

利用线粒体 D-loop 区分析家鸭品种遗传多态性与系统进化

张汤杰^{1,3}, 李慧芳^{2*}, 陈宽维², 常洪³, 汤青萍², 张晶鑫³

(1. 扬州大学兽医学院, 扬州 225009; 2. 中国农业科学院家禽研究所, 扬州 225003;

3. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009)

摘要: 通过线粒体 DNA 控制区的结构和多态性来研究我国家鸭的遗传多态性与系统进化。利用 DNA 测序技术测定了我国 9 个家鸭品种 106 个个体线粒体 DNA 控制区多态序列。序列分析结果显示: A、C、T、G 碱基的平均含量分别为 25.6%、33.3%、15.2% 和 25.9%。检测到 34 个变异位点, 约占分析位点总数的 5.1%, 有转换、颠换、插入/缺失 4 种类型的变异。确定了 31 种单倍型, 其中单倍型 A7 为家鸭的主体单倍型, 品种之间有 9 种共享单倍型。9 个家鸭品种单倍型多样性(Hd) 平均为 0.798, 核苷酸多样性(Pi) 平均为 0.28%, 单倍型多样性在荆江麻鸭中最高, 其次是攸县麻鸭和恩施麻鸭, 在文登黑鸭中最低。9 个品种家鸭之间双参数距离范围为 0.001 3~0.004 4。31 个家鸭单倍型序列的系统发生分析表明, 9 个家鸭品种只有 1 个母系起源, 没有发现东亚斑嘴鸭对 9 个家鸭品种起源有贡献的证据。

关键词: 家鸭; mtDNA 控制区; 单倍型; 遗传多样性

中图分类号: S834.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)11-1168-08

Analysis on the Genetic Polymorphism and Systematic Evolution in Domestic Ducks by Mitochondrial DNA D-loop Region

ZHANG Tang-jie^{1,3}, LI Hui-fang^{2*}, CHEN Kuan-wei², CHANG hong³,

TANG Qing-ping², ZHANG Jing-xin³

(1. College of Veterinary, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Institute of Poultry Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences,

Yangzhou 225003, China; 3. College of Animal Science and Technology,

Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Investigation of the genetic polymorphism and systematic evolution in domestic ducks by the structure and polymorphism of mitochondrial DNA. The 667 bp control region on mitochondrial DNA from 106 domestic ducks of 9 breeds was sequenced. The result showed that content of nucleotide A, C, G, T were 25.6%, 33.3%, 15.2% and 25.9%, respectively. There were 34 polymorphic sites (5.1% in total analyzed sites). The transition, transversion, and insertion/deletion were found in this region. 31 haplotypes were defined in this study, in which A7 was major haplotype in ducks and shared 9 haplotypes among breeds. The haplotype diversity(Hd) and average nucleotide diversity(Pi) were 0.798 and 0.28%, respectively. Hd was the highest in Jingjiang Sheldrake, followed then by Youxian Sheldrake and Enshi Sheldrake, and lowest in Wendeng Black duck. Kimura 2-parameter distance between the breeds is 0.001 3-0.004 4. A Phylogenetic analysis of the 31 haplotypes identified that there was only one distinct maternal lin-

收稿日期: 2007-06-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(30700572); 江苏省高新技术研究计划(BG2007323)

作者简介: 张汤杰(1963-), 男, 江苏如东人, 副教授, 博士, 主要从事分子生物学方面的研究, Tel: 0514-7979044, E-mail: slx@yzu.edu.cn

* 通讯作者: 李慧芳, 同为第一作者, Tel: 0514-7254416, E-mail: feixiong@yzu.edu.cn

eage in domestic duck breeds and revealed that no evidence of contribution of *Anas zonorhyncha* to the maternal origin of domestic duck breeds.

Key words: domestic duck; mtDNA control region; haplotype; genetic diversity

家鸭(*Anas platyrhynchos domestica*)在动物分类学上属于鸟纲的雁形目(Anseriforms),鸭科(Anatidae),河鸭属。我国幅员广大,生态条件各异,各地社会经济条件和对产品种类的要求也不相同,形成了许多各具特色的地方优良水禽品种,是全球水禽资源遗传多样性最丰富的国家,其中鸭地方品种 27 个,高邮鸭、攸县麻鸭等被列入国家重点保护的鸭种。这些家鸭原产地及饲养地区基本上分布在一些低海拔地区,最集中的是江淮流域、珠江流域和沿海地区,这些地区的土地肥沃,气候温和,农业发达,粮食作物产量高,并且水网分布密集,有广阔的自然饲料来源。然而由于对其遗传背景、亲缘关系缺乏深入系统的研究,致使育种工作受到很大限制。对于家鸭的起源与演化在学术界历来有两种看法:一即家鸭是由野生绿头鸭经长期驯养而来^[1,2];另一种是认为家鸭由野生绿头鸭和斑嘴鸭在我国不同地区单独驯养,或由绿头鸭与斑嘴鸭自然杂交的杂种代驯养而来^[1,2]。线粒体是真核生物细胞进行能量代谢的场所,线粒体 DNA 进化速度快,为母系遗传,只需少量个体便能反应群体遗传结构,这些优点使得线粒体 DNA 广泛应用于起源、分子进化、分类及遗传结构方面的研究。近十几年来,随着生物技术的快速发展,动物线粒体 DNA 的研究取得了丰硕成果,人们从线粒体层次分别对家畜(牛、驴、羊、猪)、家禽(鸡、鹅)及其它动物(鱼、蛙)和人等进行了较为深入的研究^[3]。线粒体 DNA 上的 D-loop 区是线粒体基因组上进化最快和多态性最丰富的区域,D-loop 区序列的多态性因此成为线粒体 DNA 的研究热点,在 GenBank 上禽类线粒体 DNA 的序列研究也主要集中在细胞色素 b 和 D-loop 区。有关我国地方鸭种线粒体 DNA 遗传变异、起源和分化方面的研究国内还未见有研究报道。长江、黄河是中华民族文明的两大发源地,畜禽的产业形态、种类、品种及其演化作为一种文化现象是伴随着人类的文明而发展的。江淮流域由于气候温暖湿润,土地肥沃,雨量充沛,物产富饶,又位于黄河与长江之间,是黄河文化和长江文化的一个交汇地与中转站,它在我国数千年的历史中,始终占有重要的地位,胶东半岛与之毗邻同时又三面环海。为探讨这些地区

家鸭遗传结构和探讨起源与演变过程,本研究选取了位于我国中东部的长江中下游流域、淮河流域和与之毗邻的胶东半岛的 9 个家鸭品种测定了线粒体 D-loop 区的主要序列。

1 材料与方法

1.1 材料

长江中下游流域、淮河流域和胶东半岛的 9 个鸭品种的样品,参见文献[4]。

1.2 DNA 扩增和序列测定

按常规方法提取基因组 DNA,用紫外分光光度计测定其浓度。目的 DNA 片段的扩增引物序列为 L78: 5'-GTTATTTGGTTATGCATATCGTG-3'; H774: 5'-CCATATACGCCAACCGTCTC-3', (L 和 H 分别指轻链和重链,其后面的数字代表引物 3'端在鸡线粒体 DNA 全序列中的位置),引物根据 Sorenson 等^[5]设计的引物改进而成,位于鸭线粒体 D-loop 5'端附近,引物由上海生工生物工程公司合成。PCR 的反应条件为:95 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 45 s,58 °C 退火 45s,72 °C 延伸 50 s,循环 35 次;72 °C 延伸 10 min;4°C 保存。使用柱式 DNA 胶回收试剂盒进行 DNA 的回收纯化。纯化好的 PCR 产物经测序反应后直接进行测序,在 ABI PRISM 3730 型全自动 DNA 测序仪上双向测序。

1.3 数据处理

测定的 9 个家鸭品种共 106 个个体的线粒体 DNA 部分序列,通过肉眼和 Chromas 软件读取并且进行序列比对,以确保准确无误。序列的检查和排列同源序列是在 DNASTAR 软件包中的 SeqMan 应用程序上完成的,为了准确判断序列的正确性并进行比较,从 GenBank *Anas platyrhynchos* 属下载线粒体 DNA D-loop 序列(GenBank 登录号为 AY506868-AY506870, AY506875-506890, AY506905-AY506918)进行对照分析。

用 DnaSP 软件(Version 4.10.7^[6])计算各种群体的单倍型多样性(Haplotypic diversity)、种群内的平均核苷酸差异和核苷酸多样性等多态性统计参数,忽略缺失和插入位点。

用分子进化遗传分析软件—MEGA3.1^[7]确定

多态位点、核苷酸总变异位点、简约信息位点以及点突变位点的统计;计算碱基组成、转换/颠换比率、核苷酸差异、Kimura 双参数距离等。

2 结果与分析

2.1 9 个家鸭品种线粒体 DNA D-loop 区部分序列的遗传多态性

2.1.1 序列长度与碱基组成 测定了 9 个品种 106 个个体的线粒体 D-loop 5' 端序列,长度为 667 bp,A、C、G、T 4 种核苷酸的平均比例分别为 25.6% (25.3% ~ 26.1%)、33.3% (33.0% ~ 33.6%)、15.2% (14.8% ~ 15.7%) 和 25.9% (25.3% ~ 26.1%)。A+T 含量为 51.5%,G+C 含量为 48.5%。A+T 虽稍高于 G+C 含量,但 C 含量较高,表现出碱基组成的偏倚性。

2.1.2 序列的核苷酸多态位点变异 测定了 9 个鸭品种共 106 条序列,以单倍型 A7 为标准进行比较分析,确定了 31 种单倍型。单倍型类型及其变异位点见图 1。

结果共发现 34 个变异位点,约占分析位点总数的 5.10%,其中单一多态位点 20 个,简约信息位点 12 个。插入/缺失 2 个。单一多态位点在 108、114、173、251、253、281、286、290、309、318、340、345、365、370、428、478、483、486、550、566 位,约占 3.00%;简约信息位点在 96、116、157、165、186、187、292、328、349、352、361、522 位,约占 1.80%。

2.1.3 序列的核苷酸多态位点的变异类型 如图 1 和表 1 所示,检测到本试验中家鸭核苷酸位点有 4 种类型的变异,即转换、颠换、插入/缺失,其中转

换 147 次,占 94.8%,颠换 6 次,占 3.9%。本试验中除荆江麻鸭和攸县麻鸭外,其它 6 个品种鸭未观察到颠换现象。只有 1 例荆江麻鸭在 167 位点插入 C,在 211 位点缺失 T。

	111111112	2222233333	3333344445	55
	9011567885	5889901244	4566727882	56
	6846753261	3160298805	9215088362	06
A7	CCTTACACCA	TGGCGTCGCT	CCCACATATAT	TT
Z2T.
Z3A.
Z4A.
Z5A.A.	..TT.....	..
Z6T.A.
Z7	T.....T.....	..
Z8A.A.	A..T.....	..
Z9A.	A.....	..
Z10A.	..T.....	..
Z11TA.....A.	A.....	..
Z12T..
Z13T.
Z14	..C.....
Z15A.A.
Z16T.....	..
Z17	A..TG.....	..
Z18	..G.....
Z19G.	..
Z20	T.....A.	A.....G..	C.
Z21A.	A.....A.	..A
Z22	T.....A.A.	A.....A.....	..
Z23A.	A.....C	..
Z24T.
Z25	T.....A.
Z26T	C..A.AG..CA.T.....	..
Z27A.	..T.....	..
Z28	..CG..G..A.A.	A.....	..
Z29	..T.....
Z30	..C.....
Z31A.....	A.....	..

• 表示碱基相同
• Maculae indicates the same bases

图 1 单倍型类型及其变异位点
Fig. 1 Variable sites in mtDNA D-loop of haplotype of ducks

表 1 9 个品种鸭核苷酸替代情况
Table 1 Base substitutions of D-loop sequences in 9 duck breeds

品种 Breeds	转换碱基对 Transitions	颠换碱基对 Transversions	插入/缺失 Insertion/ Deletion	C↔ T(A)	G↔ A(T)	C↔G T↔A
高邮鸭 Gaoyou Sheldrake(GY)	9	0	0	4	5	0
巢湖鸭 Caohu Sheldrake(CH)	10	0	0	4	6	0
淮南麻鸭 Huainan Sheldrake(HN)	14	0	0	7	7	0
沔阳麻鸭 Mianyang Sheldrake(MY)	11	0	0	4	7	0
荆江麻鸭 Jingjiang Sheldrake(JJ)	24	4	2	9	15	4
恩施麻鸭 Enshi Sheldrake(ES)	31	0	0	11	20	0
微山麻鸭 Weishang Sheldrake(WS)	5	0	0	1	4	0
文登黑鸭 Wendeng Black duck(WD)	16	0	0	5	11	0
攸县麻鸭 Youxian Sheldrake(YX)	27	2	0	11	16	2
合计 Total	147(94.8%)	6(3.9%)	2(1.3%)			

2.1.4 9 个地方鸭品种线粒体 DNA D-loop 单倍型 各品种单倍型数量及分布见表 2。31 种单倍型中, A7、Z3、Z4、Z9、Z12、Z13、Z15、Z18、Z24 9 种为共享单倍型, A7 包含的个体数最多, 共出现 46 次, 为所有 9 个家鸭品种的主体单倍型, 占鸭个体样本

的 43.4%。其余如下: Z3 出现 7 次、Z4 出现 8 次、Z9 出现 8 次、Z12 出现 3 次、Z13 出现 3 次、Z15 出现 3 次、Z18 出现 3 次、Z24 出现 2 次。其它 22 个单倍型均为各品种所特有。

表 2 9 个品种鸭单倍型数量分布
Table 2 Number of D-loop haplotypes in 9 duck breeds

单倍型 Haplotypes	品种 Breeds								
	GY	CH	HN	MY	JJ	ES	WD	WS	YX
A7	5	8	4	6	3	4	6	6	4
Z2		1							
Z3		1			2	3			1
Z4	2	1	2	1	1	1			
Z5		1							
Z6		1							
Z7						1			
Z8						1			
Z9			2	1	3	1		1	
Z10						1			
Z11						1			
Z12	1		2						
Z13	2			1					
Z14	1								
Z15	1			1				1	
Z16			1						
Z17			1						
Z18					1			1	1
Z19									1
Z20									1
Z21									1
Z22									1
Z23									2
Z24				1	1				
Z25					1				
Z26					1				
Z27				1					
Z28								1	
Z29								1	
Z30								1	
Z31							1		

各品种之间单倍型类型和数目有差异, 本次试验测定的 106 条序列中, 攸县麻鸭单倍型类型最多 (8 种/12 条序列), 文登黑鸭单倍型类型最少 (2 种/7 条序列)。高邮鸭、沔阳麻鸭分别和其它品种鸭各有 5 种共享单倍型, 荆江麻鸭、淮南麻鸭、恩施麻鸭、徽山麻鸭分别和其它品种鸭有 4 种共享单倍型, 攸县麻鸭、巢湖鸭分别和其它品种鸭各有 3 种共享单倍型, 文登黑鸭和其它品种鸭只有 2 种共享单倍型。除共享单倍型 A7 型外, Z4 和 Z9 单倍型出现的次

数也较高, 各分别出现 8 次, 其次是 Z3 型。

2.2 9 个家鸭品种线粒体 DNA D-loop 区部分序列的遗传结构

2.2.1 9 个家鸭品种内单倍型多样度和核苷酸多态性 如表 3 所示, 9 个家鸭品种单倍型多样性 (Haplotype diversity) 总体为 0.798 ± 0.039 , 变化从 0.286 至 0.910。不同品种家鸭单倍型类型差异较大, 攸县麻鸭、荆江麻鸭和恩施麻鸭单倍型相对丰富, 文登黑鸭、巢湖鸭相对贫乏。荆江麻鸭的 D-

loop 区核苷酸突变位点在 9 个家鸭品种中比例最高,达 2.40%,其它品种的家鸭由高到低分别为攸县麻鸭 1.95%,恩施麻鸭 1.50%,微山麻鸭 1.35%,巢湖鸭、淮南麻鸭、沔阳麻鸭及高邮鸭均为 1.05%,文登黑鸭 0.6%。荆江麻鸭和攸县麻鸭个体之间平均核苷酸差异(K)最大,为 2.970 和

2.923,核苷酸多样性(Pi)分别为 0.004 6 和 0.004 4。对测定的 9 个家鸭品种 D-loop 区序列采用 Tajima's D 值进行中性检验,经检验均不显著,符合中性突变。说明这些家鸭在过去没有出现群体扩张,群体大小稳定。

表 3 9 个家鸭品种内单倍型多样性、平均核苷酸差异和核苷酸多样性
Table 3 Haplotype diversity, K and Pi of D-loop in 9 breeds ducks

品种 Breeds	样本数 Sizes	单倍型数 No. Haplotypes	变异位点比/% Variable sites	单倍型比/% Haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity	平均核苷酸差异 K	核苷酸多样性 Pi	Tajima's D
GY	12	6	1.05	50.0	0.818±0.096	1.212	0.001 8	-0.987 6
CH	13	6	1.05	46.2	0.641±0.150	1.282	0.001 9	-1.244 2
HN	12	6	1.05	50.0	0.864±0.072	1.697	0.002 6	-0.556 4
MY	12	7	1.05	58.3	0.848±0.104	1.545	0.002 3	-1.304 2
JJ	13	8	2.40	61.5	0.910±0.056	2.923	0.004 4	-1.460 9
ES	13	8	1.50	61.5	0.885±0.070	2.256	0.003 4	-0.483 1
WD	7	2	0.60	28.6	0.286±0.196	0.571	0.000 9	-1.237 2
WS	12	7	1.35	58.3	0.773±0.128	1.985	0.003 0	-1.001 3
YX	12	8	1.95	66.7	0.894±0.078	2.970	0.004 6	-0.768 6

2.2.2 9 个家鸭品种之间遗传距离 9 个家鸭品种之间基于线粒体 DNA 水平的 Kimura 双参数距离见表 4,由表 4 可见,9 个家鸭品种之间遗传距离变异范围为 0.001 3~0.004 4。攸县麻鸭与荆江麻

鸭、恩施麻鸭,恩施麻鸭和荆江麻鸭遗传距离相对较大,而文登黑鸭与沔阳麻鸭、高邮鸭以及巢湖鸭遗传距离较小。

表 4 9 个家鸭品种间 D-loop Kimura 双参数距离(对角线上)和标准误(对角线下)

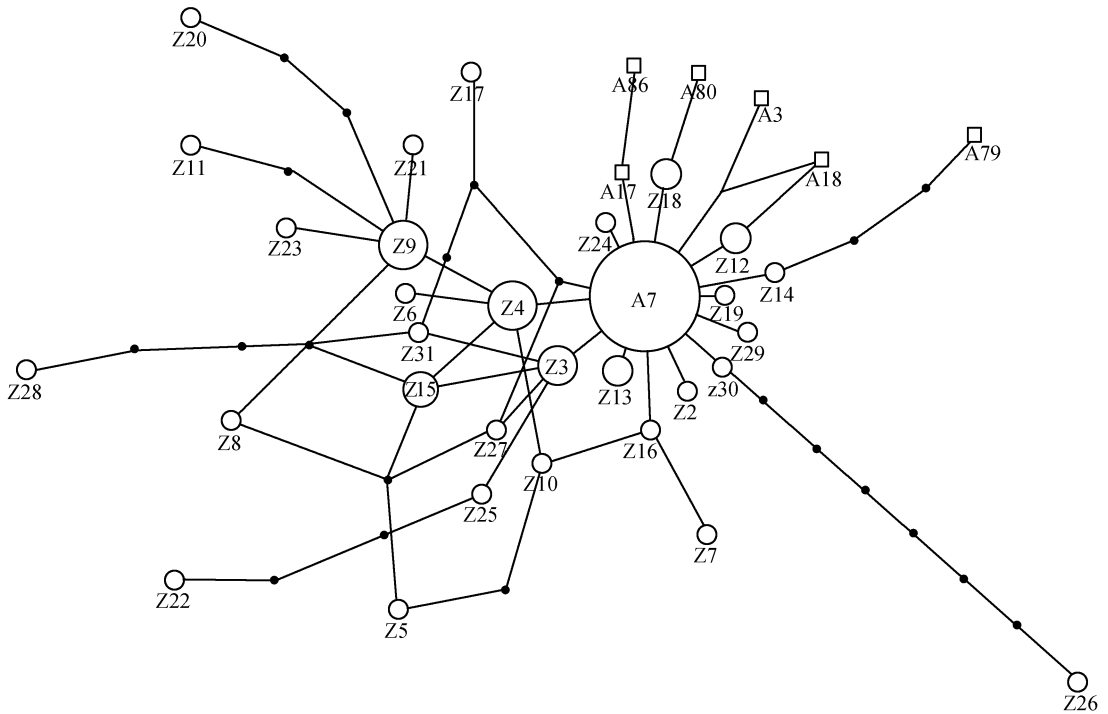
Table 4 Kimura 2-parameter distances (above diagonal) and standard error (below diagonal) of D-loop in 9 duck breeds

品种 Breeds	GY	CH	HN	MY	JJ	ES	WD	WS	YX
GY		0.001 8	0.002 2	0.001 7	0.003 2	0.002 7	0.001 4	0.002 4	0.003 4
CH	0.000 8		0.002 3	0.001 8	0.003 2	0.002 7	0.001 4	0.002 4	0.003 4
HN	0.000 9	0.000 7		0.002 2	0.003 5	0.003 0	0.001 8	0.002 8	0.003 5
MY	0.000 8	0.000 8	0.000 8		0.003 0	0.002 6	0.001 3	0.002 3	0.003 3
JJ	0.000 9	0.000 9	0.001 0	0.000 9		0.003 8	0.002 7	0.003 6	0.004 4
ES	0.001 0	0.001 0	0.001 1	0.001 0	0.001 1		0.002 3	0.003 2	0.003 9
WD	0.006 0	0.000 6	0.000 8	0.000 6	0.000 8	0.000 9		0.001 9	0.002 9
WS	0.000 9	0.000 8	0.000 9	0.000 9	0.001 0	0.001 1	0.000 8		0.003 8
YX	0.001 1	0.001 0	0.001 1	0.001 1	0.001 2	0.001 2	0.001 1	0.001 2	

2.2.3 家鸭线粒体 DNA D-loop 序列的网络关系

经过 Blast 发现测定的 106 条序列中除了 A7 外,还有两条序列和 GenBank 登录的序列相同,单倍型 Z14 即 A4 (GenBank 序列登录号为 AY506875-506876),单倍型 Z24 即 A8 (GenBank 序列登录号为 AY506887),另外从 GenBank 上获得来自于亚洲东北部绿头鸭相同线粒体 DNA D-loop

序列 (*Anas platyrhynchos*) 的 3 个单元型 (A80、A86、A79)、亚洲斑嘴鸭 (*Anas zonorhyncha*) 的 3 个单元型 (GenBank 登录号为 AY506873、AY506874 和 AY506904) 和美洲绿头鸭最常见的 3 个单元型 A17、A18、A3 共同构建了网络关系图 (图 2)。由于亚洲斑嘴鸭的 3 个单元型属于聚类簇 B,因此网络图中未单独画出。



单倍型数目对应圆面积, • 代表未检测到的单倍型, □ 代表从 GenBank 获得的单倍型

Amount of haplotypes is corresponding to proportion of round. • indicate haplotypes that were not sampled. □. Indicate haplotypes that were acquired from GenBank

图 2 鸭线粒体 DNA D-loop 单倍型发育关系无根网络图

Fig. 2 Unrooted network illustrating the phylogenetic relationships of A mtDNA control region haplotypes of Mallards

3 讨论

动物线粒体假基因(Numts)一般小于 600 bp, 它的存在会混淆系统发育和群体遗传研究, 本研究测序结果图未观察到多峰现象。据综合分析^[8], 本研究没有发现假基因的干扰。

本研究采集的样本都来自于各个保种场(区), 在收集原始群体时, 各个保种场(区)尽管努力做到个体之间无血缘关系, 但受到收集的原始样本的限制, 客观上不能完全排除保种场(区)原始群体之间不存在基因交流。有关江淮流域不同品种家鸭遗传多态性与系统进化的研究是基于保种区(场)样本的基础上的。

3.1 9 个家鸭品种线粒体 DNA D-loop 区序列变异与核苷酸多样性

本研究测定了 9 个家鸭品种共 106 个个体线粒体 DNA D-loop 5'端长约 667 bp 的多变区, 在品种间和品种内未发现长度变异, 均为 667 bp。变异类型有转换、颠换、插入/缺失 4 种, 以转换为主, 这和

在其它动物上观察到的一致。禽类 A+T 并不是显著高于 G+C 含量, 但 C 含量较高, 在其它禽类和不同的鸭种也得到一致的结果^[9,10], 这显然和哺乳动物不同^[11~14]。序列中有 1 处为连续 5 个碱基 T, 1 处为连续 5 个碱基 C, 1 处为连续 6 个碱基 T。9 个品种鸭单倍型多样性除文登黑鸭较低(0.286)外, 其它鸭品种均比较丰富(0.773~0.910), 本研究仅采到 7 个样, 文登黑鸭单倍型多样性较低显然和现存数量有密切关系。

在核苷酸变异的位置上 9 个家鸭品种和亚洲北部绿头鸭区别明显。本研究的 106 条江淮流域鸭 DNA D-loop 核苷酸的变异主要发生在 5'端 371 bp 范围内, 这和 Kulikova 等^[22]报道的欧亚大陆及阿拉斯加 152 只鸭的变异主要发生 5'端 351 bp 范围内稍有不同。第 521 位碱基变异位置相同, 另外本研究还观察到在 428、478、483、550 和 566 位置上有碱基变异, 但在 639 和 661 位置上未观察到变异。在 211 位置上也观察到有缺失, 但在 167 位置上观察到的碱基插入国外未见报告。

9 个家鸭品种 mtDNA 的平均核苷酸多样性为

0.28%，显著低于牦牛（1.231%）^[11]，黄牛（2.16%）^[15]，高于鸡（< 0.001%）^[16]而和猪（0.122%）^[12]近似。Kulikova 等报道聚类簇 A 平均核苷酸差异达到 4.3，亚洲北部绿头鸭核苷酸多样性达 0.83%，我国这 9 个家鸭品种平均核苷酸差异（0.28%）低于 Kulikova 等的报道，原因主要是由于文登黑鸭的核苷酸多样性较低。较低的核苷酸多样性还表明，同一起源的家鸭 mtDNA 群体分化程度较低，它们拥有较近的共同祖先，这与其它家禽的分析结果一致^[17]。

3.2 9 个家鸭品种之间遗传距离

利用线粒体 D-loop 区进行的分子遗传分析是基于母系起源水平上的，另一方面不同的技术方法和在 DNA 上不同位置计算出的遗传距离也是不一样的。本研究仅是从线粒体层面来反映位于我国中东部地区的这些家鸭品种之间的遗传距离。

可以明确的是，我国至少从西周开始就饲养鸭^[18]。从明清开始就对家鸭进行了有针对性的选育，我国大部分优良鸭品种也主要是在这一时期形成的，总体演化时间不到千年。近代在不注意对原种保护的情况下，过多地进行品种之间的杂交改良也使得品种间遗传距离的进一步缩短。9 个家鸭品种的单倍型网络聚类图一部分呈现单一的树形关系，而另一部分呈现出的相互关系也说明了品种间可能存在的基因交流使得品种间遗传距离缩短。Ramirez 等^[19]曾对北京鸭和中国南方饲养的菜鸭的 D-loop 和部分 rRNA 基因序列进行过比较研究，结果发现尽管有地理位置的隔离，北京鸭和南方菜鸭 D-loop 相似度竟达到 99.8%。

9 个品种之间基于线粒体 DNA 水平上的 Kimura 双参数遗传距离变异范围为 0.0013~0.0044，其中攸县麻鸭与荆江和恩施麻鸭，恩施麻鸭和荆江麻鸭遗传距离相对较大，而文登黑鸭与沔阳麻鸭、高邮鸭以及巢湖鸭遗传距离较小。攸县麻鸭与荆江和恩施麻鸭中间不仅隔着长江，而且地理距离也相对较远。令人不解的是恩施麻鸭和荆江麻鸭地理位置相距并不太远，遗传距离却相对较远，恩施地处少数民族地区，州境内大面积隆起成山，有四大山脉，这是否构成了天然的地理隔离，抑或有其它未知因素的影响。从总体上看，东线品种的鸭遗传距离相对较小，演化时间相对较短，而中线品种的鸭遗传距离相对都比较大，演化时间相对较长。据此推断长江中游的鸭起源可能早于东线的鸭，单倍

型网络聚类图也支持了人们的推测，单倍型 Z20、Z11、Z28、Z22、Z26 均属于中线品种的单倍型，而从最普遍的单倍型 A7 变异到单倍型 Z20、Z11、Z28、Z22、Z26 所需的变异次数最多，提示从单倍型 A7 演化到这些单倍型的时间可能也最长。

3.3 9 个家鸭品种的系统地位与起源进化

Avise 等^[20]和 Johnson 等^[21]对相同位置线粒体 DNA D-loop 区的序列研究已经表明，目前世界上鸭明显聚为两个单倍型簇：聚类簇 A 和聚类簇 B 或称为 1 型和 2 型，聚类簇 A 的分布最为广泛和普遍，从俄罗斯西部、哈萨克、中国、俄罗斯远东一直到阿拉斯加中部。而聚类簇 B 的大部分单倍型存在于阿拉斯加。亚洲的绿头鸭属于聚类簇 A，而斑嘴鸭一部分属于聚类簇 A，另一部分属于聚类簇 B，属于聚类簇 B 的斑嘴鸭大部分分布在北美洲，分布在亚洲很少，Kulikova 等^[22]仅在亚洲远东的地区发现了 3 个属于聚类簇 B 的单倍型支，但这个分支不同于北美洲，它们在 GenBank 登录号为 AY506873、AY506874 和 AY506904。

亚洲的绿头鸭可以在世界范围内和其它亲缘较近的鸭杂交，引入澳大利亚和新西兰后，它和当地灰鸭杂交。斑嘴鸭繁殖区域在中国东北区域、日本北部以及俄罗斯远东地区的南部等也和亚洲的绿头鸭重叠在一起。在日本^[23]、香港^[24]和海参崴^[25]发现斑嘴鸭和绿头鸭的自然杂交后代。这也是中国家鸭起源于绿头鸭和斑嘴鸭二元论的另一个重要原因。

斑嘴鸭主要分布于中国东部及东北部各省。在长江中下游和华东地区有终年留居。斑嘴鸭被认为和中国家鸭的起源有关，一方面是由于其部分表型特征，有报道发现我国农村饲养的部分家鸭中曾有黑色的尖嘴呈黄色，也有人把它称为黄尖嘴鸭，它和斑嘴鸭相像。

一方面由于属于聚类簇 B 的斑嘴鸭在亚洲很少，另一方面由于迄今为止在我国中东部地区没有发现相当数量的斑嘴鸭和绿头鸭的自然杂交后代，笔者从 9 个保种区(场)采集的样本中也未观察到具有和斑嘴鸭表型相像的鸭，更为主要的是，本研究显示：位于我国中东部地区的这 9 个家鸭品种线粒体 DNA D-loop 区有 31 个单倍型网络聚类图均属于聚类簇 A，未发现有属于聚类簇 B 的单倍型支。因此从线粒体层面来说，本研究结果不支持这 9 个家鸭品种有两个起源的说法，同时表明这 9 个家鸭品种只有一个起源，即亚洲的绿头鸭。

4 结 论

利用 DNA 测序技术测定了位于我国中东部地区的 9 个家鸭品种 106 个个体 DNA 控制区多态序列,确定了 31 种单倍型,其中单倍型 A7 为家鸭的主体单倍型。家鸭品种单倍型多样性在荆江麻鸭中最高,在文登黑鸭中最低。家鸭单倍型序列的系统发生分析表明,这 9 个品种的家鸭只有 1 个母系起源,没有发现东亚斑嘴鸭对这 9 个家鸭品种起源有贡献的证据。

参考文献:

- [1] 邱祥聘. 中国家禽品种志[M]. 上海: 上海科技出版社, 1989.
- [2] 常 洪. 家畜遗传资源学纲要[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 112~123.
- [3] 赖松家, 刘延鑫, 李学伟, 等. 四川黄牛品种线粒体 DNA 遗传多样性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(9): 887~892.
- [4] 张汤杰, 李慧芳, 常 洪, 等. 江淮流域 9 个家鸭品种的分子生物地理演化过程分析[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(2): 133~138.
- [5] Sorenson M D, Ast J C, Dimcheff D E, *et al.* Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 1999, 12: 105~114.
- [6] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. *Bioinformatics*, 2003, 19: 2 496~2 497.
- [7] 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.
- [8] McCracken K G, Sorenson M D. Is homoplasy or lineage sorting the source of incongruent mtDNA and nuclear gene trees in the stiff-railed ducks (*Nomonyx Oxyura*) [J]. *Syst Biol*, 2005, 54(1): 35~45.
- [9] Randi E, Lucchini V. Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris* [J]. *J Mol Evol*, 1998, 47: 449~462.
- [10] Kulikova I V, Zhuravlev Y N, McCracken K G. Asymmetric hybridization and sex-biased gene flow between eastern spot-billed ducks (*Anas zonorhyncha*) and mallards (*Anas platyrhynchos*) in the Russian Far East [J]. *Auk*, 2004, 121(3): 930~949.
- [11] 赖松家, 王 玲, 刘益平. 中国部分牦牛品种线粒体 DNA 遗传多态性研究[J]. *遗传学报*, 2005, 32(5): 463~470.
- [12] 兰 宏, 王 文, 施立明. 西南地区家猪和野猪 mtDNA 遗传多样性[J]. *遗传学报*, 1995, 22(1): 28~33.
- [13] 罗玉柱, 成述儒, Batsuuri Lkhagva, 等. 用 mtDNA D-环序列探讨蒙古和中国绵羊的起源及遗传多样性[J]. *遗传学报*, 2005, 32(12): 1 256~1 265.
- [14] 雷初朝, 陈 宏, 杨公社. 中国驴种线粒体 DNA D-loop 多态性研究[J]. *遗传学报*, 2005, 32(5): 481~486.
- [15] 刘若余, 夏先林, 雷初朝. 贵州黄牛 mtDNA D-loop 遗传多样性研究[J]. *遗传*, 2006, 28(3): 279~284.
- [16] Wakana S, Watanabe T, Hayashi Y, *et al.* A variant in the restriction endonuclease cleavage pattern of mitochondrial DNA in the domestic fowl, *Gallus gallus domesticus* [J]. *Anim Genet*, 1986, 17(2): 159~168.
- [17] 王继文, 邱祥聘, 曾凡同. 中国主要家鹅品种的遗传分化研究 [J]. *遗传学报*, 2005, 32(10): 1 053~1 059.
- [18] 李 群, 李士斌. 我国养鸭史初探 [J]. *农业考古*, 1994, 1: 307~309.
- [19] Ramirez Z, Savoie P, Wilson R K. Molecular characterization and evolution of a duck mitochondrial genome [J]. *J Mol Evol*, 1993, 37: 296~307.
- [20] Avise J C, Ankney C D, Nelson W S. Mitochondrial gene trees and the evolutionary relationship of mallard and black ducks [J]. *Evolution*, 1990, 44: 1 109~1 119.
- [21] Johnson K P, Sorenson M D. Phylogeny and biogeography of dabbling ducks (Genus: *Anas*): A comparison of molecular and morphological evidence [J]. *Auk*, 1999, 116: 792~805.
- [22] Kulikova I V, Drovetski S V, Gibson D D, *et al.* Phylogeography of the mallard (*Anas platyrhynchos*): Hybridization, dispersal, and lineage sorting contribute to complex geographic structure[J]. *Auk*, 2005, 122: 949~965.
- [23] Brazil M A. *The Birds of Japan* [M]. Washington D C: Smithsonian Institution Press, 1991.
- [24] Melville D S. Apparent hybrid Mallard Spot-bill ducks [C]. *Hong Kong Bird Report*, Hong Kong Bird Watching Society, 1997. 150~155
- [25] Zhuravlev Y N, Nechaev V A, Kulikova I V. Ein Hybrid erpel von stockund fleckschnabelente *A. platyrhynchos* *A. poecilorhyncha* in rublands Maritim-Provinz (Primorje) [J]. *Ornithologische Mitteilungen*, 2002, 54: 378~379.