

黄勋和,赵雪敏,柯振华,等. 中国乌骨鸡微卫星位点 LEI0258 多态性研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(5):40-45.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.05.011

中国乌骨鸡微卫星位点 LEI0258 多态性研究

黄勋和^{1,2}, 赵雪敏¹, 柯振华¹, 陈龙星³, 李纪泰⁴, 段岩丽⁴, 钟福生^{1,2}

(1. 嘉应学院生命科学学院, 福建梅州 514015; 2. 广东省五华三黄鸡科技创新中心, 福建梅州 514015;

3. 福建省德化县农业局, 福建德化 362500; 4. 福建省泰宁县农业局畜牧站, 福建泰宁 354400)

摘要:应用微卫星位点 LEI0258 研究我国乌骨鸡的遗传多态性与分子进化。以 8 种乌骨鸡和 4 种黑羽鸡为研究材料,通过基因分型与测序,构建中介网络图,分析乌骨鸡的遗传多样性并探讨其起源。240 份样品共检测到 67 个等位基因,片段长度为 181~507 bp。乌骨鸡保持着与黑羽鸡相当的遗传变异水平,观察杂合度、期望杂合度和多态信息含量分别为 0.813、0.962、0.957。经测序鉴定出 38 个等位基因,部分等位基因为个别乌骨鸡品种所特有。10 个等位基因与 25 种已知 MHC 血清型相匹配。基于侧翼区变异信息的中介网络图将 38 个等位基因分为 6 条进化枝,未发现乌骨鸡特有的进化枝。研究结果为乌骨鸡的保种选育与开发利用及起源进化研究提供了理论基础。

关键词:乌骨鸡;微卫星位点;LEI0258;多态性;进化

中图分类号:S831.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)05-0040-06

微卫星位点 LEI0258 是近年来逐渐应用于家鸡遗传多样性与分子进化的遗传标记,与常规的微卫星不同,LEI0258 由 R13(CTATGTCTCTCTT)和 R12(CTTTCCTTCTTT)2 个重复单元组成,同时侧翼区转换、颠换或缺失等变异较多,因而该位点具有较高的多态性^[1-6]。微卫星位点 LEI0258 定位于鸡 16 号染色体的主要组织相容性复合体 B 区域(major histocompatibility complex B region, *MHC-B*),其遗传多态性通常与宿主的抗病能力呈正相关^[7-8],并且与 *MHC-B* 血清型有较好对应关系^[9]。因此,微卫星位点 LEI0258 对于评估保育群体的遗传多样性水平与保护潜力具有一定的参考价值。

乌骨鸡是独具中国特色的畜禽品种之一,因其特有的药用价值和我国的饮食文化,在近千年的环境选择及人工培养下,形成了近 20 个体型外貌、生产性能各异的地方品种^[10]。微卫星与线粒体 DNA 研究表明乌骨鸡具有较高的遗传多样性水平^[11-13],而乌骨鸡 LEI0258 多态性的研究尚属空白。本研究在应用微卫星位点 LEI0258 对我国主要乌骨鸡品种进行遗传多态性与分子进化分析,评估保育鸡种的遗传变异水平,探讨乌骨鸡的遗传起源,为乌骨鸡的保种选育与利用提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乌骨鸡(乌鸡)及黑羽鸡(非乌骨鸡)样品采自各自保种

收稿日期:2017-11-07

基金项目:广东省自然科学基金项目(编号:2014A030307018);广东省公益研究与能力建设项目(编号:2015A020208020、2016A030303068);嘉应学院省市共建重点建设项目[编号:嘉院(2017)27号]。

作者简介:黄勋和(1982—),男,广东河源人,博士,副教授,主要从事家鸡遗传资源与进化研究。E-mail:hxx826@jyu.edu.cn。

通信作者:钟福生,博士,教授,主要从事动物生产与畜牧工程。E-mail:zfs@jyu.edu.cn。

场,每个品种 20 羽(表 1),翅下静脉取血,终浓度 70% 的乙醇于 -80℃ 保存,采用传统的酚氯仿法提取基因组 DNA,PCR 相关试剂购自宝生物工程(大连)有限公司,引物由广州艾基生物技术有限公司合成。

表 1 样品信息

品种	代号	个体数(个)	采集地点	采集时间
乌骨鸡				
东兰乌鸡	DL	20	广西东兰县	2016 年 4 月
黄羽乌鸡	HW	20	江西省修水县	2015 年 12 月
余干乌骨鸡	YG	20	江西省余干县	2015 年 12 月
德化黑鸡	DH	20	福建省德化县	2016 年 7 月
金湖乌凤鸡	TN	20	福建省泰宁县	2016 年 7 月
江山乌骨鸡	JS	20	浙江省江山市	2016 年 6 月
雪峰乌骨鸡	XF	20	湖南省怀化市	2017 年 4 月
略阳乌鸡	LY	20	陕西省略阳县	2015 年 10 月
黑羽鸡				
龙胜凤鸡	LS	20	广西龙胜县	2016 年 4 月
黄山黑鸡	HS	20	安徽省黄山市	2016 年 5 月
东乡绿壳蛋鸡	DX	20	江西省东乡县	2015 年 10 月
寿光鸡	SG	20	山东省寿光县	2015 年 12 月
总计		240		

1.2 PCR 扩增与基因分型

扩增引物序列参照 McConnell 等的序列^[1],正向引物 5' 端添加 FAM 荧光标记。PCR 扩增体系为 30 μL:3.0 μL 10× PCR buffer,2.4 μL dNTP mixture(2.5 mmol/L),上、下游引物(20.0 μmol/L)各 0.3 μL,0.3 μL *rTaq* 酶(5 U/μL),50~100 ng 模板 DNA,灭菌 ddH₂O 补齐至 30 μL。PCR 扩增条件:94℃ 预变性 4 min;94℃ 30 s,63℃ 1 min,72℃ 延伸 1 min,38 个循环;72℃ 延伸 7 min。经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后送上海翼和应用生物技术有限公司 ABI 3730 平台进行基因分型。

1.3 等位基因测序

根据基因分型的结果,参照黄勋和等的方法^[5]挑选测序

样品,送广州艾基生物技术有限公司进行双向测序。

1.4 统计分析

观察杂合度 (observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度 (expected heterozygosity, H_e)、多态信息含量 (polymorphic information content, PIC)、等位基因数 (NA) 和等位基因频率等由软件 Cervus 3.0.3^[14] 统计。为与黄羽鸡^[5] 进行比较,应用软件 ADZE 1.0^[15] 对等位基因多态性进行稀释处理。使用软件 MEGA 6.0^[16] 执行序列比对。去掉重复序列后,使用软件 SplitsTree 4.10^[17] 构建基于侧翼序列的中介网络图 (median-joining network),进化枝的命名参考 Chazara 等^[2] 和黄勋和等^[5-6] 的方法。

2 结果与分析

2.1 基因型多态性

240 个样品基因分型共检测出 67 个等位基因,片段大小范围为 181 ~ 507 bp,频率最高的是等位基因 205,为 0.104 2,其次是 193(0.068 8)和 310(0.064 6)(表 2)。乌骨鸡观察杂合度、期望杂合度和多态信息含量分别为 0.813、0.962 和 0.957,与黑羽鸡和黄羽鸡相当,表明中国乌骨鸡保持着较高的遗传变异水平(表 3)。其中,德化黑鸡的多态信息含量最高(0.929),余干乌骨鸡最低(0.809)。德化黑鸡的等位基因丰度最高(14.389),黄羽乌鸡最低(9.554);江山乌骨鸡的私有等位基因丰度最高(4.957),黄羽乌鸡最低(1.014)。乌骨鸡的等位基因丰度与私有等位基因丰度均高于黑羽鸡和黄羽鸡(表 3)。

表 2 微卫星 LEI0258 的等位基因频率

等位基因	等位基因数量(个)												基因频率
	DL	LS	HW	YG	DH	TN	JS	HS	LY	XF	DX	SG	
181		3											0.006 3
183	2												0.004 2
190					2								0.004 2
193	2		4	15	6		1		3		2		0.068 8
194			1						2				0.006 3
203								2					0.004 2
205	3	8	12	3	5	1		7	1	9	1		0.104 2
206					2	1			4				0.014 6
217									5	2		1	0.016 7
218				1			2	2	4			3	0.025 0
237							2						0.004 2
238		7					3						0.020 8
239							7						0.014 6
242						1		1					0.004 2
243						2		1					0.008 3
250		1							3				0.008 3
251	4		5		3	1	1	2	1	1			0.035 4
254					1	1							0.004 2
260								1					0.002 1
261										2			0.004 2
263			1		1								0.004 2
273							3						0.006 3
275	5						2			7	5		0.039 6
276							1						0.002 1
282										1			0.002 1
285			2						2		3	5	0.025 0
286					1		3						0.008 3
287			2	4						1		5	0.025 0
288				2	1								0.006 3
297				1						2	1		0.008 3
298	1			2		3		5	2		1		0.029 2
300							1		2				0.006 3
306						1							0.002 1
307					2								0.004 2
308						4							0.008 3
309	2												0.004 2
310	8	5			1			1	1	3	12		0.064 6
311								1					0.002 1
312	4			1	2	1		4		3	2	1	0.037 5

续表 2

等位基因	等位基因数量(个)												基因频率
	DL	LS	HW	YG	DH	TN	JS	HS	LY	XF	DX	SG	
321				1									0.002 1
322	3			4			1						0.016 7
323		4										3	0.014 6
324		1			1		1	2				6	0.022 9
332					1								0.002 1
336	1	4	2	1	1	4		2				4	0.037 5
337												1	0.004 2
346								6			1		0.014 6
347			1	1									0.004 2
348	3	3	3	1	1			1	2	3			0.035 4
349							2	1					0.006 3
360						2				1	5	1	0.018 8
361					1	10	5				1		0.035 4
367				1									0.002 1
370									1	1			0.004 2
372		1							1		1		0.006 3
373			1		2		2			1			0.012 5
385		2	5		1					2	3	3	0.033 3
395											1		0.002 1
397				2					1	1	1		0.010 4
424					2								0.004 2
427							3						0.006 3
438					1								0.002 1
448												5	0.010 4
449						1		1				2	0.008 3
481					1								0.002 1
495	2		1		1	5			5				0.029 2
507		1											0.002 1

表 3 微卫星位点 LEI0258 遗传变异分析

品种	等位基因多态性			遗传多态性		
	N_A	Ar(g)	Ap(g)	H_E	H_0	PIC
乌骨鸡	58	35.010	12.925	0.962	0.813	0.957
东兰乌鸡	13	10.548	1.537	0.919	0.650	0.888
黄羽乌鸡	13	9.554	1.014	0.874	0.950	0.839
余干乌骨鸡	15	10.048	1.796	0.842	0.850	0.809
德化黑鸡	23	14.389	4.507	0.956	0.800	0.929
金湖乌凤鸡	15	10.524	4.599	0.903	0.800	0.870
雪峰乌骨鸡	16	11.175	1.752	0.910	0.750	0.878
江山乌骨鸡	17	12.293	4.957	0.938	0.850	0.909
略阳乌鸡	17	12.398	1.844	0.945	0.850	0.916
黑羽鸡	36	28.019	7.942	0.954	0.838	0.946
龙胜凤鸡	12	9.390	1.881	0.900	0.900	0.866
黄山黑鸡	17	11.691	2.808	0.927	0.800	0.896
东乡绿壳蛋鸡	15	10.235	0.877	0.879	0.650	0.846
寿光鸡	13	10.277	1.755	0.922	1.000	0.890
黄羽鸡*	39	29.086	6.478	0.949	0.850	0.942
广西三黄鸡	11	8.821	1.948	0.892	0.750	0.856
宁都三黄鸡	19	11.923	3.597	0.872	0.850	0.843
河田鸡	19	12.665	4.069	0.937	1.000	0.908
黄郎鸡	15	10.912	2.216	0.908	0.750	0.876
惠阳胡须鸡	19	12.971	3.162	0.942	0.900	0.913

注: N_A ,等位基因数;Ar(g),等位基因丰度;Ap(g),私有等位基因丰度;乌骨鸡对黑羽鸡g为80,乌骨鸡对黄羽鸡为100; H_E ,期望杂合度; H_0 ,观察杂合度;PIC,多态信息含量;*数据来源于黄勋和等的研究结果^[5],样品数均稀释为20。

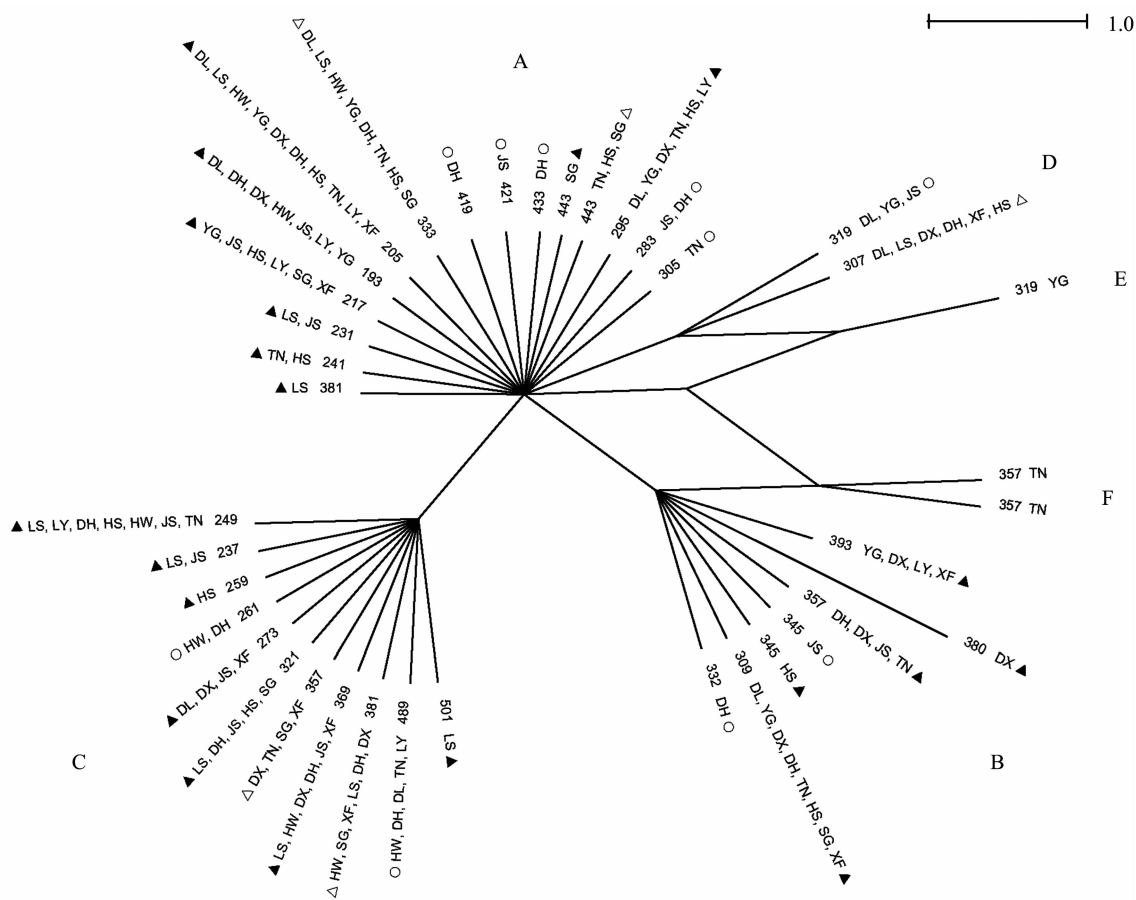
2.2 核苷酸序列分析

抽检 67 个样品进行双向测序,共检测出 38 个等位基因,片段大小在 193~501 bp,其中 10 个为首次发现(表 4)。3 个等位基因与毛细管电泳分型结果一致,分别是 193、205 和 237。微卫星位点 LEI0258 由 2 个重复单元 R13 (CTATGTCTCTTT)和 R12 (CTTTCCTCTTT)组成,重复次数分别 1~17 次和 3~28 次。R13 上游有 55 bp(不含引物序列),含有 8 个变异位点,以转换为主,但在 -29~-30 出现了“TT”缺失的现象。R12 下游有 53 bp(不含引物序列),含有 5 个变异位点,以颠换为主,5 碱基位置出现了 T/C 转换的现象。部分等位基因出现下游 11~18 位置“ATTTTGAG”缺失的现象,但仅限于小于 241 bp 的等位基因。等位基因 261 在 11~18 突变为 ATTTTGGG,不同于 Fulton 等报道的

“ATTTGAG”^[9],但与 Han 等^[3]、黄勋和等^[5-6]的报道相同。

2.3 侧翼区中介网络图分析

去掉 R13、R12 重复序列后,构建侧翼区变异信息的中介网络图(图 1)。38 个等位基因可分为 6 条进化枝(A~F),每条进化枝有 1~15 个等位基因。其中,A 枝的等位基因最多,为 15 个;E 枝只含有 1 个等位基因。有些等位基因只出现在特定的乌骨鸡品种,如 419(德化黑鸡)、421(金湖乌凤鸡);而有些等位基因则分布在多个乌骨鸡品种,如 193、205、249 和 333。每条进化枝均有黄羽鸡与乌骨鸡共享的等位基因,其中 A、B、C 同样存在于红原鸡中^[2,9]。10 个等位基因的血清型分别与 25 种 MHC 单倍型相对应,分布在 A、B、D 和 E 进化枝中,其中 2 个等位基因为黑羽鸡特有(表 4)。



○与黄羽鸡共享的等位基因；△与黑羽鸡共享的等位基因；▲与黄羽鸡和黑羽鸡共享的等位基因

图1 基于侧翼区变异信息的中介网络

3 讨论与结论

乌骨鸡是我国宝贵的家禽遗传资源,具有重要的经济价值和科学研究价值。微卫星位点是家鸡品种保育效果动态监测的重要遗传标记^[18-19]。微卫星 LEI0258 遗传变异分析显示,乌骨鸡保持着与黑羽鸡相当的遗传多样性水平(表 3),表明乌骨鸡保育状态较好,有利于后续的保种选育与开发利用。从期望杂合度、观察杂合度和多态信息含量可以看出,与常规微卫星相比,微卫星 LEI0258 位点普遍具有较高的遗传变异性^[5-6],这可能与所选研究样本以及遗传标记不同有关。

微卫星位点 LEI0258 特异等位基因可作为品种鉴定的参考依据^[3,5-6]。乌骨鸡具有较高的营养价值,为提高生长生产性能和营养价值,各地开展了乌骨鸡品种保种选育和新品系培养等工作。但市面上出现了许多良莠不齐的商品鸡冒充地方乌骨鸡品种,给鉴定工作带来了极大的困扰。本研究发现,少数等位基因为个别品种所特有,如 260(黄山黑鸡)、308(金湖乌凤鸡)。将来还需加大研究样品量以鉴定更多的品种特异等位基因,同时联合其他分子标记^[20-23] 以及外貌特征开展品种鉴定检测工作。

乌骨鸡具有较强的环境适应能力,在我国大部分省份均

表 4 微卫星 LEI0258 位点等位基因多态性

片段长度 (bp,通过基 因分型检测)	一致大小 (bp,通过测 序检测)	上游位点								重复单元		下游位点					B 单倍型	品种	基因 登录号	
		-43	-37	-32	-29	-30	-28	-20	-13	-7	Repeats		4	5	11 ~ 18	26				33
		T	T	T	TT	G	C	A	A	R13	R12	T	C	ATTTTGAG	A	A/T				
190/194/193	193	1	3	.	T	—	.	T	15.1,11,27,61	DL, DH, DX, HW, JS, LY,YG	DQ239547	
203/205/206	205	1	4	.	.	—	.	T	13.2,17,BW11	DL, LS, HW, YG, DX, DH,HS,TN,LY,XF	DQ239560	
217/218	217	1	5	.	.	—	.	T		YG,JS,HS,LY,SG,XF	KF534926	
238	231	1	7	.	.	—	.	T		LS,JS	KX365356	
237/238/239	237	1	6	A		LS,JS	KF535087	
243	241	1	7	.	.	—	.	T		TN,HS	KF534927	
250/251/254	249	1	7	A		LS, LY, DH, HS, HW, JS,TN	KX365357	
260	259	.	.	.	—	1	8	A		HS	KF535088	
263	261	1	8	.	.	ATTTTGGG	.	A	15,2.29	HW,DH	KX365359	
275	273	1	9	A		DL,DX,JS,XF	KF534932	
286	283	.	.	.	—	1	10	T		JS,DH	KF535090	
297/298	295	.	.	.	—	1	11	T	5	DL,YG,DX,TN,HS,LY	KX365365	
308	305	9	3	T		TN	KF535093	
310	307 *	.	.	.	—	A	.	.	.	1	12	T		DL,LS,DX,DH,XF,HS		
312	309	1	12	T	10,24,26,76	DL, YG, DX, DH, TN, HS,SG,XF	KX365369	
321	319 *	.	.	.	—	A	.	G	.	1	13	T		YG		
321/322	319	.	.	.	—	A	.	.	.	1	13	T		DL,YG,JS	KF534943	
324	321	1	13	A		LS,DH,JS,HS,SG	KF534945	
332	333	1	14	T	T	DH	KF365372	
336	333 *	1	14	A	.	.	.	T		DL, LS, HW, YG, DH, TN,HS,SG		
349	345 *	C	1	15	T	T	HS		
349	345	1	15	T	T	14	JS	KX365374
360	357 *	1	16	A		DX,TN,SG,XF		
361	357 *	G	.	1	16	T	T	TN		
361	357 *	G	G	1	16	T	T	TN		
361	357	1	16	T	T	5.1,6.1,21,75, 130,131,201	DH,DX,JS,TN	DQ239553
372/373	369	1	17	A		LS,HW,DX,DH,JS,XF	KF534948	
385	380 *	.	G	G	.	.	G	.	.	1	18	T	T	DX		
385	381 *	1	18	A		HW,SG,XF,LS,DH,DX		
385	381	1	18	T	13.1	LS	KX365378	
397	393	1	19	T	1	YG,DX,LY,XF	KX365379	
424	419	15	6	T		DH	KF534951	
427	421	17	4	T		JS	KF534952	
438	433	17	5	T		DH	KF535101	
448	443	15	8	T	6	SG	KX365385	
449	443 *	.	.	C	15	8	T		TN,HS,SG		
495	489	1	27	A		HW,DH,DL,TN,LY	KF535106	
507	501	1	28	A		LS	KX365387	

注：* 新序列。

有分布。MHC 遗传变异性通常与家禽抗病能力密切相关^[24-26],而微卫星位点 LEI0258 等位基因与 MHC 单倍型有较强的相关性^[9]。本研究根据已有材料整理了乌骨鸡微卫星位点 LEI0258 等位基因血清型与 MHC 单倍型的对应关系,后续还需开展乌骨鸡 MHC 单倍型相关的试验鉴定工作。

家鸡驯化的起源地和时间迄今仍存在较大争议^[27-33],基于侧翼区的中介网络图反映了等位基因之间的关系^[34],对系统进化研究亦有一定的参考价值^[5-6]。在乌骨鸡所有的进化

枝中,均存在与黑羽鸡和黄羽鸡共享的等位基因(图 1),乌骨鸡难以从家鸡中完全分离出来,提示乌骨鸡可能是从家鸡选育而来,但具体从哪些品种选育而来、具体选育时间等信息则需进一步研究。红原鸡也有部分等位基因分布于进化枝 A、B 和 C 中^[2,9],表明红原鸡是这些家鸡的共同祖先。将来需要加大乌骨鸡品种覆盖度和样品数量,从黑色素等特色基因全基因组角度探讨乌骨鸡的起源与扩散历史。

致谢:感谢华南农业大学张细权教授与何丹林高级实验

师、安徽农业大学耿照玉教授、广西大学夏中生教授与杨秀荣教授、江西省农业科学院武艳平博士、山东农业大学李显耀教授提供样品,以及广东海洋大学杜炳旺教授、福建农林大学李昂教授在采集样品时提供的帮助。

参考文献:

- [1] McConnell S K, Dawson D A, Wardle A, et al. The isolation and mapping of 19 tetranucleotide microsatellite markers in the chicken [J]. *Animal Genetics*, 1999, 30(3): 183–189.
- [2] Chazara O, Chang C S, Bruneau N A, et al. Diversity and evolution of the highly polymorphic tandem repeat LEI0258 in the chicken MHC – B region [J]. *Immunogenetics*, 2013, 65(6): 447–459.
- [3] Han B, Lian L, Qu L J, et al. Abundant polymorphisms at the microsatellite locus LEI0258 in indigenous chickens [J]. *Poultry Science*, 2013, 92(12): 3113–3119.
- [4] 金丽娜, 韩建林. 鸡 MHC 区域内微卫星 LEI0258 和 MCW0312 的遗传多态性 [J]. *畜牧与兽医*, 2015, 47(7): 50–55.
- [5] 黄勋和, 李丽芝, 张金枫, 等. 华南家鸡 MHC – B 区域复合微卫星位点 LEI0258 的遗传多样性与进化研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(11): 2175–2183.
- [6] 黄勋和, 张金枫, 谭坤凤, 等. 五华三黄鸡 MHC – B 区域复合微卫星位点 LEI0258 遗传多样性与进化研究 [J]. *广东农业科学*, 2016, 43(6): 163–168.
- [7] Bacon L D, Hunt H D, Cheng H H. Genetic resistance to Marek's disease [J]. *Current Top Microbiology Immunogenetics*, 2001, 255: 121–141.
- [8] Lee L F, Bacon L D, Yoshida S, et al. The efficacy of recombinant fowlpox vaccine protection against Marek's disease: Its dependence on chicken line and B haplotype [J]. *Avian Diseases*, 2004, 48(1): 129–137.
- [9] Fulton J E, Juul – Madsen H R, Ashwell C M, et al. Molecular genotype identification of the *Gallus gallus* major histocompatibility complex [J]. *Immunogenetics*, 2006, 58(5/6): 407–421.
- [10] 国家畜禽遗传资源委员会. 中国畜禽遗传资源志: 家禽志 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [11] 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.
- [12] 魏麟, 刘胜贵, 史宪伟. 雪峰乌骨鸡自然群体遗传多样性的微卫星分析 [J]. *生物多样性*, 2008, 16(5): 503–508.
- [13] 徐文娟, 朱文奇, 束婧婷, 等. 我国主要乌骨鸡品种遗传多样性和系统进化研究 [J]. *中国畜牧杂志*, 2014, 50(23): 10–14.
- [14] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(5): 1099–1106.
- [15] Szpiech Z A, Jakobsson M, Rosenberg N A. ADZE: a rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(21): 2498–2504.
- [16] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725–2729.
- [17] Huson D H, Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2006, 23(2): 254–267.
- [18] Groeneveld L F, Lenstra J A, Eding H, et al. Genetic diversity in farm animals – a review [J]. *Animal Genetics*, 2010, 41(1): 6–31.
- [19] 张跟喜, 丁馥香, 王金玉, 等. 利用微卫星标记分析边鸡遗传多样性及保种效果 [J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(5): 944–950.
- [20] Yacoub H A, Fathi M M, Sadek M A. Using cytochrome b gene of mtDNA as a DNA barcoding marker in chicken strains [J]. *Mitochondrial DNA*, 2015, 26(2): 217–223.
- [21] 黄勋和, 陈洁波, 何丹林, 等. DNA 条形码技术鉴定中国地方鸡品种的重新评估 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49(13): 2622–2633.
- [22] 秦玉梅, 任嵩, 李佳玉, 等. 鸡 *FSHB*, *ESRα* 基因多态性及其合并基因型与产蛋性能的关联性分析 [J]. *江苏农业学报*, 2017, 33(4): 854–862.
- [23] 陶志云, 徐文娟, 朱春红, 等. 高邮鸭 *GH* 基因 SNP 位点及其与早期体质量的相关性 [J]. *江苏农业学报*, 2017, 33(1): 146–150.
- [24] Rogers S L, Kaufman J. High allelic polymorphism, moderate sequence diversity and diversifying selection for B – NK but not B – lec, the pair of lectin – like receptor genes in the chicken MHC [J]. *Immunogenetics*, 2008, 60(8): 461–475.
- [25] 李福伟, 逯岩, 雷秋霞, 等. 山东地方鸡 *MHCB – F* 基因遗传变异与免疫性状相关性研究 [J]. *农业生物技术学报*, 2013, 21(2): 179–184.
- [26] Wang H Z, Ma T, Chang G B, et al. Molecular genotype identification of different chickens; major histocompatibility complex [J]. *Journal of Science and Technology*, 2014, 2: 1–7.
- [27] Liu Y P, Wu G S, Yao Y G, et al. Multiple maternal origins of chickens; out of the Asian jungles [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 38(1): 12–19.
- [28] Miao Y W, Peng M S, Wu G S, et al. Chicken domestication: an updated perspective based on mitochondrial genomes [J]. *Heredity*, 2013, 110(3): 277–282.
- [29] Xiang H, Gao J Q, Yu B Q, et al. Early holocene chicken domestication in Northern China [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(49): 17564–17569.
- [30] Peng M S, Shi N N, Yao Y G, et al. Caveats about interpretation of ancient chicken mtDNAs from Northern China [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(16): E1970–E1971.
- [31] Peters J, Lebrasseur O, Best J, et al. Questioning new answers regarding Holocene chicken domestication in China [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(19): E2415.
- [32] Eda M, Lu P, Kikuchi H, et al. Reevaluation of early Holocene chicken domestication in Northern China [J]. *Journal of Archaeological Science*, 2016, 67: 25–31.
- [33] Peters J, Lebrasseur O, Deng H, et al. Holocene cultural history of red jungle fowl (*Gallus gallus*) and its domestic descendant in East Asia [J]. *Quaternary Science Reviews*, 2016, 142: 102–119.
- [34] E G X, Sha R, Zeng S C, et al. Genetic variability, evidence of potential recombinational event and selection of LEI0258 in chicken [J]. *Gene*, 2014, 537(1): 126–131.