系数最大(0.394), 华南野猪与大花白的分化系数(0.089)略高于华南野猪与蓝塘猪(0.075)。通过遗传距离聚类分析(图 3), 蓝塘猪首先与华南野猪聚为一类, 其次与大花白聚为一大类, 而皮特兰和杜洛克则单独聚为一支。

3 讨论

3.1 群体内遗传多样性

杂合度分为观测杂合度(H_o)和期望杂合度(H_e), 蓝塘猪 *SLA II-MS052* 和大花白 *SLA III-MS098* 座位的期望杂合度较高, 但其观测杂合度均较低, 进一步证实了期望杂合度不易受样本大小影响的观点^[13]。因此, 本研究主要通过期望杂合度、多态信息含量和分子多样性指数来估计群体遗传多样性, 这些指标均表明华南野猪遗传多样性最高, 广东地方猪次之, 最低的为引入品种, 这与张桂香^[14]、Fang^[15]利用世界粮农组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISAG)推荐微卫星研究的结果相一致, 但FAO-ISAG推荐的微卫星在蓝塘猪、大花白、杜洛克的多态信息含量和杂合度方面均高于 *SLA-MS* 的含量, 这可能与本研究所用的微卫星标记数量相对较少有关。Garza和Williamson指数(*GWI*)又称M比率, 是衡量小群体是否发生瓶颈效应而趋于稳定群体的一个参数, 在一个群体数目减少时, 等位基因减少的速率要快于等位基因大小的范围, 因而导致了M比率的减少。相对

于BOTTLENECK方法而言, M比率反映了更早期群体数量的减少。本研究遗传多样性最丰富的华南野猪, 其*GWI*指标最高, 而遗传多样性最低的杜洛克, 其*GWI*指标最低, 这说明杜洛克在长期的人工培育中经历了严重的瓶颈效应而成为了较为稳定的群体。相对而言, 大花白和杜洛克的*GWI*相同, 但其分子多样性指数高于杜洛克, 这暗示大花白猪人工选择强度弱于杜洛克。

3.2 群体分化及聚类分析

蓝塘猪、大花白和华南野猪之间的群体分化系数(F_{st})处于 0.05 ~ 0.15 之间, 表明蓝塘猪、大花白、华南野猪三者之间存在中等程度的分化, 蓝塘猪与大花白之间的分化程度高于蓝塘猪与华南野猪, 或大花白与华南野猪约 3%, 说明蓝塘猪与大花白的遗传背景不太相似, 这与华中型的大花白猪南下迁徙历史有关, 而蓝塘猪则属于华南型猪^[16]。蓝塘猪和大花白与皮特兰、杜洛克之间的 F_{st} 值均大于 0.15, 表明广东地方猪与引入品种之间存在较大的遗传分化, 这一结果正确反映了不同品种猪的选育历史背景, 并且暗示了国家级原种场地方猪的纯度高、保护效果好。皮特兰和杜洛克之间的 F_{st} 值最高(0.394), 表明两猪种无明显的基因交流。利用微卫星数据进行群体亲缘关系的分析一般采用 D_A 和 D_C 距离^[17], 而在计算机模拟中, D_A 更能有效地发现进化树的真实拓扑结构, 且邻近结合法(N-J法)优于非加权组对算术平均法(UPGMA法)^[18]。因此, 本研究采用 D_A 距离进行了N-J聚类树的构建, 其研究结果与张桂香^[14]、Fang^[15]、姚少宽等^[19-20]采用FAO-ISAG推荐微卫星报道的亲缘关系基本一致, 蓝塘猪、大花白等地方猪种聚为一类, 杜洛克、长白猪等引入品种聚为一大类。由于猪SLA区域丰富的遗传多样性是长期适应进化结果, 多样性高的群体暗示其一般抗病力的抗性相对较强, 本研究结果在一定程度上暗

表 3 5 个群体猪分化系数 F_{st} 比较分析

群体	蓝塘猪(LT)	大花白(LBW)	皮特兰(P)	杜洛克(D)	华南野猪(HWB)
蓝塘猪(LT)	0.000	*	*	*	*
大花白(LBW)	0.119	0.000	*	*	*
皮特兰(P)	0.308	0.284	0.000	*	*
杜洛克(D)	0.221	0.167	0.394	0.000	*
华南野猪(HWB)	0.075	0.089	0.263	0.160	0.000

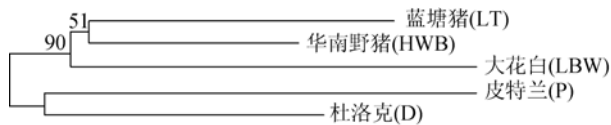


图 3 基于 NJ 法构建的 5 个猪群体的遗传关系树

示了华南野猪的抗性优于广东地方猪, 广东地方猪优于引入品种。在未来的选育中, 我们将充分利用大花白和蓝塘种猪来加强培养高抗优质配套系选育, 为了增加商品肉猪的抗性, 皮特兰和杜洛克作为父本, 可以适度与瘦肉率较高的华南野猪杂交后, 再与地方猪母本杂交, 可望提高抗性和瘦肉率。

参考文献(References):

- [1] 于辉, 李彬, 李华, 颜其贵. SLA与免疫抗病的研究进展. 中国畜牧杂志, 2009, 45(5): 60–64. [DOI](#)
- [2] Lunney JK, Ho CS, Wysocki M, Smith DM. Molecular genetics of the swine major histocompatibility complex, the SLA complex. *Dev Comp Immunol*, 2009, 33(3): 362–374. [DOI](#)
- [3] Nuñez Y, Ponz F, Gallego FJ. Microsatellite-based genotyping of the swine lymphocyte alloantigens (SLA) in miniature pigs. *Res Vet Sci*, 2004, 77(1): 59–62. [DOI](#)
- [4] Tanaka M, Ando A, Renard C, Chardon P, Domukai M, Okumura N, Awata T, Uenishi H. Development of dense microsatellite markers in the entire SLA region and evaluation of their polymorphisms in porcine breeds. *Immunogenetics*, 2005, 57(9): 690–696. [DOI](#)
- [5] Ando A, Uenishi H, Kawata H, Tanaka-Matsuda M, Shigenari A, Flori L, Chardon P, Lunney JK, Kulski JK, Inoko H. Microsatellite diversity and crossover regions within homozygous and heterozygous SLA haplotypes of different pig breeds. *Immunogenetics*, 2008, 60(7): 399–407. [DOI](#)
- [6] Ho CS, Martens GW, Amoss MS Jr, Gomez-Raya L, Beatie CW, Smith DM. Swine leukocyte antigen (SLA) diversity in Sinclair and Hanford swine. *Dev Comp Immunol*, 2010, 34(3): 250–257. [DOI](#)
- [7] Chung H, McClure MC. Characterization of microsatellite loci in the SLA class I region. *Genomics*, 2011, 97(4): 223–234. [DOI](#)
- [8] Gao Y, Wahlberg P, Marthey S, Esquerre D, Jaffrézic F, Lecardonnell J, Hugot K, Rogel-Gaillard C. Analysis of porcine MHC using microarrays. *Vet Immunol Immunopathol*, 2012, 148(1–2): 78–84. [DOI](#)
- [9] Lunney JK, Chen HB. Genetic control of host resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection. *Virus Res*, 2010, 154(1–2): 161–169. [DOI](#)
- [10] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3. 0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online*, 2005, 1: 47–50. [DOI](#)
- [11] Takezaki M, Nei M. Genetics distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 1996, 144(1): 389–399. [DOI](#)
- [12] Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *J Mol Evol*, 1983, 19(2): 153–170. [DOI](#)
- [13] Frankham R, Ballou J, Briscoe D. Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. [DOI](#)
- [14] 张桂香, 王志刚, 孙飞舟, 陈伟生, 杨国义, 郭式健, 李拥军, 赵小丽, 张沅, 孙军, 樊斌, 杨述林, 李奎. 56 个中国地方猪种微卫星基因座的遗传多样性. 遗传学报, 2003, 30(3): 225–233. [DOI](#)
- [15] Fang M, Hu X, Jiang T, Braunschweig M, Hu L, Du Z, Feng J, Zhang Q, Wu C, Li N. The phylogeny of Chinese indigenous pig breeds inferred from microsatellite markers. *Anim Genet*, 2005, 36(1): 7–13. [DOI](#)
- [16] 郑丕留, 张仲葛, 陈效华, 涂友仁. 中国猪品种志. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. [DOI](#)
- [17] 陈善元, 张亚平. 家养动物起源研究的遗传学方法及其应用. 科学通报, 2006, 51(21): 2469–2475. [DOI](#)
- [18] 常青, 周开亚. 分子进化研究中系统发生树的重建. 生物多样性, 1998, 6(1): 55–62. [DOI](#)
- [19] 姚绍宽, 张勤, 孙飞舟, 刘培琼. 利用微卫星标记分析 7 品种(类群)小型猪的遗传多样性. 遗传, 2006, 28(4): 407–412. [DOI](#)
- [20] SanCristobal M, Chevalet C, Peleman J, Heuven H, Bruggmans B, van Schriek M, Joosten R, Rattink AP, Harlizius B, Groenen MAM, Amigues Y, Boscher MY, Russell G, Law A, Davoli R, Russo V, Desautels C, Alderson L, Fimland E, Bagga M, Delgado JV, Vega-Pla JL, Martinez AM, Ramos M, Glodek P, Meyer JN, Gandini G, Matassino D, Siggens K, Laval G, Archibald A, Milan D, Hammond K, Cardellino R, Haley C, Plastow G. Genetic diversity in European pigs utilizing amplified fragment length polymorphism markers. *Anim Genet*, 2006, 37(3): 232–238. [DOI](#)