

# 云南南部地区野猪群体的遗传多样性

霍金龙<sup>①②</sup> 苗永旺<sup>②③\*</sup> 霍海龙<sup>②</sup> 李大林<sup>④</sup> 刘丽仙<sup>⑤</sup> 刘建平<sup>⑥</sup> 李云辉<sup>⑦</sup>

(① 云南农业大学云南省版纳微型猪近交系重点实验室 昆明 650201;

② 云南农业大学动物科学技术学院 昆明 650201;

③ 云南大学生物资源保护与利用国家重点实验室 昆明 650091;

④ 云南省家畜改良工作站 昆明 650021; ⑤ 云南农业职业技术学院畜牧兽医系 昆明 650212;

⑥ 云南省西双版纳州畜牧兽医工作站 景洪 666100;

⑦ 云南省西双版纳州勐腊县农业局 勐腊 666300)

**摘要:**野猪(*Sus scrofa*)是家猪的祖先,也是野生动物遗传资源和生物多样性的重要组成部分。为了阐明其群体遗传变异,以对其进行进一步有效保护和合理利用提供科学依据,本研究采用分布在家猪 19 条染色体上的 76 个微卫星标记对云南南部地区野猪群体 65 个个体进行了群体遗传变异分析。共检测到 349 个等位基因,每个座位的等位基因数从 3 到 9 不等,有效等位基因数在 1.683 5~ 8.066 7 之间,平均每个座位等位基因数(4.592 1±1.145 2)个,有效等位基因数(3.709 9±0.990 4)个,群体平均表观杂合度、期望杂合度及平均多态信息含量分别为(0.949 2±0.113 5)、(0.711 6±0.078 7)和(0.663 4±0.092 1)。结果表明,本实验检测到的野猪群体遗传多样性较丰富。

**关键词:**野猪;微卫星标记;遗传多样性;杂合度;多态信息含量

中图分类号:Q958 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2008)06-137-10

## Genetic Diversity of *Sus scrofa* in Southern Area of Yunnan Province Based on Microsatellite Markers

HUO Jirr Long<sup>①②</sup> MIAO Yong Wang<sup>②③\*</sup> HUO Hai Long<sup>②</sup> LI Da Lin<sup>④</sup>  
LIU Li Xian<sup>⑤</sup> LIU Jiann Ping<sup>⑥</sup> LI Yunn Hui<sup>⑦</sup>

(① Key Laboratory of Banna Mini-pig Inbred Line of Yunnan Province, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

② Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

③ Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-resources, Yunnan University, Kunming 650091;

④ Domestic Animal Breeding and Crossbreed-improvement Station of Yunnan Province, Kunming 650021;

⑤ Department of Husbandry and Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural Vocational Technical College, Kunming 650212;

⑥ Xishuangbanna Animal Husbandry and Veterinary Station of Yunnan Province, Jinghong 666100;

⑦ Mengla County Agricultural Bureau of Yunnan Province, Mengla 666300, China)

**Abstract:** Wild Boar (*Sus scrofa*) is not only the ancestor of domestic pigs, but also important genetic resources and the constituent of biological diversity. In order to further get insight into the genetic variability in its population and provide the genetic background and guidance for its conservation and utilization, the microsatellite DNA polymorphisms

基金项目 云南省教育厅科学研究基金项目(No. 07Y40124), 国家自然科学基金项目(No. 30660024), 云南省应用基础研究重点项目(No. 2007C0003Z)和云南省应用基础研究计划面上项目(No. 2006C0034M);

\* 通讯作者, E-mail: yongwangmiao999@yahoo.com.cn;

第一作者介绍 霍金龙,男,硕士;研究方向:动物分子遗传学;E-mail: jinbnghuo@ynau.edu.cn.

收稿日期:2008-02-28, 修回日期:2008-09-08

for 65 individuals sampled from the southern area of Yunnan province were assayed by using PCR and polyacrylamide gel electrophoresis. Of 76 microsatellite loci tested which are located on swine's 19 chromosomes, a total of 349 alleles were detected, and the number of alleles varied from 3 to 9 and the number of effective alleles from 1.683 5 to 8.066 7, with the mean value of  $4.592 1 \pm 1.145 2$  alleles and  $3.709 9 \pm 0.990 4$  effective alleles per locus. The observed heterozygosity, expected heterozygosity and polymorphism information content were estimated to be  $0.949 2 \pm 0.113 5$ ,  $0.711 6 \pm 0.078 7$ , and  $0.663 4 \pm 0.092 1$ , respectively. The results show that the genetic diversity in the population of the Wild Boar in Yunnan Province is high.

**Key words:** Wild Boar; Microsatellite DNA; Genetic diversity; Heterozygosity; Polymorphism information content

野猪 (*Sus scrofa*) 是家猪的祖先, 在动物分类学上属哺乳纲 (Mammalia) 真兽亚纲 (Theria) 偶蹄目 (Artiodactyla) 猪形亚目 (Suiformes) 猪科 (Suidae) 猪属。野猪是极为重要的遗传资源, 其耐寒耐热, 抗病力强, 食性杂, 耐粗饲, 目前很多地方已开始驯化和饲养野猪。世界野猪资源丰富, 其广泛分布于欧亚大陆和非洲北部, 全球共有 27 个亚种。中国有 8 个亚种: 华南野猪 (*S. s. chirodontus*), 分布在中国南部和海南岛; 台湾野猪 (*S. s. taiwanus*), 分布于中国台湾岛; 华北野猪 (*S. s. moupiensis*), 分布在长江以北、黄河流域广大地区; 东北白胸野猪, 或称日本野猪 (*S. s. (leucomystax) coreanus*), 分布在辽宁、吉林及朝鲜半岛, 与华北野猪类似; 乌苏里野猪 (*S. s. ussuricus*), 分布在辽宁、吉林、黑龙江及西伯利亚东部等地; 蒙古野猪 (*S. s. raddeanus*), 分布在内蒙古一带以及蒙古南部地区; 新疆野猪 (*S. s. nigripes*) 分布在天山喀什地区以及土库曼斯坦和阿富汗的一部分地区; 矮野猪 (*S. s. silvianus*), 起源于喜马拉雅山腹地以及和云南接界的山中, 主要分布在我国云南和广西。本研究的样品为矮野猪<sup>[1-5]</sup>。

微卫星 DNA (microsatellite DNA), 也称为短串联重复序列 (short tandem repeats, STR)、简单序列重复 (simple sequence repeat, SSR), 在生物基因组中一般以 1~6 bp 为其核心序列、首尾相连组成串联重复序列分布在生物整个基因组。微卫星标记与其他分子标记技术相比, 具有分布广泛、多态性丰富、共显性遗传、选择中性、易于检测、重复性好、可提供高分辨率的遗

传信息等特点, 是度量品种群体遗传结构、遗传多样性等研究方面的理想分子标记之一<sup>[6-8]</sup>。本研究采用 76 个微卫星标记对采自云南西双版纳地区的野猪样品进行了微卫星遗传多样性检测, 以期为其保护、合理开发和利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 用于本研究的 65 头 ( $\delta 30$ ,  $\text{♀} 35$ ) 野猪样品采自西双版纳傣族自治州景洪市的勐养、景讷、勐腊县的尚勇、勐棒、易武、勐仑、象明和瑶区等乡镇, 以及勐海县的勐冈、巴达、西定和勐阿。收集其耳朵、肌肉组织样品, 酒精保存, 低温带回实验室, 用于基因组 DNA 提取。

### 1.2 方法

**1.2.1 DNA 提取** 参照分子克隆第三版的方法<sup>[9]</sup> 提取基因组 DNA, 经琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法双重检测其纯度及浓度, 稀释成  $25 \text{ ng}/\mu\text{l}$  浓度作为 PCR 扩增的模板。

**1.2.2 微卫星引物筛选** 自美国农业部 (United States Department of Agriculture) 肉畜动物研究中心 (Meat Animal Research Center) 网站 (<http://www.marc.usda.gov>) 查取 250 个微卫星标记, 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 通过筛选和优化反应条件, 最后确定了 76 个微卫星标记。这些微卫星标记比较分散、均匀地覆盖在猪 19 条染色体上, 且每条染色体上都检测 4 个微卫星座位。76 个微卫星标记在染色体上的分布等信息见表 1。

表 1 76 个微卫星标记的信息

Table 1 The information of 76 microsatellite markers

染色体及相对位置范围 (cm) Chromosome and range of relative position	座位 Locus	座位在染色体上的相对位置 Relative position (cm)	引物序列 Sequence of the primer	退火温度 Annealing temperature (°C)
1 - 3~ 153	S0008	43.5	F: GAGGCAGTGTGTCTATTCA R: GCCATGTGTAAGTGTGCT	58
	SW781	55.8	F: GAGGCAGTGTGTCTATTCA R: GCCATGTGTAAGTGTGCT	62
	SW974	102.9	F: GGTGAAGTTTTTGTCTTTGAACC R: GAAAGAAATCCAAATCCAAACC	58
	SW705	122.6	F: CTGAAGTCTTGAGATGAAACGC R: TGTAGACATTTCAGAGGAAGC	62
2 0~ 132.1	SWR783	23.7	F: CATACCTGCACTCTCTCAGC R: GCAGCTATAGCTCCGATTGG	62
	SW354	64.8	F: TGGCTTCTCAGCCCTCCAC R: GGTTCCTCAAACAAACATAGCC	60
	S0010	77.9	F: TTAACATGGCTGTCTGGACC R: GTCCCTGTCCAACCATAAGA	60
	SW1844	107.9	F: TTTTATGGCTGAGTAGCATTCC R: CAACCTACATTCCATTGAGAGG	60
3 0~ 129.3	SW72	17.8	F: ATCAGAACAGTCGCCCGT R: TTTGAAAATGGGGTGTTC	58
	SWR978	52.9	CCCGGTGATGTCAAGTGAC R: CATATGCCGCAAGTGAG	62
	S0167	84.7	F: AAACCTCCAATTCATAACATAGG R: CTTTATATATGTGCTAAGACTTCT	55
	SW349	112.6	F: CCTGTTGTAGGCTCCATGAG R: CTAGGAGTCGGCCCTGAAC	62
4 0~ 131	SW480	4.9	F: TGCCCTGAAAAGGTCGTC R: CTTCTCTCCTGTGTGCCCTG	60
	SW45	55.9	F: TATGACCTGGTTGCTATGTTGG R: TGTTTTCTCCCTCAGATTACC	58
	SW286	78.3	F: GGTGACAGAATACAGTTTTCCC R: GATCTTCTTATTGGCCGPTG	62
	SW818	105	F: TCTGATACCAGAGTATGGCC R: TTTAATCTGTGAGCCATCCG	58
5 0~ 145.9	SW413	8.4	F: CAGACACACACCCAGTGTG R: AGGTCCAACCCCTCTGATG	62
	S0005	88.2	F: TCCTTCCCTCCTGGTAACTA R: GCACTTCTGATTCTGGGTA	60
	SW986	115.4	F: AGGAAGCAAAAATCTTAAGAGGC R: GGTGAGCCAGGAACAAGTATG	58
	SW378	134.4	F: ATTATGCACCCCTACTCACC R: GATTTCTTCTTTGTTGTGCC	60
6 0~ 200	SW973	18.6	F: CACAGTTGCATTGTGGTGC R: TAGGGGCCCGTAAAGTGC	58
	SW782	76.5	F: TCTTACATATGAGCACCAACC R: CGGAACAAGAGGAAGTGAGTG	60
	SW322	149.8	F: CATTCAACCTGGAATCTGGG R: TCCCTGAAAGGCTACACC	62
	SW2052	164.6	F: ACTCACGTGTTCCGGAGGC R: CCCCTGTGCATACATAGTTGC	55

续表 1

染色体及相对位置范围 (cm) Chromosome and range of relative position	座位 Locus	座位在染色体上的相对位置 Relative position (cm)	引物序列 Sequence of the primer	退火温度 Annealing temperature (°C)
7 0~ 157	S0064	30.2	F: TGAGCTGGAGGTTAGCTACC R: TCTCAGAAAGACTGCTTGGC	58
	SW1344	48.2	F: CCAGACTTGAGGAAGGTGG R: ATCTTTTTTTAGCTATTTTTAGCTTG	60
	SW1418	82.8	F: CCCCTCTCTATGGGCTGTC R: TTCCCTGAGGACAGCCAG	58
	SW252	99.4	F: CTCTGGGTCCATCCATTTTG R: TTATGATGCAAAAACATGGAAGC	62
8 3~ 127.7	SW1345	25.2	F: CCTGTGCCCACTTCCATC R: CATTGACTCCAGGTAGAGTCCC	58
	SW1070	56.1	F: CTTGCAGCATCACTCTTAGGC R: TCTATGTGCCCTTGGAGTGAGG	60
	SW374	82.8	F: AGTAATCCCATCCTCCCAG R: TGCTCTCCAGCCCTCAAG	62
	SW790	107.5	F: CTGTGGGAGTGTAGCATCTTTG R: CATAACCCAGATGTGGC	62
9 0~ 142.5	SW983	4	F: GCAGTCCCACTCTTAGGTATATATCC R: ATAATGCTGCTATGAAACACTGTAGTG	60
	SW911	36.8	F: CTCAGTTCCTTGGGACTGAACC R: CATCTGTGGAATAAAAAAGCC	60
	SW866	86.4	F: AGTGTGGTGTACTGATTGG R: CATGCAGGAAAAGGAGAGAG	60
	SW174	122.9	F: GCCAAAATAGCTATTGGACAGC R: TCATGCTATTTGTCCAGATG	58
10 0~ 128	SW767	20.4	F: TGGGTGACTAGAACCCTGTG R: TCACGCAGAACGTTT CAGAC	60
	SW497	39.3	F: TTAGGAA CGTCTGGGTTTGG R: TGGGAGCTTCCATGTGTTG	58
	S0070	62.3	F: GCGGAGCATTTCATT CACAG R: GAGCAAACAGCATCTGTGAGC	62
	SW305	94.5	F: AGCTTTCATTTTTTAAACCATC R: TCACCTTCAACCCATCACC	58
11 0~ 84.9	SWR2071	11.5	F: TGGGATGAGGAAAACITTC R: GAGGATAAGACCCTGCTACC	62
	SW1632	16.6	F: CTTTGACAGAT AAGGCTCCTGC R: ACACGCTCCCTAATC CCC	58
	SW151	44.3	F: TTCCCCTATGATGAGATGGC R: GGTGTGGCCCTCAAAAAGG	60
	SW878	56.4	F: CTGGGAGCACAAACAGATAGTG R: CAAGCAATCAATTCCTAAGGG	60
12 0~ 113.1	SW2494	13.4	F: ATCAAAGACAGAAAAAATCTACCG R: TAGAGAAATGAAAATAAAACCACG	55
	SW168	70.5	F: GCACCTTCTTCCCTTACCCC R: CAGTGTAAGCATGGAAGATGC	62
	SW467	88.5	F: TATACTTTAGCGCTACGAGC R: CTCAGCCGCTTGGATAACTC	55
	S0106	95.8	F: CCGCCACCGCTCAAGGGCTGTGC R: CTCAGGAGTCCCTCCGCCAGTTG	65

续表 1

染色体及相对位置范围 (cm) Chromosome and range of relative position	座位 Locus	座位在染色体上的相对位置 Relative position (cm)	引物序列 Sequence of the primer	退火温度 Annealing temperature (°C)
13 0~ 126.2	SW344	35.4	F: AGCTTCGTGTGCAGGAG R: GTAGTGGTCCAAAGAGAGTGGC	55
	SW163	62.2	F: GCTATCCCTGAGAAACAGTGT R: GATCCTAATGGGCTCAGCC	60
	SW398	79.3	F: AAGTCCCAATGCTTTGTTC R: CCGAGGAGAAATAAGCGTAGC	55
	SW769	117.5	F: GGTATGACCAAAAGTCTGGG R: TCTGCTATGTGGGAAGAATGC	60
14 0~ 111.5	SW1125	22.2	F: TAGATGTATATACTCCATGTGTG R: ATGTTGAGCTCTTAATTTATA CA	60
	SW1032	45.2	F: ATTGGGTGGACTGATATGGT R: GATCTATAAAGTGTAAATGTGTGTG	58
	SW761	76.2	F: CTTTGTCCCCATTAAGCTG R: TCTAGCAAATGTCTGAGATGCC	60
	SW1557	87.9	F: TGCTCTAATCTACCCGGTCT R: CCACCCCACTCCCTTCTG	58
15 - 4~ 124.3	SW1416	12.5	F: GTGAAGTGGCCAGTCATAC R: GCACAGGAACTATATTCAGGC	62
	S0148	34.6	F: TGGTGTAGCCCTGCAGTTGA R: CCATCCATTGCTACTGGCAC	60
	SW936	88.5	F: TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC R: GTGCAAGTACACATGCAGGG	58
	SW1983	101.5	F: GCAGGTTGGCCCTTAAAAG R: CCACATAGCTCCCTGCTACC	55
16 0~ 93.2	SW419	24.3	F: AATGGAAATAGGCTCTAAGCC R: TCCCCTCCCTATACATGTGC	55
	SW382	40.1	F: CTGAGCCACAGAGAGCAGC R: GAGTGTGTGCAAAGGGGG	65
	SW262	46.9	F: TACTTGGCTTTTTGTGACCAG R: TCAGCCAAGGGCTCTTG	62
	S0061	92.6	F: AAGCAGAAGGATCTCTCTA R: GCTGTTTCTGGTCTCTCTA	55
17 0~ 63	SWR1004	17.8	F: TGGGAA CACCTGCTTCATTC R: TCCATATGCCCAAGTGTG	60
	SWR1120	26.9	F: CAAATGGAACCAATACAGTCC R: ACTCCTAGCCAGGAGCTTC	62
	SW1031	63.4	F: ATCACCAGACAAAACAACTCTC R: TATGTCAACCCCAAACCC	58
	SW2431	94	F: CTTCCAGGATGTTGTCTAAAC R: CATGGTGCACACTTAGTGGG	60
18 - 4.4~ 63	SW1023	5	F: AACCTGCTGAGCCA CAGTG R: GCAAGTACCCAATCTTTTTTCC	60
	SW787	31.6	F: CTGGAGCAGGAGAAAGTAAGTTC R: GGACAGTACAGACAGAAGAAGG	60
	S0062	43.5	F: AAGATCAATTAAGTCAAGGTCACAG R: TCTGATAGGGAACATAGGATAAAT	55
	S0177	55.3	F: TTCCTGGGATGGTGGTGCAT R: ATCCACAGAGTTACTCAGAC	65

续表 1

染色体及相对位置范围 (cm) Chromosome and range of relative position	座位 Locus	座位在染色体上的相对位置 Relative position (cm)	引物序列 Sequence of the primer	退火温度 Annealing temperature (°C)
	SW949	0; 0	F: TGAGCAATGAGTTC AATGCC R: TCGTTGCTGAAGGCATCC	58
X, Y 0~ 200	SW980	11. 9; 57. 8	F: CTT CAGTGTAGTCCAAGTGGC R: GATGTTTTGCTGATAGGAAGGG	55
0~ 57. 8	SW2470	45. 8; 57. 8	F: TAGTACCTAGGCITCCCCAGG R: CTTTGCTCTCCCTCTCCATAC	58
	SW2588	128. 4; 57. 8	F: TGTCTTCTCCCCCTCCC R: AAAGCCTGGTGAGGACCC	62

**1. 2. 3 PCR 扩增** PCR 反应体系 25  $\mu$ l, 含模板 DNA 30~ 50 ng,  $Mg^{2+}$  浓度 1.5 mmol/L, 10  $\times$  buffer 2.5  $\mu$ l, dNTP 200  $\mu$ mol/L, *Taq* 酶 1.25 U、引物 0.2  $\mu$ mol/L。反应条件为: 95  $^{\circ}C$  预变性 5 min; 94  $^{\circ}C$  变性 30 s, 55~ 65  $^{\circ}C$  退火 30 s(因座位而异), 72  $^{\circ}C$  延伸 30 s, 35 个循环; 72  $^{\circ}C$  后延伸 10 min; 4  $^{\circ}C$  终止反应。

**1. 2. 4 电泳及结果记录** PCR 扩增产物经 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测效果后, 取 2  $\mu$ l 与上样缓冲液混合后在 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶上 100 V 电泳 12 h, 银染显色, 美国 UVP 凝胶成像系统和数码相机双重照像。

**1. 2. 5 数据处理** 利用与凝胶成像系统配套的 Labwork 4.5 软件, 确定扩增片段大小并判定个体基因型。然后用 PopGen 32 软件 (version 1.31) 计算各微卫星座位的等位基因频率、等位基因数、有效等位基因数、表观杂合度、期望杂合度, 并根据 Botstein 等<sup>[10]</sup> 的公式利用 Excel 计算多态信息含量。

## 2 结果与分析

**2. 1 PCR 扩增结果检测** 对 PCR 扩增产物采用 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 部分电泳结果见图 1。



图 1 SW782 座位的部分样品 PCR 扩增产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果

Fig. 1 The PAGE image of PCR products at SW782 locus

1~ 27. 野猪样品; M. DL2000 DNA 分子量标准。1~ 27. Samples of Wild Boar; M. DL2000 DNA Marker.

2.2 群体遗传变异分析 根据各微卫星座位的基因型, 计算出的各座位等位基因数、有效等位基因数、表观杂合度、期望杂合度及多态信息含量, 结果见表 2。

表 2 各座位的等位基因数、有效等位基因数、表观杂合度、期望杂合度及多态信息含量

Table 2 Allele number, effective allele number, observed heterozygosity, expected heterozygosity and polymorphism information content at each locus

座位 Locus	等位基因数 Allele number (na)	有效等位基因数 Effective allele number (ne)	表观杂合度 Observed heterozygosity (Obs Het)	期望杂合度 Expected heterozygosity (Exp Het)	多态信息含量 Polymorphism information content (PIC)
S0008	4 000 0	2.581 3	0 954 5	0.612 6	0.536 7
SW781	3 000 0	2.554 1	1 000 0	0.608 5	0.525 1
SW974	6 000 0	5.796 4	1 000 0	0.827 5	0.805 5
SW705	5 000 0	4.190 5	0 954 5	0.761 4	0.722 1
SWR783	4 000 0	2.960 2	0 954 5	0.662 2	0.613 6
SW354	4 000 0	3.507 2	1 000 0	0.714 9	0.659 7
S0010	5 000 0	4.264 3	1 000 0	0.765 5	0.730 4
SW1844	5 000 0	3.967 2	1 000 0	0.747 9	0.709 0
SW72	3 000 0	2.637 6	1 000 0	0.620 9	0.540 6
SWR978	4 000 0	3.281 4	1 000 0	0.695 2	0.636 1
S0167	4 000 0	3.259 3	0 863 6	0.693 2	0.645 3
SW349	4 000 0	3.482 0	1 000 0	0.712 8	0.659 3
SW480	5 000 0	3.444 8	1 000 0	0.709 7	0.662 4
SW45	4 000 0	3.396 5	0 909 1	0.705 6	0.651 2
SW286	5 000 0	4.245 6	1 000 0	0.764 5	0.724 3
SW818	5 000 0	4.302 2	1 000 0	0.767 6	0.730 9
SW413	6 000 0	3.781 2	1 000 0	0.735 5	0.697 1
S0005	5 000 0	4.016 6	1 000 0	0.751 0	0.710 8
SW986	5 000 0	4.380 1	1 000 0	0.771 7	0.747 4
SW378	4 000 0	2.822 2	1 000 0	0.645 7	0.580 2
SW973	3 000 0	1.683 5	0 409 1	0.406 0	0.370 1
SW782	4 000 0	3.292 5	1 000 0	0.696 3	0.637 8
SW322	4 000 0	3.063 3	1 000 0	0.673 6	0.612 9
SW2052	5 000 0	4.050 2	1 000 0	0.753 1	0.714 5
S0064	5 000 0	4.460 8	0 909 1	0.775 8	0.742 9
SW1344	3 000 0	1.850 9	0 454 5	0.459 7	0.415 2
SW1418	5 000 0	4.481 5	1 000 0	0.776 9	0.743 6
SW252	6 000 0	5.348 1	0 954 5	0.813 0	0.788 2
SW1345	4 000 0	2.711 5	0 954 5	0.631 2	0.560 3
SW1070	5 000 0	3.887 6	1 000 0	0.742 8	0.705 3
SW374	5 000 0	3.811 0	1 000 0	0.737 6	0.696 3
SW790	4 000 0	2.838 7	1 000 0	0.647 7	0.579 8
SW983	6 000 0	4.283 2	0 909 1	0.766 5	0.736 4
SW911	3 000 0	2.321 3	0 590 9	0.569 2	0.480 6
SW866	4 000 0	3.796 1	1 000 0	0.736 6	0.687 5
SW174	3 000 0	2.602 2	0 727 3	0.615 7	0.541 9
SW767	4 000 0	3.737 5	1 000 0	0.732 4	0.683 2
SW497	4 000 0	3.585 2	1 000 0	0.721 1	0.668 5
S0070	5 000 0	3.826 1	1 000 0	0.738 6	0.696 5
SW305	3 000 0	2.438 3	0 727 3	0.589 9	0.518 3
SWR2071	4 000 0	3.372 8	1 000 0	0.703 5	0.649 4

续表 2

座位 Locus	等位基因数 Allele number (na)	有效等位基因数 Effective allele number (ne)	表观杂合度 Observed heterozygosity (Obs Het)	期望杂合度 Expected heterozygosity (Exp Het)	多态信息含量 Polymorphism information content (PIC)
SW1632	4 000 0	3.281 4	1.000 0	0.695 2	0.637 3
SW151	3 000 0	2.711 5	1.000 0	0.631 2	0.553 3
SW878	3 000 0	2.602 2	1.000 0	0.615 7	0.541 9
SW2494	4 000 0	2.488 4	0.909 1	0.598 1	0.516 5
SW168	4 000 0	3.349 5	1.000 0	0.701 4	0.643 0
SW467	5 000 0	4.676 3	1.000 0	0.786 2	0.753 9
S0106	4 000 0	3.796 1	1.000 0	0.736 6	0.687 9
SW344	6 000 0	4.792 1	0.954 5	0.791 3	0.763 3
SW163	4 000 0	3.173 8	1.000 0	0.684 9	0.622 0
SW398	5 000 0	4.101 7	1.000 0	0.756 2	0.718 7
SW769	8 000 0	5.531 4	1.000 0	0.819 2	0.796 6
SW1125	6 000 0	4.964 1	1.000 0	0.798 6	0.773 5
SW1032	4 000 0	3.337 9	0.863 6	0.700 4	0.650 6
SW761	4 000 0	3.887 6	0.954 5	0.742 8	0.694 7
SW1557	6 000 0	4.722 0	1.000 0	0.788 2	0.759 5
SW1416	4 000 0	3.259 3	1.000 0	0.693 2	0.645 3
S0148	4 000 0	3.545 8	1.000 0	0.718 0	0.673 1
SW936	5 000 0	4.566 0	0.909 1	0.781 0	0.745 9
SW1983	5 000 0	3.507 2	1.000 0	0.714 9	0.668 4
SW419	4 000 0	3.326 5	1.000 0	0.699 4	0.643 3
SW382	3 000 0	2.773 6	0.772 7	0.639 5	0.563 6
SW262	3 000 0	2.637 6	0.863 6	0.620 9	0.540 6
S0061	4 000 0	3.919 0	1.000 0	0.744 8	0.697 3
SWR1004	5 000 0	4.523 4	1.000 0	0.778 9	0.743 7
SWR1120	5 000 0	3.598 5	0.954 5	0.722 1	0.672 0
SW1031	6 000 0	5.260 9	1.000 0	0.809 9	0.784 7
SW2431	5 000 0	3.611 9	1.000 0	0.723 1	0.677 1
SW1023	9 000 0	8.066 7	1.000 0	0.876 0	0.862 4
SW787	7 000 0	4.653 8	0.909 1	0.785 1	0.751 0
S0062	6 000 0	4.864 3	0.863 6	0.794 4	0.771 9
S0177	6 000 0	4.653 8	0.909 1	0.785 1	0.758 2
SW949	5 000 0	3.015 6	1.000 0	0.668 4	0.608 8
SW980	5 000 0	3.444 8	1.000 0	0.709 7	0.661 5
SW2470	4 000 0	2.872 4	1.000 0	0.651 9	0.597 6
SW2588	5 000 0	4.119 1	1.000 0	0.757 2	0.719 7
Mean±SD	4.592 1±1.145 2	3.709 9±0.990 4	0.949 2±0.113 5	0.711 6±0.078 7	0.663 4±0.092 1

由表 2 可知, 76 个微卫星座位共检测到 349 个等位基因, 所有座位都呈现出多态性, 每个座位的等位基因数在 3~ 9 个之间, 有效等位基因数在 1.683 5~ 8.066 7 之间; 平均每个座位等位基因 (4.592 1±1.145 2) 个, 有效等位基因数 (3.709 9±0.990 4) 个。SW1023 座位的等位

基因数最多, 有 9 个; 座位 SW973 等 11 个座位等位基因数最少, 有 3 个; 其他座位有 4~ 7 个不等。各座位的表观杂合度在 0.409 1~ 1.000 0 之间, 群体平均值为 (0.949 2±0.113 5)。各座位的期望杂合度在 0.406 0~ 0.876 0 之间, 群体平均值为 (0.711 6±



0.078 7), 多态信息含量范围在 0.370 1 ~ 0.862 4 之间, 群体平均值为 (0.663 4 ± 0.092 1)。期望杂合度和多态信息含量最高的座位是 SW1023, 分别为 0.876 0 和 0.862 4; 最低的座位是 SW973, 分别为 0.406 0 和 0.370 1。

### 3 讨论

本研究通过登录美国农业部(United States Department of Agriculture, USDA) 肉畜动物研究中心(Meat Animal Research Center, MARC) 网站(<http://www.marc.usda.gov>), 综合考虑了微卫星座位在染色体上的相对位置、等位基因数目、杂合性、片段大小、退火温度等信息, 选取了 250 个微卫星标记, 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 通过大量基础筛选和优化引物反应条件, 原则上尽量做到家猪 19 条染色体(18 条常染色体及 1 条性染色体)的每条都比较分散均匀地分布 4 个微卫星座位, 最后确定了效果较好的 76 个具有足够覆盖率的微卫星标记。利用这些引物检测野猪群体时, 不仅 PCR 扩增效果好, 而且在非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分型时, 电泳带型清楚可辨, 多态性也比较丰富, 是适合用于检测猪种遗传多样性的多态性标记, 这些多态微卫星标记也可进一步应用于猪的连锁图谱分析及重要经济数量性状的定位研究。

要想准确评价一个群体的遗传多样性, 必须尽量多地获得其整个基因组的遗传变异信息, 单个座位的信息不可能准确地解释一个群体的遗传多样性, 所以通常用多座位遗传多样性参数的平均值来描述一个群体的遗传多样性<sup>[11]</sup>。反映群体多座位遗传多样性参数的重要指标主要有群体平均等位基因数、平均有效等位基因数、平均表观杂合度、平均期望杂合度及平均多态信息含量等。

从等位基因多样性来看, 所检测野猪群体平均每个座位等位基因数为 (4.592 1 ± 1.145 2) 个, 有效等位基因数为 (3.709 9 ± 0.990 4) 个。群体的平均杂合度是度量群体变异程度的一个最适参数, 群体的平均杂合度高,

表明该群体的遗传变异大, 遗传多样性丰富; 平均杂合度低, 则表明群体遗传变异小, 遗传多样性匮乏。多个座位期望杂合度的平均值, 即群体的平均值, 又称群体基因多样性, 它受样本取样的影响较小, 常用来度量群体的遗传多样性, 其高低可反应群体的遗传一致性程度。群体的平均杂合度越高, 表明群体的遗传变异越大, 遗传多样性越丰富; 平均杂合度越低, 则表明群体遗传变异越小, 遗传多样性匮乏。表观杂合度是一个座位的杂合子数除以观察个体总数, 它与期望杂合度相比, 更易受样本大小等因素的影响, 但多座位平均数也可反应群体的遗传多样性。本研究野猪群体的平均表观杂合度为 (0.949 2 ± 0.113 5), 期望杂合度为 (0.711 6 ± 0.078 7), 均为较高的杂合度。从各座位的杂合度来看, 其中 93% 的座位期望杂合度大于 0.6。

多态信息含量(PIC) 也是表示微卫星座位变异程度高低的一个理想指标, 当微卫星座位  $PIC > 0.5$  时, 为高度多态性座位; 当  $0.25 < PIC < 0.5$  时, 为中度多态性座位; 当  $PIC < 0.25$  时, 为低度多态性座位<sup>[12]</sup>。本研究的 76 个微卫星座位中, 除 SW973、SW1344 及 SW911 为中度多态性座位外, 其余的 73 个座位为高度多态性座位, 占所检测座位的 96%, 所有座位都是适合分析野猪遗传多样性的多态标记, 所有座位的平均 PIC 是 (0.663 4 ± 0.092 1), 大于 0.5。以上分析各指标结果存在一致性, 表明所分析的野猪群体遗传多样性较为丰富。

生物多样性是人类赖以生存的基础。野猪是野生动物资源的重要组成部分, 对于维持生物多样性、维持生态平衡具有重要意义。20 世纪 90 年代以前, 由于大量狩猎, 野猪数量下降严重。1994 年, 中国正式禁止对野猪的一切狩猎活动, 随着人们对野生动物保护意识的加强和《野生动物保护法》的完善和执行, 野猪数量呈现递增趋势。本研究结果表明, 云南南部地区野猪群体的平均等位基因数、平均有效等位基因数、平均表观杂合度、平均期望杂合度及平均多态信息含量均比较高, 相互之间具有很好

的一致性。说明 76 个微卫星座位在野猪群体中的遗传变异程度较高, 野猪群体具有较丰富的遗传多样性。本研究为正确评价云南南部地区野猪群体的遗传多样性提供了分子理论依据。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 中国家畜家禽品种志编委会中国猪品种志编写组. 中国猪品种志. 上海: 上海科学技术出版社, 1986, 7~ 8.
- [ 2 ] 郭郭, 李约瑟(英), 成庆泰. 中国古代动物学史. 北京: 科学出版社, 1999, 370~ 376.
- [ 3 ] 张荣祖. 中国哺乳动物分布. 北京: 中国林业出版社, 1997, 13.
- [ 4 ] Herre W, Rohrs M. Zoological considerations on the origins of farming and domestication. In: Reed C A ed. *Origins of Agriculture*. Mouton: The Hague, 1977, 245~ 279.
- [ 5 ] Epstein H. Pig. In: Mason I L ed. *Evolution of Domesticated Animals*. London: Longman, 1984, 145~ 162.
- [ 6 ] Kim T H, Kim K S, Choi B H, *et al.* Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis. *J Anim Sci*, 2005, **83**: 2 255~ 2 263.
- [ 7 ] Li S J, Yang S H, Zhao S H, *et al.* Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J Anim Sci*, 2004, **82**: 368~ 374.
- [ 8 ] Mukesh M, Sodhi M, Bhatia S, *et al.* Genetic diversity of Indian native cattle breeds as analysed with 20 microsatellite loci. *J Anim Breed Genet*, 2004, **121**: 416~ 424.
- [ 9 ] 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)上册. 北京: 科学出版社, 2002, 483~ 485.
- [ 10 ] Botstein D, White R L, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 1980, **32**: 314~ 331.
- [ 11 ] 法兰克汉 R, 巴卢 J D, 布里斯科 D A(黄宏文, 康明译). 保育遗传学. 北京: 科学出版社, 2005, 47~ 62.
- [ 12 ] Vanhala T, Tuiskula-Haavisto M, Elo K, *et al.* Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers. *Poultry Science*, 1998, **77**: 783~ 790.

## 欢迎订阅《动物学杂志》

《动物学杂志》是中国科学院动物研究所、中国动物学会主办的科技期刊, 亦是中國自然科学核心期刊。主要报道动物学领域的最新研究成果, 介绍有创见的新思想、新学说、新技术、新方法。报道范围既有宏观生态研究, 又有微观实验技术。报道层次既有科学前沿性、资料性的, 也有技术性、知识性的。稿件内容涉及范围广, 实用性强, 主要栏目有: 研究报告、珍稀濒危动物、技术与方法、研究简报和快讯、科技动态等等。读者对象为动物科学领域的研究、教学、技术、管理人员及广大业余爱好者。

近年,《动物学杂志》各项统计指标有了很大的提高, 是国内各大数据库及国外著名数据库英国《动物学记录》、美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》收录的源期刊。

《动物学杂志》双月刊, 16 开, 112 页, 2009 年每册定价 35 元, 全年 210 元, 国内外公开发行。国内邮发代号: 2-422; 国外发行代号( Code No.): BM58。全国各地邮局均可订阅。如未能在当地邮局订到, 可与编辑部直接联系。本刊对在校学生及个人订户 7 折优惠(直接与编辑部联系订阅)。

地址: 北京市朝阳区大屯路 中国科学院动物研究所内《动物学杂志》编辑部

邮编: 100101; 电话: (010) 64807162;

E-mail: journal@ioz.ac.cn。网址: bird.chinajournal.net.cn; dwxzz.ioz.ac.cn。

欢迎投稿、欢迎订阅、欢迎刊登广告。