

华东 27 个地方鸡品种(品系)的遗传变异

陈宽维¹, 李慧芳¹, 王金玉², 汤青萍¹, 沈见成², 章双杰¹

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

摘要: 应用 30 个微卫星标记对华东 27 个地方鸡品种(品系)进行了遗传多样性分析, 计算了多态信息含量、平均杂合度和遗传距离等遗传参数, 并用类平均法进行了聚类分析。结果表明: 平均杂合度最高的是河田鸡, 为 0.687 0, 最低的是狼山鸡, 为 0.617 0; 27 个地方鸡品种(品系)的杂合度都较高, 反映了这些品种的多种多型; 各品种的平均遗传距离反映了各品种分化时间的长短; UPGMA 的聚类分析将 27 个品种(品系)聚为 10 类: 丝绒乌骨鸡、济宁百日鸡、河田鸡、安义瓦灰鸡、仙居鸡、江山乌骨鸡、溧阳鸡、金湖乌凤鸡、灵昆鸡、余干乌骨鸡、康乐鸡、萧山鸡、琅琊鸡、淮北麻鸡、淮南三黄鸡为第 1 类, 白耳鸡为第 2 类, 浦东鸡为第 3 类, 崇仁麻鸡与丝羽乌骨鸡为第 4 类, 狼山鸡与寿光鸡为第 5 类, 鹿苑鸡、东乡绿壳蛋鸡、汶上芦花鸡各自聚为第 6、7、8 类, 鲁西斗鸡与宁都三黄鸡聚为第 9 类, 漳州斗鸡独自聚为第 10 类。通过微卫星标记对华东 27 个地方鸡品种(品系)遗传变异的分析说明这些地方品种的遗传多样性极其丰富, 各具特色, 应促进资源优势向经济优势转化。

关键词: 鸡; 微卫星; 品种; 品系; 遗传多样性

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2006)01-0007-05

Study on Genetic Diversity of 27 Indigenous Chicken Breeds or Strains in East China

CHEN Kuan-wei¹, LI Hui-fang¹, WANG Jin-yu², TANG Qing-ping¹,
SHEN Jian-cheng², ZHANG Shuang-jie¹

(1. *Institute of Poultry Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225003, China*; 2. *College of Animal Science and Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China*)

Abstract: The genetic diversity of twenty-seven indigenous chicken breeds or strains in east China was detected with thirty microsatellite markers with high polymorphisms. The genetic parameters of mean polymorphic information content (PIC), mean heterozygosity (H), and Nei's standard genetic distances (Ds) were calculated. The clustering dendrogram was obtained eventually based on Ds genetic distances of thirty microsatellite and UPGMA method. The results were as follows: the mean heterozygosity of Hetian chicken was the highest (0.687 0), and that of Langshan chicken was the lowest (0.617 0), and that in other breeds or strains was also more than 0.6, which reflected their rich diversity. The Ds genetic distances suggested the longer differentiation. UPGMA tree was obtained through analysis of Ds genetic distance, twenty-seven indigenous chicken breed were clustered into ten groups based on the dendrogram. In the tree, Velutinate silky, Jining bairi, Hetian, Anyi wahui, Xianju, Jiangshan silky, Liyang, Jinhu silky, Lingkun, Yugan silky, Kangle, Xiaoshan, Langya, Huaibei ma and Huainan sanhuang were first grouped together; Baier and Pudong chicken had their own branch respectively; Chongren ma and Silky were fourth grouped; Langshan and Shouguang were fifth grouped; Luyuan, Dongxiang

green eggshell and Wenshang barred chicken had their own branch respectively; Ningdu sanhuang and Luxi game chicken were ninth grouped; the last group was only Zhangzhou game chicken. According to those breeds or strains having their own characteristics and rich diversity based on the analysis of their genetic diversity, we should rationally explore their superiorities.

Key words: chicken; microsatellite ; breeds; strains ; genetic diversity

微卫星 DNA 由于核心序列重复次数的不同, 以及重复程度的不同而造成了每个基因座的多态性^[1]。国内应用微卫星标记主要用于研究家禽品种的遗传结构和亲缘关系以及部分地方鸡品种的遗传多样性; 国外学者应用微卫星标记主要是对国外鸡品种间的遗传关系及起源、家禽品种(系)的遗传变异和遗传距离的估计、家鸡和原鸡群体的遗传检测等^[2,3], 这些研究结果都表明利用微卫星在分析群体遗传多样性方面不失为一种有效分析方法。

华东地区气候温和, 农业发达、物产丰富, 形成很多具有特色的地方鸡品种。但也因为其经济发达, 交通便利等原因, 受到外来鸡种的冲击就更大。一些优良地方鸡种已经在原产地地区濒临灭绝了, 已知陈红菊等^[5]、汤青萍等^[6]对部分鸡种进行了研究报道。地方品种的遗传资源是畜牧生产和可持续发展的基础, 也是满足未来不可预见需求的重要基因库^[6]。因此, 本研究借助微卫星标记对我国华东地方鸡品种(品系)的遗传变异进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验鸡均来自各自的保种场。浦东鸡来自上海市南汇区, 仙居鸡来自浙江省仙居县, 萧山鸡来自浙江省萧山县, 江山乌骨鸡来自浙江省江山市, 白耳鸡来自江西省上饶市, 灵昆鸡来自浙江省温州市, 狼山鸡来自江苏省如东县, 鹿苑鸡来自江苏省张家港市, 溧阳鸡来自江苏省溧阳市, 河田鸡来自福建省长汀县, 漳州斗鸡来自福建省漳州市, 金湖乌凤鸡来自福建省泰宁县, 丝绒乌骨鸡来自福建省莆田县, 丝羽乌骨鸡来自江西省泰和县, 安义瓦灰鸡来自江西省安义县, 崇仁麻鸡来自江西省崇仁县, 余干乌骨鸡来自江西省余干县, 东乡绿壳蛋鸡来自江西省东乡县, 康乐鸡来自江西省万载县, 宁都三黄鸡来自江西省宁都县, 济宁百日鸡来自山东省济宁县, 琅琊鸡来自山东省胶南市, 汶上芦花鸡来自山东省汶上县, 鲁西斗鸡来自山东省荷泽县, 寿光鸡来自山东省寿光县, 淮北麻鸡来自安徽省宿县, 淮南三黄鸡来自安徽省合

肥市。每品种采集 60 只鸡的血样, 翅静脉采血, 用常规的酚/氯仿提取 DNA, 用琼脂糖含量为 0.8% (W/V) 的凝胶电泳检测质量后, 置于 4 ℃ 保存备用。

1.2 微卫星引物及扩增产物检测

筛选了 30 对微卫星引物: ADL136、ADL166、ADL185、ADL195、ADL210、ADL212、ADL225、MCW104、MCW145、MCW150、MCW32、MCW4、LEI0094、MCW0295、MCW0014、MCW0067、MCW0081、MCW0183、MCW0294、MCW0330、ADL123、ADL201、MCW120、MCW147、ADL176、LEI0166、LEI0066、MCW0085、MCW0264 和 MCW134。所选引物均表现为多态性好, 特异性强且相互不连锁。PCR 扩增体系及反应条件略有改进。扩增产物 95 ℃ 变性 5 min 后立即点样于 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离, 采用 pBR322DNA/Msp I Markers 作为分子量的标准, 电泳结束后用硝酸银染色, 经成像后分析结果。

1.3 数据分析

由于微卫星标记基因呈共显性, 因此可以直接从表型获知其基因型, 并可根据等位基因出现的次数计算其基因频率。根据公式计算各微卫星基因座的等位基因分别在各品种(品系)中的多态信息含量 (polymorphism information content, PIC), 同时计算各群体全部微卫星基因座的遗传杂合度 (heterozygosity, H) 和各品种间的 Nei 氏标准遗传距离 D_s 。

根据遗传距离 D_s 运用 DISPAN 软件采用非加权组平均法 (UPGMA) 进行聚类分析。

2 结果

2.1 各群体的有效等位基因数、平均杂合度和平均多态信息含量

根据等位基因组成计算了 27 个品种在 30 个微卫星基因座上各等位基因频率, 并计算了基因杂合度 H、有效等位基因数 N_e 、多态信息含量 PIC 以及 H、 N_e 、PIC 的平均值(表 1)。27 个品种中, 平均杂

合度最高的是河田鸡,为 0.687 0,最低的是狼山鸡,为 0.617 0;27 个地方鸡品种(品系)的杂合度都较高。30 个微卫星的多态信息含量(PIC)均为高度多态。

2.2 品种间的遗传距离和聚类分析

计算了 27 个品种的平均遗传距离(表 2)。平均遗传距离最远的是漳州斗鸡,为 0.404 7,最近的是浙江的仙居鸡,为 0.210 1。根据各品种间的 DS 遗传距离应用 DISPAN 软件进行了 UPGMA 聚类

分析(图 1),27 个地方鸡种被聚类为 10 类:丝绒乌骨鸡、济宁百日鸡、河田鸡、安义瓦灰鸡、仙居鸡、江山乌骨鸡、溧阳鸡、金湖乌凤鸡、灵昆鸡、余干乌骨鸡、康乐鸡、萧山鸡、琅琊鸡、淮北麻鸡、淮南三黄鸡为第 1 类,白耳鸡为第 2 类,浦东鸡为第 3 类,崇仁麻鸡与丝羽乌骨鸡为第 4 类,狼山鸡与寿光鸡为第 5 类,鹿苑鸡、东乡绿壳蛋鸡、汶上芦花鸡各独自聚为第 6、7、8 类,鲁西斗鸡与宁都三黄鸡聚为第 9 类,漳州斗鸡独自聚为第 10 类。

表 1 27 个鸡地方品种的平均遗传参数

Table 1 Genetic parameters of 27 indigenous chicken breeds or strains

品种(品系) Breed or strain	杂合度 H	有效等位基因数 Effective number of alleles	多态信息含量 PIC
浦东鸡 Pudong	0.666	3.0	0.601
仙居鸡 Xianju	0.663	3.0	0.594
萧山鸡 Xiaoshan	0.663	3.0	0.591
江山乌骨鸡 Jiangshan silky	0.661	2.9	0.595
白耳鸡 Baier	0.636	2.7	0.556
灵昆鸡 Lingkun	0.668	3.0	0.600
狼山鸡 Langshan	0.617	2.6	0.536
鹿苑鸡 Luyuan	0.655	2.9	0.591
溧阳鸡 Liyang	0.681	3.1	0.623
河田鸡 Hetian	0.687	3.2	0.629
漳州斗鸡 Zhangzhou game	0.634	2.7	0.557
金湖乌凤鸡 Jinhu silky	0.639	2.8	0.560
丝绒乌骨鸡 Velutinate silky	0.658	2.9	0.581
丝羽乌骨鸡 Silky	0.643	2.8	0.565
安义瓦灰鸡 Anyi wahui	0.652	2.9	0.573
崇仁麻鸡 Chongren ma	0.649	2.8	0.568
余干乌骨鸡 Yugan silky	0.671	3.0	0.607
东乡绿壳蛋鸡 Dongxiang green eggshell	0.633	2.7	0.558
康乐鸡 Kangle	0.660	2.9	0.587
宁都三黄鸡 Ningdu sanhuang	0.668	3.0	0.599
济宁百日鸡 Jining bairi	0.655	2.9	0.588
琅琊鸡 Langya	0.653	2.9	0.576
汶上芦花鸡 Wenshang barred	0.618	2.6	0.544
鲁西斗鸡 Luxi game	0.632	2.7	0.556
寿光鸡 Shouguang	0.640	2.8	0.567
淮北麻鸡 Huaibei ma	0.656	2.9	0.583
淮南三黄鸡 Huainan sanhuang	0.666	3.0	0.593

表 2 各个品种的平均遗传距离 D_s

Table 2 Mean standard genetic distance of each chicken breed

品种(品系)	平均遗传距离	品种(品系)	平均遗传距离
Breed or strain	Mean D_s	Breed or strain	Mean D_s
浦东鸡 Pudong	0.305 8	安义瓦灰鸡 Anyi wahui	0.242 5
仙居鸡 Xianju	0.210 1	崇仁麻鸡 Chongren ma	0.277 1
萧山鸡 Xiaoshan	0.272 0	余干乌骨鸡 Yugan silky	0.264 7
江山乌骨鸡 Jiangshan silky	0.263 0	东乡绿壳蛋鸡 Dongxiang green eggshell	0.325 0
白耳鸡 Baier	0.297 9	康乐鸡 Kangle	0.260 7
灵昆鸡 Lingkun	0.251 0	宁都三黄鸡 Ningdu sanhuang	0.320 5
狼山鸡 Langshan	0.340 8	济宁百日鸡 Jining bairi	0.219 6
鹿苑鸡 Luyuan	0.322 1	琅琊鸡 Langya	0.258 2
溧阳鸡 Liyang	0.236 9	汶上芦花鸡 Wenshang barred	0.330 6
河田鸡 Hetian	0.220 1	鲁西斗鸡 Luxi game	0.347 8
漳州斗鸡 Zhangzhou game	0.404 7	寿光鸡 Shouguang	0.315 1
金湖乌凤鸡 Jinhu silky	0.264 1	淮北麻鸡 Huaibei ma	0.230 3
丝绒乌骨鸡 Velutinate silky	0.226 2	淮南三黄鸡 Huainan sanhuang	0.242 0
丝羽乌骨鸡 Silky	0.310 6		

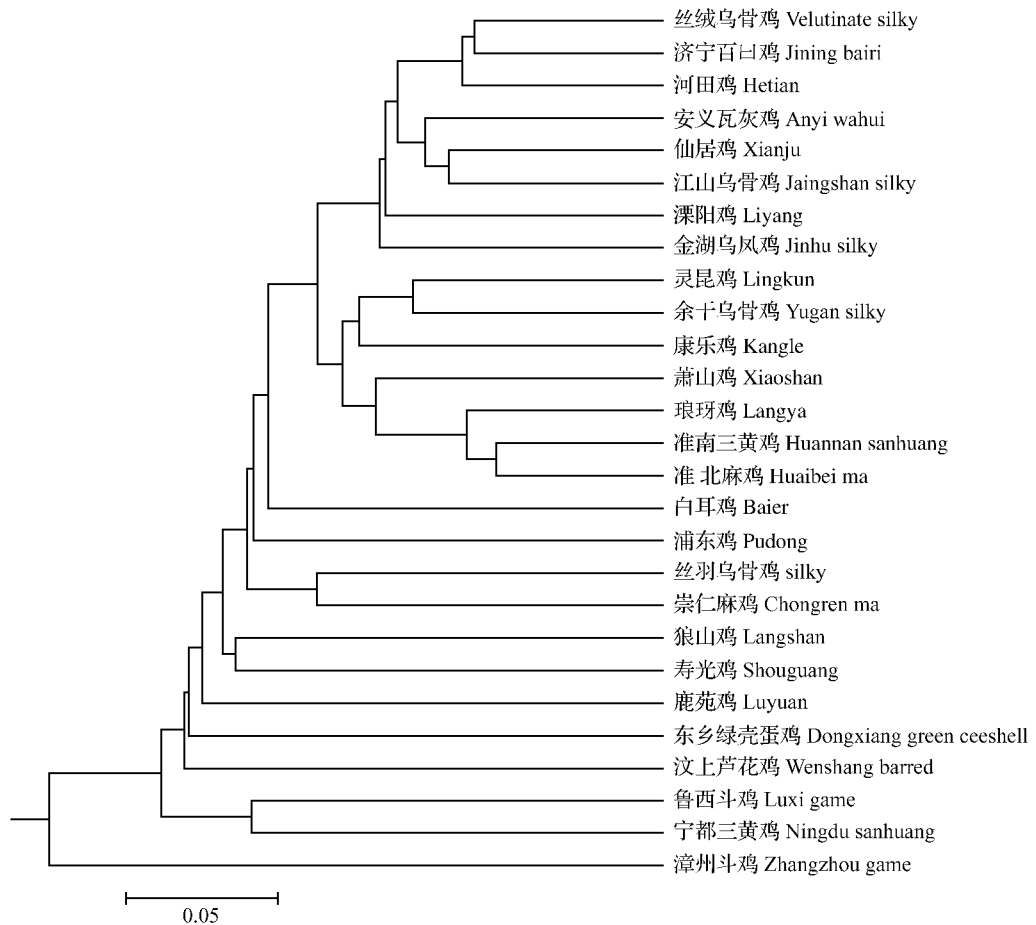


图 1 27 个地方鸡品种的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 Dendrogram of relationships among 27 indigenous breeds or strains using UPGMA method

3 讨论与小结

3.1 群体内的遗传变异

本研究每个品种采样设计的公母之比为 1 : 4,

公鸡 12 只, 母鸡 48 只, 完全符合 Barker^[7] 等关于评估遗传多样性抽样公式和样本含量的要求。本研究结果表明, 所选 30 个微卫星标记均为高度多态^[2], 可作为有效的遗传标记用于家禽品种之间遗传多样

性和系统发生关系的分析。

遗传杂合度(H)又称基因多样性,反映各群体在 n 个座位上的遗传变异^[8]。一般认为它是度量群体遗传变异的一个最适参数。品种杂合度的高低反映了群体的一致性程度。27 个品种中河田鸡平均杂合度最高,为 0.687,狼山鸡平均杂合度最低,为 0.617,因此各品种内的平均杂合度都较大,即各品种内的遗传变异大,遗传多样性丰富。此外,遗传杂合度也反映了地方鸡种资源场的保存状况。从各品种保护的调研可见,福建的河田鸡抽样群是从产区刚收集的品种,正在整理之中,群体表型变异大;而江苏的狼山鸡已在保种场保存了 20 多年,在保存过程中,由于保存的群体数量较少,其基因杂合度均较低;对河田鸡而言,应加强品种资源的整理工作,在保存多样性的同时,注意提高品种的纯度,而江苏狼山鸡场则应在保种中加强品种资源的多样性保护,在有必要时可适当引进其它狼山鸡场狼山鸡血液,保证其一定的遗传杂合度。因此,本研究结果可用于地方鸡种保种效果的检验。

遗传资源的保存不仅仅是基因的保存,而且也是为了满足人类精神的需要,每个品种都有其独有的社会、历史和文化背景^[9]。我国地方鸡品种资源在加强保护群体遗传多样性的同时,应合理注意品种的选育和产业化开发,建议在不丧失地方鸡品种遗传特性的前提下,扩大群体,并与其它鸡品种进行基因交流,以利用其遗传多样性,促进资源优势向经济优势转化。

3.2 群体系统发生关系分析

Barker^[7]等认为,遗传距离的信息应作为在决策保种计划时群体结构和品种分化最基本的指标。Crawford^[9]等也指出若要保存尽量多的遗传多样性,必须有可靠的方法对品种间的遗传分化进行测定,微卫星等位基因频率的分析是目前最佳的方法之一,由微卫星得出的遗传距离更能反映分化时间的长短,能客观地反映品种间的遗传变异和分化。遗传距离是研究物种遗传多样性的基础,一般认为群体分化时间越短,遗传距离越小。Takahashi^[10]和 Nei^[11]等通过计算机模拟对各种遗传距离进行研究,证明在分析物种内群体间的遗传变异时,运用 D_A 和 D_S 遗传距离是获得准确系统发生树的最有效方法,且用 UPGMA 法优于 NJ 法。本研究中,各鸡品种(品系)间的 D_S 遗传距离较远,反映了各群体的分化时间较长。

本研究中,由于试验所选 30 个微卫星标记特异性强且具有丰富的多态性,因此所得的聚类结果不仅基本符合它们的地域分布和育种历史,能够准确地反映 27 个品种(品系)间的分化关系,可以有效地说明这些地方品种之间系统发生关系和目前的研究利用方向,各品种的遗传多样性非常丰富,都具有各自的特性,应该在生产和利用过程中,密切监测群体的动态和性能变化,保护好这些珍贵的地方种质资源。

参考文献:

- [1] Weber J L. Informativeness of human $(dC-dA)_n \cdot (dG-dT)_n$ polymorphisms[J]. *Genomics*, 1990, 7:524~530.
- [2] 高玉时,杨宁,李慧芳,等.我国地方鸡品种保种群微卫星多态性分析与分子标记档案的建立[J]. *遗传*, 2004,26(6):859~864.
- [3] Romanov M N, Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers[J]. *Poultry Science*, 2001, (80):1 057~1 063.
- [4] 燕海峰,肖兵南, Trefil P. 家禽种质资源保存研究[J]. *畜禽业*, 2003, 8:21~23.
- [5] 陈红菊,岳永生,樊新忠,等.利用微卫星标记分析山东地方鸡品种的遗传多样性[J]. *遗传学报*, 2003, 30(9): 855~860.
- [6] 汤青萍,陈宽维,李慧芳,等.应用微卫星标记对 12 个中国地方乌骨鸡品种遗传多样性的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(8):755~760.
- [7] Barker P S F. A global protocol for determining genetic distance among domestic livestock breeds[A]. In: *Proceeding of 5th World Congress on Genetic Application of Livestock Production*, 1994, 21:501~508.
- [8] 陈红菊,岳永生,樊新忠,等.山东地方鸡种遗传距离与聚类分析方法比较研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(1):33~36.
- [9] Crawford A M, LittlePohn R P. The use of DNA marker in deciding conservation priorities in sheep and other livestock[J]. *Animal Genetic Resources Information*, 1998, 23:21~26.
- [10] Takahashi H, Nirasawa K, Nagamine Y, *et al.* Genetic relationships among Papanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms[J]. *The Journal of Heredity*, 1998, 89(6):543~546.
- [11] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual[J]. *Genetic*, 1978, 89:583~590.