

# 福建家鸭品种的分子遗传多样性\*

李慧芳<sup>1,2</sup> 李碧春<sup>1\*\*</sup> 马月辉<sup>3</sup> 汤青萍<sup>2</sup> 陈宽维<sup>2</sup> 屠云洁<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; <sup>2</sup>中国农业科学院家禽研究所, 江苏扬州 225003; <sup>3</sup>中国农业科学院畜牧研究所, 北京 100094)

**摘要** 通过筛选的 28 个多态性较好的微卫星标记检测了福建省金定鸭、莆田黑鸭、连城白鸭、山麻鸭 4 个家鸭品种的遗传多样性。利用等位基因频率计算了各群体的遗传参数、群体间的 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$  和  $D_A$  遗传距离, 并采用邻近法 (NJ) 和类平均法 (UPGMA) 进行聚类分析和比较。结果表明, 福建省 4 个家鸭品种全部群体的平均杂合度为 0.5353, 遗传一致性较好, 应加强各保种场 (区) 多样性的保护; 各品种间的遗传距离远近顺序在两种遗传距离  $D_S$  和  $D_A$  的结果中完全一致, 以  $D_A$  和  $D_S$  为基础分别得到的 UPGMA 和 NJ 的聚类结果完全相同, 表明在应用微卫星标记分析品种的遗传多样性时, 使用更多的微卫星位点, 才可以获得更准确更具普遍性的结论。4 个家鸭品种的聚类与各品种的经济类型、生态地域分布关系密切。

**关键词** 鸭 微卫星标记 遗传多样性 遗传距离 聚类分析

**文章编号** 1001 - 9332 (2007) 02 - 0463 - 04 **中图分类号** S831.2 **文献标识码** A

**Molecular genetic diversity of Fujian domestic duck breeds** LI Hui-fang<sup>1,2</sup>, LI Bi-chun<sup>1</sup>, MA Yue-hui<sup>3</sup>, TANG Qing-ping<sup>2</sup>, CHEN Kuan-wei<sup>2</sup>, TU Yun-jie<sup>2</sup> (<sup>1</sup>College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China; <sup>2</sup>Institute of Poultry Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225003, Jiangsu, China; <sup>3</sup>Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China). -*Chin J. Appl Ecol*, 2007, 18(2): 463 - 466

**Abstract:** By using 28 micro-satellite markers with better polymorphism, this paper studied the genetic diversity of four Fujian provincial domestic duck breeds Jinding, Putian black, Liancheng white, and Shanma. According to the alleles frequencies, the polymorphic information content, average heterozygosity, anaquar genetic distance ( $D_A$ ) and Nei's standard genetic distance ( $D_S$ ) for each breed were calculated. Based on  $D_A$  and  $D_S$ , four dendrograms were obtained by neighbor-joining (NJ) and UPGMA methods. The results showed that the average heterozygosity of the four duck breeds was 0.5353, indicating that the protection of the genetic diversity of these breeds should be strengthened. The orders of the two types of genetic distances among the breeds were accordant, and the dendrograms were the same, reflecting that much more micro-satellite loci should be adopted to obtain more universal conclusions when the genetic diversity was analyzed. The phylogenetic relationships among the four duck breeds were in accordance with their economic types and ecological localities.

**Key words:** duck; micro-satellite marker; genetic diversity; genetic distance; clustering analysis

## 1 引 言

福建省是我国著名的水禽大省, 地处我国东南沿海, 丰富多样的自然地理条件和悠久的养鸭历史孕育了丰富而优良的水禽品种资源, 特别是鸭品种

资源。目前, 水禽业已成为福建省畜牧业的优势特色产业, 丰富而优良的地方鸭品种使福建成为全国水禽大省。随着分子生物技术的发展和水禽育种工作的不断深入, 可以断言, 分子标记将会在水禽育种中发挥不可替代的作用。然而, 在水禽育种中已标记的应用绝大部分仍停留在生化标记的水平上, 分子标记虽然取得了许多进展, 但尚处于初级阶段, 所积累的资料仍十分有限<sup>[3]</sup>。为进一步加大对地方品种资源

\* 国家高技术研究发展计划资助项目 (2001AA243081)。

\*\* 通讯作者。E-mail: yubcli@yzu.edu.cn

2006-01-16收稿, 2006-11-07接受。

开发力度,本研究借助微卫星 DNA 标记从分子水平对福建省列入国家级品种的地方鸭资源的遗传多样性进行了研究,为发展高效优势水禽产业奠定基础。

## 2 材料与方法

### 2.1 试验材料

试验材料来自各保种场。金定鸭和莆田黑鸭血样采自福建省石狮市江镇莲埭;连城白鸭血样采自福建省连城县文亨乡茗尘亭;山麻鸭血样采自福建省龙岩市新罗区。每个品种采用公母比为 1:4,即公鸭 12 只,母鸭 48 只,符合 Barker<sup>[11]</sup>关于评估遗传多样性的抽样公式和对样本含量的要求,翅静脉采血,常规酚/氯仿提取 DNA,用琼脂糖含量为 0.8% 的凝胶电泳检测质量后,置于 4℃ 保存备用。

### 2.2 血液基因组 DNA 的提取

参照《分子克隆实验指南》<sup>[12]</sup>并稍加改进,在采集全血时采用酒精进行抗凝和固定。

### 2.3 微卫星位点及 PCR 条件

**2.3.1 鸭品种微卫星位点的筛选** 根据 GenBank 和文献<sup>[5,8,11]</sup>提供的 35 对微卫星引物进行筛选,选择了 28 对微卫星引物 APL2、APL11、APL12、APL23、APL26、APL36、APL83、APL82、APL81、APL80、APL79、APL78、APL77、CMO12、CMO11、APH01、APH07、APH09、APH10、APH11、APH14、SMO6、SMO7、SMO9、SMO10、SMO11、SMO12 和 SMO13 作为实验位点。所选引物均表现为多态性良好。实验所用引物均由上海生工生物工程技术有限公司 (Sangon) 合成。

**2.3.2 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  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, 引物各 5 pmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, Mg<sup>2+</sup> 2.0 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, Taq DNA 聚合酶 1 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 Markers 作为分子量的标准对照。

### 2.4 数据分析

由于微卫星标记呈共显性,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,并根据公式计算各鸭品种中的多态信息含量 (polymorphic 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  $D_S$  和  $D_A$  遗传距离。运用 D ISPAN 软件对 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$  和  $D_A$  遗传距离分别采用邻近法 (NJ) 和类平均法 (UPGMA) 进行聚类分析,同时观察以不同遗传距离为基础进行聚类的差异。

## 3 结果与分析

### 3.1 各品种的平均杂合度和平均多态信息含量

利用 Nei 公式根据各微卫星位点等位基因频率计算各品种的群体平均杂合度和平均多态信息含量 (表 1)。4 个品种中,平均杂合度高低顺序为山麻鸭 > 莆田黑鸭 > 连城白鸭 > 金定鸭。各品种的平均多态信息含量的高低与群体平均杂合度的计算结果完全一致。

表 1 福建 4 个家鸭品种在 28 个微卫星位点上的平均遗传参数

Tab 1 Estimation of average PIC and H of four Fujian domestic duck breeds

品种 Breed	平均杂合度 Average H	平均多态信息含量 Average PIC
莆田黑鸭 Putian black	0.535	0.457
金定鸭 Jinding	0.514	0.435
连城白鸭 Liancheng white	0.526	0.442
山麻鸭 Shama	0.566	0.494

### 3.2 品种间的遗传距离和聚类分析

基于等位基因频率用 D ISPAN 软件计算出各品种间的  $D_A$  遗传距离和 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$ , 从表 2 可以看出,不论是 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$  还是  $D_A$  遗传距离,各品种间的遗传距离远近顺序在两种遗传距离的结果中是完全一致的,遗传距离最近的都是金定鸭和山麻鸭;遗传距离最远的都是连城白鸭和山麻鸭。根据不同遗传距离分别采用 NJ 法和 UPGMA 法进行聚类,聚类结果见图 1。从聚类图可以看出,4 个鸭种的聚类结果相同,均聚为 3 类,金定鸭和山麻鸭聚为一类,连城白鸭和莆田黑鸭分别独自聚为一类。

表 2 福建 4 个家鸭品种间的遗传距离  $D_A$  和  $D_S$

Tab 2 Anaquar and Nei's standard genetic distance between four Fujian domestic duck breeds

品种 Breed	金定鸭 Jinding		连城白鸭 Liancheng white		莆田黑鸭 Putian black	
	$D_A$	$D_S$	$D_A$	$D_S$	$D_A$	$D_S$
连城白鸭 Liancheng white	0.3636	0.3684				
莆田黑鸭 Putian black	0.2665	0.2715	0.3727	0.3778		
山麻鸭 Shama	0.2621	0.2674	0.3964	0.4018	0.2907	0.2962

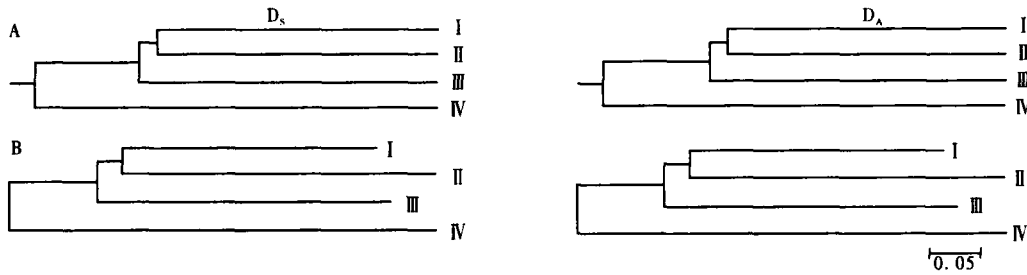


图 1 福建 4 个家鸭品种以  $D_s$  和  $D_A$  遗传距离为基础聚类图

Fig 1 Dendrogram of four Fujian domestic duck breeds based on  $D_s$  and  $D_A$ .

A: UPGMA; B: NJ. : 金定鸭 Jinding; : 山麻鸭 Shanma; : 莆田黑鸭 Putian black; : 连城白鸭 Liancheng white

### 4 讨 论

遗传杂合度是度量群体遗传变异的一个最适参数<sup>[9]</sup>,本研究中福建省 4 个家鸭品种资源全部群体的平均杂合度为 0.5353,反映了这些品种群体内的遗传一致性较高.据分析,可能是由于各保种场(区)对这些优良地方品种在很大程度上有一定的近交.随着现代水禽业市场的发展,多数育种场广泛使用专门化品系的杂交配套,以为数有限的品种或品系组成配套禽种的大量推广,使水禽品种资源的匮乏和消失显得更加严重,一些优良的地方品种(建昌鸭、四川麻鸭等)即使在原产地也很难找到.物种的保护必须考虑它们所生存的生态系统和景观的多样性及完整性<sup>[13]</sup>,水禽的保护尤其要注意这一点.建议各保种场(区)在稳定各品种生产性能的同时,适当引入外血(主要通过定期或不定期引入同品种不同地域群体)来增加各品种的遗传多样性,因为遗传多样性越高,可供选择的遗传基础就越丰富,生活力就越强,杂交育种的潜力就越大.几十年来农林牧业品种遗传单一性造成疾病大流行和大爆发的教训,既说明了保护遗传多样性的重要性和迫切性,也暗示了遗传多样性的丰富程度决定了物种环境变化的适应能力和进化潜力<sup>[14]</sup>.

在决策保存尽量多的遗传多样性时,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. Takahashi 等<sup>[14]</sup>和 Nei 等<sup>[10]</sup>通过计算机模拟对各种遗传距离进行研究,证明在分析物种内群体间的遗传变异时,运用  $D_A$  和  $D_S$  遗传距离是获得准确系统发生树的最有效方法,且用 UPGMA 法优于 NJ 法<sup>[2]</sup>. 本研究计算了 4 个地方鸭品种之间的  $D_A$  遗传距离和 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$ ,各品种间的遗传距离远近顺序在两种遗传距离的结果完全一致,只是  $D_A$  遗传距离的具体值比 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$  的具体值小,进一步说明了  $D_A$  和  $D_S$  两种遗传距离均为获得准确系统发生树

的有效方法.本研究中福建 4 个家鸭品种间的遗传距离  $D_A$  或  $D_S$  都较远,说明各品种间的分化较大,差异较多,各具特色,具有重要的利用价值.

以 4 个鸭品种的  $D_A$  遗传距离和 Nei 氏标准遗传距离  $D_S$  为基础分别得到的 UPGMA 和 NJ 的聚类结果相同,4 个鸭品种在 4 个聚类图中都被聚为 3 类:两个高产的蛋鸭品种——金定鸭和山麻鸭聚为一类,蛋用和药用兼用的连城白鸭和蛋用型的莆田黑鸭分别独自聚为一类.聚类结果反映了 4 个家鸭品种的聚类与经济类型、生态分布的关系较为密切.肖天放等<sup>[15]</sup>应用 9 个特异性强的 RAPD 引物对福建不同生态类型鸭种(群)的 UPGMA 聚类结果与本研究对福建省 4 个家鸭品种的聚类结果不相吻合,可能是材料来源、引物的数目和方法的差异所致.微卫星作为理想的遗传标记,在研究动物遗传多样性和建立遗传谱系中已经得到了广泛的应用,推动了保护遗传学的发展.李慧芳等<sup>[6]</sup>报道了国内外微卫星标记的应用情况:国内应用微卫星标记主要用于研究家禽品种的遗传结构和亲缘关系以及部分地方鸡品种的遗传多样性;国外学者应用微卫星标记主要是对国外鸡品种间的遗传关系及起源、家禽品种(系)的遗传变异和遗传距离的估计、家鸡和原鸡群体的遗传检测等,这些研究结果都表明利用微卫星标记在分析群体遗传多样性方面不失为一种有效的分析方法<sup>[7]</sup>.本研究中各品种之间的遗传差异,反映了生态条件和育成历史对品种形成的作用;不同聚类分析方法所得的相同聚类结果表明了在应用微卫星标记分析品种的遗传多样性时,应使用更多的微卫星位点从而获得更准确更具普遍性的结论,以有效地应用于生物多样性研究.

### 参考文献

[1] Barker PSF. 1994. A global protocol for determining genetic distance among domestic livestock breeds// Proceeding of 5th World Congress on Genetic: Application of Livestock Production: 501 - 508

- [2] Chen H-J (陈红菊), Yue Y-S (岳永生), Fan X-Z (樊新忠). 2004. A comparative study of genetic distance and clustering analysis among Shandong domestic chicken breeds. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* (畜牧兽医学报), **35**(1): 33 - 36 (in Chinese)
- [3] Chen Y-R (陈艳荣), Wang J-W (王继文), Zhang R-S (张仁双). 2003. Genetic marker and application in waterfowl breeding. *Sichuan Animal and Veterinary Sciences* (四川畜牧兽医), **30**(2): 31 - 32 (in Chinese)
- [4] Chen Y-X (陈奕欣), Chen X-L (陈小麟), L ÜL-J (吕良炬). 2001. Research for domestic duck resources and the strain breeding. *Journal of Xiamen University* (Natural Science) (厦门大学学报·自然科学版), **40**(2): 642 - 646 (in Chinese)
- [5] Denk GA, Gautschi B, Carter K. 2004. Seven polymorphic microsatellite loci for paternity assessment in the mallard (*Anas platyrhynchos*). *Molecular Ecology*, **4**: 506 - 508
- [6] Li H-F (李慧芳), Chen K-W (陈宽维), Tang Q-P (汤青萍), et al. 2005. Microsatellite analysis of genetic diversity of seven indigenous chicken breeds in Jiangxi. *Chinese Journal of Veterinary Science* (中国兽医学报), **25**(6): 664 - 667 (in Chinese)
- [7] Li H-F (李慧芳), Zhang S-J (章双杰), Chen K-W (陈宽维). 2005. Analysis of genetic diversity among domestic concernful chicken breeds in China. *Journal of China Agricultural University* (中国农业大学学报), **10**(3): 21 - 24 (in Chinese)
- [8] Maak S, Neumann K, von Lengerken G, et al. 2000. First seven microsatellites developed for the Peking duck (*Anas platyrhynchos*). *Animal Genetics*, **31**: 233
- [9] Masatoshi N. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. *Genetics*, **89**: 583 - 590
- [10] Nei M, Takezaki N. 1996. The root of phylogenetic tree of human population. *Molecular Biology*, **13**: 170 - 177
- [11] Paulus BK, Tiedemann R. 2003. Ten polymorphic autosomal microsatellite loci for the Eider duck *Somateria mollissima* and their cross-species applicability among waterfowl species (Anatidae). *Molecular Ecology Notes*, **3**: 250 - 252
- [12] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2nd Ed. Plainview, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press
- [13] Sheng L-X (盛连喜), He C-G (何春光), Wan Z-J (万忠娟). 2003. Advances in the study on conservation biology of waterfowls in China. *Wetland Science* (湿地科学), **1**(1): 26 - 32 (in Chinese)
- [14] Takahashi H, Nirasawa K, Nagamine Y, et al. 1998. Genetic relationships among Japanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms. *Journal of Heredity*, **89**: 543 - 546
- [15] Xiao T-F (肖天放), Zeng X-C (曾显成), Wu Q-W (吴其文). 2004. Genetic diversity of Fujian local duck populations in different ecological type. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **15**(5): 879 - 882 (in Chinese)

---

作者简介 李慧芳,女,1974年生,博士研究生,副研究员.主要从事家禽遗传资源研究,发表论文 20余篇. E-mail: lhxf\_002@yahoo.com.cn

责任编辑 肖红

---