

伍革民,张继,唐继高. 4 个贵州乌骨鸡群体遗传关系的微卫星标记分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(21):169-171.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.042

# 4 个贵州乌骨鸡群体遗传关系的微卫星标记分析

伍革民<sup>1</sup>, 张继<sup>2</sup>, 唐继高<sup>1</sup>

(1. 贵州省畜牧兽医研究所, 贵州贵阳 550005; 2. 贵州大学动物科学学院, 贵州贵阳 550000)

**摘要:**利用 7 个微卫星标记对贵州 4 个乌骨鸡(普安乌骨鸡、赤水乌骨鸡、水西乌骨鸡、广西乌骨鸡)群体进行群体内遗传结构和群体间遗传距离的检测和分析。结果表明,4 个乌骨鸡群体多态信息含量在 0.643 1~0.691 3, 杂合度在 0.706 9~0.738 5, 4 个乌骨鸡群体中杂合度最高的是广西乌骨鸡, 杂合度最低的是水西乌骨鸡。采用 PopGen 3.2 软件分析 4 个乌骨鸡群体的 Nei 氏遗传距离和遗传一致度, 构建系统发生树, 结果表明, 普安乌骨鸡聚为一类, 水西乌骨鸡聚为一类, 赤水乌骨鸡和广西乌骨鸡聚为一类。

**关键词:**乌骨鸡; 遗传多样性; 微卫星; 遗传距离; 系统发生树

**中图分类号:**S831.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)21-0169-03

贵州省地方鸡种资源丰富, 其中赤水乌骨鸡等 7 个品种已编入《贵州省畜禽品种志》, 还有一些地方鸡种如普安乌骨鸡、水西乌骨鸡等群体尚未编入, 由于地理、环境等各种因素, 它们缺乏规模化饲养、品种资源保护利用和开发研究。普安县乌骨鸡主产于云贵高原中段的贵州省西南部乌蒙山区普安县新店乡等地, 历史上无记载, 是一种独特的乌骨鸡品种, 有黑羽、麻羽等羽色类型, 黑羽乌骨鸡基本是农户散养, 缺少专业化饲养和规模化养殖<sup>[1]</sup>。水西乌骨鸡主要产于贵州省黔西县新仁乡等地, 养殖历史较长, 该乌骨鸡体格健壮, 对疾病的抵抗能力强, 常年以青菜、统糠、稻谷等为食, 耐粗饲, 喜食山坡草籽、昆虫, 觅食能力强, 皮、骨、肉及内脏为乌色, 肉质鲜美。为充分开展这些地方鸡种资源的保护和利用, 有必要了解它们的遗传结构和亲缘关系。在应用于遗传结构或亲缘关系检测的多态性标记中, 微卫星标记数量多, 研究成熟、分布广、共显性、易于检测, 因而应用广泛。本研究选择 7 个微卫星标记对普安乌骨鸡、赤水乌骨鸡、水西乌骨鸡和广西乌骨鸡的遗传多样性进行检测, 并分析饲养于贵州省的 4 个乌骨鸡群体间的遗传关系, 可为这些品种或群体的开发利用奠定

基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验用的 4 个鸡品种为普安乌骨鸡、赤水乌骨鸡、水西乌骨鸡和广西乌骨鸡, 其中普安乌骨鸡、赤水乌骨鸡和水西乌骨鸡是贵州省本地长期饲养和培育的地方鸡种, 广西乌骨鸡从广西壮族自治区东兰县引进, 后在贵州长期饲养。每个品种样本数为 30 羽, 采用翅下静脉采血 1.0~1.5 mL/羽, -20℃ 保存。

参考国内外文献报道<sup>[2~7]</sup>, 选择位点分布多的 7 对微卫星标记。引物位置、退火温度及序列等信息见表 1。

### 1.2 方法

采用血液 DNA 提取试剂盒提取 DNA。20 μL PCR 反应体系包括 2 × Taq PCR MasterMix 10 μL、引物各 1 μL、100 ng/μL 模板 DNA 1 μL、去离子水 7 μL。PCR 反应程序: 94℃ 预热 3 min 后进行 35 个 PCR 循环, 然后 72℃ 延伸 5 min。35 个 PCR 循环参数包括 95℃ 变性 30 s, 退火 30 s(退火温度见表 1), 72℃ 延伸 30 s。1.0%~1.5% 琼脂糖凝胶检测 PCR 扩增结果, 8%~10% 聚丙烯酰胺凝胶分离 PCR 产物, 银染显色和凝胶成像照相保存, 使用 Labworks 软件分析片段大小并进行分型。

### 1.3 数据统计分析

#### 1.3.1 群体内遗传多样性分析 等位基因数、有效等位基因

[J]. 四川动物, 2010, 29(2): 281-284.

[26] 牛荣, 黄中波, 商海涛, 等. 广西巴马小型猪 21 个微卫星座位的 DNA 多态性分析[J]. 中国兽医科技, 2002, 32(8): 11-13.

[27] 付艳艳, 顾为望, 刘运忠, 等. 西藏小型猪线粒体 D-loop 区及微卫星多态性的遗传研究[J]. 中国实验动物学报, 2006, 14(4): 318-321.

[28] 张民照. 用多态位点率和香农指数分析的飞蝗地理种群遗传多样性[J]. 中国农学通报, 2008, 24(9): 376-381.

[29] MaGuarran A. Ecological diversity and its measurement [M]. Princeton: Princeton University Press, 1988.

收稿日期: 2017-07-17

基金项目: 贵州省科技基金(编号: 黔科合 J 字[2014]2102 号); 贵州省农业科学院专项(编号: 黔农科院院专项[2014]006 号)。

作者简介: 伍革民(1972—), 男, 湖南新化人, 博士, 副研究员, 主要从事动物分子遗传学研究。E-mail: 68860531@qq.com。

[21] McLaren R J, Rogers G R, Davies K P, et al. Linkage mapping of wool keratin and keratin-associated protein genes in sheep[J]. Mammalian Genome, 1997, 8(12): 938-940.

[22] Strachan T, Read A P. Human molecular genetics[J]. Chromosome Research, 1996, 4: 475-475.

[23] 魏杰, 巩薇, 王洪, 等. 北京中国农大小型猪三个亚系群体的遗传状况分析[J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(10): 50-55.

[24] 黄建芳, 李小楷, 蒋钦扬, 等. 广西巴马小型猪近交群体的遗传结构分析[J]. 中国畜牧兽医, 2015(2): 426-431.

[25] 于冰, 刘若余. 贵州白香猪两品系微卫星座位的遗传分析

表 1 7 对微卫星引物信息

座位	F 引物序列 (5'→3')	R 引物序列 (5'→3')	染色体数 (个)	退火温度 (℃)
MCW0005	ACCTCCTGCTGGCAAATAAATTGC	TCACITTAGCTCCATCAGGATTCA	4	60.0
MCW0166	GATCAGAAAGAACTGGAACCTG	AGGAGTTAGTTGAACCAGAAC	2	58.0
MCW0351	GTAAGGGCTCTTTACAAACGG	GAGTAGGGCTTAGGAAGTAAG	8	56.0
LEI0217	GATGACTGAGAGAAATAAATTG	AAATTACTGAGGCACAGGAG	1	58.0
LEI0089	GATCCAGGTGGCTCTAACACG	TTAGCTCCTGCTTGTCACTGC	2	60.0
ADL166	TGCCAGCCCGTAATCATAGG	AAGCACCACGACCCAATCTA	5	59.5
ADL201	GCTGAGGATTCAGATAAGAC	AATGGCTGACGTTTCACAGC	Z	55.0

数、等位基因频率、观测和期望杂合度、种群近交系数等遗传多样性指标使用 PopGen 3.2 软件进行统计和分析。多态信息含量 (polymorphism information content, PIC) 根据以下公式计算:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j = 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n P_i P_j (1 - P_i P_j)。$$

式中:  $n$  为等位基因数;  $P_i$  和  $P_j$  分别为群体中第  $i$  个和第  $j$  个等位基因频率。

1.3.2 群体间遗传关系分析 根据等位基因频率, 利用

PopGen 3.2 软件计算 4 个群体之间的遗传距离, 构建 4 个乌骨鸡群体系统发生树。

2 结果与分析

2.1 微卫星 DNA 多态性检测结果

7 个微卫星标记 (MCW0005、MCW035、MCW0166、LEI0217、LEI0089、ADL16、ADL201) 分别检测出 5、4、3、4、6、6、4 个等位基因。等位基因频率见表 2。

表 2 4 个乌骨鸡鸡群体等位基因频率

位点	群体	基因频率					
		A	B	C	D	E	F
MCW0005	普安乌骨鸡	0.173 9	0.065 2	0.217 4	0.282 6	0.260 9	
	水西乌骨鸡	0.103 5	0.172 4	0.224 1	0.275 9	0.224 1	
	赤水乌骨鸡	0.250 0	0.083 3	0.233 3	0.233 3	0.200 0	
	广西乌骨鸡	0.250 0	0.096 2	0.288 5	0.153 8	0.211 5	
MCW035	普安乌骨鸡	0.130 4	0.369 6	0.456 5	0.043 5		
	水西乌骨鸡	0.224 1	0.396 6	0.258 6	0.120 7		
	赤水乌骨鸡	0.100 0	0.400 0	0.333 3	0.166 7		
	广西乌骨鸡	0.153 8	0.346 2	0.326 9	0.173 1		
MCW0166	普安乌骨鸡	0.391 3	0.347 8	0.260 9			
	水西乌骨鸡	0.396 6	0.379 3	0.224 1			
	赤水乌骨鸡	0.383 3	0.400 0	0.216 7			
	广西乌骨鸡	0.346 2	0.384 6	0.250 0	0.019 2		
LEI0217	普安乌骨鸡	0.409 1	0.068 2	0.113 6	0.409 1		
	水西乌骨鸡	0.362 1	0.136 1	0.174 2	0.327 6		
	赤水乌骨鸡	0.366 7	0.100 0	0.183 3	0.350 0		
	广西乌骨鸡	0.346 2	0.096 2	0.211 5	0.346 2		
LEI0089	普安乌骨鸡	0.130 4	0.282 6	0.087 0	0.021 7	0.108 7	0.369 6
	水西乌骨鸡	0.224 3	0.103 4	0.172 4	0.017 2	0.051 7	0.431 0
	赤水乌骨鸡	0.200 0	0.133 3	0.183 3	0.066 7	0.083 3	0.333 3
	广西乌骨鸡	0.288 5	0.173 1	0.038 5	0.057 7	0.173 1	0.269 2
ADL166	普安乌骨鸡	0.065 2	0.195 7	0.369 6	0.021 7	0.152 2	0.195 6
	水西乌骨鸡	0.120 7	0.258 6	0.275 9	0.017 2	0.137 9	0.189 7
	赤水乌骨鸡	0.100 0	0.216 7	0.283 3	0.066 7	0.166 7	0.166 6
	广西乌骨鸡	0.076 9	0.230 8	0.326 9	0.019 2	0.153 8	0.192 3
ADL201	普安乌骨鸡	0.347 8	0.152 2	0.260 9	0.239 1		
	水西乌骨鸡	0.344 8	0.137 9	0.241 4	0.275 9		
	赤水乌骨鸡	0.233 3	0.266 7	0.200 0	0.300 0		
	广西乌骨鸡	0.269 2	0.250 0	0.192 3	0.288 5		

2.2 群体内遗传多样性

4 个乌骨鸡群体 7 个微卫星座位平均基因杂合度 ( $H$ ) 和多态信息含量 (PIC) 见表 3。

从表 3 可知, 试验用的 4 个鸡群体在 7 个微卫星基因座

均表现出较高的基因杂合度, 各群体平均杂合度为 0.727 2 (0.706 9 ~ 0.738 5), 其中杂合度最高的是赤水乌骨鸡的 ADL166 座位, 为 0.802 8。在 4 个乌骨鸡群体中, 各基因座群体杂合度和多态信息含量均大于 0.50, 说明 7 个微卫星基因

表3 4个乌骨鸡鸡群体7个微卫星座位的杂合度和多态信息含量

座位	水西乌骨鸡		普安乌骨鸡		赤水乌骨鸡		广西乌骨鸡	
	<i>H</i>	<i>PIC</i>	<i>H</i>	<i>PIC</i>	<i>H</i>	<i>PIC</i>	<i>H</i>	<i>PIC</i>
MCW0005	0.770 3	0.731 7	0.783 0	0.747 7	0.781 7	0.745 5	0.776 6	0.740 2
MCW0351	0.636 1	0.566 0	0.711 1	0.659 5	0.696 1	0.634 5	0.719 7	0.668 3
MCW0166	0.657 8	0.583 4	0.648 6	0.573 1	0.646 1	0.570 3	0.669 4	0.600 2
LEI0217	0.647 7	0.579 8	0.712 8	0.660 1	0.699 4	0.643 4	0.706 4	0.650 9
LEI0089	0.746 7	0.708 0	0.720 6	0.680 4	0.786 1	0.755 7	0.779 6	0.745 0
ADL166	0.759 0	0.722 9	0.782 4	0.753 9	0.802 8	0.774 2	0.772 9	0.737 5
ADL201	0.730 6	0.681 1	0.727 7	0.677 2	0.744 4	0.696 8	0.744 8	0.697 1
平均值	0.706 9	0.653 3	0.726 6	0.678 8	0.736 7	0.688 6	0.738 5	0.691 3

座在这些鸡群体中遗传变异幅度较大。不同基因座在不同群体中杂合度和多态信息含量存在差异,其中广西乌骨鸡多态信息含量和杂合度最高。

2.3 群体间遗传关系

4个乌骨鸡群体间的遗传距离见表4。由表4可知,4个鸡群体遗传距离均较近,在0.05以下,其中广西乌骨鸡和水西乌骨鸡之间的遗传距离最远,为0.0448,与赤水乌骨鸡的遗传距离最近,为0.0194。

表4 4个乌骨鸡群体之间的标准遗传距离(Ds)

鸡群体	遗传距离		
	普安乌骨鸡	水西乌骨鸡	赤水乌骨鸡
水西乌骨鸡	0.042 0		
赤水乌骨鸡	0.036 0	0.029 5	
广西乌骨鸡	0.042 8	0.044 8	0.019 4

根据 Nei 氏标准遗传距离<sup>[8]</sup>,应用 PopGen 3.2 软件中的 UPGMA 程序构建的系统发生树,结果见图1。从图1可知,4个鸡群体可以分为三大类:水西乌骨鸡聚为一类,普安乌骨鸡聚为一类,赤水乌骨鸡和广西乌骨鸡聚为一类。

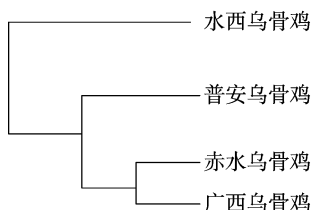


图1 4个鸡群体系统聚类

3 讨论与结论

3.1 微卫星 DNA 多态性与群体内遗传多样性

为准确说明一个群体或品种的遗传多样性水平,应选用在该群体内多态性含量高的基因座位进行检测和分析。采用多态信息含量(PIC)来衡量基因座多态性情况,当  $PIC > 0.5$  时,该座位高度多态。本研究中用于多样性分析的7个微卫星座位在所有5个群体中的多态信息含量均在0.5以上,因此本试验的结果具有一定的参考价值。采用杂合度来评估群体内遗传变异程度,本研究中的4个乌骨鸡群体的7个微卫星座位的平均杂合度在0.7069~0.7385,均在0.70以上,说明4个乌骨鸡群体遗传多样性丰富,同时也说明在利用与推广这些地方群体时,还必须对其进行进一步纯繁选育。上述鸡养殖方式基本为散养,缺乏系统选育,说明研究结果与实

际情况相符。

3.2 群体间遗传关系

赤水乌骨鸡主产于贵州省赤水市,又名竹乡鸡,属于蛋肉兼用型地方品种<sup>[9-10]</sup>;普安乌骨鸡主产于贵州省西南部乌蒙山区普安县新店乡等地,历史上无记载,是一种独特的乌骨鸡品种;水西乌鸡主产于黔西县新仁乡,养殖历史悠久;普安乌骨鸡和水西乌鸡均未入《贵州省品种志》,很少开展资源保护评价和开发利用;广西乌骨鸡从广西壮族自治区东兰县引进,后在贵州长期饲养。从本研究根据遗传距离对上述4个乌骨鸡群体构建的系统发生树来看,广西乌骨鸡与赤水乌骨鸡遗传距离近,聚为一类,可能与这2个鸡种进化及育种历史相似、均属于蛋肉兼用型乌骨鸡品种有关。水西乌骨鸡与普安乌骨鸡各自聚为一类,可能是地理、气候等因素造成的。上述4个乌骨鸡群体之间的遗传距离较小,均在0.05以下,这可能与它们均属于乌骨鸡有关。

参考文献:

[1]唐继高,朱丽莉,李洪曙,等. 利用微卫星 PCR 分析普安乌骨鸡的遗传结构[J]. 黑龙江畜牧兽医,2015(23):222-225.  
[2]张细权,吕雪梅,杨玉华,等. 用微卫星多态性和 RAPD 分析广东地方鸡种的群体遗传变异[J]. 遗传学报,1998,25(2):112-119.  
[3]杨 勇,朱 庆,胡刚安. 运用微卫星和 RAPD 标记分析家鸡群体的杂合度[J]. 黑龙江畜牧兽医,2003(2):9-10.  
[4]吴信生,陈国宏,王得前,等. 利用微卫星技术分析中国部分地方鸡种的遗传结构[J]. 遗传学报,2004,31(1):43-50.  
[5]张 勇,肖礼华,陈 祥,等. 利用微卫星标记分析贵州地方鸡种的遗传多样性及亲缘关系[J]. 畜牧兽医学报,2006,37(12):1274-1281.  
[6]张 剑,初 芹,张 尧,等. 利用微卫星标记分析北京油鸡遗传多样性的研究[J]. 中国家禽,2014,36(7):47-49.  
[7]关学敏,耿立英,贺 英,等. 微卫星荧光标记分析坝上长尾鸡与3个地方品种鸡遗传多样性[J]. 中国畜牧杂志,2015,51(19):13-16.  
[8]肖 政,苏家乐,刘晓青,等. 杜鹃花种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 江苏农业学报,2016,32(2):442-447.  
[9]邵峰泉. 赤水黑羽乌骨鸡生产现状及开发利用前景[J]. 中国家禽,1995(6):37-38.  
[10]邵峰泉. 赤水黑羽乌骨鸡的现状、饲养管理及选育利用[J]. 贵州畜牧兽医,1996(1):22-24.