

中亚以东南绵羊群体钾座位遗传分化的研究

孙伟¹ 常洪¹ 张鉴华¹ 马国龙¹ 角田健司² 王伟³ 吴萍兰⁴

(1. 扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009; 2. 日本昭和大学 医学部, 东京 142-8555;
3. 苏州市吴中区畜牧兽医站, 江苏 苏州 215128; 4. 徐州出入境检验检疫局, 江苏 徐州 221006)

摘要 利用中心产区典型群简单随机抽样法,以湖羊、同羊、滩羊、小尾寒羊、洼地羊为研究对象,引用我国周边国家、地区绵羊品种资料为分析背景,采用 Na/K/Cl 离子分析仪对红细胞中钾的含量进行测定。结果表明:1)各群体钾座位中立性检测的观察值除 Bhyanglung 绵羊外,其余均在 L95 和 U95 之间,表明钾座位作为中立性座位,基本未受到选择等因素的影响;2)血钾基因频率在地理分布上存在一定规律,基本符合将中亚以东南固有绵羊系统划分为“蒙古羊”、“藏羊”和“南亚-东南亚羊”三大集团;3)中亚以东南 16 个绵羊群体的钾座位基因分化系数为 0.1859。这说明上述 16 个绵羊群体钾座位 81.41% 的变异是由群体内的遗传多态现象引起的,只有 18.59% 的变异来自于群体间的差异。

关键词 中亚以东南;绵羊;钾型;遗传分化

中图分类号 S 826.8; Q 959.08

文章编号 1007-4333(2006)06-0067-06

文献标识码 A

Study on genetic differentiation in Ke locus of sheep populations in east and south of central Asia

Sun Wei¹, Chang Hong¹, Zhang Jianhua¹, Ma Guolong¹,
Tsunoda Kenji², Wang Wei³, Wu Pinglan⁴

(1. Animal Science & Technology College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. School of Medicine, Showa University, Tokyo 142-8555; 3. Animal Science & Veterinary Medicine

Bureau of Wuzhong, Suzhou 215128, China; 4. Xuzhou Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Xuzhou 221006, China)

Abstract The Chinese native sheep populations including Tan sheep, small-tailed Han sheep, Hu sheep, Tong sheep and Wadi sheep randomly sampled in typical colonies of central area were studied with other 10 Asian native sheep populations around China by foreign scholars as the analyzed background. The blood potassium phenotype was examined by a Na-K-Cl analyzer. The results showed that: 1) the values of Ewens-Watterson test for neutrality of Ke locus, except for Bhy, located between L95 and U95, which indicated that as a neutral locus Ke was not affected by the selection; 2) some trends on blood potassium gene frequencies in geography distribution were founded that accorded with the classification of east and south of central Asian sheep systems, “Mongolian sheep”, “Tibetan group” and “South Asia-Southeast Asia group”; 3) G_{st} of Ke locus of 16 sheep populations in east and south of central Asian was 0.1859, which indicated that 81.41% of variations of Ke locus in the 16 populations were caused by genetic polymorphism within populations and only 18.59% due to the difference among populations.

Key words east and south of central Asia; sheep; potassium phenotypes; genetic differentiation

Evans 将绵羊分为高钾型 (HK) 和低钾型 (LK)^[1]。已有研究证实,红细胞血钾浓度的高低由

常染色体寡基因座 Ke 座位上具有显隐性关系的 1 对等位基因 Ke^L 和 Ke^H 控制,Ke^L 对 Ke^H 呈显性。国

收稿日期: 2006-05-15

基金项目: 国家自然科学基金国际合作项目 (30310103007, 30410103150); 江苏省教育厅基金项目 (NK051039)

作者简介: 孙伟, 博士, 副教授, 主要从事动物遗传资源的研究, E-mail: sunwei3274.cn@sina.com

外学者曾对绵羊血型进行测定并深入研究^[2~3],国内学者程瑞禾等^[4]对湖羊,张才骏等^[5~6]对青海细毛羊、三角城藏羊等的红细胞钾型进行了研究。蒙古羊系统是我国主要的绵羊遗传资源,对我国地方绵羊品种的形成具有重要影响,目前尚无关于蒙古羊系统主要地方绵羊品种的血钾座位研究的报道;而中亚以东南地区拥有丰富的绵羊资源,亦无这一广阔地区范围内绵羊血钾座位遗传多样性的研究报道。笔者对我国蒙古羊系统主要地方绵羊湖羊、同羊、滩羊、小尾寒羊、洼地羊的血钾座位进行研究,旨在为其遗传资源的评价、利用、保护提供可借鉴的资料,并为中亚以东南固有绵羊群体遗传多样性的研究增添新内容。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采用中心产区典型群简单随机抽样方法,避免有可追溯的亲缘关系的2个及其以上个体一并进入样本。在浙江的湖州、陕西的白水、山东的梁山、宁夏的银川和山东的东营,分别抽取63只湖羊(Hu)、65只同羊(Tong)、70只小尾寒羊(Han)、60只滩羊(Tan)和76只洼地羊(WD),并引用我国周边国家、地区绵羊品种为分析背景^[7~13]。

1.2 检测方法

用美国MEDICA公司Na/K/Cl离子分析仪对红细胞中钾含量进行测定,以HiCN(氰化高铁血红蛋白)参考液作对比标准,用分光光度计按HiCN文齐氏液测定法测定Hb(血红蛋白)值进行校正^[14]。

1.3 统计分析

红细胞钾型受一对等位基因 Ke^L 和 Ke^h 控制, Ke^L 对 Ke^h 呈显性,根据平方根法计算等位基因频率^[17];按式(1)和(2)计算估计值不偏离实际值0.5倍的可靠性及可靠性达到0.9545时的相对偏差^[15];采用POPGENE软件^[16]血钾座位的Ewens-Watterson中立性测验;作出不同生态型血钾基因型频率的次数分布图;进行不同生态型血钾基因频率的地理梯度分析;并计算 Ke 座位的基因分化系数(Gst)^[14]。

$$= \frac{2e^{-2}}{\sqrt{2}} d \quad (1)$$

$$= 2[V(p)]^{\frac{1}{2}} P^{-1} \quad (2)$$

式中: P 和 $V(p)$ 分别为基因频率及其方差; d 为估计值的标准偏差,适合于式(1)的标准偏差 $= 0.5/[V(p)]^{\frac{1}{2}}$ 。

2 结果与分析

采用中心产区典型群随机抽样,群体基因频率的样本估计及其不偏离实际值0.5倍的可靠性以及可靠性达0.9545时的精确度(相对偏差)见表1。结果表明,本实验所测基因频率基本符合抽样要求,数据可以作为进一步研究的依据。同时可见“中心产区典型群随机抽样”是一种比较有效的抽样方法,是对既有的遗传检测抽样方法的丰富和补充^[15]。

同一群体内个体之间的遗传变异一般起因于等位基因的差异,而同一物种内不同群体间的遗传变

表1 钾座位频率的估计及可靠程度估计结果

Table 1 Estimation of gene frequencies and reliability and precision of Ke locus

品种	表型	样本数	等位基因	基因频率 P	方差 $V(p)$	标准偏差	可靠性	精确度
湖羊(Hu)	LK	10	K^L	0.0828	0.000603	1.6857	0.907	0.5932
	HK	53	K^h	0.9172	0.000603	18.6727	1	0.0536
同羊(Tong)	LK	21	K^L	0.1773	0.00122	2.6470	0.992	0.3779
	HK	44	K^h	0.8227	0.00122	12.2800	1	0.0814
滩羊(Tan)	LK	8	K^L	0.0589	0.000402	1.4694	0.8538	0.6805
	HK	62	K^h	0.9411	0.000402	23.4785	1	0.0426
小尾寒羊(Han)	LK	12	K^L	0.1056	0.0008	1.8663	0.938	0.5358
	HK	48	K^h	0.8944	0.0008	15.8068	1	0.0633
洼地羊(WD)	LK	7	K^L	0.0472	0.0003	1.3626	0.8294	0.7339
	HK	69	K^h	0.9528	0.000	27.5058	1	0.0363

异主要是由于基因频率的差异。无论是自然选择还是人工选择,都是改变基因频率的因素,基因频率的改变,归根到底是由于打破繁殖的随机性,从而打破群体的平衡状态。作为个体特性的内容之一,血液蛋白型是人们较晚认识的性状,由于这些性状一般地说既不是直接经济性状也很少与经济性状有关,因而为人类千百年来选种作用所未及,而且据迄今所知,血液蛋白型对于自然选择通常都是中立性

的。在本研究中,由于在中心产区采样,且未受到任何外来血统的影响,因此基本可以代表各绵羊品种的遗传结构。表 2 示出钾座位中立性检测结果。可见,各群体钾座位以及所有群体钾座位中立性检测的观察值除 Bhyanglung (Bhy) 外,其余均在 L95 (95%的置信下限)和 U95 (95%的置信上限)之间,这也就表明钾座位作为中立性座位,基本未受到选择因素的影响。

表 2 绵羊群体钾座位中立性检测结果

Table 2 Ewens-Watterson test for neutrality of Ke locus

绵羊群体	样本数	等位基因数 k	观察 F 值	最小 F 值	最大 F 值	F 的平均值	方差	L95	U95
湖羊 (Hu)	63	2	0.848 1	0.500 0	0.968 8	0.789 3	0.026 9	0.503 1	0.968 8
同羊 (Tong)	65	2	0.708 3	0.500 0	0.969 7	0.791 3	0.027 5	0.501 1	0.969 7
小尾寒羊 (Han)	60	2	0.811 1	0.500 0	0.967 2	0.787 9	0.028 3	0.502 2	0.967 2
滩羊 (Tan)	70	2	0.889 2	0.500 0	0.971 8	0.794 9	0.028 4	0.501 6	0.971 8
洼地羊 (WD)	76	2	0.910 1	0.500 0	0.974 0	0.797 6	0.026 9	0.501 4	0.974 0
乌兰巴托绵羊 (Ub)	99	2	0.827 3	0.500 0	0.980 0	0.816 2	0.025 8	0.504 1	0.980 0
哈拉和林绵羊 (Kh)	100	2	0.785 0	0.500 0	0.980 2	0.8031	0.028 3	0.503 2	0.980 2
Lampuchhre 绵羊 (Lam)	22	2	0.664 5	0.500 0	0.913 2	0.738 3	0.023 1	0.500 0	0.913 2
不丹绵羊 (Butan)	75	2	0.700 3	0.500 0	0.973 7	0.799 3	0.028	0.502 2	0.973 7
孟加拉国绵羊 (Ban)	76	2	0.522 9	0.500 0	0.974 0	0.798 3	0.028 3	0.503 1	0.974 0
Baruwal 绵羊 (Bar)	43	2	0.931 5	0.500 0	0.954 6	0.773 0	0.025 7	0.502 4	0.954 6
Bhyanglung 绵羊 (Bhy)	41	2	0.975 8	0.500 0	0.952 4	0.765 2	0.025 6	0.502 7	0.952 4
Kagi 绵羊 (Kagi)	41	2	0.503 4	0.500 0	0.952 4	0.769 0	0.026 4	0.502 7	0.952 4
云南绵羊 (Yunnan)	35	2	0.761 9	0.500 0	0.944 5	0.766 8	0.025 4	0.500 4	0.944 5
越南绵羊 (Viet)	34	2	0.603 6	0.500 0	0.942 9	0.761 4	0.025 1	0.501 7	0.942 9
缅甸绵羊 (Mya)	116	2	0.500 6	0.500 0	0.982 9	0.813 6	0.027 7	0.502 4	0.982 9
合计	1 016	2	0.815 5	0.500 0	0.996 9	0.857 3	0.027 1	0.504 7	0.996 9

注: 表征进化驱动力的统计量; 分别为 95%的置信下限和置信上限。

喜马拉雅山在西藏高原的南侧,是一条近似东西向的弧形山系,西起帕米尔,东到雅鲁藏布江的大拐弯处,长达 2 500 km,平均海拔高度 6 000 m 以上。由中亚以东南不同生态型 16 个绵羊品种血钾基因型次数分布图(图 1),以及中亚以东南不同生态型绵羊品种血钾基因频率的地理梯度图(图 2)可见,以喜马拉雅山为界的北部群体和南部群体在描述血钾等位基因的频率分布上存在较大差异。故本研究以喜马拉雅山为界将哈拉和林绵羊 (Kh)、乌兰巴托

绵羊 (Ub)、湖羊 (Hu)、同羊 (Tong)、滩羊 (Tan)、小尾寒羊 (Han)、洼地绵羊 (WD)、不丹绵羊 (Butan)、Bhyanglung 绵羊 (Bhy)、Baruwal 绵羊 (Bar) 和云南绵羊 (Yunnan) 作为北部集团,将孟加拉国绵羊 (Ban)、Kagi 绵羊 (Kagi)、Lampuchhre 绵羊 (Lam)、缅甸绵羊 (Mya) 和越南绵羊 (Viet) 作为南部集团。在所检测的绵羊中,北部品种包括 Bar 和 Bhy 绵羊,它们曾被描述为西藏本地绵羊,分别饲养于喜马拉雅山的全部北部地区以及喜马拉雅山和西藏的高山

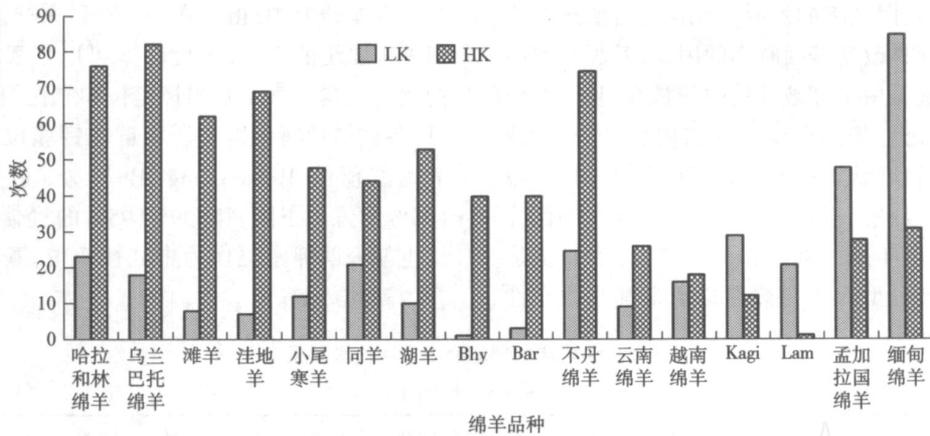


图1 中亚以东南不同生态型绵羊品种血钾基因型次数分布图

Fig. 1 Frequency bar graph of genotype of different ecological type sheep breeds in east and south of central Asia in Ke locus

和平原上;小尾寒羊由蒙古羊分化而来,这与已知的品种形成史相吻合;湖羊、同羊由蒙古羊演变而来,这与国内的研究结果一致^[17];滩羊主要产于宁夏银川附近各县,是蒙古羊的一个分支,但其品种形成史上受西藏绵羊的血统影响较大,图2中滩羊(Tan)和Bhyanglung绵羊(Bhy)两者相近的等位基因频率

分布支持这一史实;冉汝俊^[18]采用RAPD分析表明,洼地绵羊与小尾寒羊和滩羊间的遗传距离较小,历史上2个品种之间存在频繁的基因交流,图2中两者相近的等位基因频率分布支持这一史实;云南绵羊地处藏滇地区,历史有藏滇交界绵羊基因交流的记载,其遗传结构一定程度上受到基因交流的影响

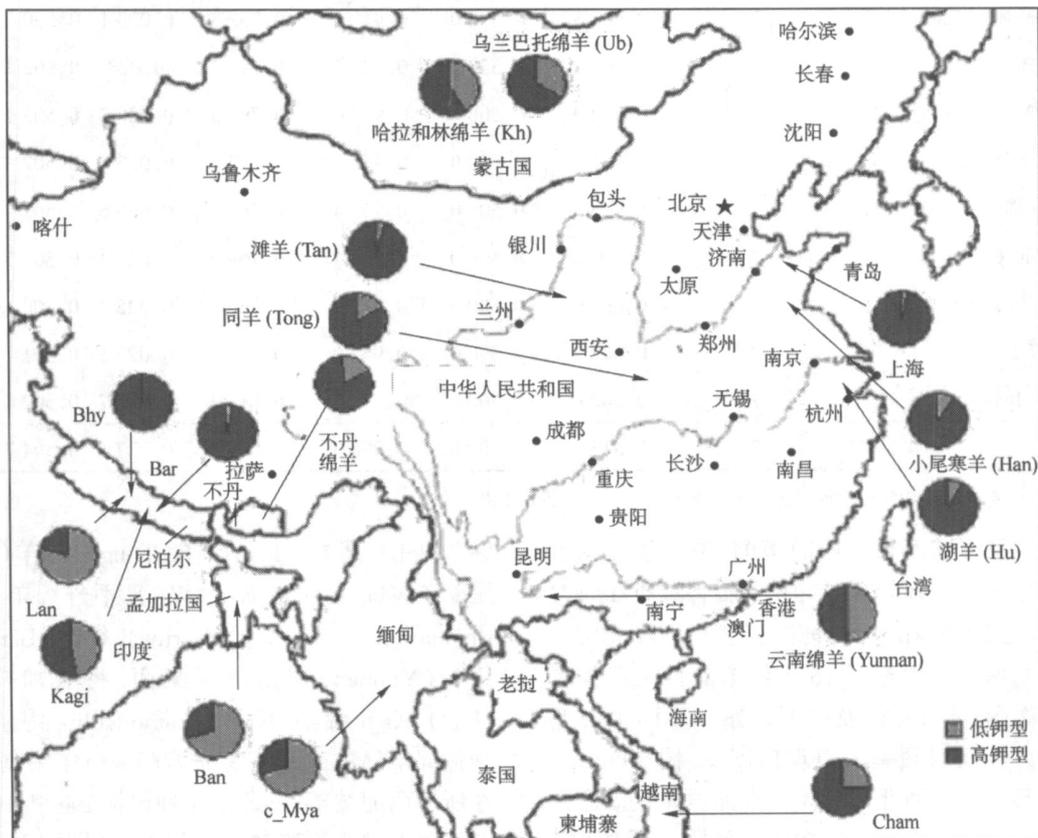


图2 中亚以东南不同生态型绵羊品种血钾基因频率的地理梯度图

Fig. 2 Geographical distribution of alleles frequencies of different ecological type sheep breeds in east and south of central Asia in Ke locus

响,故而与蒙古羊的关系较其他北部集团绵羊疏远,同时其他非蒙古羊的血统影响不容忽视,图中 Ke^L 与 Ke^h 频率趋势支持如此分析。在北部集团中,钾座位 Ke^L 等位基因频率自北向南总体呈递减趋势,这在一定程度上说明它们之间亲缘关系的远近。除了青藏高原及其邻区外,我国现有的各地绵羊品种,可以认为以蒙古羊为基础。图 2 总体上反映了蒙古羊系统的亲缘关系随地理位置呈现近似的规律性变化,即由北向南关系逐渐疏远,换言之蒙古羊血统的影响递减。

另外,由图 2 可见,南部四群体 Ke^L 基因频率相对于北部品种而言整体较高。所检测的南部群体被认为与南亚绵羊集团相对应。由图 1 可以看出,南部品种 4 个群体 LK 型所占的比例超过 HK 型,而其他群体则反之。进一步分析发现北部群体又可分为以哈拉和林绵羊(Kh)、乌兰巴托绵羊(Ub)、湖羊(Hu)、同羊(Tong)、滩羊(Tan)、小尾寒羊(Han)和洼地绵羊(WD)组成的“蒙古羊”集团,以不丹绵羊(Butan)、Bhyanglung 绵羊(Bhy)和 Baruwal 绵羊

(Bar)组成的“藏羊”集团。孙伟等^[19]曾引用饲养在日本的欧洲羊的资料,将中亚以东南现有绵羊群体划分为“蒙古羊”、“南亚羊”和“欧洲羊”三大集团。孙伟^[20]进一步研究认为中亚以东南固有绵羊群体可以再细划分为“蒙古羊”、“藏羊”和“南亚-东南亚羊”三大集团,本研究支持上述划分原则,即研究涉及的 16 个绵羊群体中:哈拉和林绵羊(Kh)、乌兰巴托绵羊(Ub)、湖羊(Hu)、同羊(Tong)、滩羊(Tan)、小尾寒羊(Han)和洼地绵羊(WD)划为“蒙古羊”;不丹绵羊(Butan)、Bhyanglung 绵羊(Bhy)和 Baruwal 绵羊(Bar)划分为“藏羊”;“南亚-东南亚羊”则包括云南绵羊(Yunnan)、孟加拉国(Ban)、Kagi 绵羊(Kagi)、Lampuchhre 绵羊(Lam)、缅甸绵羊(Mya)和越南绵羊(Viet)。此外,滩羊(Tan)钾座位的等位基因频率分布趋势与“藏羊”品种很相似,这再次说明了“藏羊”对滩羊(Tan)的影响力不容忽视。

引用中亚以东南 16 个绵羊群体的血钾资料^[6-17](表 3)对 Ke 座位的遗传变异程度进行分析。根据 Ke 座位多态性的分析,分布于中亚以东南的

表 3 16 个绵羊群体的钾座位的杂合度

Table 3 Heterozygosity in Ke locus of 16 sheep populations

绵羊群体	样本数	表型分布		基因频率		平均杂合度
		低钾型 LK	高钾型 HK	Ke^L	Ke^h	
湖羊(Hu)	63	10	53	0.082 8	0.917 2	0.151 9
同羊(Tong)	65	21	44	0.177 3	0.822 7	0.291 7
滩羊(Tan)	70	8	62	0.0589	0.941 1	0.110 9
小尾寒羊(Han)	60	12	48	0.105 6	0.894 4	0.188 9
洼地羊(WD)	76	7	69	0.047 2	0.952 8	0.089 9
云南绵羊(Yunnan)	35	26	9	0.492 9	0.507 1	0.499 9
Bhyanglung 绵羊(Bhy)	41	1	40	0.012 3	0.987 7	0.024 3
Baruwal 绵羊(Bar)	43	3	40	0.035 5	0.964 5	0.068 5
Kagi 绵羊(Kagi)	41	29	12	0.459 0	0.541 0	0.496 6
Lampuchhre 绵羊(Lam)	22	21	1	0.786 8	0.213 2	0.335 5
哈拉和林绵羊(Kh)	99	64	35	0.770 6	0.229 4	0.482 1
乌兰巴托绵羊(Ub)	97	55	42	0.695 4	0.304 6	0.450 1
孟加拉国绵羊(Ban)	76	48	28	0.393 0	0.607 0	0.477 1
越南绵羊(Viet)	34	15	19	0.252 5	0.747 5	0.377 5
不丹绵羊(Butan)	75	25	50	0.183 5	0.816 5	0.300 0
缅甸绵羊(Mya)	116	85	31	0.692 1	0.307 9	0.426 2
合计	1 013	430	583	0.241 4	0.758 6	0.366 3

16 个绵羊群体的总群平均杂合度为 0.366 3,群体间平均杂合度为 0.068 1, Ke 座位基因分化系数 G_{st} 为 0.185 9。这说明上述 16 个绵羊群体 Ke 座位 81.41% 的变异是由群体内的遗传多态现象引起的,

只有 18.59% 的变异来自于群体间的差异。结果证明,中亚以东南绵羊群体的 Ke 座位遗传分化程度较大。 Ke 座位作为中性结构基因座并未受到选择的影响,但由于是寡基因座控制的质量性状,血钾的

高与低在各自特定的范围内受到多种因素的制约。据铃木正三^[21]的记载和程端禾等^[4]的研究结果,血钾的高低分布与绵羊的品种、生态、生理、年龄等因素有关。而海拔和年降水量是影响绵羊分布的2个重要指标^[22]。据文献记载^[21],HK型羊的酶离解曲线显示出对氧的高度亲和性,因而高山和丘陵地区品种绵羊的HK型和Kh的频率较高。HK型羊在气候恶劣的环境条件下中选择优势强于LK型个体。本研究中滩羊分布于宁夏贺兰山东麓,这里海拔高、低氧、自然环境恶劣, HK型绵羊占优势,这很好的论证了上述观点。

参 考 文 献

- [1] Evans J V, King J W. Genetic control of sodium and potassium concentrations in the red blood cells of sheep [J]. *Nature*, 1955 (23) : 171-176
- [2] White I G, Quinn P J, Evans J V. The concentration of major cations in the spermatozoa and erythrocytes of HK and LK rams[J]. *Aust J Exp Biol Med Sci*, 1968, 46(3) : 367-369
- [3] Agora C L, Acharya R M, Kakar S N. Distribution of blood potassium and haemoglobin types in Indian[J]. *Indian J Exp Biol*, 1970(8) : 335-337
- [4] 程瑞禾,沈瑜,陈明朗. 湖羊、苏联美利奴羊血红蛋白型及钾型的研究[J]. *畜牧与兽医*, 1991(4) : 147-149
- [5] 张才骏,张武学. 青海细毛羊红细胞钾型的初步研究[J]. *中国养羊*, 1994(4) : 20-22
- [6] 张才骏,张武学. 三角城藏羊红细胞钾型的研究[J]. *青海畜牧兽医杂志*, 1994, 24(3) : 4-6
- [7] Tsunoda K, Nozawa K, Maeda Y, et al. External morphological characters and blood protein and non-protein polymorphisms of native sheep in central mongolia [J]. *Rep Soc Res Native Livestock*, 1999 (17) : 63-82
- [8] Tsunoda K, Nozawa K, Okamoto S, et al. Blood protein variation of native sheep populations in Lufeng and Lunan in Yunnan province of China [J]. *Rep Soc Res Native Livestock*, 1995 (15) : 119-129
- [9] Tsunoda K, Okabayashi H, Amano T, et al. Morphologic and genetic characteristic of sheep raised by the cham tribe in vietnam [J]. *Rep Soc Res Native Livestock*, 1998 (16) : 63-73
- [10] Tsunoda K, Amano T, Nozawa K, et al. Morphological characters and blood protein polymorphism of sheep in bangladesh and genetic relationship with european sheep breeds [J]. *Rep Soc Res Native Livestock*, 1988 (12) : 161-185
- [11] Tsunoda K, Doge K, Yamamoto Y, et al. Morphological traits and blood protein variation of the native nepalese sheep [J]. *Rep Soc Res Native Livestock*, 1992 (14) : 155-183
- [12] Tsunoda K, Yamamoto Y, Nozawa K, et al. Morphological traits and biochemical polymorphisms of Myanmar sheep [J]. *Rep Soc Res Native Livestock*, 2004 (21) : 155-169
- [13] Tsunoda K, Amano K, Nozawa K, et al. Genetic characteristics of Bangladeshi sheep as based on biochemical variations [J]. *Japan J Zootech Sci*, 1990, 61(1) : 54-66
- [14] 孙伟,常洪,杨章平,等. 绵羊血钾与其它13个蛋白基因座位遗传共适应的分析 [J]. *南京农业大学报*, 2002, 25(4) : 57-62
- [15] 常洪. 家畜遗传资源学纲要 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995 : 99-109
- [16] Manly B F J. *The Statistics of Natural Selection* [M]. London : Chapman and Hall, 1985
- [17] 孙伟,常洪,杨章平,等. 中亚以东南绵羊群体亲缘血统判别式的研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2003, 34(2) : 132-138
- [18] 冉汝俊,李金林,曹顶国. 洼地绵羊与四个羊种分子遗传标记的比较研究 [J]. *中国草食动物*, 2003, 23(6) : 10-11
- [19] 孙伟,常洪,杨章平,等. 中亚以东南绵羊亲缘系统的研究 [J]. *中国农业科学*, 2003, 36(1) : 94-98
- [20] 孙伟. 中亚以东南不同生态型绵羊品种的群体遗传学的研究 [D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2006
- [21] 铃木正三. 比较血型学 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1985
- [22] 孙伟,常洪,杨章平,等. 中国部分绵羊群体形态及生态特征多元统计分析 [J]. *中国农业科学*, 2004, 37(2) : 285-290