

家鹅 ND4 基因多态性与遗传结构研究

李建华, 王继文¹ (1. 孝感学院生命科学技术学院, 湖北孝感 432003; 2. 四川农业大学动物科学学院, 四川雅安 625014)

摘要 四川白鹅、狮头鹅、豁眼鹅、伊犁鹅、朗德鹅和莱茵鹅是具有独特种质特性的家鹅品种。该试验利用直接测序法测定了具有独特种质特性, 在鹅杂交育种中被广泛应用的四川白鹅等6个家鹅品种线粒体 ND4 基因的部分核苷酸序列(621 bp), 共检测到了4种单倍型, 4种单倍型的频率分别为0.467、0.033 3、0.467 和 0.033 3, 单倍型多样性为0.582; 各品种间的核苷酸分化系数(Nst)在0至1之间; 6个家鹅各品种内核苷酸多样性(Pi)很低, 各品种间的遗传距离(D)很小, 遗传相似度高, 而且同属于灰雁或鸿雁的家鹅品种之间的遗传相似度比分属于灰雁、鸿雁的家鹅品种之间的遗传相似度更高。另外, 对这6个家鹅品种的遗传结构形成原因和杂交利用进行了初步分析。

关键词 鹅; 多态性; 遗传结构; ND4 基因

中图分类号 Q953+.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-02924-02

Studies on ND4 Gene Polymorphism and Genetic Structure among Domestic Goose Breeds

Li Jianhua et al (College of Life Science and Technology, Xiaogan University, Xiaogan, Hubei 432003)

Abstract Schuan, Sitou, Huoyan, Yili, Landoise and Rhin gooses are domestic goose breeds with unique quality characteristic. In the lab test, DNA sequences (621 bp) in Mitochondrial ND4 gene of the six domestic goose breeds were sequenced by the method of direct sequencing. Four haplotypes were found, with the diversity of 0.582. Frequencies of the four haplotypes were 0.467, 0.033 3, 0.467 and 0.033 3 respectively. The coefficient of nucleotide differentiation (Nst) among six goose breeds varied between 0 to 1. The nucleotide diversity in each breed of the six geese was very low. The genetic distance between breeds of the six geese was close and the genetic similarity was high. The genetic similarity between breeds that commonly belonged to *Anser anser* or *Anser cygnoides* was higher than that between breeds that respectively belonged to *Anser anser* or *Anser cygnoides*. The forming reason of the genetic structure and the hybrid utilization of the six goose breeds were also analyzed.

Key words Goose; Polymorphism; Genetic structure; ND4 gene

我国家鹅品种资源丰富, 现有30多个地方品种, 另外还从国外引进了莱茵鹅、朗德鹅等优良鹅种。但长期以来, 我国鹅种选育改良工作进展缓慢, 良种繁育体系不完善^[1]。对畜禽的遗传多样性和遗传结构作出正确评价, 是科学、有效地保存和利用畜禽遗传资源, 制定合理的育种方案, 培育优质、高效畜禽品种的前提和基础。ND4 基因是线粒体中编码 NADH 氧化还原酶第4个亚基的基因, 动物 ND4 基因的长度约为1 377 bp。在动物线粒体编码基因中, ND4 基因进化较快, 多态性丰富^[2], 是研究群体遗传的极好标记, 适于分析亲缘关系较近群体的系统发育关系和群体的遗传结构^[3]。为此, 该研究通过直接测序法检测了6个家鹅品种 ND4 基因的遗传多态性, 并分析了其遗传结构, 以期为合理利用鹅的遗传资源, 培育优质、高效的家鹅品种提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 采集了四川白鹅、狮头鹅、豁眼鹅、伊犁鹅、朗德鹅以及莱茵鹅等6个家鹅品种的血液样品。每个品种的测序样品数均为5个, 分别编为1~5号。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增和序列测定 采用常规的酚氯仿法提取全基因组 DNA。溶于 TE (pH 8.0) 后, 用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的质量。目的 DNA 片段的扩增引物序列为: 上游引物 5'-CACAACCTAAACCTACTACA-3'; 下游引物 5'-GATAGATGGCTCCTAAGAC-3'。引物由上海生物工程公司合成。PCR 反应条件: 95℃ 预变性 2 min 后, 循环 35 次, 每一次循环包括 94℃ 变性 40 s, 57℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 50 s, 最后一次循环后于 72℃ 延伸 5 min。使用上海生物工程公司生产的 UNQ 10 柱式 DNA 胶回收试剂盒, 进行 DNA 的回收纯化。测序试剂采用 BigDye™ Terminator v3.10 Cycle Sequen-

cing Ready Reaction Kit(美国 PE 公司), 按公司推荐的方法进行操作。反应产物经酒精/醋酸钠纯化、干燥和变性后, 用 ABI310 全自动序列分析仪进行序列分析。每条序列均经过正反 3 次重复测定, 以确保序列的准确性, 所测序列递交 GenBank 数据库(序列接受号: DQ468115~DQ468124)。

1.3 数据处理 供试样品线粒体 ND4 基因部分序列通过 MEGA 3.1 软件^[4] 中的 Clustal W 程序进行序列多重比对和整理后, 用软件 DnaSP 4.1 统计分析其多态位点、单倍型及其频率、核苷酸多态性、品种间和品种内 DNA 的差异、品种间的核苷酸分化指数(Nst)及遗传距离等。

2 结果与分析

2.1 多态位点与单倍型 试验发现多态位点 16 个, 其中单多态位点 1 个, 位于 507 号位点; 简约信息多态位点 15 个, 分别位于序列 DQ468115 第 63、76、144、210、216、255、256、285、300、306、348、452、519、558、579 号位点。这 16 个多态位点共组合成了 4 种单倍型(Haplotype), 即 ACCATTAAATTTCAGC、GTTCCCCCGCCTGGAT、GTTCCCCCGCCCGAT 和 ACCATTAAA-TTTCGGC, 其频率分别为 0.467、0.033 3、0.467 和 0.033 3。

2.2 单倍型多态性和核苷酸多态性 从表 1 可以看出, 在这 6 个家鹅品种中, 豁眼鹅的单倍型和核苷酸多态性最高, 伊犁鹅和莱茵鹅次之, 朗德鹅、四川白鹅、狮头鹅最低。

2.3 家鹅品种间的遗传关系 核苷酸分化系数 Nst 是群体间核苷酸多样性与总群体核苷酸多样性之比^[5], 可用来度量群体的遗传分化关系。从表 2 可以看出, 在这 6 个家鹅品种中, 同属灰雁的 3 个鹅种(朗德鹅、莱茵鹅、伊犁鹅)之间的 Nst 值较小, 同属鸿雁的 3 个鹅种(四川白鹅、狮头鹅、豁眼鹅)之间的 Nst 值也较小, 而分别属于灰雁和鸿雁的鹅种之间的 Nst 值相对较大。这表明 6 个家鹅群体的遗传分化主要由分别属于灰雁和鸿雁的鹅种之间的遗传分化造成的。莱茵鹅与伊犁鹅之间的 Nst 值为负数, 表明莱茵鹅和伊犁鹅群体间的核苷酸多样性比总群体的核苷酸多样性高。

基金项目 湖北省教育厅优秀中青年人才项目(Q200626001)。

作者简介 李建华(1969-), 男, 湖北孝感人, 博士, 副教授, 从事动物遗传及分子生物学方面的研究。

收稿日期 2007-01-07

表1 家鹅单倍型多态性和核苷酸多态性

	单倍型	样本数	单倍型多态性	单倍型	核苷酸多态性
			(Hd)	比例 %	(H)
伊犁鹅	Hp1	4	0.400 ±0.237	50	0.009 66
	Hp2	1			
朗德鹅	Hp1	5	0.000	25	0.000 00
莱茵鹅	Hp1	4	0.400 ±0.237	50	0.009 68
	Hp3	1			
四川白鹅	Hp3	5	0.000	25	0.000 00
狮头鹅	Hp3	5	0.000	25	0.000 00
豁眼鹅	Hp1	1	0.700 ±0.218	75	0.014 17
	Hp3	3			
	Hp4	1			

表2 家鹅核苷酸分化系数

	伊犁鹅	朗德鹅	莱茵鹅	四川白鹅	狮头鹅	豁眼鹅
伊犁鹅						
朗德鹅	0.000 00					
莱茵鹅	-0.229 79	0.000 00				
四川白鹅	0.757 95	1.000 00	0.750 00			
狮头鹅	0.757 95	1.000 00	0.750 00	0.000 00		
豁眼鹅	0.154 98	0.521 92	0.131 51	0.241 51	0.241 51	

2.4 家鹅品种间的遗传距离 从表3 可以看出,这6 个家鹅品种间的遗传距离(D) 均较小,而遗传相似系数 F($F = 1 - D$) 则很大。这表明在鹅品种内或品种间的基因交流比较频繁,鹅群的遗传差异小,遗传相似度高,而且同属于鸿雁或同属于灰雁的鹅种之间的遗传相似度比鸿雁和灰雁鹅种之间的遗传相似度高。

表3 家鹅品种间的遗传距离

	伊犁鹅	朗德鹅	莱茵鹅	四川白鹅	狮头鹅	豁眼鹅
伊犁鹅		0.001 23	0.001 93	0.004 90	0.004 90	0.003 46
朗德鹅	0.004 91		0.001 20	0.005 99	0.005 99	0.003 69
莱茵鹅	0.007 99	0.004 91		0.004 79	0.004 79	0.003 41
四川白鹅	0.020 30	0.024 57	0.019 66		0.000 00	0.002 32
狮头鹅	0.020 30	0.024 57	0.019 66	0.000 00		0.002 32
豁眼鹅	0.014 33	0.015 06	0.013 95	0.009 49	0.009 49	

注:对角线下方为遗传距离,对角线上方为标准差。标准差采用 Bootstrap 法,重复500 次估计。

3 讨论

研究表明,这6 个家鹅品种间的平均遗传距离很小,平均遗传相似度很高。原因可能有:家鹅的祖先(鸿雁和灰雁)^[6] 群体间基因交流频繁,遗传同质性高;家鹅在品种形成过程中经历了创立者效应^[7]。遗传差异(遗传多样性) 是品

种选育和杂交育种的基础。2 个有差异的品种(或种群) 杂交时一般都能产生杂种优势^[8]。该试验选择了6 个有代表性、在我国鹅的杂交育种中应用广泛的家鹅品种。这6 个家鹅品种中,有产肥肝性能良好的大型鹅种朗德鹅和狮头鹅;有适应性强、产蛋率高中型鹅种四川白鹅和生长速度快、产肉性能好、同时产羽绒性能好的中型鹅种莱茵鹅;有鹅中“产蛋冠军”豁眼鹅和生境独特、耐粗饲、仍有飞翔能力的小型品种伊犁鹅。研究表明,四川白鹅、狮头鹅、朗德鹅、莱茵鹅品种间的遗传差异比较小,品种间选育的余地不大,而豁眼鹅、伊犁鹅品种间的变异相对较大,品种间选育的空间也相对较大;就杂交育种而言,四川白鹅、狮头鹅同朗德鹅、莱茵鹅间的遗传距离较大,在它们之间进行杂交育种具有获得较大杂种优势的潜力。考虑到各个品种的诸如产蛋能力、生长速度、产肥肝性能、适应性等性状,一般认为在这6 个家鹅品种中,以四川白鹅为母本,以朗德鹅或莱茵鹅为父本的二元杂交或在此基础上的三元杂交组合可取得较好的杂交效果。

由于家鹅品种总的遗传变异比较小,遗传相似度高,所以一方面要做好现有鹅种资源(包括野生雁) 的保护和提纯复壮工作^[9],另一方面应充分利用基因序列和结构的比较信息,使用体外分子进化等 DNA 改造技术,创造新的基因,以增加鹅种质资源的异质性^[10-11],为培育更符合人类需求的家鹅品种提供新的遗传素材。

参考文献

- [1] 闵育娜,高玉鹏,侯水生,等.我国养鹅业现状及前景展望[J].中国畜牧杂志,2005,41(5):57-59.
- [2] KAIE LS, ANTA M. Combining molecular, morphological and ecological data to infer species boundaries in a cryptic tropical pit viper[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2006,87:343-364.
- [3] MICHAEL S B. Molecular differentiation and phylogeny of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditis) based on ND4 gene sequences of mitochondrial DNA[J]. J Parasitology, 1998, 85:709-715.
- [4] KUMAR S, TAMURA K, NEI M. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5:150-163.
- [5] PANNELL J R, CHARLESWORTH B. Neutral genetic diversity in a metapopulation with recurrent local extinction and recolonization[J]. Evolution, 1999, 53:664-676.
- [6] 潘庆杰.五龙鹅经济性状的标记及其分子系统发育关系的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2001.
- [7] 史宪伟,曾凡同,邱祥聘,等.中国主要鹅品种的线粒体DNA 多态性与起源分化研究[J].遗传学报,1998,25(6):499-507.
- [8] 吴常信,李宁.分子生物技术在中国动物育种中的应用[J].中国家禽,2002,24(13):6-9.
- [9] 陈宽维,章明,张学余,等.我国家禽遗传多样性特点与保护[J].中国禽业导刊,2002,19(23):12-14.
- [10] 蔡启良,王恒.基因人工进化的分子育种技术[J].生命科学,2003,15(3):183-188.
- [11] 熊爱生,姚泉洪,章镇,等.基因的推理设计与改造——体外分子进化的捷径[J].遗传,2006,28(1):92-96.