

## Study on Genetic Diversity of Six Domestic Concernful Goose Breeds in China

LI Hui-fang<sup>1</sup>, TU Yun-jie<sup>1</sup>, TANG Qing-ping<sup>1</sup>, ZHANG Shuang-jie<sup>1</sup>, MA Yue-hui<sup>2</sup>, CHEN Kuan-wei<sup>1\*\*</sup>

(1. Poultry Institute, Chinese Academy of Agriculture Science, Yangzhou 225003, China;

2. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agriculture Science, Beijing 100094, China)

**Abstract :** By using microsatellite markers, the genetic diversity of 6 domestic concernful Chinese goose breeds i. e. Sichuan white, Shitou, Huo, Yan, Yili, and Wanxi white is reported in this paper. The results show that the mean heterozygosity is the highest in Sichuan white (0.6415), the lowest in Yan (0.5010), all higher than 0.5 in other breeds, which reflects the rich diversity. The order of the heterozygosity is almost consistent with that of the polymorphism information content (PIC). The  $D_S$  genetic distances suggest the longer differentiation. The UPGMA tree is obtained through analysis of Nei's standard genetic distance ( $D_S$ ). In the tree, Yan and Wanxi white are grouped together, Huo, Yili, Shitou and Sichuan white have their own branch respectively. UPGMA tree well reflect their breeding histories and distributions. Those results can be used to the foundation to reasonable conservation and development of those rare indigenous goose breeds.

**Key words :** goose; breed; microsatellite marker; genetic diversity

## 6 个中国重点保护地方鹅品种的遗传多样性\*

李慧芳<sup>1</sup>, 屠云洁<sup>1</sup>, 汤青萍<sup>1</sup>, 章双杰<sup>1</sup>, 马月辉<sup>2</sup>, 陈宽维<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国农业科学院 家禽研究所, 扬州 225003; 2. 中国农业科学院 畜牧研究所, 北京 100094)

**摘要:** 对我国 6 个受重点保护的地方鹅品种资源(四川白鹅、狮头鹅、豁眼鹅、雁鹅、伊犁鹅和皖西白鹅)的遗传多样性进行了微卫星标记的研究。结果表明:6 个品种的平均杂合度都较高,最高的是四川白鹅(0.6415),最低的是雁鹅(0.5010),表明了各鹅种的杂合度和遗传多样性水平都较高,而且杂合度的高低与 PIC 值的大小体现了较高的一致性;通过计算  $D_S$  遗传距离发现 6 个品种的遗传距离较远,分化时间较长;UPGMA 聚类结果将 6 个重点保护鹅品种聚为五类,安徽省的雁鹅和皖西白鹅聚为一类,豁眼鹅、伊犁鹅、狮头鹅、四川白鹅分别独自聚类。UPGMA 的聚类结果分析与几个鹅品种的选育历史及地理分布是一致的。本研究结果为加强对我国现有鹅品种资源的保护和有效、合理、持续利用具有重大意义。

**关键词:** 鹅; 品种; 微卫星座位; 遗传多样性

**中图分类号:** S835.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 2650(2005)04 - 0466 - 04

中国鹅种质资源十分丰富,具有对周围环境的适应性强、耐粗放管理、抗病性强、繁殖力高、肉质好等特点。这些具有特色的品种本身就是一座天然的基因库,是进行杂种优势利用和进一步培育高产品

种的良好原始材料。但长期以来,中国地方鹅品种闭锁繁育,没有形成科学的选育制度和培育方法,品种的遗传多样性没有得到完整的保存。如何对地方鹅种资源进行有效的保护和利用,已成为家禽遗传

\* 收稿日期: 2005 - 06 - 10

基金项目: “国家科技基础条件平台”资助(2004DKA30450 - 04); 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助(2001AA243081)。

\*\* 通讯作者(Corresponding author)。

育种工作者当前主要的研究内容之一。在畜禽遗传资源的管理规划中,为使有限的人、财、物力发挥更好的效果,需客观评价畜禽遗传资源的状况,对需要保护的资源根据紧迫性和重要性进行选择。2000 年 8 月 23 日农业部公布的列入国家级品种资源重点保护的鹅品种资源有:四川白鹅、狮头鹅、豁眼鹅、雁鹅、伊犁鹅和皖西白鹅。地方品种的遗传资源是畜牧生产和可持续发展的基础,也是满足未来不可预见需求的重要基因库。但分子标记在鹅的育种中的研究比较薄弱,国内外学者主要研究了鹅线粒体 DNA 的遗传多样性以分析其起源与分化等<sup>[1,2]</sup>。而对鹅核基因组的研究较少,因此,本研究在国内首次借助微卫星 DNA 标记从分子水平对我国重点保护的地方鹅品种资源的遗传多样性进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料均来自各自的保种场(区)。每个品种采样设计的公母之比为 1 4,公鹅 12 只,母鹅 48 只,完全符合 Barker<sup>[3]</sup>等关于评估遗传多样性抽样公式和样本含量的要求。四川白鹅血样采自四川省南溪县;狮头鹅血样采自广东省饶平县;豁眼鹅血样采自山东省莱阳市;雁鹅血样采自安徽省郎溪县;伊犁鹅血样采自新疆伊犁哈萨克自治州;皖西白鹅血样采自安徽省六安县。

### 1.2 血液基因组 DNA 的提取

参照《分子克隆实验指南》并稍加改进,即在采集全血时采用酒精进行抗凝和固定。

### 1.3 微卫星位点及 PCR 条件

#### 1.3.1 鹅品种微卫星位点的筛选

本研究应用磁珠富集法富集和克隆鹅的微卫星序列,同时进行了多态性微卫星位点的筛选,微卫星位点的侧翼序列借助 Primer Premier 5.0 软件设计。最后筛选出的多态性较好的 19 个微卫星位点为:CKW10, CKW11, CKW12, CKW13, CKW14, CKW15, CKW18, CKW19, CKW20, CKW21, CKW22, CKW41, CKW42, CKW43, CKW44, CKW45, CKW46, CKW47, CKW48, 结合从 GenBank 上检索的鹅的微卫星位点 TTUCG1, TTUCG2, TTUCG4, TTUCG5, 同时参考近缘品种鸡的微卫星位点筛选出 8 个微卫星位点:ADL166, ADL210, MCW4, MCW0014, MCW0264, MCW104, MCW0085, LEI0094 作为实验位点。所选位点均表现为较好的多态性。微卫星引物的序列由北京奥科

生物工程技术服务有限公司合成。微卫星位点有关信息见表 1。

表 1 31 对微卫星位点的信息

Table 1 The information of 31 pairs of microsatellite primers

微卫星位点 Locus accession	引物序列(5' - 3') Primer sequence	重复序列 Repeat sequence	Gen bank 接受号 Accession number
CKW10	F: acatccagtttgctgcatcac R: caaagcccccattcaataata	(A) <sub>18</sub>	A Y720923
CKW11	F: ctgagttgaacctgatgcagac R: aacaccaaggagagcagagac	(A) <sub>16</sub>	A Y720924
CKW12	F: cataagttctcccaacaagagtg R: agaaaggagacacagctaacc	(A) <sub>25</sub>	A Y720925
CKW13	F: aggetgaggtgggaatttat R: ttctccacttcccaagaa	(AAAC) <sub>5</sub>	A Y720926
CKW14	F: aactgatccggcagaaactaa R: acttagcatgcagcttcacaaa	(CCT) <sub>5</sub>	A Y720927
CKW15	F: aggcataatctgtccctgat R: ttccagtgcaattaccattca	(AG) <sub>5</sub>	A Y720926
CKW18	F: aatgtgctgtgtcacatttccc R: catcatccaacgattcagacat	(CAAAA) <sub>7</sub>	A Y720929
CKW19	F: acatgtcctgaagcattttcct R: ttccctttccctatgatgct	(GAAA) <sub>5</sub>	A Y720930
CKW20	F: gatcagaaatgaagtgcagacg R: tgcctcaataattatgcaacctt	(TG) <sub>12</sub>	A Y720931
CKW21	F: cccagaacagtctagaagagg R: agcgagctcaactccagctcttc	(TTA) <sub>10</sub>	A Y722649
CKW22	F: ccaacaagagtggtggagg R: cagetaaccaagaatactaccag	(A) <sub>14</sub>	A Y722650
CKW41	F: ctaagtagattgtacatcac R: gcaggttaaacacgtgtgtctg	(TA) <sub>33</sub>	A Y787855
CKW42	F: tttgcaccagattacactct R: gcaggttcttaaggaggatg	(TA) <sub>8</sub>	A Y787856
CKW43	F: cagaagacagcctgcaaat R: tccaaggttacttccaag	(CA) <sub>11</sub>	A Y790340
CKW44	F: tcttctactctgacagatgagg R: ttgaattgatgcccttttctt	(CAA) <sub>7</sub>	A Y790332
CKW45	F: tgaaccaatttttccattc R: tctctggcaatcccatagta	(TA) <sub>13</sub>	A Y790333
CKW46	F: gcagctgatgagaagcagaa R: gagggtgtgtgcgctgtgt	(CA) <sub>58</sub>	A Y790334
CKW47	F: aacttctgacctaaaaactgtca R: tgcagagtaaacgaattaaaa	(T) <sub>8</sub> (TG) <sub>7</sub>	A Y790335
CKW48	F: aaattggcctaaagtgtctaca R: caactggctgtggttctct	(AAAAAG) <sub>7</sub>	A Y790336
TTUCG1	F: ccctgctggtataacctga R: gtgtctacacaacagc	(CA) <sub>13</sub>	U66089
TTUCG2	F: gagagcgttactcagcaaa R: tcaactctgagctgctacaca	(GT) <sub>11</sub>	U66090
TTUCG4	F: ggtgtatacttgctgagtg R: ctagaactagtggatctctc	(GT) <sub>10</sub>	U66092
TTUCG5	F: ggggtgtttccaactcag R: cacttctctacctatctt	(TCTAT) <sub>8</sub>	U66093
ADL166	F: tgcagccgtaatacatagg R: aagcaccagcaccatctca	(TG) <sub>15</sub>	G01588
ADL210	F: acaggagatgtcacacat R: gccaaaaagatgaatgagta	(CA) <sub>14</sub>	G01630
MCW4	F: ggattacagacctgaagccacta R: aaaccagcatgggtgcagattgg	(CA) <sub>27</sub>	L40038

续表 1:

微卫星位点 Locus acession	引物序列(5 - 3) Primer sequence	重复序列 Repeat sequence	Gen bank 接受号 Accession number
MCW0014	F:aaaatattgctctaggaactgc R:accggaatgaaggttagactag	(CA) <sub>10</sub>	L40040
MCW0085	F:gtcagttatatgaagtctctc R:ggatatacaggctcttgaaca	(GT) <sub>11</sub>	G54426
LEI0094	F:caggatggctgttatgctcca R:cacagtcagagtggtgcca	(GT) <sub>14</sub>	L43644
MCW0264	F:agactgagtcacactcgtgaag R:cttacttttcacagacaagc	(CA) <sub>19</sub>	G32032
MCW104	F:tagcacaactcaagctgtgag R:agactgcacagctgtgacc	(GT) <sub>17</sub>	L43640

### 1.3.2 PCR 扩增产物的检测

每个 PCR 扩增体系 25  $\mu$ L:模板 DNA 50 ng, 10  $\times$  buffer 2.5  $\mu$ L, dNTPs 0.2 mmol/L, 引物各 5 pmol/L,  $Mg^{2+}$  2.0 mmol/L, Taq DNA 聚合酶 2 U。反应条件:95 预变性 4 min;94 变性 50 s, 48 ~ 64 复性 50 s, 72 延伸 1 min, 30 ~ 35 个循环;最后 72 延伸 5 min。扩增产物 95 变性 5 min 后立即点样于 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离, 电泳结束后用硝酸银染色, 经成像后分析结果。实验所用 Taq DNA 聚合酶和 dNTPs 均购自北京鼎国生物公司, 采用 pBR322 DNA/ Msp<sup>I</sup> Markers 作为分子量的标准对照。

### 1.4 数据分析

由于微卫星标记基因呈共显性, 因此可以直接从表型获知其基因型, 再根据等位基因出现的次数计算其基因频率。并根据公式计算各鹅品种中的多态信息含量 (Polymorphism Information Content, PIC)、各群体全部微卫星基因座的遗传杂合度 (Heterozygosity, H) 和各品种间的 Nei 氏标准遗传距离 ( $D_S$ )。

运用 PHYLIP 3.5 软件对遗传距离  $D_S$  采用非加权组平均法 (UPGMA) 进行聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 各群体平均杂合度和平均多态信息含量

由表 2 可见, 平均杂合度和平均多态信息含量最高的品种是四川白鹅; 两个遗传参数最低的品种是雁鹅; 平均杂合度和平均多态信息含量由高到低的顺序基本一致。

### 2.2 品种间的遗传距离

由表 3 可见, 雁鹅和皖西白鹅的遗传距离为 0.2909, 是遗传距离最近的两个鹅种; 四川白鹅和狮

头鹅的遗传距离最远为 0.8007, 是遗传距离最远的两个鹅种。

表 2 中国 6 个重点保护鹅品种的遗传参数

Table 1 Genetic parameters of 6 domestic concernful geese breeds						
遗传参数 Genetic parameter	四川白鹅 Sichuan white	狮头鹅 Shitou	豁眼鹅 Huo	雁鹅 Yan	伊犁鹅 Yili	皖西白鹅 Wanxi white
PIC	0.3681	0.3574	0.3233	0.3097	0.3531	0.3583
H	0.6415	0.5534	0.5994	0.5010	0.5639	0.6056

表 3 中国 6 个重点保护鹅品种的标准遗传距离 ( $D_S$ )

Table 2 Standard genetic distance of 6 domestic concernful geese breeds					
品种 Breeds	四川白鹅 Sichuan white	狮头鹅 Shitou	豁眼鹅 Huo	雁鹅 Yan	伊犁鹅 Yili
狮头鹅 Shitou	0.8007				
豁眼鹅 Huo	0.7466	0.4439			
雁鹅 Yan	0.4830	0.5366	0.4302		
伊犁鹅 Yili	0.6676	0.4490	0.4700	0.3943	
皖西白鹅 Wanxi white	0.5189	0.4150	0.3471	0.2909	0.4465

### 2.3 品种间的聚类分析

从图 1 可以看出, UPGMA 聚类结果将 6 个重点保护鹅品种聚为两类。类: 安徽省的雁鹅和安徽省的皖西白鹅首先聚在一起, 然后与辽宁省的豁眼鹅、新疆的伊犁鹅聚在一起, 最后与广东省的狮头鹅聚在一起; 类: 四川省的四川白鹅独自聚为一类。本研究中, 各鹅品种间的  $D_S$  遗传距离较远, 反映了各群体的分化时间较长。

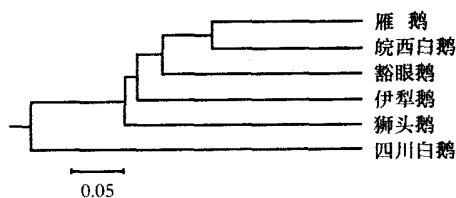


图 1 6 个重点保护鹅品种的 UPGMA 聚类图

Fig 1 Dendrogram of relationships among 6 domestic concernful breeds using UPGMA method of clustering

## 3 结论与讨论

### 3.1 种群内遗传多样性分析

遗传多样性的研究是探讨生物适应意义、物种形成及进化机制的基础, 同时也是保护生物学研究的核心之一<sup>[4]</sup>。微卫星 DNA 高度多态性提供的高分辨率遗传信息, 使其不仅适合个体水平的亲子鉴定与交配系统研究, 而且也成为种群遗传结构与

多样性分析的有效分子标记<sup>[5]</sup>。为了获得更准确更具普遍性的结论,为了深入了解各品种内和品种间的遗传信息,使之更有效地应用于地方鹅的保护和利用中,本研究选用了31个多态性较好的微卫星标记。

遗传杂合度(H)反映各群体在n个位点上的遗传变异<sup>[6]</sup>。一般认为它是度量群体遗传变异的一个最适参数。在我国重点保护地方鹅品种的资源中,平均杂合度最高的是四川白鹅,平均杂合度最低的是雁鹅,平均杂合度范围是0.5010~0.6415,我国重点保护的6个鹅品种资源全部群体平均杂合度为0.5774,反映了各鹅种的杂合度都较高,即各品种内的遗传变异大,遗传多样性丰富。动物保护的关键是保护物种的遗传多样性或进化潜力,切实有效的保护策略必须建立在对物种遗传多样性充分了解的基础上。群体间的遗传多样性程度可能随遗传漂变而改变,并受群体大小和栖息地容量的影响。

### 3.2 种群间的聚类分析

遗传距离是研究物种遗传多样性的基础,通过遗传距离分析可估测品种遗传结构和进化关系,遗传距离的信息应作为在决策保种计划时群体结构和品种分化最基本的指标。Crawford等<sup>[7]</sup>也指出若要保存尽量多的遗传多样性,必须有可靠的方法对品种间的遗传分化进行测定,微卫星等位基因频率的分析是目前最佳的方法之一,由微卫星得出的遗传距离更能反映分化时间的长短,能客观地反映品种间的遗传变异和分化。一般认为群体分化时间越短,遗传距离越小。本研究中,6个鹅品种间的 $D_S$ 遗传距离较远,反映了各群体的分化时间较长。

运用UPGMA聚类是目前获得准确系统发生关系的有效方法,本研究以各鹅种的杂合度、多态信息含量为指标,利用聚类分析将我国6个地方鹅品种聚为5类,该聚类结果揭示了中国6个地方鹅品种的种群动态和进化历史。在聚类中,安徽省肉用型的雁鹅和绒肉兼用型的皖西白鹅聚在一起,而后,山东省蛋用的豁眼鹅、新疆小型绒肉兼用的伊犁鹅、广东肉用的狮头鹅、四川绒肉兼用的四川白鹅分别独自聚为一类,聚类结果基本符合它们的地缘分布

和育种历史,反映了聚类结果与各品种的生态地域分布和经济类型有一定的关系,尤其与生态地域的关系较为密切,由此可见,遗传距离与地理距离存在一定的相关性,家鹅之间的遗传差异,反映了生态条件和育成历史对品种形成的作用。由于本实验所选31个微卫星标记特异性强且相互不连锁,因此聚类结果可以有效的说明这些地方品种之间系统发生关系和目前的研究利用方向。该聚类结果对了解和获取各个品种内和品种间的遗传信息和遗传关系具有更准确更普遍性的依据,为水禽遗传育种提供了准确、可靠的参考资料。

### 参考文献:

- [1] 史宪伟,王继文,曾凡同,等.四川白鹅、朗德鹅及杂交后代线粒体DNA多态研究[J].畜牧兽医学报,1998,29(6):481-486.  
Shi X W, Wang J W, Zeng F T, et al. Mitochondrial DNA polymorphism of Sichuan white goose breed from China and Landish goose breed from France as well as their hybrids[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1998, 29(6): 481-486.
- [2] Ruokonen M. Close relatedness between mitochondria DNA from seven Ansergoose species[J]. *Evolutionary Biology*, 2000, 13: 532-540.
- [3] Barker P S F. A global protocol for determining genetic distance among domestic livestock breeds[A]. *Proceeding of 5th World Congress on Genetic Application of Livestock Production* [C]. 1994, 21: 501-508.
- [4] 薛辉,吴孝兵,晏鹏.微卫星标记在分子生态学中的应用及其位点的分离策略[J].应用生态学报,2005,16(2):385-389.  
Xue H, Wu X B, Yan P. Application of microsatellite DNA in molecular ecology and strategies for loci isolation [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(2): 385-389.
- [5] 黄磊,王义权.微卫星分子标记在濒危动物保护遗传学研究中的应用[J].生物多样性,2004,12(5):528-533.  
Huang L, Wang Y Q. The application of microsatellite DNA markers in conservation genetics of endangered of animal [J]. *Biodiversity Science*, 2004, 12(5): 528-533.
- [6] 陈红菊,岳永生,樊新忠,等.山东地方鸡种遗传距离与聚类分析方法比较研究[J].畜牧兽医学报,2004,35(1):33-36.  
Chen H J, Yue Y S, Fan X Z, et al. A comparative study of genetic distance and clustering analysis among Shandong indigenous chicken breeds [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2004, 35(1): 33-36.
- [7] Crawford A M, LittlePohn R P. The use of DNA marker in deciding conservation priorities in sheep and other livestock[J]. *Animal Genetic Resources Information*, 1998, 23: 21-26.

(本文审稿:王继文)