

# 利用微卫星标记分析贵州白水牛与普通水牛的遗传多样性与亲缘关系

田强<sup>①②</sup> 刘健<sup>②</sup> 廖正录<sup>③</sup> 张芸<sup>③</sup> 史忠辉<sup>④</sup> 陈祥<sup>②</sup> 张勇<sup>②</sup> 简承松<sup>②\*</sup>

(① 泸州医学院基础医学院 泸州 646000; ② 贵州大学动物科学学院 贵阳 550025;

③ 贵州省畜牧局 贵阳 550001; ④ 遵义市畜牧局 遵义 563000)

**摘要:** 利用 11 对微卫星引物对贵州白水牛和 6 个普通水牛群体的有效等位基因数、基因杂合度、多态信息含量和遗传距离进行了分析。结果表明, 11 个微卫星基因座在 7 个水牛群体中均存在多态性, 可以用于水牛的遗传多样性评估。贵州白水牛和 6 个普通水牛群体的平均杂合度和平均多态信息含量分别为 0.745 0 ~ 0.792 2 和 0.702 1 ~ 0.760 5。贵州白水牛和遵义普通水牛的亲缘关系最近, 遗传距离为 0.091 0。由 UPGMA 聚类法得到的系统聚类图反映了贵州白水牛和 6 个普通水牛群体的亲缘关系远近程度, 贵州白水牛没有单独聚为一类, 而是与同分布区的遵义普通水牛首先聚类, 然后依次与其余地区的普通水牛聚类。研究提出了贵州白水牛应是其产地的普通水牛群体中的一个突变群的见解, 为开展贵州白水牛的遗传资源评估、保护与利用提供了分子水平的遗传学依据。

**关键词:** 贵州白水牛 遗传多样性 微卫星 DNA 遗传距离

中图分类号: S823.8 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2007)04-33-07

## Genetic Diversity in Guizhou White Buffalo and Guizhou Buffalo Populations and Their Genetic Relationship Based on Microsatellite Analysis

TIAN Qiang<sup>①②</sup> LIU Jian<sup>②</sup> LIAO Zheng-Lu<sup>③</sup> ZHANG Yun<sup>③</sup>  
SHI Zhong-Hui<sup>④</sup> CHENG Xiang<sup>②</sup> ZHANG Yong<sup>②</sup> JIAN Cheng-Song<sup>②\*</sup>

(① College of Preclinical Medical, Luzhou Medical College, Luzhou 646000;

② College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025;

③ Guizhou Provincial Livestock Bureau, Guiyang 550001; ④ Livestock Bureau of Zunyi, Zunyi 563000, China)

**Abstract** Effective number of alleles, mean heterozygosity, polymorphism information contents and genetic distance were studied in Guizhou White Buffalo and 6 Guizhou Buffalo populations using 11 microsatellite markers. The results indicate that there are genetic polymorphisms at 11 microsatellite locus in 7 buffalo populations. Eleven microsatellite markers can be used for genetic diversity evaluation in buffalo populations. The mean heterozygosity and the mean size of polymorphism information contents are 0.745 0 - 0.792 2 and 0.702 1 - 0.760 5, respectively. Genetic distance between Guizhou White Buffalo and Zunyi Buffalo is the closest (0.091 0). The clustering dendrograph drawn by UPGMA can clearly reflect the geography distribution, the feature of genetic differentiation, and genetic relationships

基金项目 贵州省科技厅 2003 年度科技基金项目(黔基合计字(2003)3029 号);

\* 通讯作者, E-mail: j-gdcs@sohu.com;

第一作者介绍 田强, 男, 硕士研究生, 讲师, 研究方向: 分子遗传学, E-mail: tian0703@163.com.

收稿日期: 2006-11-16, 修回日期: 2007-05-10

among Guizhou White Buffalo and 6 buffalo populations. Guizhou White Buffalo and Zunyi Buffalo are clustered first then clustered with other buffalo populations. This study indicates that Guizhou White Buffalo is a mutation population and also provides molecular genetic evidence for correct evaluation, conservation and development of Guizhou White Buffalo.

**Key words** :Guizhou White Buffalo ; Genetic diversity ; Microsatellite DNA ; Genetic distance

贵州白水牛是贵州特有的水牛资源,在国内除贵州外尚未见有白水牛成群体的报道。贵州白水牛主要分布于贵州遵义地区的凤冈、务川两县,邻近的湄潭、余庆、德江、江口等有少量分布,总头数约 3 000 左右<sup>[1]</sup>。据《遵义地区畜牧资源与畜牧区划》记载,在清朝末年就有白水牛繁衍<sup>[2]</sup>。贵州白水牛是贵州地区长期选育驯化的地方优良品种,要合理地保存和利用这些品种资源,就必须了解其群体遗传结构和遗传变异,以最大限度地提高保护和利用的效率。微卫星 DNA 分子标记技术是联合国粮农组织 (FAO) 推荐用于畜禽遗传多样性分子评估的方法,与 RFLPs、RAPD 及小卫星 DNA 标记比较,具有数量大、分布广、均匀、多态信息含量高、分

析方便等优点,目前已广泛用于国内外畜禽遗传结构的研究。本研究利用微卫星 DNA 标记技术对贵州白水牛和 6 个普通水牛群体的遗传多样性和亲缘关系进行了分析,将为开展贵州白水牛的遗传资源评估、保护与利用提供分子水平的遗传学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 采用中心产区典型群随机抽样方法从贵州白水牛分布区和贵州 6 个水牛分布地区采集水牛血样 421 份。血样采集地点及数量详见表 1。从水牛颈静脉或耳静脉采血,每头水牛采血 10 ml,与 ACD 抗凝液充分混匀<sup>[3]</sup>,置冰盒中保存备用。

表 1 供试水牛血样采集情况一览表

Table 1 The buffalo blood sample collection

群体 Population	缩写 ab.	♀(头) Female	♂(头) Male	∑(头) Total	采样地点 Sampling locations
贵州白水牛 Guizhou White Buffalo	GB	82	21	103	遵义市凤冈、务川、铜仁各地
遵义普通水牛 Zunyi Buffalo	ZYP	67	31	98	遵义市凤冈、务川、湄潭
铜仁普通水牛 Tongren Buffalo	TRP	32	15	47	铜仁市玉屏、松桃、江口、德江
毕节普通水牛 Bijie Buffalo	BJP	21	7	28	毕节市
黔中普通水牛 Central Guizhou Buffalo	QZP	26	28	54	安顺市西秀、平坝,贵阳市花溪
黔南普通水牛 South Guizhou Buffalo	QNP	29	12	41	黔南州荔波、独山
黔东南普通水牛 Southeastern Guizhou Buffalo	QDNP	43	7	50	黔东南州凯里、麻江
合计 Total		300	121	421	

**1.2 DNA 提取、PCR 扩增** 取 1 000  $\mu$ l 血加入等体积 PBS 去除红细胞,用蛋白酶 K (20 mg/ml) 50 $^{\circ}$ C 消化过夜 (约 10 h) 酚-氯仿法提取总 DNA<sup>[4]</sup>。

从 FAO 推荐的 30 对用于牛遗传多样性研究的微卫星引物中筛选出 11 对。引物名称与序列见表 2,由上海生工生物工程技术有限公司合成。

PCR 反应条件参考相关文献并进行优

化<sup>[5,6]</sup>。反应体系为 25  $\mu$ l,其中,模板 DNA 1  $\mu$ l (100 ng/ $\mu$ l),10 $\times$  buffer 2.5  $\mu$ l,引物各 3  $\mu$ l (2.5 pmol/ $\mu$ l),dNTP 0.5  $\mu$ l (10 mmol/L),Taq DNA 聚合酶 0.5  $\mu$ l (2 U/ $\mu$ l),加灭菌双蒸水至 25  $\mu$ l。PCR 反应条件为:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s;51~65 $^{\circ}$ C (退火温度因引物不同而异)退火 30 s;72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min;4 $^{\circ}$ C 保存。

表 2 11 对微卫星引物的碱基序列及 PCR 反应条件

Table 2 Sequences of 11 microsatellites and conditions of PCR

座位 Loci	染色体 Chromosome	引物序列 The sequence of primers		Mg <sup>2+</sup> (mmol/L)	退火温度(°C) Annealing temperature	产物(bp) Production
HEL13	11	TAAGGACTTGAGATAAGGAG	CCATCTACCTCCATCTTAAAC	1.5	51	176 ~ 198
BM2113	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC	CTTCTGAGAGAAGCAACACC	2.0	58	130 ~ 144
CSRM60	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA	AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	1.5	65	97 ~ 111
CSSM66	14	ACACAAATCCTTCTTGCCAGCTGA	AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	1.5	61	176 ~ 198
ETH10	5	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA	CCTCCAGCCCACCTTCTCTTCTC	1.5	64	200 ~ 223
ETH11	16	GGCGGACAAGAGTTCTCAGAGAC	CTTGACACATCATTGAGCACATGC	2.0	62	188 ~ 208
ETH225	9	GATCACCTTGCCACTATTTCT	ACATGACAGCCAGCTGCTACT	2.0	60	129 ~ 144
INRA026	22	TAGTTCCAATGAGACACGAACA	TAGGAGCACGGAGGTAAAACA	1.5	56	80 ~ 90
ILSTS005	10	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC	TGTTCTGTGAGTTTGTAAAGC	2.0	58	184 ~ 210
BM1225	20	TTTCTCAACAGAGGTGTCCAC	ACCCCTATCACCATGTCTCTG	1.5	62	249 ~ 272
BM1818	23	AGCTGGAAATATAACCAAAGG	AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	2.0	58	263 ~ 305

**1.3 凝胶电泳及微卫星基因型判读** 用 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 用 pBR322DNA/*Msp* I 作为标记, 银染法显色, 凝胶成像系统观察电泳结果并拍照。利用 ONE-Dscan 2.03 凝胶分析软件进行目标片段分子量大小的标定, 判定个体基因型。

**1.4 数据的统计分析** 有效等位基因( effective number of alleles,  $N_e$ ) 平均遗传杂合度( mean heterozygosity,  $H$ ) 奈氏标准遗传距离( Standard genetic distance,  $D_s$ ) 用 Popgen 32 软件计算得到。多态信息含量( polymorphism information content,

$PIC$ ) 利用 PIC 分析软件进行计算。聚类分析采用非加权组对算术平均法( unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA ), 利用 MEGA 3.1 软件进行聚类。

## 2 结果与分析

**2.1 扩增结果及多态性** 所筛选的 11 对微卫星引物经 PCR 扩增后的产物用 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 经银染后用凝胶成像系统拍照, 部分微卫星引物的扩增产物电泳结果见图 1。

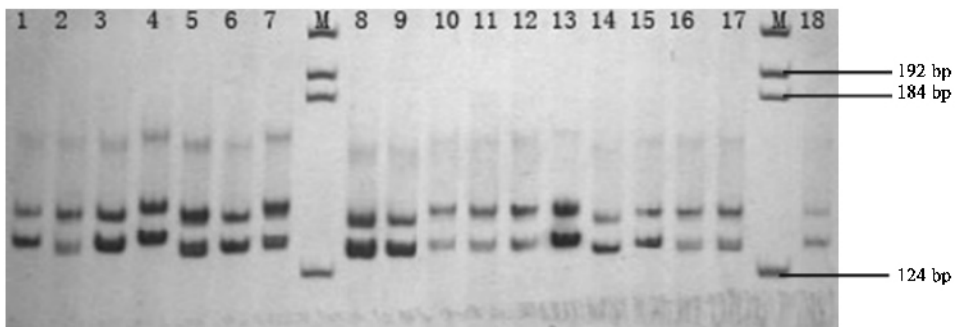


图 1 微卫星 BM2113 的 PCR 扩增产物变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

Fig. 1 Denature sequencing electrophoresis of PCR amplification products of microsatellite locus BM2113

M 标准分子量标记; 1 ~ 18 : 不同个体 PCR 产物。Marker : pBR322/*Msp* I ; 1 ~ 18 : Different individuals' PCR product.

从贵州白水牛和 6 个普通水牛群体的 11 个微卫星座位上共检测到 72 个等位基因, 其中

49 个是在各水牛群体中均被检测到的共享等位基因, 23 个只是在部分群体中检测到的非共

享等位基因。

### 2.2 贵州白水牛与普通水牛群体内的遗传变异

**2.2.1 有效等位基因数** 有效等位基因数的大小反映了等位基因在群体中分布的均匀程度,如果等位基因在群体中分布越均匀,有效等

位基因越接近检测到的等位基因的绝对数。从表 3 可以看出,贵州白水牛与 6 个普通水牛群体在 11 个座位的平均有效等位基因数为 4.082 3 ~ 4.652 0。贵州白水牛的有效等位基因数与 6 个普通水牛群体无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

表 3 贵州白水牛与普通水牛群体在 11 个微卫星座位的有效等位基因数

**Table 3 The effective numbers of allele at 11 microsatellite loci in Guizhou White Buffalo and 6 Guizhou Buffalo populations**

位点 Loci	GB	ZYP	TRP	BJP	QZP	QDNP	QNP
HEL13	6.502 6	6.200 3	7.302 5	2.981 0	4.465 2	3.410 8	3.997 6
BM2113	4.625 7	3.853 6	4.318 7	4.505 7	4.893 7	3.406 0	4.768 8
CSRM60	4.689 1	4.304 2	3.753 6	2.790 0	4.753 0	3.105 1	4.512 8
CSSM66	3.999 2	5.647 7	4.631 0	4.238 4	5.634 9	4.513 2	5.806 6
ETH10	3.679 2	3.757 0	2.456 2	3.972 8	3.866 5	3.346 4	3.286 4
ETH11	4.805 5	4.170 6	4.378 6	3.301 1	4.512 4	3.756 6	3.452 9
ETH225	4.031 5	4.277 8	4.361 3	3.881 2	4.291 8	4.042 1	2.413 5
INRA026	3.491 9	4.262 3	3.976 6	3.581 7	5.506 9	5.091 6	3.904 8
ILSTS005	4.602 2	5.277 9	3.743 1	6.272 0	4.427 1	5.224 5	4.872 5
BM1225	5.586 5	2.989 4	5.503 3	5.369 9	5.970 2	4.915 0	5.128 2
BM1818	5.158 8	5.265 2	5.253 3	4.639 1	5.524 1	4.093 8	4.055 5
Mean	4.652 0	4.546 0	4.516 2	4.139 3	4.895 1	4.082 3	4.200 0

**2.2.2 遗传杂合度** 遗传杂合度表示群体在某微卫星座位为杂合子的比例,反映群体遗传变异程度的大小。平均遗传杂合度表示群体平均在各微卫星座位为杂合子的比例。由表 4 可以看出,贵州白水牛与普通水牛的平均杂合度

均比较高,说明群体的遗传变异较大,对环境的适应能力较强。贵州白水牛的平均杂合度为 0.778 4,与 6 个普通水牛群体的平均杂合度无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

表 4 贵州白水牛与普通水牛群体在 11 个微卫星座位上的平均杂合度和平均座位杂合度

**Table 4 The average heterozygosity and the mean locus heterozygosity at 11 microsatellite loci in Guizhou White Buffalo and 6 Guizhou Buffalo populations**

位点 Loci	GB	ZYP	TRP	BJP	QZP	QDNP	QNP
HEL13	0.846 2	0.838 7	0.863 1	0.664 5	0.776 0	0.706 8	0.749 9
BM2113	0.783 8	0.740 5	0.768 4	0.778 1	0.795 7	0.706 4	0.790 3
CSRM60	0.786 7	0.767 7	0.733 6	0.641 6	0.789 6	0.678 0	0.778 4
CSSM66	0.750 0	0.822 9	0.784 1	0.764 1	0.822 5	0.778 4	0.827 8
ETH10	0.728 2	0.733 8	0.592 9	0.748 3	0.741 4	0.701 2	0.695 7
ETH11	0.791 9	0.760 2	0.771 6	0.697 1	0.778 4	0.733 8	0.710 4
ETH225	0.752 0	0.766 2	0.770 7	0.742 3	0.767 0	0.752 6	0.585 7
INRA026	0.713 6	0.765 4	0.748 5	0.720 8	0.818 4	0.803 6	0.743 9
ILSTS005	0.782 7	0.810 5	0.732 8	0.840 6	0.774 1	0.808 6	0.794 8
BM1225	0.821 0	0.665 5	0.818 3	0.813 8	0.832 5	0.796 5	0.805 0
BM1818	0.806 2	0.810 1	0.809 6	0.784 4	0.819 0	0.755 7	0.753 4
Mean	0.778 4	0.771 1	0.763 1	0.745 0	0.792 2	0.747 4	0.748 7

**2.2.3 多态信息含量** 常用多态信息含量来表示微卫星 DNA 变异高低程度<sup>[7]</sup>。多态信息含量值越大,表明在一个群体中该座位杂合子比例越高,提供的遗传信息也就越多。由表 5 可以看出,贵州白水牛与普通水牛的平均多态信

息含量值为 0.702 1(毕节普通水牛)~ 0.760 5(黔中普通水牛),这表明贵州水牛具有丰富的遗传多样性。贵州白水牛的多态信息含量为 0.743 1,与 6 个普通水牛群体的平均多态信息含量无明显差异( $P > 0.05$ )。

表 5 贵州白水牛与普通水牛群体在 11 个微卫星座位上的多态信息含量

Table 5 The polymorphism information contents value at 11 microsatellite loci in Guizhou White Buffalo and 6 Guizhou Buffalo populations

位点 Loci	GB	ZYP	TRP	BJP	QZP	QDNP	QNP
HEL13	0.827 1	0.818 1	0.847 4	0.605 5	0.742 4	0.670 9	0.705 7
BM2113	0.750 2	0.699 5	0.732 9	0.740 9	0.764 5	0.658 0	0.759 0
CSRM60	0.754 5	0.735 6	0.687 7	0.572 9	0.756 9	0.621 1	0.742 2
CSSM66	0.710 0	0.798 1	0.750 3	0.724 5	0.797 4	0.745 7	0.803 7
ETH10	0.678 3	0.684 8	0.519 2	0.701 2	0.693 4	0.646 4	0.640 6
ETH11	0.759 6	0.717 4	0.732 5	0.645 1	0.743 0	0.684 8	0.657 5
ETH225	0.708 2	0.726 8	0.732 4	0.697 5	0.729 3	0.712 7	0.499 9
INRA026	0.662 9	0.727 8	0.707 5	0.669 7	0.792 5	0.774 5	0.696 2
ILSTS005	0.747 3	0.785 9	0.699 1	0.820 3	0.741 8	0.782 9	0.765 7
BMI225	0.796 8	0.629 4	0.792 4	0.793 5	0.810 4	0.774 5	0.777 4
BMI818	0.778 8	0.783 3	0.782 9	0.752 4	0.793 5	0.716 9	0.716 3
Mean	0.743 1	0.737 0	0.725 8	0.702 1	0.760 5	0.708 0	0.705 8

**2.3 贵州白水牛与普通水牛群体间的遗传变异** 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,被用以描述群体的遗传结构和品种间的差异。本实验采用 Nei's 标准遗传距离进行分析<sup>[8]</sup>。由表 6 可以

看出,贵州白水牛与遵义普通水牛之间的遗传距离最近,为 0.091 0;两者的遗传相似系数最大为 0.913 0。与贵州白水牛遗传距离最远的为黔东南普通水牛,遗传距离为 0.241 9,遗传相似系数为 0.785 1。

表 6 贵州白水牛与普通水牛群体 Nei's 标准遗传距离和遗传相似系数

Table 6 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance among Guizhou White Buffalo and 6 Guizhou Buffalo populations

群体 Population	GB	ZYP	TRP	BJP	QZP	QDNP	QNP
GB		0.913 0	0.891 3	0.854 2	0.898 0	0.785 1	0.801 8
ZYP	0.091 0		0.895 0	0.818 2	0.879 7	0.823 5	0.825 4
TRP	0.115 0	0.110 9		0.769 1	0.867 1	0.743 1	0.771 8
BJP	0.157 6	0.200 6	0.262 6		0.790 9	0.765 2	0.734 6
QZP	0.107 5	0.128 2	0.142 6	0.234 5		0.862 8	0.830 4
QDNP	0.241 9	0.194 2	0.296 9	0.267 6	0.147 5		0.908 0
QNP	0.220 9	0.191 9	0.259 0	0.308 4	0.185 8	0.096 5	

表中右上方数值为群体间遗传相似系数,左下方为群体间的遗传距离。

Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

**2.4 系统聚类分析** 根据 Nei's 标准遗传距离进行 UPGMA 法聚类,由图 2 可以看出,贵州

白水牛首先与遵义普通水牛聚为一类,然后和铜仁普通水牛聚为一类,黔东南普通水牛和黔

南普通水牛聚为一类。然后,遵义、铜仁类与黔中普通水牛聚为一类,再与毕节普通水牛聚为一类,最后与黔东南、黔南类相聚而成为贵州水牛。

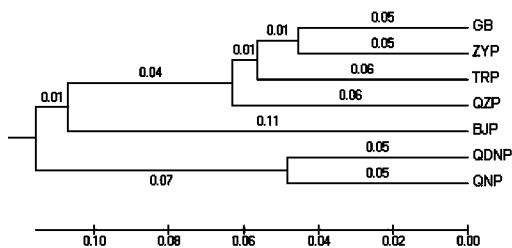


图 2 贵州白水牛与 6 个普通水牛群体的 UPGMA/Ds 矩形聚类图

Fig. 2 UPGMA/Ds phylogenetic tree of Guizhou White Buffalo and 6 buffalo populations (rectangle)

### 3 讨论

**3.1 微卫星位点的多态性** 微卫星 DNA 标记在多态性、群体平均杂合度、群体间遗传距离等方面均高于蛋白位点<sup>[9, 40]</sup>。由微卫星标记计算出的基因杂合度在 0.3 ~ 0.8 之间,对于亲缘关系较近的种群间的遗传距离估测、绘制系统发生树方面更为精确和高效。由表 5 可以看出, 11 个微卫星位点的多态信息含量 (PIC) 大于 0.5 表明均为高度多态性位点。由 11 个微卫星位点计算的遗传距离所绘制的系统聚类图能够清晰客观地反映贵州白水牛与普通水牛群体的地理分布、遗传分化特点和亲缘关系的远近程度。

**3.2 贵州白水牛与普通水牛群体内的遗传变异** 有效等位基因数 ( $N_e$ )、遗传杂合度 ( $H$ )、多态信息含量 (PIC) 等是度量群体内遗传变异的常用指标。由表 3 可以看出,贵州白水牛与 6 个普通水牛群体的有效等位基因数相差不大,说明各水牛群体遗传多样性丰富,但相互间的分化不是太大。由表 4 可以看出,贵州白水牛与普通水牛的平均杂合度为 0.745 0 ~ 0.792 2,远高于史荣仙<sup>[11]</sup>等运用血液蛋白多态分析中国 12 个地方水牛群体遗传结构所得到的平均杂合度  $0.385 0 \pm 0.025 7$ ,说明贵州水牛

的遗传多样性较高,具有较好的遗传潜力,但也说明贵州水牛要形成具有特色的地方类型还需要进一步的进行本品种的选育。由表 5 可以看出,贵州白水牛与普通水牛的平均多态信息含量值均大于 0.5,这表明贵州水牛具有丰富的遗传多样性。贵州白水牛在有效等位基因数、平均遗传杂合度、多态信息含量上与对照的 6 个普通水牛群体间无明显差异。

**3.3 贵州白水牛与普通水牛群体间的遗传变异** 传统分类法对贵州水牛的划分是根据体格大小,结合生态条件分为黔北水牛、黔中水牛和黔南水牛三个类型<sup>[12]</sup>。根据表 6 和图 2,可以将贵州水牛划分为 4 个类型:黔北大型水牛(贵州白水牛、遵义普通水牛、铜仁普通水牛)、黔南小型水牛(黔南普通水牛、黔东南普通水牛)、黔中普通水牛、毕节普通水牛。本研究的结果与传统划分法主要差别在于毕节水牛 (BJP) 和黔中水牛 (QZP) 的归类上。传统分类法中没有毕节类型,黔中水牛也是一个独立类型,而本研究的聚类图上显示毕节水牛为一独立类型,黔中水牛与黔北水牛更为接近。本研 究所得到的对贵州水牛的划分结果,更能反映不同地区贵州水牛的生态地理分布特点及其历史形成的状况,因而是对贵州水牛遗传研究的一个新突破和新认识。

**3.4 贵州白水牛与普通水牛亲缘关系的探讨** 研究所涉及的 11 个微卫星座位的总计 72 个等位基因中未发现属于贵州白水牛的特异性标记基因,贵州白水牛在有效等位基因数、基因杂合度、多态信息含量上与普通水牛间并无明显差异。从本研究所涉及的 11 个微卫星座位来看,贵州白水牛在遗传多样性上与普通水牛之间并无实质性的不同。从聚类分析的结果看,贵州白水牛首先与遵义普通水牛聚类,然后和铜仁普通水牛等聚类,贵州白水牛也并没有以一个单独的群体独立聚为一类。但毕竟从宏观的毛色等形态学的表现上,贵州白水牛和普通水牛之间又具有明显的差异,并且这种差异能够稳定地遗传。因此,结合研究的结果,我们认为,贵州白水牛可能是其产地的普通水牛群体

中的一个突变群,除了导致其突变体的遗传基因外,就其基本的遗传基础来说,应该和普通水牛是一致的。这一认识不仅与本研究的结果吻合,而且也与贵州白水牛在其产地一直是与普通水牛互交混配的事实相符合。至于导致其突变的实质性的遗传变异究竟何在,则需要通过其他的研究途径和方法进一步揭示。我们考虑,可以从以下几方面着手:①从孟德尔遗传方式入手,搞清贵州白水牛毛色的遗传方式;②进一步从各种遗传标记入手分析贵州白水牛和普通水牛的差异;③从功能结构基因入手,进一步寻找贵州白水牛与普通水牛之间在有关功能基因上的差异。

综上所述,利用 11 个微卫星座位分析贵州白水牛及 6 个普通水牛群体内和群体间的遗传多样性和亲缘关系是有效的,可为正确评估贵州白水牛与贵州地方水牛品种遗传多样性的资源价值、制定合理可行的保种方案提供分子水平的遗传学依据。

致谢 本论文实验室工作在贵州省农业科学院重点实验室进行,在此表示感谢。

## 参 考 文 献

[ 1 ] 廖正录,史忠辉,陈沙江.贵州白水牛调查报告.贵州畜牧兽医,1998,22(5):11~12.

- [ 2 ] 史忠辉,陈沙江.贵州遵义白水牛资源调查.中国畜牧杂志,1999,33(1):22~24.
- [ 3 ] 卢圣栋.现代分子生物学实验技术(第二版).北京:中国协和医科大学出版社,1999,102.
- [ 4 ] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 D W 著(黄培堂等译).分子克隆实验指南(第三版).北京:科学出版社,2002,467~471.
- [ 5 ] Navani N, Jain P K, Gupta S, et al. A set of cattle microsatellite DNA markers for genome analysis of riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal Genetics*, 2002, 33(2):149~154.
- [ 6 ] van Hooft W F, Hanotte O, Wenink P W, et al. Applicability of bovine microsatellite markers for population genetic studies on African buffalo (*Syncerus caffer*). *Animal Genetics*, 1999, 30(3):214~220.
- [ 7 ] Bostein D, White R L. Construction of a genetic linkage maps in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3):314~331.
- [ 8 ] Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 1972, 106:283~293.
- [ 9 ] England P R, Briscoe D A, Frankham R. Microsatellite polymorphisms in a wild population of *Drosophila melanogaster*. *Genetical Research*, 1996, 67(3):285~290.
- [ 10 ] Arranz J J, Bayon Y, San Primitivo F. Comparison of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle populations. *Animal Genetics*, 1996, 27(6):415~419.
- [ 11 ] 史荣仙,赖松家,郑维明.中国水牛血液蛋白多态性研究.四川农业大学学报,1996,14(4):586~598.
- [ 12 ] 《贵州畜禽品种志》编辑委员会.贵州省畜禽品种志.贵阳:贵州科技出版社,1993,21.