

引用格式:

刘海林, 江为民, 段洪峰, 李昊帮, 罗璋, 李安定, 龚龔. 基于 GBS 测序的湘东黑山羊的亲缘关系及近交系数[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(2): 78–85.

LIU H L, JIANG W M, DUAN H F, LI H B, LUO Z, LI A D, GONG Y. Genetic relationship and inbreeding coefficient among Xiangdong black goats based on GBS sequencing[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2024, 50(2): 78–85.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



基于 GBS 测序的湘东黑山羊的亲缘关系及近交系数

刘海林^{1,2}, 江为民¹, 段洪峰¹, 李昊帮², 罗璋³, 李安定³, 龚龔^{4*}

(1.湖南省畜牧兽医研究所, 湖南 长沙 410131; 2.湖南光大牧业科技有限公司, 湖南 长沙 410131; 3.浏阳畜牧水产局, 湖南 浏阳 410300; 4.湖南普菲克生物科技有限公司, 湖南 长沙 410005)

摘要: 利用基因分型测序(GBS)对 60 只湘东黑山羊(9 只公羊、51 只母羊)进行基因组测序, 获得湘东黑山羊染色体上的 SNP 数据和连续纯合子片段(ROH)数据。通过 SNP 数据进行基于 G 矩阵的基因组亲缘关系分析和 NJ 聚类分析, 构建湘东黑山羊的群体家系结构, 并通过 ROH 数据得到群体平均近交系数。结果表明, 60 只湘东黑山羊的平均测序深度为 9.15X, 与参考基因组比对率平均为 99.59%; 在 SNP 检测过程中, 3 只母羊不符合基因型数据质控标准, 将其过滤后获得其他 57 只黑山羊 29 条染色体上 153 046 个 SNPs 位点和 1 937 个 ROH 片段; 构建的湘东黑山羊 8 个家系, 其中 9 只公羊和 6 只母羊被分为 7 个家系, 另 42 只母羊被单独分类; 基于 ROH 片段分析的湘东黑山羊群体中每个个体的近交系数均值为 0.047, 说明湘东黑山羊公羊在繁育过程中有较大的利用空间。

关键词: 湘东黑山羊; 基因分型测序; 单核苷酸多态性; 连续纯合子片段; 近交系数; 亲缘关系

中图分类号: S826.131

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)02-0078-08

Genetic relationship and inbreeding coefficient among Xiangdong black goats based on GBS sequencing

LIU Hailin^{1,2}, JIANG Weimin¹, DUAN Hongfeng¹, LI Haobang², LUO Zhang³, LI Anding³, GONG Yan^{4*}

(1.Hunan Institute of Animal and Veterinary Science, Changsha, Hunan 410131, China; 2.Hunan Guangda Animal Husbandry Technology Co. Ltd, Changsha, Hunan 410131, China; 3.Liuyang Animal Husbandry and Fisheries Bureau, Liuyang, Hunan 410300, China; 4.Hunan Perfly Biotechnology Co. Ltd, Changsha, Hunan 410005, China)

Abstract: In this study, 60 Xiangdong black goats, including 9 rams and 51 ewes, were sequenced through GBS sequencing, for SNPs and ROH on the chromosomes of Xiangdong black goats. Genetic relationship analysis based on G matrix and NJ cluster analysis were carried out using SNP data to construct pedigree of population structure and inbreeding coefficient was obtained based on ROH data. These results showed that average sequencing depth of 60 Xiangdong black goats was 9.15X, with a mapping rate of 99.59% compared with reference genomes. In the process of SNPs detection, the data of 3 ewes failed to meet the genotype quality control standards thus were excluded to obtain the 153046 SNPs and 1937 ROH fragments on 29 autosomes from 57 Xiangdong black goats, based on which pedigree including 8 families was constructed in which 9 rams and 6 ewes were divided into 7 families and other 42 ewes were classified separately. Based on ROH, the average inbreeding coefficient of individual in the population of Xiangdong black goat was 0.047, indicating that the rams have good potential for breeding.

Keywords: Xiangdong black goat; genotyping by sequencing; single nucleotide polymorphism(SNP); runs of homozygosity(ROH); inbreeding coefficient; genetic relationship

收稿日期: 2023-02-17

修回日期: 2024-01-06

基金项目: 湖南省科学技术厅重点研发计划项目(2020NK2049)

作者简介: 刘海林(1979—), 男, 湖南邵阳人, 高级畜牧师, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, 175395624@qq.com; *通信作者, 龚龔, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, 13910008175@139.com

为了更好地保护地方优良羊品种,防止羊群的近交衰退,构建地方良种的家系结构,掌握群体及个体间的近交系数对地方品种保护和开发意义重大。马丽娜等^[1]利用高密度基因芯片对宁夏滩羊进行亲缘关系分析,划分了 3 个家系,基于连续纯合子片段(ROH)的群体平均近交系数为 0.022,证明群体没有出现近交衰退。张任豹等^[2]利用高密度基因芯片将 23 只山东济宁雄性青山羊构建了 14 个家系,基于 ROH 的群体平均近交系数为 0.047 9,表明济宁青山羊群体近交程度较低,有丰富的遗传多样性。李隐侠等^[3]研究新疆柯尔克孜羊亲缘关系、熊金珂等^[4]分析湖羊群体遗传结构,均划分了各自家系结构,基于 ROH 的群体平均近交系数分别为 0.008 19 和 0.049 9。邢磊等^[5]利用简化基因组测序技术^[6]对崇明白山羊遗传结构进行分析,将 170 只公羊划分为 30 个家系,基于 ROH 的群体近交系数为 0.000 6。

湘东黑山羊属于肉皮兼用型地方山羊品种,因湖南浏阳广泛饲养又称浏阳黑山羊^[7]。1999 年,湘东黑山羊被列入国家保种项目;2018 年成为国家地理标志产品^[8]。笔者运用基因分型测序(GBS)^[9-10]获得了湘东黑山羊染色体上的 SNPs 数据和连续纯合子片段(ROH)信息,通过 SNPs 数据对湘东黑山羊群体进行了 G 矩阵的基因组亲缘关系分析和 NJ 聚类分析,以此构建了群体家系;通过 ROH 数据获得了该群体的近交系数,以期对湘东黑山羊的保种和选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

对湖南浏阳湘东黑山羊保护区 60 头湘东黑山羊(公羊 9 头、母羊 51 头)进行颈部静脉采血,每只采血约 6 mL,置于 EDTA 抗凝采血管中,立即置于 0~4 °C 冷藏,并于 -20 °C 保存。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取与测序

采用磁珠法提取湘东黑山羊血样基因组 DNA,使用 Nanodrop2000 (Thermo Fisher Scientific, DE)通过 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值进行基因组 DNA 质量和纯度检测。

对参考基因组序列进行 silico 电子酶切评估和酶切效果验证后,使用 *Mse* I 限制性内切酶进行酶

切基因组 DNA;接着二次酶切,调节 tags 数,通过 PCR 扩增进行片段大小选择,电泳回收需要区间的 DNA。使用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物,得到基因分型测序(GBS)文库。质检确保文库有效浓度高于 2 nmol/L。

利用 Illumina Novaseq TM 测序平台,按照 Illumina PE150 策略进行双末端测序,获得测序原始数据。reads 中若含有接头序列,将其过滤;当单端测序 read 中 N 的含量超过该条 read 长度比例的 10%,将此对 paired reads 剔除;当单端测序 read 中低质量(≤ 5)碱基数超过该条 read 长度比例的 50%,将此对 paired reads 剔除。

1.2.2 SNP 的检测及亲缘关系分析

1) SNP 检测及质控。基于参考基因组(GCF_001704415.1)的比对,采用 BWA^[11]和 SAMtools^[12]软件对有效测序数据进行物种群体基因组 SNP 检测。选择常染色体上的位点,使用 Plink(V1.90)软件对基因型数据进行质控。

2) 遗传结构分析。利用 Plink(V1.90)进行主成分(PCA)分析,个体聚类情况通过 PCA 图展示其群体的遗传结构,通常空间直线距离的远近表示个体遗传关系的远近^[13]。利用软件 Mega X(V10.0)进行聚类分析。家系划分根据亲缘关系系数划分,以 0.1 为标准。最后将整个分类系统化成一张系谱图^[14]。

3) 亲缘关系分析。采用 Gmatrix(V2)软件进行亲缘关系分析,在标记密度合适的情况下,G 矩阵较单纯系谱亲缘关系更能真实反映个体间的关系^[15]。

1.2.3 ROH 检测与近交系数分析

使用 Plink(V1.90)软件计算得到每个样本 ROH 长度。ROH 检测参数为:每个滑动窗口中杂合子数量 ≤ 1 个;ROH 最小长度为 1 Mb;每个 ROH 中 SNPs 个数不少于 30 个;SNP 的最低密度为每 1 000 kb 内含有至少 1 个 SNP。按照文献^[16]的方法计算在常染色体基因组总长中个体 ROH 片段总长度所占比例和基于 ROH 的近交系数。

2 结果与分析

2.1 湘东黑山羊 DNA 测序数据产出

60 只湘东黑山羊血液样本中的基因组 DNA 测

序结果列于表 1。碱基检测错误率为 0.03%，其中满足 Q20 质量的碱基比例为 96.39%，满足 Q30 质量的碱基比例为 90.25%；GC 碱基含量平均为 39.09%；测序获得原始读长平均为 2 564 358，有效

读长为 2 553 823，比对到参考基因组上的比对率平均为 99.59%，测序深度平均为 9.15X。说明所得的样本测序数据与参考基因组之间有较强的相似性和同源性。

表 1 湘东黑山羊测序数据产出统计

Table 1 Statistics of sequencing date for Xiangdong black goats

样品号	有效读长	比对读长	比对率/%	平均测序深度/X	碱基错误率/%	Q20占比/%	Q30占比/%	GC 碱基含量/%	最小覆盖度 1X /%	最小覆盖度 4X /%
0201-1M	2 553 494	2 539 170	99.44	9.93	0.03	96.44	90.55	39.44	2.25	1.18
0208-3	2 592 172	2 583 635	99.67	8.89	0.03	95.73	88.85	39.30	2.29	1.21
0246-10	2 494 642	2 486 070	99.66	8.83	0.03	96.58	90.89	39.36	2.18	1.18
0250-9	3 129 114	3 120 793	99.73	10.89	0.03	96.97	91.43	39.13	2.14	1.27
0253-4	2 546 922	2 538 469	99.67	8.73	0.03	96.12	89.81	39.25	2.31	1.20
0257-2	2 721 804	2 712 033	99.64	9.09	0.03	95.06	87.25	38.93	2.39	1.24
0261-5	2 637 602	2 630 084	99.71	9.11	0.03	96.41	89.88	38.47	2.31	1.21
0263-6	2 354 566	2 346 016	99.64	8.43	0.03	96.30	90.21	39.19	2.23	1.13
0268-7	1 414 618	1 407 458	99.49	6.75	0.03	95.41	87.96	39.69	1.80	0.74
0272-8	1 974 830	1 967 974	99.65	7.95	0.03	96.08	89.52	38.85	2.01	0.98
0301-10M	2 275 188	2 269 011	99.73	8.41	0.03	96.75	90.78	39.00	2.15	1.11
0303-2	2 067 480	2 059 395	99.61	8.07	0.03	96.30	90.15	39.19	2.03	1.02
0304-8	3 088 654	3 076 443	99.60	9.94	0.03	96.73	91.26	39.25	2.39	1.33
0307-1	2 011 408	2 000 053	99.44	7.87	0.03	95.69	88.69	38.98	2.08	1.00
0308-5	2 082 716	2 077 471	99.75	8.56	0.03	97.21	91.97	38.45	1.99	0.98
0309-3	2 466 090	2 447 706	99.25	8.77	0.03	96.34	90.31	39.33	2.16	1.16
0313-7	2 972 116	2 961 231	99.63	9.63	0.03	96.16	89.86	39.14	2.48	1.29
0318-9	2 695 080	2 688 416	99.75	9.53	0.03	96.47	90.03	38.88	2.17	1.21
0319-4	2 078 718	2 071 342	99.65	8.02	0.03	96.15	89.77	39.22	2.04	1.04
0320-6	2 394 938	2 384 353	99.56	8.47	0.03	96.47	90.53	39.28	2.26	1.15
0325	2 112 410	2 102 775	99.54	8.13	0.03	96.86	91.39	39.48	2.05	1.04
0329	1 505 504	1 499 999	99.63	6.96	0.03	96.31	90.22	39.30	1.80	0.79
0330M	2 668 842	2 659 201	99.64	9.43	0.03	96.13	89.82	38.66	2.42	1.14
0334	2 554 020	2 538 070	99.38	8.72	0.03	96.62	90.98	39.27	2.35	1.19
0338	2 513 552	2 505 454	99.68	8.71	0.03	96.24	90.02	39.09	2.32	1.18
0339	2 772 724	2 764 035	99.69	9.13	0.03	96.82	91.45	39.19	2.46	1.25
0374M	2 468 632	2 460 095	99.65	8.68	0.03	96.23	90.03	39.20	2.30	1.15
0375	2 515 086	2 499 504	99.38	9.17	0.03	97.03	91.52	39.08	2.12	1.16
0378	2 855 730	2 823 959	98.89	9.91	0.03	97.13	91.79	38.64	2.23	1.22
0380	2 532 844	2 515 938	99.33	9.92	0.03	95.54	88.29	39.36	2.15	1.19
0381M	2 667 064	2 656 421	99.60	9.09	0.03	95.38	87.95	39.27	2.25	1.23
0383	2 022 526	2 003 919	99.08	7.90	0.03	95.48	88.21	39.38	2.00	1.02
0384	2 979 436	2 968 796	99.64	10.25	0.03	97.48	92.73	39.27	2.30	1.25
0385M	2 225 080	2 219 774	99.76	8.81	0.03	97.15	91.83	38.94	1.90	1.07
0386	2 703 398	2 687 790	99.42	9.21	0.03	96.08	89.72	39.33	2.27	1.23
0387	2 204 588	2 197 497	99.68	8.39	0.03	95.48	88.19	39.42	2.05	1.07
0388	2 580 262	2 567 885	99.52	9.40	0.03	97.59	92.97	39.11	2.13	1.16
10	2 375 438	2 369 533	99.75	8.90	0.03	97.18	91.92	38.98	2.04	1.13
12M	2 496 204	2 481 060	99.39	9.24	0.03	97.57	93.03	39.08	2.10	1.13
13	2 226 458	2 220 674	99.74	8.29	0.03	97.21	91.97	38.58	2.31	1.05
14	3 182 490	3 174 027	99.73	10.52	0.03	96.98	91.43	39.30	2.39	1.30
15	1 690 402	1 682 793	99.55	7.00	0.04	92.67	82.38	38.96	1.95	0.91
150-1	2 779 390	2 772 327	99.75	9.83	0.03	96.82	90.97	38.88	2.14	1.22
16	3 066 978	3 050 907	99.48	9.74	0.03	96.16	89.80	39.62	2.52	1.32
17	4 266 952	4 252 045	99.65	11.70	0.03	97.00	91.81	39.69	2.82	1.60
18	2 462 132	2 455 291	99.72	9.14	0.03	97.30	92.25	39.11	2.07	1.14
19	2 883 152	2 872 414	99.63	9.63	0.03	95.92	89.31	39.34	2.28	1.28
2	2 074 558	2 069 382	99.75	8.40	0.03	96.92	91.12	38.37	1.98	1.00
20	3 191 468	3 178 823	99.60	9.98	0.03	96.28	90.17	39.30	2.53	1.35
21	2 691 270	2 683 489	99.71	9.68	0.03	97.16	91.84	38.77	2.11	1.20

表 1(续)

样品号	有效读长	比对读长	比对率/%	平均测序深度/X	碱基错误率/%	Q20 占比/%	Q30 占比/%	GC 碱基含量/%	最小覆盖度 1X /%	最小覆盖度 4X /%
22	3 159 988	3 146 690	99.58	10.07	0.03	94.97	87.09	39.20	2.35	1.36
23M	2 141 524	2 133 955	99.65	9.99	0.03	96.40	90.38	38.98	2.07	1.04
24M	2 808 122	2 800 648	99.73	9.99	0.03	96.63	90.46	38.25	2.16	1.21
3	2 581 434	2 549 062	98.75	9.01	0.03	94.84	86.82	39.30	2.14	1.20
4	2 454 158	2 445 677	99.65	9.08	0.03	96.51	90.14	38.73	1.98	1.16
5	2 841 572	2 829 983	99.59	9.52	0.03	96.16	89.84	39.00	2.32	1.26
6	3 874 662	3 865 168	99.75	12.20	0.03	96.53	90.16	38.87	2.38	1.42
7	2 117 832	2 112 289	99.74	8.52	0.03	97.35	92.42	39.16	1.89	1.04
8	2 913 476	2 905 668	99.73	10.51	0.03	97.03	91.53	38.49	2.12	1.20
9	3 147 940	3 139 236	99.72	10.60	0.03	96.98	91.42	38.91	2.38	1.27
平均	2 564 358	2 553 823	99.59	9.15	0.03	96.39	90.25	39.09	2.20	1.16

2.2 湘东黑山羊的亲缘关系

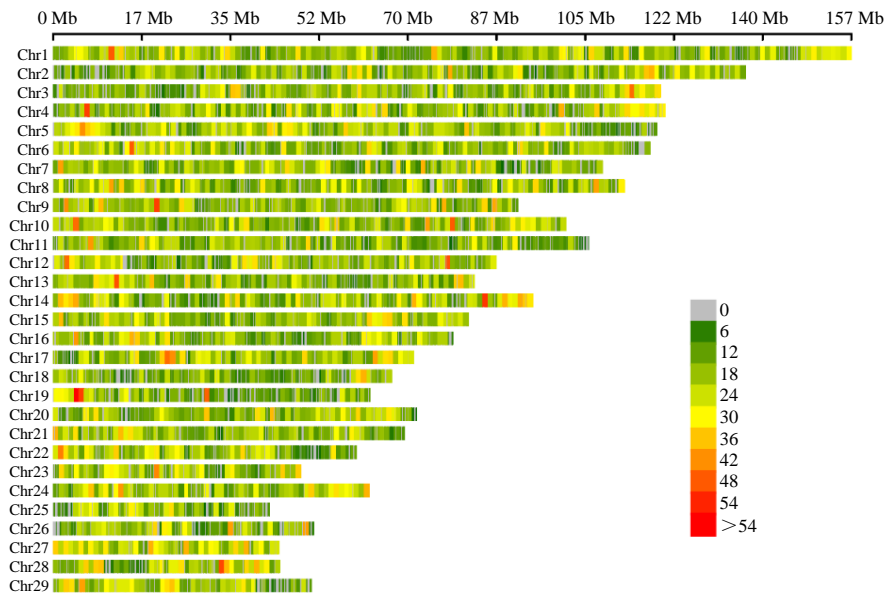
通过 SAMtools 将有效测序数据与参考基因组 (GCF_001704415.1) 进行群体 SNP 检测。SNP 位点注释统计列于表 2。3 只母羊 0268-7、0329 和 15 的样本 SNP 检出率分别为 79.87%、83.01% 和 82.36%，均小于 90%，不符合基因型数据质控标准，所以将其过滤，不进行后续分析。其余 57 只山羊共检出 SNP 793 847 个，通过过滤后的 SNP 总数为 153 046 个。

各染色体上的 SNP 分布统计情况如图 1 所示。

表 2 湘东黑山羊 SNP 位点注释统计

Table 2 Statistics of SNP annotation for Xiangdong black goats

分类	SNPs 数量
上游	1 009
外显子(终止获得)	3
外显子(终止丧失)	0
外显子(同义突变)	453
外显子(错义突变)	328
内含子	51 177
内含子剪切	2
下游	1 070
基因间隔	93 252
转换(Ts)	107 364
颠换(Tv)	45 682



图中水平线表示染色体的总长度；不同颜色表示不同的 SNP 密度。

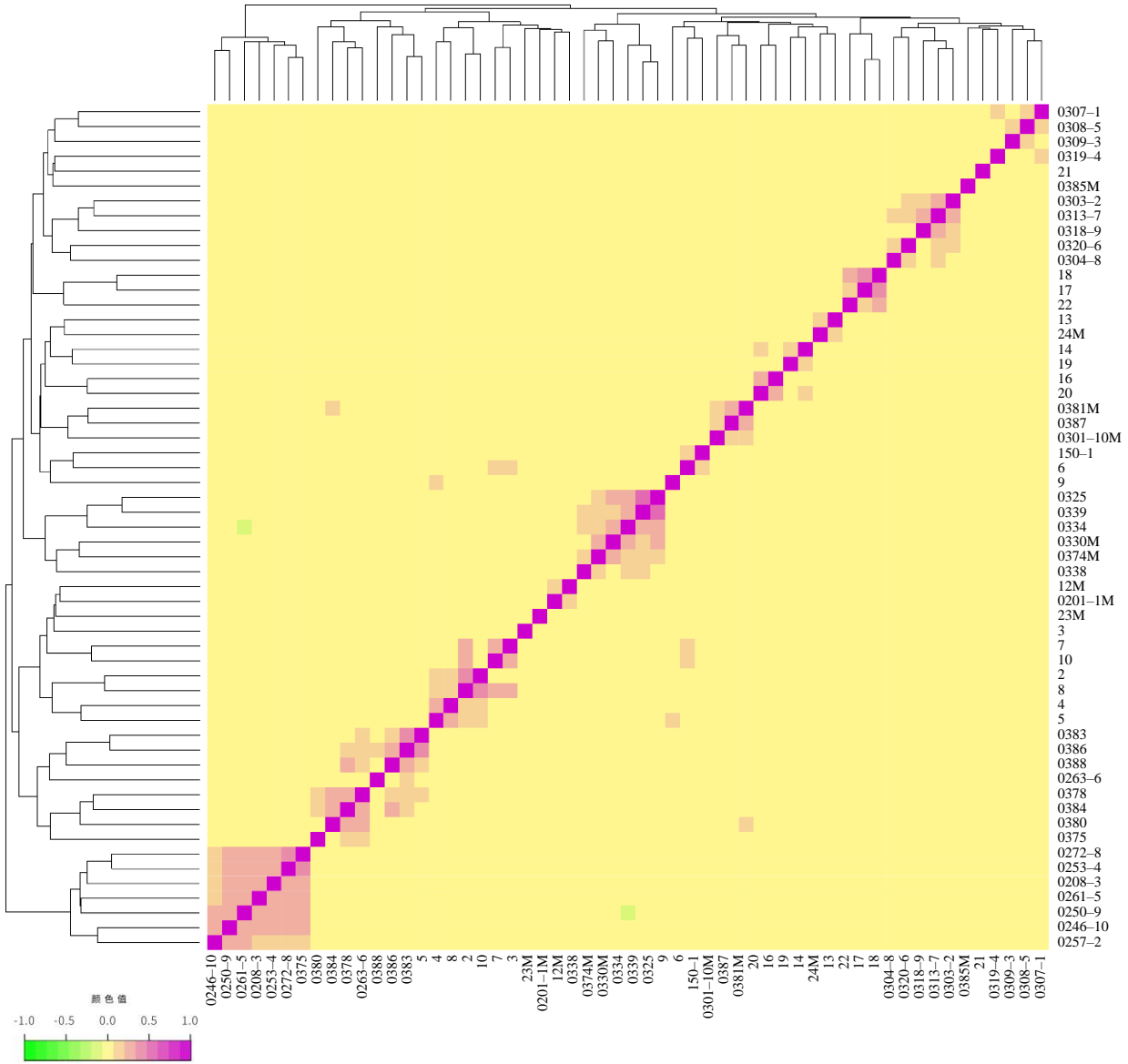
图 1 湘东黑山羊染色体 SNP 密度分布

Fig.1 Distribution of SNP density on chromosomes of Xiangdong black goats

2.2.1 基于 G 矩阵的基因组的亲缘关系

在基于 G 矩阵的亲缘关系分析结果可视化图中任意一个小方格表示两两样本基因组之间的亲缘关系值，若方格颜色接近绿色，表示亲缘关系越远；若颜色越接近紫色，表示亲缘关系越近。位于图中

对角线位置上的方格代表样本与其本身的亲缘关系值，呈紫色。其结果如图 2 所示，公羊 0330M 和 0374M 与母羊 0325、0334、0338 和 0339 的颜色偏红，说明其亲缘关系较近。同时，公羊 0301-10M 和 0381M 与母羊 0387 颜色偏红，其亲缘关系可能较近。



图中任一一个小方格代表了两两样本基因组之间的亲缘关系值；方格的颜色越接近紫色，就表示该值越大，即亲缘关系越近。

图 2 湘东黑山羊群体 G 矩阵分析可视化结果

Fig.2 Visualization result of G-matrix analysis for Xiangdong black goat population

2.2.2 湘东黑山羊 NJ 聚类

对湘东黑山羊群体进行 NJ 聚类分析，结果如图 3 所示，群体分成了 3 个大支，其中 9 只公羊和 6 只母羊分成 7 个家系：家系 A 包含公羊 0301-10M、0381M，母羊 0387；家系 B 包含公羊 23M；家系 C 包含公羊 12M；家系 D 包含公羊 0201-1M；家系 E

包含公羊 0374M、0330M，母羊 0325、0334、0338 和 0339；家系 F 包含 24M 和母羊 13；家系 G 包含公羊 0385M，家系 E 属于第一大支；家系 A、B、C、D 属于第二大支；家系 F、G 属于第三大支。在 7 个家系之外，有 42 只母羊与所检测的公羊亲缘关系比较远，对其应进行单独分类。

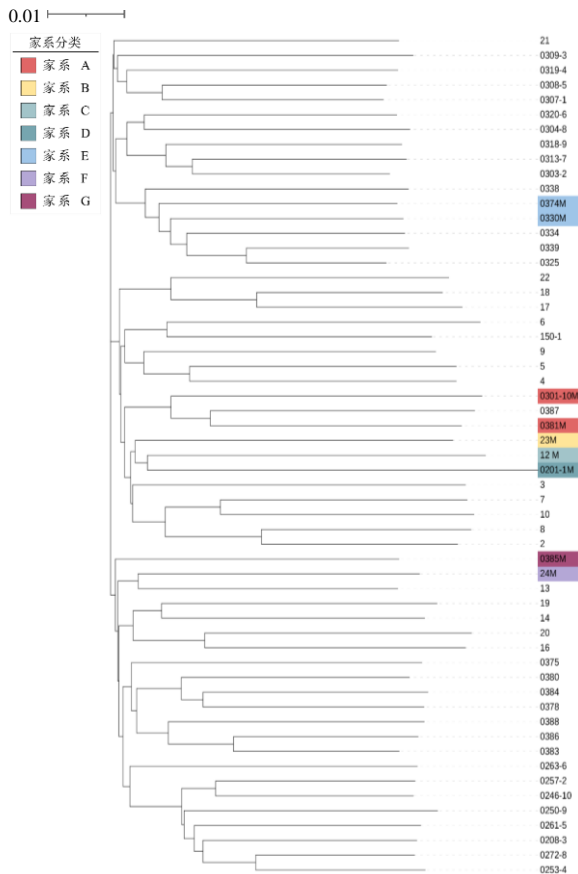


图 3 湘东黑山羊群体 NJ 聚类

Fig.3 NJ cluster analysis for Xiangdong black goats

2.3 基于 ROH 的湘东黑山羊近交系数

2.3.1 ROH 片段检测结果

如表 3 所示, 从湘东黑山羊群体中共检出有效 ROH 片段 1 937 条, ROH 片段总共包含了 SNPs 130 291 个, 其纯合子比例为 97.39%, 杂合子比例为 1.56%。染色体的长度越长, ROH 和其所含的 SNP 数量越多, 1 号染色体 ROH 数量最多, 为 153 条, 含有的 SNP 数量最多, 为 9 748 个, 而 25 号染色体的 ROH 数量最少, 为 6 条, 含有的 SNP 数量也最少, 为 534 个。

统计得到 ROH 片段的平均长度达 3 426.092 kb, 其中最片段位长度为 19 763.228 kb, 位于 4 号染色体上, 而最短短片段位长度为 1 039.092 kb, 位于 10 号染色体上。占总片段数量的 36.76% 的 ROH 片段长度为 2~3 Mb, 数量最多, 共计有 712 条。

2.3.2 近交系数

湘东黑山羊群体中每个个体平均可以检测到 33.98 条 ROH 片段, 由此基于 ROH 得到该群体平均近交系数值为 0.047 0, 不同近交系数与之相对应样本的比例如表 4 所示。其中公羊 0301M 的近交系

表 3 湘东黑山羊 ROH 染色体统计

Table 3 Statistics of ROH on chromosomes of Xiangdong black goats

染色体编号	染色体长度/bp	ROH 数	ROH 长度/kb	SNPs 数	纯合子占比/%	杂合子占比/%
1	157 335 646	153	1 199.898~9 487.097	9 748	97.04	1.75
2	136 448 579	118	1 210.171~13 532.209	7 675	97.18	1.64
3	119 899 262	88	1 090.283~11 972.684	6 028	97.37	1.50
4	120 677 773	109	1 187.874~19 763.228	8 528	97.57	1.41
5	118 972 923	96	1 597.620~14 200.885	6 451	97.57	1.49
6	117 604 958	119	1 206.007~10 298.842	8 376	97.24	1.58
7	108 375 669	83	1 244.325~11 285.132	5 601	97.46	1.49
8	112 549 395	96	1 193.020~5 788.688	5 837	96.95	1.83
9	91 546 527	65	1 263.911~11 065.240	4 561	97.26	1.58
10	101 078 492	71	1 039.092~12 785.839	5 291	97.32	1.45
11	106 158 733	70	1 193.907~13 618.553	4 391	97.30	1.70
12	87 257 944	82	1 101.817~13 417.361	6 308	97.71	1.05
13	83 024 455	41	1 235.416~6 581.628	2 517	97.73	1.44
14	94 604 531	88	1 115.460~10 675.138	5 845	97.26	1.61
15	81 882 709	71	1 413.263~17 074.282	5 022	97.42	1.51
16	78 818 624	56	1 432.375~15 771.918	4 017	97.53	1.45
17	71 066 040	65	1 131.371~7 559.619	4 088	97.48	1.44
18	66 892 924	25	1 951.853~15 094.571	1 762	98.10	0.98
19	62 484 667	47	1 172.775~9 723.085	2 995	97.45	1.64
20	71 604 343	39	1 849.405~5 004.017	2 336	96.97	2.08
21	69 416 722	47	1 636.944~10 523.820	2 835	97.14	1.79
22	59 853 577	41	1 294.143~13 485.030	2 642	97.11	1.71
23	48 767 058	31	1 529.417~11 919.663	2 250	97.62	1.68
24	62 271 610	73	1 268.786~7 436.615	4 757	97.15	1.61
25	42 856 068	6	2 209.401~10 274.533	534	97.62	1.65

表 3(续)

染色体编号	染色体长度/bp	ROH 数	ROH 长度/kb	SNPs 数	纯合子占比/%	杂合子占比/%
26	51 301 391	42	1 577.938~10 052.775	2 617	97.29	1.67
27	44 660 198	38	1 559.909~9 076.297	2 657	97.78	1.18
28	44 637 271	27	1 216.125~5 112.842	1 554	97.13	1.70
29	50 894 840	50	1 589.620~5 770.476	3 068	97.53	1.72
总计	2 462 942 929	1937	1 039.092~19 763.228	130 291		
平均值			3 426.092		97.39	1.56

数最小,为 0.003 3;母羊 0250-9 的近交系数最大,为 0.161 2;在 9 只公羊中,0374M 的近交系数值最

表 4 湘东黑山羊全群基于 ROH 的近交系数

Table 4 Inbreeding coefficient of Xiangdong black goat population based on ROH

样品号	ROH 数	ROH 总长/Mb	近交系数	样品号	ROH 数	ROH 总长/Mb	近交系数
0201-1M	20	59.07	0.024 0	383	13	30.05	0.012 2
0208-3	45	150.97	0.061 2	384	62	219.09	0.088 8
0246-10	38	126.79	0.051 4	0385M	40	125.75	0.051 0
0250-9	73	397.56	0.161 2	386	47	159.44	0.064 7
0253-4	37	133.47	0.054 1	387	14	46.09	0.018 7
0257-2	49	189.50	0.076 8	388	44	135.54	0.055 0
0261-5	36	110.06	0.044 6	10	17	39.53	0.016 0
0263-6	39	118.40	0.048 0	12_M	25	67.53	0.027 4
0272-8	8	26.04	0.010 6	13	13	31.67	0.012 8
0301-10M	2	8.04	0.003 3	14	58	187.93	0.076 2
0303-2	18	52.52	0.021 3	150-1	29	89.95	0.036 5
0304-8	51	187.48	0.076 0	16	24	73.27	0.029 7
0307-1	9	23.24	0.009 4	17	39	112.36	0.045 6
0308-5	18	56.53	0.022 9	18	30	97.51	0.039 5
0309-3	55	205.98	0.083 5	19	52	210.12	0.085 2
0313-7	57	190.08	0.077 1	20	27	74.09	0.030 0
0318-9	46	143.66	0.058 3	21	45	139.05	0.056 4
0319-4	16	43.92	0.017 8	22	28	78.02	0.031 6
0320-6	51	180.71	0.073 3	23M	11	31.26	0.012 7
325	21	63.60	0.025 8	24M	52	209.10	0.084 8
0330M	41	134.42	0.054 5	2	5	12.05	0.004 9
334	50	184.32	0.074 7	3	13	37.76	0.015 3
338	70	269.62	0.109 3	4	12	31.31	0.012 7
339	61	259.68	0.105 3	5	23	76.21	0.030 9
0374M	62	227.99	0.092 4	6	24	69.73	0.028 3
375	37	150.61	0.061 1	7	16	40.71	0.016 5
378	48	157.60	0.063 9	8	24	70.30	0.028 5
380	31	98.12	0.039 8	9	35	104.21	0.042 3
0381M	26	86.71	0.035 2				

3 结论与讨论

利用 GBS 技术对湘东黑山羊群体进行群体遗传分析,其中每个样本与参考基因组的平均比对率达到 99.59%,说明其数据与参考基因组具有很高的相似性和同源性;同时,平均测序深度达到 9.15X,超过利用同样技术对波尔山羊测序的测序深度(6X)^[17]。获得高质量的 SNPs 位点 153 046 个,比较每条常染色体上的 SNPs 位点分布数量,发现其位点数量与染色体的长度基本一致。基于 SNP 数据,分析该群体的亲缘关系,确立了湘东黑山羊的

家系结构。剔除 3 只不符合基因型数据质控标准的母羊,57 只湘东黑山羊被分为了 8 个家系,其中 9 只公羊和 6 只母羊被分为 7 个家系,另外的 42 只母羊被单独分为 1 个家系。

基于 G 矩阵基因组亲缘关系分析的结果表明,公羊 0330M、0374M 与母羊 0325、0334、0338、0339 亲缘关系可能较近;公羊 0301-10M、0381M 与母羊 0387 亲缘关系可能较近。在 NJ 聚类分析中,湘东黑山羊群体分成了 3 个大支,9 只公羊分成 7 个家系,家系 A 中包含公羊 0301-10M 和 0381M;家系 E 包含公羊 0374M 和 0330M,且单独为最大 1

支;其他公羊各为单独的家系。另有 42 头母羊与所有公羊亲缘关系小于 0.1, 可与任一公羊进行配种。在湘东黑山羊的繁育过程中由于家系 B、C、D、F、G 中公羊各仅有 1 只公羊, 在繁育过程中应当注意其后代的选育, 防止血统流失。

对湘东黑山羊群体中所有个体的 ROH 片段进行统计, 通过基于 ROH 片段得到了该群体的近交系数值, 其群体平均近交系数值为 0.047 0。群体中公羊 0301M 的近交系数最小, 为 0.003 3; 母羊 0250-9 的近交系数值最大, 为 0.161 2; 在公羊中 0374M 的近交系数值最大, 为 0.092 4, 说明湘东黑山羊群体中可能存在比较封闭的保种环境和较小群体的规模限制, 意味着在繁育过程中公羊可以有较大的利用空间, 但是应当注意降低群体近交增量。

参考文献:

- [1] 马丽娜, 马青. 利用高密度基因芯片开展滩羊群体亲缘关系遗传分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020(3): 65-69, 153-154.
- [2] 张任豹, 周东辉, 周李生, 等. 基于 70 K SNP 芯片分析济宁青山羊保种群体的遗传结构[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(7): 2836-2847.
- [3] 李隐侠, 牙生江 那斯尔, 赛里克 都曼, 等. SNP 芯片评估柯尔克孜羊群体遗传多样性和遗传结构[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(2): 572-583.
- [4] 熊金珂, 鲍晶晶, 胡文萍, 等. 基于 SNP 芯片的湖羊群体遗传结构分析[J]. 中国畜牧杂志, 2023, 59(11): 89-94.
- [5] 邢磊, 秦杰, 朱勇, 等. 基于 GBS 技术分析崇明白山羊遗传结构[J]. 中国草食动物科学, 2022, 42(3): 55-58.
- [6] 胡亚亚, 刘兰服, 冀红柳, 等. 简化基因组测序技术研究进展[J]. 江苏师范大学学报(自然科学版), 2018, 36(4): 63-68.
- [7] REN A, CHENG L, KONG Z W, et al. Effects of dietary methionine and lysine supplementation on growth performance, meat composition and rumen fermentation pattern in goats[J]. Indian Journal of Animal Research, 2019, 53(12): 1629-1634.
- [8] 陈东, 孙成林, 李昊帮, 等. 浏阳黑山羊养殖现状调查及发展思考[J]. 湖南畜牧兽医, 2020(1): 10-13.
- [9] DE DONATO M, PETERS S O, MITCHELL S E, et al. Genotyping-by-sequencing(GBS): a novel, efficient and cost-effective genotyping method for cattle using next-generation sequencing[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e62137.
- [10] ELSHIRE R J, GLAUBITZ J C, SUN Q, et al. A robust, simple genotyping-by-sequencing(GBS) approach for high diversity species[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e19379.
- [11] LI H, DURBIN R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform[J]. Bioinformatics, 2009, 25(14): 1754-1760.
- [12] LI H, HANDSAKER B, WYSOKER A, et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools[J]. Bioinformatics, 2009, 25(16): 2078-2079.
- [13] PURCELL S, NEALE B, TODD-BROWN K, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses[J]. The American Journal of Human Genetics, 2007, 81(3): 559-575.
- [14] LIMPITI T, AMORNBUNCHORNVEJ C, INTARAPANICH A, et al. iNJclust: iterative neighbor-joining tree clustering framework for inferring population structure[J]. IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics, 2014, 11(5): 903-914.
- [15] VANRADEN P M. Efficient methods to compute genomic predictions[J]. Journal of Dairy Science, 2008, 91(11): 4414-4423.
- [16] SILIÓ L, RODR ÍGUEZ M C, FERNÁNDEZ A, et al. Measuring inbreeding and inbreeding depression on pig growth from pedigree or SNP-derived metrics[J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2013, 130(5): 349-360.
- [17] 兰蓉, 朱兰, 江炎庭, 等. 基于简化基因组测序的黄色波尔山羊公羊亲缘关系及近交系数分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(8): 2878-2888.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 罗维