

尼西鸡遗传多样性微卫星标记分析

叶朗惠¹, 霍金龙¹, 苗永旺^{1,2,*}, 朱胜全³, 陈涛¹, 刘丽仙⁴, 潘伟荣¹, 毕保良¹

(1. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南大学 生物资源保护与利用国家重点实验室, 云南 昆明 650091; 3. 云南省种羊场, 云南 寻甸 655205; 4. 云南农业职业技术学院 畜牧兽医系, 云南 昆明 650212)

摘要: 尼西鸡抗病力强, 产蛋性能高, 适应高海拔及寒冷的气候条件, 是具有独特群体遗传特性的高原地方鸡种。为了对其有效保护和合理利用提供遗传背景资料, 筛选了家鸡基因组 24 条染色体上的 33 个微卫星标记, 对随机选取的 50 个尼西鸡个体进行多态性检测, 共检测到 122 个等位基因, 每个座位平均等位基因数为 3.7 个。该群体平均多态信息含量和平均杂合度分别为 0.551 4 和 0.635 0, 大染色体较小染色体的微卫星多态性程度高。表明尼西鸡属多态性较丰富的群体。

关键词: 尼西鸡; 微卫星标记; 遗传多样性; 多态信息含量; 杂合度

中图分类号: Q347 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853 (2006) 01-0068-07

Genetic Diversity Analysis of Nixi Chicken Using Microsatellite DNA Markers

YE Lang-hui¹, HUO Jin-long¹, MIAO Yong-wang^{1,2,*}, ZHU Sheng-quan³, CHEN Tao¹, LIU Li-xian⁴, PAN Wei-rong¹, BI Bao-liang¹

(1. Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China;

2. Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-resources, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China;

3. Sheep Breeding Farm of Yunnan Province, Xundian, Yunnan 655205, China;

4. Department of Animal Husbandry & Veterinary medicine, Yunnan Agricultural Polytechnical College, Kunming 650212, China)

Abstract: Nixi chicken as an indigenous breed in Yunnan plateau displays some particular genetic characteristics, such as disease resistance, fecundity and the ability to adapt to high altitude and the cold weather. In order to elucidate background information on its genetic diversity and population history and to support the decision on its conservation and further utilization, the polymorphisms of 33 microsatellite loci from 24 chromosomes were examined to assess the level of genetic diversity in this breed. The results showed that 122 alleles were identified in 50 individuals and the mean value was 3.7 per locus. The average heterozygosity and polymorphic information content of 33 microsatellite loci were 0.635 0 and 0.551 4, respectively. The genetic polymorphism observed in macrochromosomes was higher than that in microchromosomes. These results indicated that the Nixi chicken breed has high level of genetic diversity.

Key words: Nixi chicken; Microsatellite markers; Genetic diversity; Polymorphism information content; Heterozygosity

尼西鸡是我国高原蛋用型地方品种, 属于藏鸡的一个类型, 主产于云南香格里拉县的尼西乡, 故称尼西鸡。该鸡种产区为海拔 2 900 m 左右的高原高寒山区, 一般为农户饲养, 以放养为主, 饲养管

理粗放, 人工选择程度较低。经过长期选育, 该鸡具有适应当地高海拔、寒冷自然环境的能力, 产蛋量高、肉质好。成年体重公鸡为 1.3 kg 左右, 母鸡为 1.1 kg 左右 (The Bureau of Animal Husbandry

* 收稿日期: 2005-09-16; 接受日期: 2005-12-21

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目 (5Y0196B)

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: yongwangmiao999@yahoo.com.cn, Tel: 0871-6527698

第一作者简介: 叶朗惠 (1978-), 女, 硕士, 主要从事动物分子遗传学方面的研究。

of Yunnan Province, 1987)。

近年来,随着外来专门化品种的引入和大力推广,一些地方鸡品种受到很大冲击,特有的地方家鸡品种遗传多样性迅速缩小 (Shen, 2001; Hu & Zhang, 1997)。畜禽遗传资源的保护,必须建立在对家养动物的遗传多样性进行深入研究的基础上。只有了解现有畜禽品种资源的遗传背景、群体遗传结构等,才能提出合理的保种方法和措施。因此,深入开展地方鸡遗传多样性的研究,对地方鸡品种资源的保护和合理利用具有重要意义。

微卫星标记与其他分子标记相比,具有在基因组中数量大、分布广而均匀、多态性丰富、等显性遗传以及分析方法简便、快捷等优点 (Zhang & Zhang, 2001)。因此,微卫星标记目前已被广泛应用于群体遗传结构、遗传多样性检测的研究中 (Zhang & Zhang, 2001; Du et al, 2004; Zhu & Li, 2003; Qu et al, 2004; Gao et al, 2004)。本研究用

微卫星 DNA 标记对尼西鸡的群体遗传多样性做了深入的分析,以揭示其群体遗传结构和特征,为下一步采取科学而有效的措施保护利用该鸡种资源提供科学依据,也为其育种工作提供遗传背景资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

于云南香格里拉县尼西乡采集 50 只尼西鸡血样,公母各半,鸡个体间无直接的血缘关系。每只鸡翅下静脉取血 2 mL,肝素钠抗凝,与等体积的 DNA 保存液混合, -20 °C 冰箱保存待用。

1.2 微卫星引物

从 90 对微卫星引物中筛选出 33 对效果好的引物用于遗传多样性分析,33 个微卫星座位分布于家鸡基因组的 24 条染色体上。微卫星引物序列来自 <http://iowa.thearkdb.org>,引物由上海生工生物工程技术有限公司合成 (表 1)。

表 1 筛选出的尼西鸡 33 对微卫星引物的信息

Tab. 1 Information of 33 pairs of microsatellite primers of Nixi chicken

序号 No.	染色体 Chr.	座位 Locus	引物序列 Sequence of the primer ¹	镁离子浓度 Mg ²⁺ (mmol/L)	退火温度 Anneal temp. (°C)	扩增片段大小 Fragment size (bp)
1	1	ADL0251	F: TTTGGCTTAGGGTGATGCTG R: CGTGCTCCACACAGGAATGT	2.0	56	200 - 350
2	1	ADL0188	F: CACTTCCAGTATTAACGTGA R: GTGGACACAATGAGTTCCTC	1.8	53	150 - 209
3	2	ADL0257	F: ATCTTGA AACCTCACA AAGC R: TCTTCCAACCTATTTTTAGT	1.8	50	161 - 218
4	2	ADL0190	F: TCAGCTCTTCAGGCAAAAAG R: AACTTGGACCACAATCTTAT	1.5	50	220 - 231
5	3	MCW0252	F: CTGCTCAAGCCCATCAAATGG R: CGATAACATCTGACACTGCC	2.0	56	254 - 296
6	3	MCW0224	F: ATTACCTTTCTTCATTAACGCC R: TTCATAGACTTGAGCGAGGAC	1.8	56	291 - 301
7	4	MCW0122	F: TCCTTTGGAGCACGGAGGAAC R: AGATGCACAGGCAGAGCTCCA	2.0	57	267 - 277
8	4	MCW0170	F: TTGTGAAACTCACAGCAGCTG R: TTATAGCAGGCTGGCCTGAAG	2.0	60	263 - 267
9	4	MCW0005	F: ACCTCCTGCTGGCAAATAAATTGC R: TCACTTTAGCTCCATCAGGATTCA	2.0	60	189 - 259
10	4	MCW0240	F: CAAAACCGGTGTCACCTACTG R: GGTATTCTTCAGTCACTTCC	2.0	58	172 - 197
11	5	MCW0029	F: CATGCAATTCAGGACCGTGCA R: GTGGACACCCATTTGTACCCTATG	2.0	56	149 - 194
12	6	MCW0176	F: AAAGAGAAGTATAAAACATGCC R: TCCATTCTTGGCAGTGCATAG	1.8	58	257 - 270
13	7	MCW0120	F: CTATGTAAGCTTGAATCTTCA R: ATTCTGGGTGCTAATTTACC	1.5	54	250 - 287

(续下表)

(接上表)

序号 No.	染色体 Chr.	座位 Locus	引物序列 Sequence of the primer ¹	镁离子浓度 Mg ²⁺ (mmol/L)	退火温度 Anneal temp. (°C)	扩增片段大小 Fragment size (bp)
14	8	ADL0121	F: CTGGAACAAGAGGGCTTTGC R: GGATGTGAAAAATCTCCTGG	1.8	56	125 – 157
15	9	MCW0134	F: GGAGACTTCATTGTGTAGCAC R: ACCAAAAGACTGGAGGTCAAC	2.0	56	260 – 284
16	10	MCW0035	F: CAGAAACATTTGGACTTGGCTT R: TTGCTTCATTCTAGTCTCCAGTT	2.0	60	227 – 233
17	11	MCW0097	F: GGAGAGCATCTGCCCTTCCTAG R: TGGTCTTCCAGTCTATGGTAG	1.8	56	263 – 309
18	12	MCW0198	F: GATCTTTGCTACCATCCACTG R: ACCCATCTGGTTGGACTATGC	2.0	57	294 – 324
19	13	MCW0104	F: TAGCACAACCTCAAGCTGTGAG R: AGACTTGCACAGCTGTGTACC	1.8	56	186 – 263
20	14	LEI0098	F: AAAAGACAATGCAATTGGTGC R: CTGCCACTGATGCTGTCACT	2.0	60	147 – 170
21	15	MCW0080	F: GAAATGGTACAGTGCAGTTGG R: CCGTGCATTCTTAATTGACAG	1.8	58	278 – 337
22	17	MCW0330	F: TGGACCTCATAGTCTGACAG R: AATGTTCTCATAGAGTTCTCTGC	1.8	56	260 – 290
23	18	MCW0217	F: GATCTTTCTGGAACAGATTTTC R: CTGCACTGGTTGAGTCTCTG	1.8	56	153 – 174
24	19	MCW0094	F: GGAGCTGGTATTGTCTTAAG R: GCACAGCCTTTTGACATGTAC	2.0	60	77 – 95
25	23	MCW0165	F: CAGACATGCATGCCAGATGA R: GATCCAGTCTGACAGGCTGC	2.0	55	125 – 144
26	26	MCW0285	F: AGTTGGAGTTATATTA CGGG R: TATGACATAATCCACGCTGAG	1.8	58	156 – 300
27	27	MCW0328	F: ATGGAAACAGATGGAGCTGGC R: CTCCAATCCCAGGCTCCAAC	2.0	57	262 – 324
28	28	ADL0284	F: CAGAGTTCATCCGCCACTGC R: CCTCCCCACTAACATTGGAA	2.0	60	137 – 167
29	Z	LEI0075	F: CTATGCTATCATTGAAAACACAGC R: ATCCAGTGGTGTCTGGTCTAG	2.0	58	226 – 259
30	Z	MCW0294	F: ACTGAACAGAAACAGTCTTCC R: CTTCTCTAGATGTCCACTACC	2.0	55	306 – 317
31	Z	MCW0154	F: GATCTGTTTTATCACACACAC R: CCATTTCTTTGTTATCAGGC	2.0	55	171 – 193
32	Z	LEI0254	F: AGACCACTGGATCCAACTC R: GTCTGGAACATCCCTTCATC	2.0	55	89 – 101
33	E47W24	MCW0119	F: TGTGCTGCTCCACAGGCCAG R: GATCTGTGTCTGGCATTGTGT	2.0	60	117 – 180

¹F: 正向引物 (Forward primer); R: 反向引物 (Reverse primer)

1.3 PCR 扩增及其电泳检测

PCR 反应体系为 25 μL , 含鸡基因组 DNA 模板 30 ~ 50 ng, Mg²⁺ 1.5 ~ 2.5 mmol/L (因座位而异), 10 × buffer 2 μL , dNTP 200 $\mu\text{mol/L}$, Taq 酶 1.25 U, 引物 0.1 ~ 1 $\mu\text{mol/L}$, 按各引物条件于德国 Biometra T gradient PCR 仪上进行扩增。PCR 反应条件为: 95 °C 10 min; 94 °C 30 s, 50 ~ 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 35 个循环; 72 °C 5 min。取 5 μL PCR 产物与 2

μL 上样缓冲液混合, 300 V 电压下在 10% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳 4 ~ 5 h。银染显色, 凝胶成像仪上照相。

1.4 数据统计及分析

1.4.1 群体等位基因频率 利用 Labwork 4.5 软件, 根据电泳结果确定每个扩增条带的长度, 判断个体基因型, 计算各微卫星座位的等位基因频率。等位基因频率:

$$P_i = [2(i i) + (ij1) + (ij2) + \dots + (ijn)] / 2N$$

其中, P_i 为第 i 个等位基因的频率; $i i$ 为第 i 个等位基因纯合的个体数; $j n$ 为与 i 共显性的第 n 个等位基因; $ij n$ 为含有 i 与 $j n$ 共显等位基因的个体数; N 为群体中的个体数。

1.4.2 多态信息含量 (polymorphism information content, PIC) 按照 Botstein et al (1980) 公式计算:

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

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

其中 P_i 、 P_j 分别为群体中第 i 、 j 个等位基因频率, n 为等位基因数。

1.4.3 群体杂合度 (heterozygosity, H) 根据 Nei (1978) 公式计算:

$$h = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2, H = \sum_{j=1}^r h_j / r$$

其中, h 为群体内某一座位的杂合度, H 为群体平均杂合度, r 为座位个数。

2 结果与分析

2.1 微卫星扩增结果及多态性

33 个微卫星位点在尼西鸡中共检测到 122 个等位基因。等位基因最多的座位是 ADL0190、MCW0029、ADL0284, 各有 6 个等位基因; 等位基因最少的座位是 MCW0294、MCW0165、MCW0330、MCW0134、MCW0035、MCW0005、MCW0122, 各有 2 个等位基因; 其他座位有 3~5 个等位基因。图 1 为 MCW0285 座位部分个体的 PCR 扩增电泳检测结果。

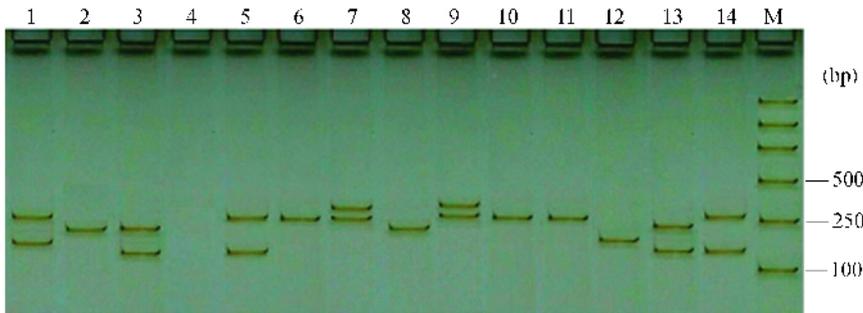


图 1 尼西鸡微卫星座位 MCW0285 的部分 PCR 扩增结果

Fig. 1 A portion of PCR results of microsatellite primer MCW 0285 of Nixi chicken
M: 分子量标记 Marker (DL2000); 4: 阴性对照 (Negative control)

2.2 群体遗传结构及哈迪-温伯格平衡检验

不同的微卫星座位的等位基因频率和等位基因数表现出明显的差异。等位基因的频率大小在 0.020 8~0.670 0 之间, 等位基因数 2~6 个不等。经哈迪-温伯格平衡检验, MCW0035、MCW0198、MCW0252、MCW0330 四个微卫星座位处于平衡状态, 其他座位均处于不平衡状态。各微卫星座位的等位基因频率和等位基因数及群体哈迪-温伯格平衡检验结果见表 2。

2.3 多态信息含量和杂合度

33 个微卫星座位的平均多态信息含量 (PIC) 和平均杂合度 (H) 分别为 0.551 4 和 0.635 0。大染色体 (鸡 1~8 号染色体、Z 染色体为大染色体, 其他已知染色体定为小染色体) 上共有 18 个座位, PIC 和 H 分别为 0.564 4, 0.640 8; 小染色体上共有 15 个座位, PIC 和 H 分别为 0.535 8, 0.628 0。

33 个微卫星座位在大、小染色体上的分布及其 PIC 和 H 值见表 3。

3 讨论

采用 33 个微卫星标记座位, 对尼西鸡的 50 个个体进行了遗传多样性分析, 检测的个体数量、公母比例及微卫星座位数等, 都达到联合国粮食与农业组织 (FAO) 对家养动物遗传多样性检测的要求 (FAO, 1998)。家鸡共有 39 对染色体 ($2n = 78$) (Zeng & He, 1986), 本研究的 33 个微卫星座位分布于家鸡染色体组的 24 条染色体上, 即位于第 1~15、17~19、23、26~28 号常染色体和性染色体 Z 等染色体上, 涉及的染色体已占家鸡基因组的 61.5%。目前, 国内采用微卫星标记研究地方鸡群体遗传多样性时, 所选微卫星标记座位数多在 5~30 个范围内, 多位于 2~18 条染色体上 (Du et al,

表 2 尼西鸡 33 个微卫星座位的等位基因频率、等位基因数及卡方值
 Tab. 2 Allele frequencies and its numbers and χ^2 value of 33 microsatellite loci of Nixi chicken

座位 Locus	等位基因频率 Allele frequencies						等位基因数 No. of allele	卡方值 χ^2 Value
	P1	P2	P3	P4	P5	P6		
ADL0251	0.070 0	0.350 0	0.580 0				3	18.993 2**
ADL0188	0.183 7	0.255 1	0.224 5	0.285 7	0.051 0		5	128.924 1**
ADL0257	0.255 1	0.255 1	0.244 9	0.244 9			4	96.041 5**
ADL0190	0.050 0	0.200 0	0.170 0	0.200 0	0.330 0	0.050 0	6	57.853 9**
MCW0252	0.240 0	0.340 0	0.420 0				3	6.476 3
MCW0224	0.310 0	0.380 0	0.310 0				3	26.274 7**
MCW0240	0.224 5	0.275 5	0.224 5	0.275 5			4	144.078 4**
MCW0005	0.650 0	0.350 0					2	14.497 0**
MCW0170	0.387 8	0.571 4	0.040 8				3	21.403 2**
MCW0122	0.500 0	0.500 0					2	50.000 0**
MCW0029	0.120 0	0.150 0	0.280 0	0.140 0	0.240 0	0.070 0	6	136.906 7**
MCW0176	0.086 2	0.344 8	0.086 2	0.482 8			4	51.046 6**
MCW0120	0.287 2	0.042 6	0.425 5	0.244 7			4	34.664 2**
ADL0121	0.120 0	0.670 0	0.210 0				3	24.935 4**
MCW0134	0.500 0	0.500 0					2	50.000 0**
MCW0035	0.562 5	0.437 5					2	7.728 4
MCW0097	0.170 0	0.500 0	0.330 0				3	50.000 0**
MCW0198	0.102 6	0.564 1	0.333 3				3	8.908 1
MCW0104	0.190 0	0.180 0	0.300 0	0.330 0			4	36.653 7**
LEI0098	0.190 0	0.310 0	0.190 0	0.310 0			4	150.000 0**
MCW0080	0.336 7	0.153 1	0.510 2				3	44.275 2**
MCW0330	0.581 6	0.418 4					2	6.628 8
MCW0217	0.255 1	0.244 9	0.255 1	0.244 9			4	144.079 9**
MCW0094	0.120 0	0.380 0	0.320 0	0.180 0			4	67.763 2**
MCW0165	0.500 0	0.500 0					2	50.000 0**
MCW0328	0.180 9	0.149 0	0.436 2	0.234 0			4	57.332 8**
MCW0285	0.080 0	0.170 0	0.060 0	0.530 0	0.160 0		5	34.154 7**
ADL0284	0.020 8	0.187 5	0.260 4	0.208 3	0.281 3	0.041 7	6	114.003 1**
MCW0294	0.500 0	0.500 0					2	50.170 9**
LEI0075	0.210 0	0.190 0	0.130 0	0.180 0	0.200 0	0.090 0	6	112.575 3**
MCW0154	0.300 0	0.500 0	0.200 0				3	50.000 0**
LEI0254	0.400 0	0.440 0	0.160 0				3	50.000 0**
MCW0119	0.081 6	0.449 0	0.418 4	0.051 0			4	100.000 0**

p_i : 某一座位第 i 个等位基因的频率 (Frequency of the i th allele at a locus), $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$.

** $P < 0.01$.

2004; Zhu & Li, 2003; Qu et al, 2004; Gao et al, 2004)。本研究无论是所选择的微卫星座位数目, 还是这些座位在整个家鸡基因组的覆盖程度上, 都能很好地反映尼西鸡遗传多样性, 具有较高的可靠性。

33 个微卫星座位共检测到 122 个等位基因, 这些等位基因的频率大小在 0.020 8 ~ 0.670 0 之间, 大多数座位表现为多态性。其中 29 个座位在尼西鸡群体中处于不平衡状态; 4 个座位处于平衡状态。在以往鸡群体遗传多样性的微卫星检测研究中, 也出现了一些位点的不平衡现象 (Qu et al, 2004)。根据哈迪-温伯格定律, 在一个没有选择、突变或

迁移的随机交配的大群体中, 基因频率与基因型频率在世代间保持不变。也就是说, 群体的这种稳定状态的维持是有条件的, 相对的, 影响群体基因平衡的一些因素的改变将导致群体遗传结构的改变。本研究中 29 个座位处于不平衡状态, 推测可能是由于尼西鸡分布地域有限, 其群体数量和有效群体数量不大, 加之该鸡种主要为蛋用, 饲养的母鸡多, 公鸡少, 群体很难做到随机交配, 而近交或多或少地会存在, 这些都对群体的基因平衡产生了影响。

多态信息含量是衡量微卫星座位多态性高低的较好的指标。当 $PIC > 0.5$ 时, 该基因座为高度多态基因座, 标记可提供信息较多; 当 $0.25 < PIC <$

表 3 尼西鸡 33 个微卫星座位的多态信息含量和杂合度

Tab. 3 Polymorphism information content and heterozygosity of 33 microsatellite loci of Nixi chicken

大染色体 Macrochromosomes				小染色体 Microchromosomes			
座位 Locus	染色体 Chr.	PIC	H	座位 Locus	染色体 Chr.	PIC	H
ADL0251	1	0.370 2	0.536 2	MCW0134	9	0.375 0	0.500 0
ADL0188	1	0.722 7	0.766 6	MCW0035	10	0.371 1	0.492 2
ADL0257	2	0.704 2	0.749 9	MCW0097	11	0.488 9	0.612 2
ADL0190	2	0.727 9	0.777 2	MCW0198	12	0.412 1	0.560 2
MCW0252	3	0.555 5	0.650 4	MCW0104	13	0.659 8	0.732 6
MCW0224	3	0.580 1	0.663 4	LEI0098	14	0.694 0	0.735 6
MCW0122	4	0.375 0	0.500 0	MCW0080	15	0.573 2	0.602 9
MCW0170	4	0.421 1	0.521 4	MCW0330	17	0.368 3	0.486 7
MCW0005	4	0.351 5	0.455 0	MCW0217	18	0.703 1	0.749 9
MCW0240	4	0.701 5	0.747 4	MCW0094	19	0.623 2	0.706 4
MCW0029	5	0.773 8	0.802 6	MCW0165	23	0.375 0	0.500 0
MCW0176	6	0.617 5	0.633 2	MCW0285	26	0.590 2	0.654 6
MCW0120	7	0.608 1	0.674 8	MCW0328	27	0.619 2	0.700 0
ADL0121	8	0.400 5	0.492 6	ADL0284	28	0.716 3	0.772 3
LEI0075	Z	0.799 9	0.822 4	MCW0119	E47W24	0.467 5	0.614 1
MCW0294	Z	0.375 0	0.500 0				
MCW0154	Z	0.535 0	0.620 0				
LEI0254	Z	0.539 0	0.620 8				
Mean ± SE		0.564 4 ± 0.036 07	0.640 8 ± 0.028 05			0.535 8 ± 0.023 21	0.628 0 ± 0.026 47
全部座位 Mean ± SE		PIC = 0.551 4 ± 0.024 88 ; H = 0.635 0 ± 0.019 20					

0.5 时, 为中度多态基因座, 标记提供的信息较合理; 当 $PIC < 0.25$ 时, 为低度多态基因座, 标记提供的信息较差。本文分析的 33 个座位中, 有 20 个座位 $PIC > 0.5$, 13 个座位 $0.25 < PIC < 0.5$, 33 个座位平均 PIC 为 0.551 4, 这提示尼西鸡为遗传多样性较为丰富的群体。群体的杂合度是表示在被检测的位点上群体中的杂合子频率, 群体平均杂合度的高低反应了群体的遗传一致性程度, 平均杂合度越高, 群体的遗传一致性就越低, 其遗传多样性越高。尼西鸡可以看作是藏鸡的一个类群, 本研究得到尼西鸡群体的平均杂合度为 0.635 0, 这一结果与 Du et al (2004) 对藏鸡群体的研究结果 (平均杂合度为 0.74) 相比略低, 说明尼西鸡和藏鸡在群体的遗传多样性上已存在一定差异。与已报道的我国其他地方鸡群体 (Wang et al, 2003; Wu et al, 2004; Chen et al, 2003; Qu et al, 2004; Zhu & Li, 2002) 相比, 尼西鸡的平均杂合度较高, 说明其群体遗传变异程度较高, 遗传多样性相对较丰富。

本研究按染色体大小对微卫星标记进行的分类统计表明: MAC 上的平均 PIC 和平均 H 分别为

0.564 4, 0.640 8; MIC 上的平均 PIC 和平均 H 分别为 0.535 8, 0.628 0; 微卫星多态性程度大染色体比小染色体高, 且达到极显著水平 ($P < 0.01$)。结果与 Du et al (2004) 对藏鸡的研究结果一致。小染色体约占家鸡整个基因组的 30%, 基因分布稠密, 其上基因分布密度比大染色体高 1.5 ~ 3.5 倍, 这些基因具有较高的活性 (Smith & Burt, 1998; Smith et al, 2000)。由此推测, 尼西鸡小染色体受到的选择压力比大染色体大, 小染色体上的变异应比大染色体上的变异少。这可能在一定程度上揭示了小染色体上多态性程度低的原因。

尼西鸡的遗传多样性较高与 Zhou et al (1998) 利用血液蛋白及同工酶分析的结果及 Miao (2003) 用线粒体 DNA 分析的结果一致。这与该鸡种长期以来处于管理粗放, 人工选择强度不大的状况相符。尼西鸡较丰富的遗传多样性, 对其保种和开发利用具有重要意义。建议加强尼西鸡的保种工作, 在其产地建立保种区, 避免引进其他鸡种, 进行该鸡种的纯种繁育工作, 扩大群体数量, 避免近交, 以保持其群体遗传多样性。

参考文献:

- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, **32**: 314 - 331.
- Chen HJ, Yue YS, Fan XZ, Zhang CS, Du LX. 2003. Analysis of genetic diversity of Shandong indigenous chicken breeds using microsatellite marker [J]. *Acta Genetica Sin*, **30** (9): 855 - 860. [陈红菊,岳永生,樊新忠,张传生,杜立新. 2003. 利用微卫星标记分析山东地方鸡品种的遗传多样性. 遗传学报, **30** (9): 855 - 860.]
- Du ZQ, Qu LJ, Li XY, Hu XX, Huang YH, Li N, Yang N. 2004. Genetic diversity in Tibetan chicken [J]. *Hereditas*, **26** (2): 167 - 171. [杜志强,曲鲁江,李显耀,胡晓湘,黄银花,李 宁,杨 宁. 2004. 藏鸡群体遗传多样性研究. 遗传, **26** (2): 167 - 171.]
- FAO. 1998. Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): Original working group report (A). Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans [EB/OL]. (<http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/workgrp.pdf>.)
- Gao YS, Yang N, Li HF, Wang GH, Tong HB. 2004. Analysis of genetic diversity of preserved population of native chicken breeds by microsatellite and file foundation of markers [J]. *Hereditas*, **26** (6): 859 - 864. [高玉时,杨 宁,李慧芳,王克华,董海兵. 2004. 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. 遗传, **26** (6): 859 - 864.]
- Hu ZY, Zhang YP. 1997. Genetic Diversity of Animals and Plants in China [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 48 - 154. [胡志昂,张亚平. 1997. 中国动植物的遗传多样性. 杭州:浙江科学技术出版社, 48 - 154.]
- Miao YW. 2003. The genetic diversity and divergence analysis of Yunnan native chicken breeds [D]. Master thesis, Yunnan Agricultural University. [苗永旺. 2003. 云南地方鸡遗传多样性与起源分化研究. 云南农业大学硕士学位论文.]
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, **89**: 583 - 590.
- Qu LJ, Wu GQ, Li SY, Yang N. 2004. Conservation efficiency of local chicken breeds in different farms as revealed by microsatellite markers [J]. *Acta Genetica Sin*, **31** (6): 591 - 595. [曲鲁江,吴桂琴,李显耀,杨 宁. 2004. 采用微卫星 DNA 标记分析部分地方鸡种保种场的保种效果. 遗传学报, **31** (6): 591 - 595.]
- Shen CJ. 2001. Suggestion on the breeds conservation of animals and poultries in China [J]. *Ecology of Domestic Animal*, **22** (3): 1 - 4. [沈长江. 2001. 对我国畜禽保种的意见. 家畜生态, **22** (3): 1 - 4.]
- Smith J, Bruley CK, Paton IR, Dunn I, Jones CT, Windsor D, Morrice DR, Law AS, Masabanda J, Masabanda J, Sazanov A, Waddington D, Fries R, Burt DW. 2000. Differences in gene density on chicken macrochromosomes and microchromosomes [J]. *Animal Genetics*, **31**: 96 - 103.
- Smith J, Burt DW. 1998. Parameters of the chicken genome (*Gallus gallus*) [J]. *Animal Genetics*, **29**: 290 - 294.
- The Bureau of Animal Husbandry of Yunnan Province. 1987. The Breeds Introduction of Domestic Animals in Yunnan [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press. [云南省畜牧局. 1987. 云南省家畜家禽品种志. 昆明:云南科技出版社, 229 - 232, 246 - 249.]
- Wang DQ, Chen GH, Wu XS, Zhang XY, Wang KH, Chen R, Liu B, Xu Q, Zhou QL. 2003. The genetic relationship analysis among Chinese native chicken breeds by microsatellites [J]. *J of Yangzhou Univ (Agri and Life Sci)*, **24** (2): 1 - 6. [王得前,陈国宏,吴信生,张学余,王克华,成 荣,刘 博,徐 琪,周群兰. 2003. 运用微卫星技术分析中国地方鸡品种的亲缘关系. 扬州大学学报(农业与生命科学版), **24** (2): 1 - 6.]
- Wu XS, Chen GH, Wang DQ, Zhang XY, Wang KH, Chen R, Liu B, Xu Q, Zhou QL. 2004. Analysis of genetic relationship among Chinese native chicken breeds using microsatellites marker [J]. *Acta Genetica Sin*, **31** (1): 43 - 50. [吴信生,陈国宏,王得前,张学余,王克华,成 荣,刘 博,徐 琪,周群兰. 2004. 利用微卫星技术分析中国部分地方鸡种的遗传结构. 遗传学报, **31** (1): 43 - 50.]
- Zeng YZ, He FQ. 1986. Chromosome studies on jungle fowl (*Gallus gallus*) in China [J]. *J of Yunnan Agri Univ*, **1** (1): 81 - 88. [曾养志,何芬奇. 1986. 中国原鸡 (*Gallus gallus*) 的染色体研究. 云南农业大学学报, **1** (1): 81 - 86.]
- Zhang YW, Zhang YP. 2001. Microsatellites and its application [J]. *Zool Res*, **22** (4): 315 - 320. [张云武,张亚平. 2001. 微卫星及其应用. 动物学研究, **22** (4): 315 - 320.]
- Zhou P, Zhang TQ, Su B, Nie L, Gou SK. 1998. Study on the blood protein and isozyme polymorphism of the Zhongdian Nixi chickens in Yunan Province [J]. *Chinese J of Animal Science*, **34** (4): 6 - 9. [邹 平,张廷钦,宿 兵,聂 龙,苟世康. 1998. 云南中甸尼西鸡的血液蛋白多态性研究. 中国畜牧杂志, **34** (4): 6 - 9.]
- Zhu Q, Li L. 2002. Genetic diversity in Sichuan black-bone chicken lines as revealed by microsatellite DNA markers [J]. *Sichuan Anim & Veterinary Sci*, **29** (8): 26 - 29. [朱 庆,李 亮. 2002. 四川地方乌骨鸡种群遗传变异的微卫星 DNA 分析. 四川畜牧兽医, **29** (8): 26 - 29.]
- Zhu Q, Li L. 2003. Genetic diversity in black-bone chicken lines as revealed by microsatellite DNA markers [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sin*, **34** (3): 213 - 216. [朱 庆,李 亮. 2003. 不同地方乌骨鸡种群遗传多样性的微卫星 DNA 分析. 畜牧兽医学报, **34** (3): 213 - 216.]