

我国重点保护地方鸡品种资源的遗传变异

李慧芳¹ 章双杰¹ 陈宽维¹ 汤青萍¹ 高玉时¹ 陈国宏²

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

摘要 应用 30 个高度多态的微卫星标记对我国重点保护的 15 个地方鸡品种资源的遗传变异进行了研究, 计算了各群体的遗传参数, 并用类平均法进行聚类分析。结果表明: 平均杂合度最高的是吐鲁番鸡, 0.634; 杂合度最低的是河南斗鸡, 0.554。15 个地方鸡品种的杂合度都较高, 反映了这些品种的多种多型; 对遗传距离 D_S 的计算表明 15 个品种的遗传距离较远, 分化时间较长; UPGMA 的聚类分析将 15 个品种聚为 3 类, 即: Ⅰ类为浦东鸡、茶花鸡、西双版纳斗鸡、漳州斗鸡、大骨鸡、丝羽乌骨鸡、仙居鸡、白耳黄鸡、北京油鸡、河南斗鸡、狼山鸡和吐鲁番斗鸡, Ⅱ类为清远麻鸡和鲁西斗鸡, Ⅲ类只有藏鸡。通过微卫星标记对这些重点保护地方鸡品种资源遗传变异的分析说明了这些地方品种的遗传多样性极其丰富, 各具特色, 各保种场(区)应促进资源优势向经济优势转化。

关键词 鸡品种资源; 微卫星标记; 遗传多样性; 遗传距离

中图分类号 S 813

文章编号 1007-4333(2005)03-0021-04

文献标识码 A

Analysis of genetic diversity among domestic concernful chicken breeds in China

Li Huifang¹, Zhang Shuangjie¹, Chen Kuanwei¹, Tang Qingping¹, Gao Yushi¹, Chen Guohong²

(1. Poultry Institute, Chinese Academy of Agriculture Science, Yangzhou 225003, China;

2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract The genetic diversity of 15 concernful domestic chicken breeds in China was studied with using microsatellite markers. Those chicken breeds included Pudong, Chahua, Langshan, Qingyuan Ma, Dagu, Silky, Xianju, Baier Huang, Beijing fattycock, Zang, and the game cocks of Xishuangbanna, Turpan, Zhangzhou, Luxi and Henan. The genetic diversity expressed as mean heterozygosity, mean polymorphic information content (PIC), and Nei standard genetic distances was analyzed by 30 microsatellite markers with high polymorphism. The clustering dendrogram was eventually obtained based on Nei genetic distances of 20 microsatellite. The results showed that the mean heterozygosity in the Turpan was the highest (0.634), but lowest (0.554) for Henan gamecock. The D_S genetic distances indicated that the differentiation was longer. The UPGMA tree was obtained through analysis of Nei's standard genetic distance (D_S). In the tree, the first group contained Pudong, Chahua, Xishuangbanna gamecock, Zhangzhou gamecock, Dagu, Silky, Xianju, Baier Huang, Beijing fattycock, Henan gamecock, Langshan and Tupan. The second group included Qingyuan spottedcock and Luxi gamecock. Zang had its own branch. UPGMA tree reflected the resource, breeding history, differentiation and direction of utilization. Microsatellite analysis showed that those breeds had rich diversity. The superiorities of the breeds should be explored.

Key words chicken breeds; microsatellite marker; genetic diversity; genetic distance

微卫星 DNA 核心序列重复次数的不同和重复程度的不同导致了每个基因座的多态性^[1], 微卫星 DNA 或标记因其有数量多、分布广、多态性丰富、呈

共显性遗传方式等方面的优点, 已经在动物遗传育种中广泛应用。目前全球生物多样性正在下降, 研究和保护动物的遗传多样性已成为保护生物学关注

收稿日期: 2004-12-15

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(2001AA243081)

作者简介: 李慧芳, 助理研究员, 硕士, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: LHF XF.002@yahoo.com.cn

的热点。只有掌握了物种的多样性水平和群体的遗传结构,才能制定有效的保护策略和措施。微卫星作为理想的遗传标记,在动物遗传多样性和建立遗传谱系的研究中,已经得到了广泛的应用,推动了保护遗传学的发展。高玉时报道了国内外微卫星标记的应用情况^[2]:国内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;国外主要用于对鸡品种间遗传关系及起源的研究、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,这些研究结果都表明,微卫星标记是群体遗传多样性的有效分析方法^[3]。

动物品种资源的保存正受到世界各国的高度重视,我国畜禽遗传资源丰富,它们在畜牧生产和新遗传资源形成中发挥了重要作用。我国现有164个家禽品种,包括鸡96个、鸭29个、鹅27个、特禽12个,其中属地方品种135个(鸡81个、鸭27个、鹅27个)^[4]。2000年8月23日农业部公布的列入国家级品种资源保护的鸡品种资源有:浦东鸡、大骨鸡、中国斗鸡中的鲁西斗鸡、漳州斗鸡、西双版纳斗鸡、河南斗鸡和吐鲁番斗鸡5个品种,以及白耳黄鸡、仙居鸡、北京油鸡、丝羽乌骨鸡、茶花鸡、狼山鸡、清远麻鸡和藏鸡^[5]。由于广泛的经济杂交、品种频繁贸易和流通混杂,使某些地方品种逐渐被培育品种或杂交品种所取代,致使一些具有丰富遗传多样性的地方优良鸡种已逐步退化,甚至濒临灭绝。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重点保护的地方鸡品种资源的遗传变异进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验材料均来自各自的保种场。浦东鸡来自上海南汇区周浦镇瓦屑港;大骨鸡来自辽宁庄河县;鲁西斗鸡来自山东菏泽地区鄄城县斗鸡场;漳州斗鸡来自福建漳州市芗城区石亭镇;西双版纳斗鸡来自云南景洪市历罕镇;河南斗鸡来自河南开封市;白耳黄鸡来自江西上饶县;仙居鸡来自浙江仙居城关镇石卡村;北京油鸡来自中国农业科学院畜牧研究所;吐鲁番鸡来自新疆吐鲁番;丝羽乌骨鸡来自江西泰和县泰和鸡原种场;茶花鸡来自云南西双版纳州景洪市嘎洒镇曼醒村;狼山鸡来自江苏如东县狼山鸡场;清远麻鸡来自广东清远市附城镇莲塘开发区;藏

鸡来自江苏省家禽研究所中国地方鸡种基因库。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%(质量分数)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对在其他鸡品种中应用较好的微卫星引物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。每个PCR扩增体系及反应条件略有改进。扩增产物95℃变性5min后立即点样于8%(质量分数)变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,采用pBR322DNA/Msp Markers作为分子质量的标准对照,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鸡各品种中的多态信息含量(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 各群体平均杂合度和平均多态信息含量

根据各微卫星位点等位基因频率计算了15个品种的群体平均杂合度和群体平均多态信息含量(表1)。15个品种中,平均杂合度最高的是吐鲁番鸡,0.634;杂合度最低的是河南斗鸡,0.554。15个地方鸡品种的杂合度都较高,同时本试验所选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

本研究用DISPAN软件计算了15个品种间的 D_S 遗传距离(表2),结果表明:浦东鸡和茶花鸡的距离最近,0.1313;藏鸡和鲁西斗鸡的距离最远,0.5332。

表 1 中国 15 个地方鸡品种的遗传参数

Table 1 Genetic parameters of 15 domestic breeds

品 种	平均杂合度	平均多态信息含量
浦东鸡	0.624	0.626
茶花鸡	0.595	0.594
狼山鸡	0.592	0.591
清远麻鸡	0.604	0.609
大骨鸡	0.608	0.610
丝羽乌骨鸡	0.571	0.573
仙居鸡	0.591	0.591
白耳黄鸡	0.603	0.600
北京油鸡	0.587	0.593
藏鸡	0.595	0.594
西双版纳斗鸡	0.616	0.613
吐鲁番斗鸡	0.634	0.566
漳州斗鸡	0.559	0.560
鲁西斗鸡	0.569	0.567
河南斗鸡	0.554	0.559

2.3 品种间的聚类分析

根据遗传距离运用 DISPAN 软件的 UPGMA 法对上述地方鸡品种进行了聚类分析(图 1),15 个品种被聚为 3 类。类:浦东鸡、茶花鸡、西双版纳斗鸡、漳州斗鸡、大骨鸡、丝羽乌骨鸡、仙居鸡、白耳

黄鸡、北京油鸡、河南斗鸡、狼山鸡、吐鲁番斗鸡;类:清远麻鸡和鲁西斗鸡;类:藏鸡。

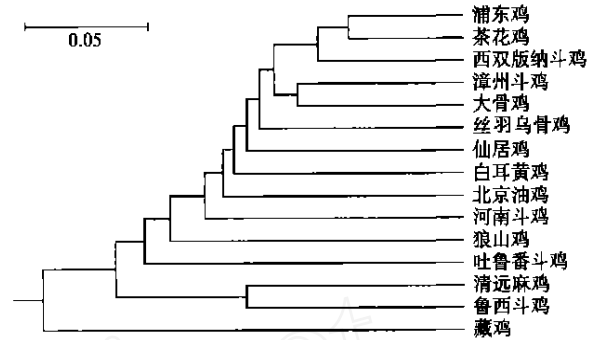


图 1 15 个地方鸡品种的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 Dendrogram of relationships among 15 domestic breeds using UPGMA method

3 结论与讨论

3.1 群体内的遗传变异与品种保护

本研究每个品种采样设计的公母鸡之比为 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量的要求。多态信息含量(PIC)是衡量基因变异程度的指标:当 PIC > 0.5 时,该位点为高度多态位点。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

表 2 中国 15 个鸡品种的标准遗传距离 D_S

Table 2 Standard genetic distance D_S of 15 domestic breeds

品 种	P	Z	X	B	L	C	Xg	Q	Zg	S	Lg	D	Hg	F
藏鸡 Z	0.295 6													
仙居鸡 X	0.148 3	0.316 7												
白耳黄鸡 B	0.245 4	0.445 6	0.246 4											
狼山鸡 L	0.228 9	0.420 2	0.279 5	0.289 7										
茶花鸡 C	0.131 3	0.328 9	0.183 9	0.211 4	0.265 3									
西双版纳鸡 Xg	0.170 4	0.414 8	0.251 4	0.180 6	0.303 4	0.141 9								
清远麻鸡 Q	0.367 6	0.442 4	0.365 1	0.296 6	0.369 0	0.380 1	0.248 7							
漳州斗鸡 Zg	0.180 9	0.369 2	0.193 4	0.188 8	0.209 5	0.152 5	0.193 8	0.278 5						
丝羽乌骨鸡 S	0.163 5	0.359 7	0.218 9	0.281 1	0.313 5	0.246 0	0.216 5	0.346 6	0.218 1					
鲁西斗鸡 Lg	0.388 2	0.533 2	0.379 9	0.258 7	0.284 1	0.402 0	0.317 3	0.215 3	0.271 8	0.317 2				
大骨鸡 D	0.191 1	0.344 5	0.268 7	0.222 6	0.267 6	0.218 4	0.220 1	0.245 3	0.173 0	0.189 3	0.251 6			
河南斗鸡 Hg	0.200 2	0.404 3	0.265 1	0.248 6	0.254 6	0.223 7	0.183 5	0.323 1	0.211 6	0.252 5	0.366 9	0.294 0		
北京油鸡 F	0.216 9	0.408 1	0.318 1	0.276 2	0.354 1	0.194 8	0.197 1	0.290 1	0.234 8	0.228 6	0.320 2	0.198 5	0.351 3	
吐鲁番斗鸡 Tg	0.300 9	0.410 5	0.231 5	0.300 0	0.330 4	0.286 7	0.331 8	0.329 5	0.205 1	0.329 6	0.304 3	0.289 0	0.335 7	0.328 5

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 个位点上的遗传变异^[8]。一般认为它是度量群体遗传变异的最适参数。在我国重点保护的15个地方鸡品种资源中,平均杂合度最高的是吐鲁番鸡,0.634;杂合度最低的是河南斗鸡,0.554,各品种的杂合度都高于0.5,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。

家禽遗传多样性保护包括保护现有的品种、特殊的生态型以及品种中特殊的变异类型,避免混杂、退化或灭绝,其实质是保护品种(或类型)基因库。遗传资源的保存不仅是基因的保存,也是为了满足人类的需要,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,并与其他品种进行基因交流,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^[6]等认为,遗传距离的信息应作为在决策育种计划时群体结构和品种分化最基本的指标。Crawford^[10]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^[11]和Nei^[12]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NP法。本研究中,各鸡品种间的遗传距离 D_S 较远,反映了各群体的分化时间较长。由于本实验所选的30个微卫星标记特异性强且相互不连锁的引物,因此聚类结果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。

我国家禽品种的遗传多样性,特别是地方品种

的优异种质特性,是几千年来多样化的自然生态环境所赋予的,是祖先选留下来的,在当前及今后畜牧业可持续发展中仍然发挥作用,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品种资源。

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):1057-1063
- [4] 燕海峰,肖兵南, P Trefil. 家禽种质资源保存研究[J]. *畜禽业*, 2003, 8:21-23
- [5] 齐景发,贾幼陵,何新天,等. 中国畜禽遗传资源状况[M]. 北京:中国农业出版社,2004. 16
- [6] 马月辉,徐桂芳,王端云,等. 中国畜禽遗传资源信息动态研究[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(5):552-555
- [7] Barker P S F. A global protocol for determining genetic distance among domestic livestock breeds[A]. *Proceeding of 5th World Congress on Genetic Application of Livestock Production*[C], 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] 王淑辉,田万强,竺林森,等. 畜禽遗传资源保存研究进展[J]. *黄牛杂志*, 2001, 27(6):6-10
- [10] Crawford A M, Little Pohn 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
- [11] Takahashi H, Nirasawa K. Genetic relationships among Papanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms[J]. *The Journal of Heredity*, 1998, 89(6):543-546
- [12] Masatoshi Nei. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual[J]. *Genetic*, 1978, 89:583-590