

鸭亲本间遗传距离与杂交后代杂种优势关系的研究

苏 瑛,刘楚吾¹,叶昌辉¹,刘 丽¹,张 锦²,蔡笛扬²,黄毓青¹,曹五七¹

(1. 广东海洋大学, 广东 湛江 524088; 2. 湛江坡头区畜牧局, 广东 湛江 524000)

摘要:运用随机扩增多态 DNA 方法,对樱桃谷鸭、麻鸭及其杂交一代和用 F_1 作为母本再与父本番鸭属间杂交培育的三元杂交半番鸭(F_2)基因组 DNA 进行了遗传分析。结果表明,RAPD 可用于有效标记鸭品种之间遗传亲缘关系和杂种优势预测;在所使用的 20 种随机引物中,5 个鸭种共产生 760 条带,其中多态性带 568 条,占总条带数的 74.7%,说明鸭群体具有较为丰富的遗传多样性;杂交一代多态性位点比例为 67.9%,遗传相似度为 0.822 7,三元杂交二代多态性位点比例为 83.1%,遗传相似度为 0.826 4。说明三元杂交子二代的杂种优势可以用杂种优势理论中的显形假说来解释。

关键词:随机扩增多态 DNA; 杂交子一代; 杂交子二代; 杂种优势; 遗传距离

中图分类号:S834 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2006)02-0127-05

Relationship of Parental Genetic Distance with Crossing Offspring Heterosis in Ducks

SU Ying¹, LIU Chu-wu¹, YE Chang-hui¹, LIU Li¹, ZHANG Jin², CAI Di-yang²,
HUANG Yu-qing¹, CAO Wu-qi¹

(1. Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Zhanjiang Potou Bureau of Animal Husbandry, Zhanjiang 524000, China)

Abstract: The random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was applied to the genetic analysis of Muscovy, Cherry Valley Meat ducks Partridge ducks and their crossbreed F_1 and F_2 . The results indicated that the RAPD was an effective marker for the analysis of genetic relationship among ducks. 760 fragments were generated by using 20 primers, among which, 568 were polymorphic. The percentage of polymorphic markers was 74.7%, which indicated that the RAPD had higher efficiency of polymorphism detection and sensitivity in studying the genetic variation among ducks and showed that the genetic polymorphism was abundant among species of ducks population. The ratio of polymorphic loci and genetic similarity in the first filial and second filial were also calculated, and the values were 67.9%, 83.1% and 0.8227, 0.8264, respectively. This result revealed that the heterosis of the second filial could be explained by the dominance hypothesis.

Key words: RAPD; First filial (F_1); Second filial (F_2); Heterosis; Genetic distance

杂交是现代家禽生产的主要方式,对于杂交效果的分析和预测也因此变得日益重要。育种学家最初是用数量遗传学的方法,通过对配合力和遗传距离的测定来预测杂种优势,这需要大量的组合,花费大量的时间和人力,具有很多的局限性。分子生物学研究,为从分子水平上预测杂种优势提供了可能

性,在此领域已有不少的报道^[1~4]。RAPD 作为一种简便的遗传标记,已经广泛应用于群体遗传变异分析、基因定位以及预测杂种优势^[5~10]。当前鸭的育种中,以番鸭作为父本与家鸭属间杂交培育的半番鸭或称骡鸭,具有生长速度快,含瘦肉量高,是当今最有发展潜力的肉用仔鸭品种,在世界养鸭业中将

收稿日期:2005-11-08

基金项目:广东省科技厅项目(A200099A01)

作者简介:苏 瑛(1962-),女,陕西人,副教授,在读博士,主要从事家禽资源生态研究;刘楚吾为通讯作者。

继北京鸭、番鸭成为世界第三大类肉鸭^[11]。而本研究用本地麻鸭(♀)与樱桃谷鸭(♂)杂交得到的 F_1 作为母本与父本番鸭属间杂交培育的三元杂交半番鸭,是否也会产生明显的杂种优势,采用随机扩增多态DNA方法进行分析,探讨遗传距离与杂种优势的关系,以期能快速、准确的对杂交后代进行分析鉴定,为杂种优势提供分子生物学基础,将其与常规育种技术相结合,可缩短育种周期,为鸭品种的合理利用提供科学的依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验用番鸭、樱桃谷鸭、麻鸭及杂交后代 F_1 (樱桃谷鸭♂×麻鸭♀)、 F_2 (F_1 ♀×番鸭♂)血样均采自湛江坡头六旺种鸭场。翅静脉下抽取约1.5 mL血液,ACD抗凝,于-20℃保存。每个品种各20只。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取 抽取50 μL血于1.5 mL Eppendorf管中,加入500 μL的STE(NaCl 100 mmol/L, Tris-HCl 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, pH 8.0),10 000 r/min离心10 min。弃去上清液,在沉淀中加入50 μL STE溶解沉淀,加入450 μL裂解液(Tris-HCl 10 mmol/L, EDTA 100 mmol/L, SDS 5 g/L, pH 8.0)和蛋白酶K 5 μL,轻轻摇匀,55℃水浴消化3~4 h。待样品裂解成为澄清黏稠的液体后,先用等体积的苯酚:氯仿(1:1)抽提2次,10 000 r/min离心10 min。取上清液,再用氯仿抽提1次,10 000 r/min离心10 min取上清液,加2倍体积无水乙醇沉淀。收集DNA絮状沉淀,然后用70%乙醇漂洗2~3次后,室温自然晾干。待无酒精味后,加入TE(Tris-HCl 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, pH 8.0)溶解,紫外分光光度计定量,置4℃下保存备用。

1.2.2 DNA的检测和定量 将母液各取6 μL,用1.5%的琼脂糖凝胶电泳,根据电泳结果评价所提取DNA的浓度、纯度及完整性以评估所提取的基因组DNA能否用于PCR。

1.2.3 PCR反应 体系为25 μL,其中含有10 mmol/L Tris-HCl, 50 mmol/L KCl, 2.0 mmol/L MgCl₂ 2 μL, 200 μmol/L dNTPs 1 μL, 随机引物(5 pmol/μL) 1 μL, 基因组DNA (50 ng/μL) 1 μL, Taq DNA聚合酶(5 U/μL) 0.4 μL,反应混合物用石蜡油覆盖。PCR反应过程依次为:94℃预变性200 s,94℃变性20 s,36℃退火40 s,72℃延伸70 s,经40个循环后再在72℃延

伸300 s。每个引物都设立一个空白对照组。

1.2.4 试剂和仪器 所用的引物、TaqDNA聚合酶及其配套试剂, dNTPs、λDNA/EcoR + Hind II Marker等为华美生物有限公司产品,PCR扩增仪为Hema480,取10 μL扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶(含0.5 μg/mL EB)电泳,电压5 V/cm,常用荧光染料溴乙锭(EB)染色,用Tanon GIS-2008紫外凝胶分析仪观察DNA条带并拍照分析。

1.2.5 数据处理 群体内个体间遗传相似度根据公式 $F = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ 计算,式中 N_{xy} 为x和y两个个体共有的扩增带; N_x 、 N_y 为x和y个体分别拥有的扩增带。

个体间遗传距离指数 $D = 1 - F$ 。

群体间遗传距离(D) = $-\ln[S_{ij}/(S_i S_j)0.5]$ ^[12]。式中 S_{ij} 为群体间遗传相似度,表示群体i和群体j间所有配对个体相似系数的平均值, S_i 、 S_j 分别为群体i和群体j内所有配对个体相似系数的平均值。

将RAPD标记作为等位基因进行多态分析,多态位点比例 $p = \text{多态位点数} / \text{总位点数}$ 。

观察分析电泳谱带时,只统计清晰、重复性好的条带。有带计为1,无带计为0,根据D值由UPGMA(unwighed pair group method and arithmetical analysis)聚类分析统计软件构建它们的分子进化树。

2 结果与分析

2.1 引物的筛选

从120个系列引物中经预备实验选出重复性好、图谱清晰、具有多态性扩增产物条带数较多的引物35个,从中再选取20个10 bp碱基随机引物用于对5个鸭种所有个体的基因组DNA进行PCR扩增(表1)。

2.2 RAPD扩增

扩增产生的片段数为1~14条,片段大小介于200~4 000 bp。20条引物5个鸭种共产生760条带,其中多态性带568条,占总条带数的74.7%。番鸭扩增出的片段总数较多(164条),麻鸭扩增的片段总数为159条,番鸭多态位点125条,麻鸭的112条。而 F_1 和 F_2 鸭的扩增条带数较少,分别为134和136条, F_1 多态位点最低为91条,多态位点比例为67.9%, F_2 多态位点为113条,多态位点比例最高为83.1%。部分引物的扩增结果如图1~5所示。

由表1可见,不同引物扩增出来的位点多态性有

Fig.5 The electrophoresis patterns of RAPD from hybrids F₂ ducks after amplified random amplified with primers OPV18

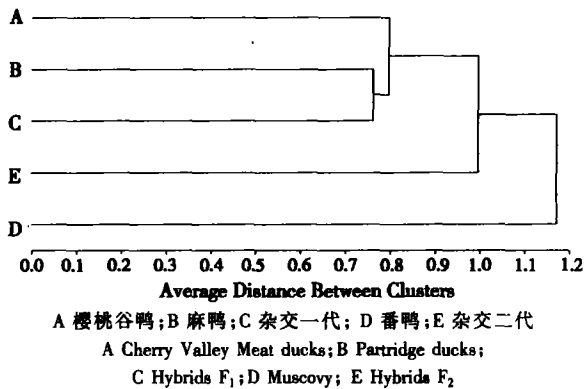


图 6 品种间 NJ 聚类图
Fig.6 The NJ topology tree based on genetic distanced among breeds

2.3 子代群体遗传结构及其与双亲的遗传差异

根据 RAPD 的扩增结果得到樱桃谷鸭、麻鸭、番鸭及 F₁ 和 F₂ 品种间的片段共享度及遗传距离指数矩阵图(表 2)。由计算结果可见 F₁ 与父本的遗传相似性数为 0.649 5,而与母本的为 0.670 0, F₂ 与父本的遗传相似性系数为 0.543 8,而与母本的为 0.561 2,表明 F₁ 及 F₂ 鸭主要继承其母本鸭的遗传物质,但同时也拥有父本的遗传物质。

表 2 5 个鸭种间的相似系数和遗传距离

Tab.2 Inter-and intra-population genetic distances and genetic similarity among five species of ducks

	樱桃谷鸭 Cherry valley ducks	麻鸭 Partridge ducks	F ₁ (C ♂ × P ♀)	番鸭 Muscovy	F ₂ (F ₁ ♂ × M ♀)
樱桃谷鸭(C)	0.7888	0.3395	0.3505	0.5256	0.4019
Cherry valley ducks					
麻鸭(P)	0.6606	0.7629	0.3300	0.5294	0.4546
Partridge ducks					
F ₁	0.6495	0.6700	0.8227	0.5228	0.4388
番鸭(M)	0.4744	0.4706	0.4772	0.8264	0.4562
Muscovy					
F ₂	0.5981	0.5455	0.5612	0.5438	0.8264

注:对角线上方为遗传距离,对角线下方为相似系数。黑体字为群体内遗传相似性系数

Note: Figures above the diagonal line means the genetic distances of ducks. And that under the diagonal means the genetic similarity of ducks. Black words means inter-population genetic similarity

3 讨论

在本研究中,通过遗传标记分析证明了 F₁ 及 F₂ 鸭在继承大部分母本鸭遗传物质的同时,也融合了来自父本鸭的遗传物质,这表明对于子代鸭选育有重要意义。陈晖等^[13]曾用不同品种的家鸭与番鸭正、反杂交测定后裔半番鸭白羽率,发现半番鸭白羽色与母本品种有关。现代育种学研究成果表明,远缘杂交结果发生真正的精卵结合,但杂种一代通常不

育。在本研究中,我们用家鸭 F₁ 与番鸭属间杂交获得的 F₂ 不育。

本试验用 RAPD 技术筛选 20 个有效引物研究樱桃谷鸭、麻鸭及番鸭各亲本间的亲缘关系,在扩增出的多态性片段中,共享片段条数的多少反映了物种的亲缘关系,亲缘关系较近的物种间共享片段较多,反之则较少。在 760 条扩增片段中,亲缘关系较近的樱桃谷鸭和麻鸭间的共享片段为 72 条,樱桃谷鸭和番鸭间的共享片段为 51 条,麻鸭和番鸭间为 52 条,这些共享片段以及每一物种扩增的特征片段对鸭的种质鉴定以及亲缘关系的确定都具有十分重要的意义。

各群体内的平均遗传距离指数以 F₂ (0.2341) 最高,说明 F₂ 的遗传多样性最为丰富。F₁ 杂种群体的平均遗传距离指数低于杂交亲本,而 F₂ 杂种群体的高于其亲本,进一步说明利用番鸭属间杂交提高了杂种子二代群体的遗传多样性程度。

各群体间的平均遗传距离指数表明,麻鸭和 F₁ 间遗传距离指数最小(0.330 0),与樱桃谷鸭的为 0.339 5,而番鸭与麻鸭、樱桃谷鸭及 F₁ 之间遗传距离指数较大,与麻鸭最大(0.529 4),与樱桃谷鸭和 F₁ 的遗传距离分别是 0.525 6 和 0.522 8,说明麻鸭和 F₁ 及樱桃谷鸭的亲缘关系较近,番鸭与所有鸭种的亲缘关系较远。这与事实是一致的,因为栖鸭属(*Cairina*)的番鸭与河鸭属(*Anas*)的各品种(樱桃谷鸭和麻鸭)属于同科不同属, F₂ 为属间杂交后代。番鸭称瘤头鸭(*Muscory* 或 *Domestiemuscory duck*),学名为 *Cairina moschata* L. 河鸭属的各鸭类之间的遗传距离都小于 0.359 5。根据群体间的平均遗传距离构建的各群体间的分子聚类关系(图 6)也已充分说明了各鸭群体间的遗传亲缘关系。表现在 UPGMA 聚类图谱上番鸭独成一支^[14]。

图 6 不仅充分说明了樱桃谷鸭、麻鸭及其 F₁ 较近的亲缘关系以及与番鸭及 F₂ 较远的亲缘关系,也进一步说明番鸭和樱桃谷鸭与麻鸭间的遗传分化比较明显,樱桃谷鸭与麻鸭间的亲缘关系较近。因此根据这一结果可以预期番鸭与樱桃谷鸭及麻鸭杂交的 F₁ 属间杂交培育的 F₂ 其杂种优势要大于樱桃谷鸭与麻鸭杂交的 F₁ 的杂种优势。遗传距离是不同种群间遗传差异的度量,从理论上说,在一定范围内,亲本种群间遗传距离越大,其杂交后代的杂种优势越大。又因基因的非加性效应是产生杂种优势的主要原因,杂种群有关基因位点的杂合度将与杂种

优势的大小直接相关。RAPD 标记的条带相似系数在一定程度上反映了群体的近交程度或基因纯合度^[15]。本试验 DNA 标记估测的亲本间遗传距离,反映了它们之间的真实遗传关系。 F_1 因为父母本之间均为家鸭,遗传距离最小, F_2 父母本为不同属间的品种,因此遗传距离较大。本研究结果表明,亲本间遗传距离可以用来预测杂种优势的大小。

参考文献:

- [1] LUO Su-lan, HE Pu-chao, ZHENG Xue-qin, *et al.* Inheritance of RAPD markers in an interspecific F_1 hybrid of grape between *Vitis quinquangularis* and *V. vinifera*[J]. *Scientia Horticulturae*, 2002, (93): 19 - 28.
- [2] WU Zhi-liang, Isao Nagano, Atsushi Matsuo, *et al.* The genetic analysis of F_1 hybrid larvae between female *Trichinella spiralis* and male *Trichinella britovi*[J]. *Parasitology International*, 2000, (48): 289 - 295.
- [3] Olaf Werner, Pedro Sanchez-Gomez, Guerra Juan. *et al.* Identification of *Pistacia saportae* Burnat (*Anacardiaceae*) by RAPD analysis and morphological characters[J]. *Scientia Horticulturae*, 2001, (91): 179 - 186.
- [4] Cepica S, Wolf J, Hojny J, *et al.* Relationship between genetic distance of parental pig breeds and heterozygosity of their F_1 crosses measured genetic markers[J]. *Animal Genetics*, 1995, 26: 135 - 140.
- [5] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful genetic markers[J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 6531 - 6535.
- [6] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 7213 - 7218.
- [7] Hillel J, Dunnington E A, Sigel P B. DNA markers in poultry breeding and genetic analyses[J]. *Poult Sci Rev*, 1992, 4: 169 - 186.
- [8] Haberfeld A, Dunnington E A, Siegel P B, *et al.* Heterosis and DNA finger printing in chickens[J]. *Poultry Sci*, 1996, 75: 951 - 953.
- [9] Haberfeld A, Dunnington E A, Siegel P B. Genetic distance estimated from DNA finger print in crosses of white Plymouth Rock chickens[J]. *Anim Genet*, 1992, 23: 167 - 173.
- [8] 张西锋, 耿社民, 陈 宏, 等. 秦川牛及其杂种牛肉用性能的 RAPD 标记[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(1): 113 - 116.
- [9] 陈奕欣, 陈小麟, 吕良炬, 等. 家鸭资源利用及优良品种培育[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2001, 40(2): 642 - 646.
- [10] 陈艳荣, 王继文. 遗传标记在水禽育种中的应用[J]. 四川畜牧兽医, 2003, 30(2): 31 - 32.
- [11] 陈 晖, 陈岩峰, 郑丽祯, 等. 番鸭与家鸭属间杂交 F_1 半番鸭羽色遗传分析[J]. 中国畜牧杂志, 2003, 39(1): 19 - 20.
- [12] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(10): 5269 - 5273.
- [13] 陈 晖, 檀俊秩, 刘玉涛, 等. 半番鸭白色羽毛性状的选择及其效应分析[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(5): 406 - 410.
- [14] 陈奕欣, 左正宏. RAPD 技术探讨几种家鸭与野鸭遗传多样性及亲缘关系[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2001, 40(1): 141 - 145.
- [15] 施启顺, 柳小春, 吴晓林. 商品杂种猪生长和肉用性状的杂交效果参数与 RAPD 带纹相似系数间关系浅析[J]. 遗传学报, 2001, 28(8): 722 - 729.