

笼养蓝孔雀两个种群的随机扩增多态 DNA 分析*

柯亚永, 常弘, 苏应娟, 张国萍, 朱世杰

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 利用随机扩增多态 DNA 技术对英吉利孔雀场和广州动物园两个蓝孔雀 *Pavo cristatus* 种群进行了分析。用 23 个随机引物, 共获得 173 和 157 个扩增片段, 多态率分别为 47.40% 和 9.55%。

关键词: 蓝孔雀 *Pavo cristatus*; 基因组 DNA; 随机扩增多态 DNA

中图分类号: Q959.722 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 01-0123-02

蓝孔雀已成功驯养 3 000 多 a, 现在世界各地都有养殖, 其只是出现了几个突变, 如白孔雀、黑孔雀 *P. nigripennis*、“杂色”孔雀等。广州市花都区英吉利孔雀场多年来饲养的蓝孔雀的受精率最高可达 90% 以上, 繁殖力较高。为了从分子水平探究蓝孔雀保持高的繁殖力与遗传多样性高低的关系, 本研究采用随机扩增多态 DNA 技术对英吉利孔雀场和动物园的笼养蓝孔雀种群进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料 从英吉利孔雀有限公司和广州动物园长期饲养的蓝孔雀中分别随机抽取 21 只和 2 只, 雌雄各半, 肱静脉取血各 5 mL; -70 °C 冰箱保存备用。

1.2 方法 DNA 提取参照高盐沉淀法; 实验从 41 个 10 bp 随机引物 (Sangon 公司) 中选出 23 个有稳定扩增的进行全部个体的扩增 (表 1)。PCR 反应总体积为 25 μ L, 其中含 10 mmol/L Tris HCl (pH 8.0), 50 mmol/L KCl, φ = 0.08% NP, 2.0 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTP, 随机引物 11 pmol, 基因组 DNA 25 ng, Taq DNA 聚合酶 (Sangon 公司) 1.0 U, 反应混合物用 20 μ L 灭菌石蜡油 (Sangon 公司) 覆盖。PCR 扩增程序为: 95 °C 预变性 200 s, 94 °C 变性 30 s, 36 °C 复性 60 s, 72 °C 延伸 60 s, 共进行 40 个循环, 最后 72 °C 延伸 600 s (PERKIN GeneAmp PCRsystem 2400 型 PCR 仪)。扩增产物在含 φ = 0.05% 溴化乙锭的 w = 1.4% 的琼脂糖凝胶上水平电泳, DNA 相对分子质量标准为 Lambda DNA /Hind III+ EcoRI Markers, 电泳缓冲液为 1 $\times$ TAE, 恒压 4 V/cm 电泳约 1.5 h, 手提式紫外灯下观察照相。

1.3 数据分析

(1) 多样性分析 采用 Shannon 多样性指数

$$H_0 = -\sum \pi_i \ln \pi_i \quad (1)$$

其中, π_i 为一条扩增带在第 i 个群体中出现的频率^[1], H_0 可针对不同群体计算和比较。设 $H_{pop} = \sum H_0 / n$, 为 n 个不同群体内遗传多样性指数; 并设 $H_{sp} = -\sum \pi \ln \pi$, 为考虑所有群体时通过表型频率 π 计算出的遗传多样性指数。在所有遗传变异中, 群体内的遗传变异所占的比例为 H_{pop} / H_{sp} , 而群体间的遗传变异所占的比例为 $(H_{sp} - H_{pop}) / H_{sp}$ 。

(2) 个体间相对遗传距离 (D)^[2]

$$D = 1 - F, F = 2N_{xy} / (N_x + N_y) \quad (2)$$

D 为相对遗传距离, N_{xy} 为个体 X 和 Y 的 RAPD 反应扩增共有带数, N_x 和 N_y 为个体 X 和 Y 的 RAPD 反应扩增的带数, F 指共享片段指数。

2 结果与讨论

2.1 RAPD 扩增结果 英吉利孔雀有限公司的蓝孔雀在 23 个引物中都产生了多态片段, 共产生 173 个扩增片段, 其中多态率为 47.40%; 广州动物园的蓝孔雀在 11 个引物中产生了多态片段, 共产生 157 个扩增片段, 其中多态率为 9.55%。

2.2 遗传多样性分析 根据获得的扩增片段和公式 (1), 得出了两个种群内的 Shannon 多样性指数 (表 1) 和遗传多样性在两个种群的分化情况 (表 2)。发现蓝孔雀的 Shannon 多样性指数有 0.659 8, 比广州动物园的小群蓝孔雀的高了约 3 倍, 而由表 2 发现, 蓝孔雀的种群内遗传多样性高于种群间, 证实蓝孔雀种群的遗传多样性在笼养下也能保持较

* 收稿日期: 2001-11-23;

作者简介: 柯亚永 (1975—), 男, 硕士, 现在广东省野生动植物保护管理办公室工作;

通讯联系人: 常弘; E-mail: les49@zsu.edu.cn

高水平，从而为其较高的繁殖力提供了内在的遗传上的保证，因此，保持驯养动物较高的遗传多样性是提高其成活率、繁殖力和对品种进行改良的内在保证。

表 1 两个蓝孔雀种群的 Shannon 多样性指数¹⁾

Tab 1 The Shannon diversity index of two blue peafowl populations

引物	H 蓝	Z 蓝	引物	H 蓝	Z 蓝	引物	H 蓝	Z 蓝
S8	0.7624	0.0000	S164	0.7199	0.6931	S511	0.7766	0.0000
S77	0.1370	0.3466	S501	0.1711	0.0000	S512	1.4600	0.0000
S80	0.8841	0.3466	S503	0.8845	0.0000	S513	0.8903	0.3466
S84	1.5676	0.3466	S504	0.5825	0.0000	S515	0.4096	0.0000
S91	1.0655	1.3863	S505	0.7789	0.3466	S516	0.2977	0.0000
S94	0.5025	0.3466	S506	0.9656	0.0000	S517	0.1370	0.0000
S104	0.2227	0.0000	S507	0.1711	0.3466	S520	0.6693	0.3466
S159	0.8199	0.3466	S509	0.3001	0.0000	平均	0.6598	0.2260

1) H 蓝表示英吉利孔雀场的笼养蓝孔雀种群，Z 蓝表示广州动物园的蓝孔雀种群

表 2 蓝孔雀种群的遗传多样性分化情况

Tab 2 The distribution of genetic diversity of blue peafowl populations

引物	蓝孔雀			引物	蓝孔雀		
	H_{pop}	H_{sp}	H_{pop}/H_{sp}		H_{pop}	H_{sp}	H_{pop}/H_{sp}
S8	0.3812	0.7091	0.5376	S505	0.5627	0.8123	0.6928
S77	0.2418	0.1641	1.4739	S506	0.4828	0.9194	0.5252
S80	0.6153	0.9056	0.6795	S507	0.2588	0.1918	1.3492
S84	0.9571	1.5431	0.6202	S509	0.1501	0.2769	0.5420
S91	1.2259	1.1217	1.0929	S511	0.3883	0.7413	0.5238
S94	0.4246	0.6183	0.6866	S512	0.7300	1.3802	0.5289
S104	0.1113	0.2046	0.5442	S513	0.6184	0.9856	0.6274
S159	0.5833	0.8008	0.7283	S515	0.2048	0.3953	0.5181
S164	0.7065	0.7318	0.9655	S516	0.1489	0.2749	0.5415
S501	0.0855	0.2234	0.3828	S517	0.0685	0.1256	0.5455
S503	0.4423	0.9116	0.4852	S520	0.5080	0.6528	0.7782
S504	0.2912	0.6047	0.4816	平均	0.4429	0.6650	0.6892

参考文献:

[1] KING L M, SCHAAL B A. Ribosomal DNA variation and distribution in *Rudbeckia missouriensis*[J] . Evolution, 1989, 42: 1117—1119.

[2] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic distance in terms of restriction endonucleases[J] . Proceeding of the National Academy of Sciences, 1979, 76: 5269—5273.

[3] LANDE R, BARROWLOUGH G. Effective population size, genetic variation, and their use in population management // SOULE M E. Varble population for conservation. [M] . Cambridge: Cambridge University Press, 1987: 87—124.

A Study on Two Captive Blue Peafowl Populations by Random Amplified Polymorphic DNA

KE Ya yong, CHANG Hong, SU Ying juan, ZHANG Guo ping, ZHU Shi jie
(School of Life Sciences, Sun Yat sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Random amplified polymorphic DNA (RAPD) was used to study two captive blue peafowl (*Pavo cristatus*) populations of Yingjili peafowl farm and Guangzhou zoo. There were totally 173 and 157 bands respectively by using 23 random primers to amplify the genomic DNA of the two populations. The diversity ratio of them is 47.40% and 9.55% respectively.

Key words: blue peafowl (*Pavo cristatus*); genomic DNA; random amplified polymorphic DNA (RAPD)