

朱志明, 段园园, 缪中纬, 等. 微卫星标记预测半番鸭生长性状的杂种优势 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (12): 1169-1172.

Zhu Z-M, DUAN Y-Y, Miao Z-W, et al. Heterosis Prediction of Growth Traits of Mule Duck by Microsatellite Markers [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 27 (12): 1169-1172.

微卫星标记预测半番鸭生长性状的杂种优势

朱志明¹, 段园园², 缪中纬¹, 郑嫩珠¹, 辛清武¹, 陈 晖¹

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建 福州 350013,

2. 福建省农业科学院农业经济与科技信息研究所, 福建 福州 350003)

摘 要: 为探究微卫星标记与肉鸭生长性状杂种优势的相关关系, 利用 8 个微卫星标记对 M18 母本、大型母本、中型母本、小型母本和番鸭进行遗传多态性检测。结果表明, 8 个微卫星标记座位平均有效等位基因数为 2.888 1 个, 平均多态信息含量为 0.633 1, 平均基因杂合度为 0.518 1; 番鸭与 M18 母本、大型母本、中型母本、小型母本的遗传距离为 0.445 2、0.362 3、0.367 1 和 0.322 4。根据遗传距离, 采用对数曲线模型对白羽半番鸭体重杂种优势进行预测, T 检验结果显示, 预测结果与实测结果无显著性差异, 表明本研究建立的根据微卫星标记预测白羽半番鸭部分生长阶段体重杂种优势是可行的。

关键词: 微卫星标记; 半番鸭; 生长性状; 杂种优势

中图分类号: S 834

文献标识码: A

Heterosis Prediction of Growth Traits of Mule Duck by Microsatellite Markers

Zhu Zhi-ming¹, DUAN Yuan-yuan², Miao Zhong-wei¹, Zheng Nen-zhu¹, XIN Qing-wu¹, Chen Hui¹

(1. *Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China*; 2. *Institute of Agricultural Economy and Sci-technological Information, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China*)

Abstract: Genetic diversity of M18 parent, Large-female parent, Medium-female parent, Small-female parent and Muscovy ducks was studied using eight microsatellite markers in order to analyze the relationship of microsatellite polymorphisms and the heterosis of growth traits. The result indicated the average effective allele was 2.881, the average polymorphism information content was 0.6331, and the average gene heterozygosity was 0.5181. The genetic distances between muscovy duck with Large-female parent, Medium-female parent, Small-female parent were 0.4452, 0.3623, 0.3671 and 0.3224 respectively. According to the standard genetic distances, forecast the heterosis of mule duck by the model of logarithmic curve. There were no significant differences between the predicted results and the experimental determination by T test which demonstrated that using genetic polymorphism of microsatellite markers to forecast the heterosis of white-weather mule duck is practicable.

Key words: microsatellite markers; mule duck; growth traits; heterosis

半番鸭也称骡鸭, 是由公番鸭与母家鸭杂交生产的一种没有繁殖力的杂种鸭。由于半番鸭是属间杂交的产物, 因而具有较为明显的杂种优势, 其肉质细嫩, 味道鲜美, 胴体瘦肉率高, 较普通肉鸭有更高的生长速度和极强的抗逆性及抗病力, 深受养殖户和消费者青睐。目前半番鸭已占福建肉鸭养殖的 50% 以上, 年出栏 4 000 多万只, 供苗量达 1 亿

只以上, 是福建省市场的当家肉鸭。

微卫星 (microsatellite) DNA 又称串联重复序列长度多态性 (STR), 被认为是现有遗传标记中最有价值的一种^[1], 具有数量大、多态性丰富、分布广而均匀、检测方便等特点, 被广泛用于评估品种遗传多样性、估测品种间遗传距离、构建系统发生树、建立遗传连锁图谱及预测杂种优势等方

收稿日期: 2012-10-06 初稿; 2012-11-12 修改稿

作者简介: 朱志明 (1979-), 男, 助理研究员, 从事畜禽遗传育种研究 (E-mail: zzm10203@163.com)

通讯作者: 陈晖 (1949-), 女, 研究员, 从事畜禽遗传育种研究 (E-mail: chh5555@163.com)

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (nycytx-45-06); 福建省种业创新专项 (2011FJZY-9)

面^[2-6]。近年来,利用微卫星标记来估测群体间的遗传距离预测主要经济性状的杂种优势,取得了显著进展^[5-6]。本研究利用 8 个微卫星标记对番鸭、M18 母本、大型母本、中型母本和小型母本的遗传多样性进行了检测,计算出遗传距离,通过遗传距离与杂种优势的相关分析,预测各生产组合白羽半番鸭体重杂种优势,探讨利用微卫星标记技术预测杂种优势的可能性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验鸭群 父本白番鸭, M18、大型、中型和小型 4 个母本种鸭(公母各半), 4 个父母本杂交后代半番鸭(番鸭♂×大型♀、番鸭♂×中型♀和番鸭♂×小型♀)。每个亲本及其杂交后代半番鸭各 100~120 只, 共 900~1 180 只。试验鸭群

同时出雏, 全程饲养管理条件一致。饲养至 70 日龄, 每组随机采血 40 只(公母各半), 4℃ 保存, 用于提取血液基因组 DNA, 微卫星标记分析。

1.1.2 微卫星引物 从 20 多个微卫星引物中筛选了 8 个多态性较好的微卫星引物作为试验位点。所选引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 引物信息见表 1。

1.2 方法

1.2.1 血液基因组 DNA 的提取 常规酚-氯仿抽提法提取血液基因组 DNA, 溶于适量 TE, 置于-20℃ 保存。

1.2.2 PCR 扩增及银染检测 PCR 反应体系: 模板 DNA 50~100 ng, 10×buffer 2.5 μL, dNTPs 0.2 mmol·L⁻¹, 上下游引物各 0.5 μmol·L⁻¹, Mg²⁺ 2.0 mmol·L⁻¹, Taq DNA 聚合酶 1 U, 用超纯水补至 25 μL。

表 1 8 对鸭微卫星引物信息

Table 1 Information of 8 pair primers of duck microsatellites

座位	引物	重复序列	退火温度/℃	GenBank 序列号
APH10	F: ATTAGAGCAGGAGTTAGGAGAC R: GCAAGAAGTGGCTTTTTC	(CA) ₁₂	55	AJ272581
APL81	F: ATTAGAGCAGGAGTTAGGAGAC R: GCAAGAAGTGGCTTTTTC	(AC) ₁₂	58	AJ272581
APL82	F: GGACCTCAGG AAAATCAGTG TA R: GCAGGCAGAG CAGGAAATA	(CA) ₉	55	AJ272582
CMO12	F: GGATGTTGCC CCACATATTT R: TTGCCTTGTT TATGAGCCATT	(AT) ₁₅	58	AJ271212
SMO13	F: ACCATCTTCCTTTCCTCCCAACC R: GGGCTTGAGGCATACACTCCCTA	(TG) ₁₃	58	AJ427853
APL80	F: GGATGTTGCC CCACATATTT R: TTGCCTTGTT TATGAGCCAT TA	(AT) ₄ (GT) ₁₁	58	AJ272580
APL2	F: GATTCAACCTTAGCTATCAG R: CGCTCTTGCAAATGTCC	(CA) ₁₅ GA(CA) ₃₂ AAA(CAA) ₄	62	AY498540
APL11	F: AACTACAGGGCACCTTATTTCC R: TTGCATCAGGCTCTGTATTTTC	(GA) ₂₅	55	AY498541

PCR 反应条件: 95℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 50 s, 55~62℃ 复性 50 s, 72℃ 延伸 1 min, 30~35 个循环; 最后 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 保存。

扩增产物的银染检测: 扩增产物 95℃ 变性 5 min 后, 立即放入冰水中冷却, 点样 6 μL 在 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳检测, 200 V 恒压电泳, 电泳时间的长短依据 DNA 片段大小确定, 电泳结束后银染。银染后采用 BIO-RAD 凝胶成像系统拍照保存, 利用 ONEDscan 软件分析判断目的基因片段大小。

1.2.3 白羽半番鸭及其亲本体重测定 分别在出生后 0、3、6、8、9、10 周龄测定番鸭、M18 母

本、大型母本、中型母本和小型母本以及各杂交后代白羽半番鸭的体重(测定前停饲 12 h)。

1.3 数据统计分析

1.3.1 遗传信息的分析 统计 5 个鸭群体的等位基因组成, 计算各微卫星座位的基因频率; 根据公式计算各品种中的多态信息含量(Polymorphism Information Content, PIC)^[6]、各群体微卫星基因座的平均遗传杂合度(Heterozygosity, H)^[7]和各品种间的 Nei 氏遗传距离(D_A)^[8]。

1.3.2 杂种优势率(H)的计算 杂种优势率的计算公式: $H = H / (P_1 + P_2) / 2 \times 100\%$ 。

式中，H 为杂种优势值，P1、P2 分别代表父本、母本性状的均值。

1.3.3 遗传距离与杂种优势率的相关分析 采用 SPSS13.0 软件对微卫星标记计算出的遗传距离与各性状的杂种优势率进行相关分析。

2 结果与分析

2.1 微卫星遗传标记参数
等位基因数、有效等位基因数、多态信息含量和

基因杂合度,计算结果见表 2。由表 2 可知,8 个微卫星座位单个位点的等位基因数在 2.6~5.0 个,平均等位基因数为 3.625 0 个;有效等位基因数为 2.162 1~3.681 6 个,平均有效等位基因数为 2.888 1 个;多态信息含量在 0.535 0~0.724 1,平均多态信息含量为 0.633 1,各位点均为高度多态,其中最高的为 APL80,最低的为 APL81;基因杂合度 0.414 6~0.679 6,平均基因杂合度为 0.518 1,其中最高的为 APL80,最低的为 APL11。

表 2 8 个微卫星座位等位基因数、有效等位基因数、基因杂合度、多态信息含量
Table 2 Na, Ne, PIC and He on 8 microsatellite loci

位点	等位基因数 (Na)	有效等位基因数 (Ne)	多态信息含量 (PIC)	基因杂合度 (He)
APH10	2.8000	2.5889	0.6009	0.5200
APL81	2.6000	2.1621	0.5350	0.4272
APL82	2.8000	2.5066	0.5910	0.5053
CMO12	4.4000	3.2959	0.6879	0.6287
SMO13	3.6000	2.5979	0.6064	0.4579
APL80	5.0000	3.6816	0.7241	0.6796
APL2	3.0000	2.6261	0.6093	0.5118
APL11	4.8000	3.6454	0.7099	0.4146
位点均值	3.6250	2.8881	0.6331	0.5181

2.2 亲本种群间的遗传距离
根据遗传距离公式计算出各亲本间的奈氏遗传距离 (D_A) (表 3)。从表 3 中可以看出,番鸭♂×M18♀的遗传距离最大,其次为番鸭♂×大型♀、番鸭♂×中型♀,而番鸭♂×小型♀的遗传距离最小。

2.3 杂种优势测定结果
由表 4 可知,4 种白羽半番鸭群体在 3、6、8、9、10 周龄体重均存在显著的杂种优势,其中番鸭♂×M18♀表现最为明显,其次为番鸭♂×大型♀、番鸭♂×中型♀,番鸭♂×小型♀杂种优势最小。4 种白羽半番鸭的杂种优势率在第 3 周龄与遗

传距离显著相关 ($P<0.05$),在第 9 周龄极显著相关 ($P<0.01$),在 6、8、10 周龄不显著相关 ($P>0.05$)。

表 3 亲本种群间的遗传距离
Table 3 Genetic distance between parental populations

亲本组合	遗传距离(D_A)
番鸭♂×M18♀	0.4452
番鸭♂×大型♀	0.3623
番鸭♂×中型♀	0.3671
番鸭♂×小型♀	0.3224

表 4 亲本间的遗传距离与半番鸭各周龄体重杂种优势率相关分析
Table 4 Correlation between genetic distance and heterosis of weight at weeks of mule duck

亲本组合	3 周龄	6 周龄	8 周龄	9 周龄	10 周龄
番鸭♂×M18♀	0.2956	0.2674	0.2668	0.1925	0.1708
番鸭♂×大型♀	0.2759	0.2329	0.1912	0.1516	0.1370
番鸭♂×中型♀	0.2709	0.2329	0.1940	0.1648	0.1429
番鸭♂×小型♀	0.2357	0.1794	0.1440	0.1151	0.1066
相关系数	0.9768*	0.9158	0.9323	0.9974**	0.9482

注“*”表示差异显著($P<0.05$),“**”表示差异极显著($P<0.01$)。

2.4 半番鸭杂种优势的预测

对 4 种白羽半番鸭群体各周龄体重杂种优势与遗传距离进行对数 (Logarithmic) 函数^[4]拟合, 各周龄拟合方程如下:

$$3 \text{ 周: } y=0.1742\ln(x)+0.4419, R^2=0.871$$

$$6 \text{ 周: } y=0.2581\ln(x)+0.4836, R^2=0.901$$

$$8 \text{ 周: } y=0.3790\ln(x)+0.5741, R^2=0.999$$

$$9 \text{ 周: } y=0.2314\ln(x)+0.3850, R^2=0.926$$

$$10 \text{ 周: } y=0.1931\ln(x)+0.3304, R^2=0.961$$

对试验实测值和理论预测值进行 T 检验, 3、6、8、9、10 周龄的双尾显著性水平均大于 0.05, 这表明预测结果与实测结果无显著性差异, 说明得出的方程可以用来预测白羽半番鸭各群体相应周龄的杂种优势率。检验利用统计软件 SPSS13.0 对拟合方程进行回归分析: $P_{3\text{周}}=0.067$ 、 $P_{6\text{周}}=0.060$ 均 >0.05 , 说明 3、6 周龄对应的拟合公式预测效果较差; $P_{8\text{周}}=0.000$ 、 $P_{9\text{周}}=0.038$ 、 $P_{10\text{周}}=0.020$ 均 <0.05 , 说明 8、9、10 周龄的拟合公式预测效果较好, 可以对杂种优势率进行预测。

3 讨论与结论

3.1 本研究结果表明, 所用的 8 个微卫星标记在 5 个半番鸭亲本中均表现多态性, 可以用来估测半番鸭各亲本间的微卫星遗传距离。估测的遗传距离表明, 番鸭♂×M18♀的遗传距离最大, 其次为番鸭♂×大型♀、番鸭♂×中型♀, 而番鸭♂×小型♀的遗传距离最小, 该结果反映了不同杂交组合的遗传差异, 与杂交试验结果吻合。

3.2 一般来说, 分布地区较远, 来源差别较大的种群间杂交以及基因型相对较纯的种群间杂交, 可以获得较大的杂种优势^[9]。从本研究实测杂交结果看, 番鸭与 M18 杂种后代半番鸭各周龄体重的杂种优势率最高, 其次为番鸭与大型母本、番鸭与中型母本, 最低的为番鸭与小型母本。这可能是由于采用的父系白番鸭为中型的杂交法国番鸭, 以及各个母本早期生长速度存在较大差异, 导致杂交组合的遗传差异。

3.3 本研究的结果表明, 亲本间微卫星遗传距离与体重杂种优势率呈强正相关, 通过遗传距离与杂种优势率拟合的方程可以用来预测白羽半番鸭各群体相应周龄的杂种优势率, 但第 3、6 周龄的拟合效果较差 ($P_{3\text{周}}=0.067$ 、 $P_{6\text{周}}=0.06$ 均 >0.05),

而第 8、9、10 周龄的拟合效果较好 ($P_{8\text{周}}=0.000$ 、 $P_{9\text{周}}=0.038$ 、 $P_{10\text{周}}=0.020$ 均 <0.05), 说明微卫星标记不能较好地预测半番鸭 6 周龄前的杂种优势率, 能较好地预测 8 周龄后的杂种优势率。这与张扬等^[5]报道的第 4、6、10 周龄拟合效果较好, 第 8 周龄拟合效果较差的研究结果不一致。这有可能是由于研究过程中选取的微卫星座位不同, 所用母本不同, 饲养管理及生长环境存在差异。

3.4 一般而言, 杂种优势大小与相互杂交的两亲本种群间的遗传差异直接相关, 亲本间遗传距离与经济性状杂种优势率间存在不同程度的相关, 可以用亲本间的遗传距离来预测杂种优势^[10]。本研究结果表明利用微卫星标记估测亲本间遗传距离, 通过亲本间遗传距离来预测半番鸭的杂种优势是可行的。

参考文献:

- [1] ZHOU H J, LAMONT S J. Genetic characterization of biodiversity in highly inbred chicken lines by microsatellite marker [J]. *Animal Genetic*, 1999, 30: 256-264.
- [2] BISHOP M D, KAPPES S M, KEELE J W, et al. A genetic linkage map for cattle [J]. *Genetics*, 1994, 136: 619-639.
- [3] TAKAHASHI H, NIRASAWA K, NAGAMINE Y, et al. Genetic relationships among Japanese native breeds of morphemes [J]. *J Hered*, 1998, 89: 543-546.
- [4] HEARNE C M, GHOSH S, TODD J A. Microsatellites for linkage analysis of genetic traits [J]. *Trends Genet*, 1998, (8): 288-294.
- [5] 张扬, 李秀, 赵荣雪, 等. 利用微卫星 DNA 多态性预测半番鸭的杂种优势 [J]. *中国畜牧杂志*, 2011, 47 (17): 1-5.
- [6] 黄生强, 柳小春. 微卫星标记预测猪部分经济性性状杂种优势的研究 [J]. *湖南农业大学学报*, 2007, 35 (5): 592-594.
- [7] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32: 314-331.
- [8] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 32: 314-331.
- [9] 张英杰, 赵有璋, 刘月琴, 等. 3 个山羊群体中 4 个微卫星 DNA 多态性及其与杂种优势的关系 [J]. *遗传*, 2004, 26 (5): 631-636.
- [10] 刘昌林. 肉牛生长发育性状杂种优势与微卫星遗传距离的关系研究 [D]. 昆明: 西南大学, 2007: 42.

(责任编辑: 林海清)