

• 研究简报 •

雪峰乌骨鸡自然群体遗传多样性的微卫星分析

魏 麟^{1,2#} 刘胜贵² 史宪伟^{3*}

1 (湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128)

2 (湖南怀化学院生物工程系, 怀化 418008)

3 (云南农业大学动物科学技术学院, 云南省生物多样性与生物技术人才培养基地, 昆明 650201)

摘要: 雪峰乌骨鸡是具有独特遗传特性的优质肉药兼用地方家禽品种。为了评价雪峰乌骨鸡现有品种资源的遗传背景、群体遗传结构等, 提出合理的保种方法和措施, 本研究筛选了家鸡基因组23条染色体上的23个微卫星标记, 对采自湖南怀化的50只纯种乌骨鸡个体进行了多态性检测。结果表明: 23个微卫星座位共检测到79个等位基因, 所有座位都呈现出多态性, 每个座位的等位基因数在2–6个之间, 平均为3.435个。群体表现出较高的平均杂合度和平均多态信息含量, 分别为0.6285和0.5496, 说明雪峰乌骨鸡自然群体具有较丰富的遗传多样性。研究结果将为雪峰乌骨鸡种的保护和利用提供重要的理论依据。

关键词: 雪峰乌骨鸡, 微卫星标记, 多态信息含量, 杂合度

Genetic diversity of the Xuefeng black bone chicken based on microsatellite markers

Lin Wei^{1,2#}, Shenggui Liu², Xianwei Shi^{3*}

1 College of Animal Science and Technology, Hunan Agriculture University, Changsha 410128

2 The Department of Biological Engineering in Huaihua College, Huaihua 418008

3 College of Animal Science and Technology, Yunnan Agriculture University; The Center for Agricultural Biodiversity and Biotechnology Research and Training of Yunnan Province, Kunming 650201

Abstract: We studied polymorphisms of 23 microsatellite loci from 23 chromosomes in an indigenous breed of Xuefeng black bone chicken from Hunan in order to elucidate its genetic diversity and structure and to propose reasonable measures for its conservation and utilization. Seventy-nine alleles were identified in 50 individuals and the mean number of alleles was 3.435 per locus. Average heterozygosity and polymorphic information content of 23 microsatellite loci were 0.6285 and 0.5496, respectively. These results indicate that this breed of Xuefeng black bone chicken has a high level of genetic diversity and may provide a scientific basis for future conservation and utilization of the Xuefeng black bone chicken.

Key words: Xuefeng black bone chicken, microsatellite markers, polymorphism information content, heterozygosity

雪峰乌骨鸡是湖南怀化市洪江区的优良地方鸡种, 因产于雪峰山脉而得名, 至今已有数百年的饲养历史。该品种具有乌喙、乌皮、乌脚、乌肉、乌骨等“五乌”特征, 2002年经湖南省畜禽品种审定委员会确定为湖南省优质肉、药兼用型地方品种, 并列入湖南省地方品种保护名录, 与湘黄鸡、桃源

鸡、东安鸡并列为湖南省重点保护的四大鸡种。近年来, 伴随着人类对畜禽产品需求量的日益增长和少数专门化特色产品的广泛利用, 在当地具有较大经济潜能的雪峰乌骨鸡(其养殖业已成为湖南地方经济发展的支柱产业和龙头产业之一), 面临着巨大的选择压力。不少养殖场为单纯追求经济效益,

收稿日期: 2007-10-31; 接受日期: 2008-04-01

基金项目: 湖南省自然科学基金(07JJ6044)和湖南省教育厅资助科研项目(No. 06C635)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: xwshi5@yahoo.com

并列第一单位

利用有限亲本进行连续定向选择, 造成其总体遗传多样性下降, 最终会导致种质退化。因此, 寻找优质的雪峰乌骨鸡种源, 正确评价其遗传多样性, 并对其有效保护十分必要。

微卫星DNA标记具多态性丰富、信息含量高、分布均匀且广泛以及分析方便等优点(张云武和张亚平, 2001), 被证明是一种能有效分析群体遗传多样性的方法。如张细权等(1998)采用微卫星分析了广东鸡种的遗传结构和亲缘关系; 朱庆和李亮(2002)用微卫星标记检测了四川地方乌骨鸡群体的遗传多样性; 陈红菊等(2003)用微卫星标记检测了山东省5个地方鸡品种的遗传多样性; Takahashi等(1998)利用微卫星标记检测了10个日本地方鸡种。此外, Vanhala等(1998)用微卫星标记对白来航鸡、兰德雷斯鸡等品种中的品系进行了遗传变异研究; Romanov(2001)等利用微卫星标记对来源于乌克兰和德国的20个家鸡和原鸡群体进行了遗传检测, 等等。但是, 在对众多鸡品种遗传多样性研究中, 雪峰乌骨鸡未见相关的研究报道。

本实验将应用微卫星标记对雪峰乌骨鸡自然群体遗传多样性进行分析, 探讨其进化潜力, 为合理利用和有效保护其遗传资源提供背景资料。

1 材料和方法

1.1 样品来源

雪峰乌骨鸡分布于湖南西部洪江市境内, 来源集中于雪峰山附近的山区雪峰镇, 其他乡村也有零星分布。为使实验样本更具代表性, 采样时, 按照所估计的分布区内雪峰乌骨鸡群体的大小确定采样的地点和数目, 使之尽量覆盖整个分布区。自然条件下无外来血缘侵入的雪峰乌骨鸡已经很少。为保证实验样品是纯正的土著乌鸡, 我们走访了许多偏僻山区的农户。在取样过程中, 详细调查品种来源(简单的系谱调查), 确保样本没有外来鸡种的渗透, 并确保样品之间无血缘关系。在每一个采样点随机取样, 对样本个体性状、外形特征无任何要求, 在采集过程中样本没有被污染。选取了 20 个地点, 共采集 50 份血样(见表 1)。鸡翅下静脉取血 2 mL, 肝素钠抗凝, 采集时与等体积的 DNA 保存液混合, 带回实验室置于 -70°C 冰箱内保存备用。

1.2 DNA的提取和定量

采用标准蛋白酶K酚/氯仿提取法(Sambrook *et*

al., 1989)。利用核酸/蛋白定量仪(Eppendorf)定量, 然后稀释至 $12.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 备用。

1.3 微卫星引物

从50对微卫星引物中筛选出23对效果较好的用于遗传多样性分析, 23个微卫星座位分布于家鸡基因组的23条染色体上(详见表2)。引物序列来自 <http://iowa.thearkdb.org>, 由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.4 PCR扩增及电泳检测

PCR 反应体系为 $15\ \mu\text{L}$, 含鸡基因组模板DNA $37.5\ \text{ng}$, $1\times$ PCR buffer, $1.5\ \text{mM}$ MgCl_2 , $0.2\ \text{pM}$, dNTPs和 $5\ \text{U}$ *Taq*酶, 正反引物各 $0.2\ \mu\text{M}$ 。充分混匀后于PTC-200 PCR 仪上进行扩增, 条件为: 94°C 预变性 $3\ \text{min}$; 然后 94°C 变性 $45\ \text{s}$, 复性 $45\ \text{s}$, 复性温度根据微卫星位点不同而异(见表2), 范围在 $52\text{--}60^{\circ}\text{C}$, 72°C 延伸 $45\ \text{s}$, 30个循环, 最后是 72°C 延伸 $5\ \text{min}$, 4°C 保存。PCR产物与微量上样缓冲液混合后, 于 1.8% 的琼脂糖凝胶上, $120\ \text{V}$ 电泳 $2\ \text{h}$ 左右, 凝胶成像系统照像。

1.5 数据统计与分析

1.5.1 群体等位基因频率

采用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。公式如下:

$$P_i = [2(ii) + (ij_1) + (ij_2) + \dots + (ij_n)] / 2N$$

其中, P_i 为第 i 个等位基因的频率, ii 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。

1.5.2 多态信息含量(PIC)

按照Botstein等(1980)公式计算:

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

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。

PIC 是表示微卫星座位变异程度高低的一个指标。当 $PIC > 0.5$ 时; 为高度多态性座位, 标记可提供的信息较多; 当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时, 为中度多态性座位, 标记提供的信息较合理; 当 $PIC < 0.25$ 时, 为低度多态性座位, 标记提供的信息较少。

1.5.3 群体杂合度(H)

根据Nei (1978)公式计算:

表1 雪峰乌骨鸡样品采集地点
Table 1 Collection sites of the sampled Xuefeng black bone chickens

采集地点 Collection sites	数量 Sample size	采集地点 Collection sites	数量 Sample size
雪峰镇界脚村 Jiejiao Village, Xuefeng Town	3	塘湾镇白羊村 Baiyang Village, Tangwan Town	3
雪峰镇车力溪村 Chelixi Village, Xuefeng Town	2	塘湾镇木兰溪村 Mulanxi Village, Tangwan Town	3
雪峰镇桐溪村 Tongxi Village, Xuefeng Town	2	塘湾镇里木冲村 Limuchong Village, Tangwan Town	3
雪峰镇先锋溪村 Xianfengxi Village, Xuefeng Town	2	安江镇倒水湾村 Daoshuiwan Village, Anjiang Town	3
雪峰镇两溪口村 Liangxikou Village, Xuefeng Town	2	安江镇桃子垅村 Taozilong Village, Anjiang Town	3
雪峰镇龙家田村 Longjiatian Village, Xuefeng Town	2	安江镇油菜园村 Youcaiyuan Village, Anjiang Town	3
雪峰镇兰溪冲村 Lanxichong Village, Xuefeng Town	2	安江镇大沙坪村 Dashaping Village, Anjiang Town	2
雪峰镇青山洞村 Qingshandong Village, Xuefeng Town	2	托口镇王家坳村 Wangjia'ao Village, Tuokou Town	3
雪峰镇笙竹村 Shengzhu Village, Xuefeng Town	2	硤州乡下坪村 Xiaping Village, Xiazhou Town	2
塘湾镇永红村 Yonghong Village, Tangwan Town	4	硤州乡溪边村 Xibian Village, Xiazhou Town	2

表2 所用引物的信息表
Table 2 The primers used in the present study

座位 Locus	上游引物序列 Forward primer's sequences(5'→3')	下游引物序列 Reverse primer's sequences (5'→3')	退火温度 Annealing temperature(°C)	片段大小 Fragment length (bp)	染色体 Chr.
ADL0188	CACTTCCAGTATTAACGTGA	GTGGACACAATGAGTTCCTC	54	125-209	1
ADL0190	TCAGCTCTTCAGGCCAAAAAG	AACTTGGACCACAATCTTAT	52	220-231	2
MCW0224	ATTACCTTTCTTCATTAACGCC	TTCATAGACTTGAGCGAGGAC	56	291-301	3
MCW0170	TTGTGAAACTCACAGCAGCTG	TTATAGCAGGCTGGCCTGAAG	60	263-267	4
MCW0029	CATGCAATTCAGGACCGTGCA	GTGGACACCCATTTGTACCCTATG	56	149-194	5
MCW0176	AAAGAGAAGTATAAAACATGCC	TCCATTCTTGGCAGTGCATAG	58	257-270	6
MCW0120	CTATGTAAAGCTTGAATCTTCA	ATTCTGGGTGCTAATTTACC	54	250-287	7
ADL0121	CTGGAACAAGAGGGCTTTGC	GGATGTGAAAAATCTCCTGG	56	125-157	8
MCW0134	GGAGACTTCATTGTGTAGCAC	ACCAAAAAGACTGGAGGTCAAC	56	260-284	9
MCW0035	CAGAAACATTTGGACTTGGCTT	TTGCTTCATTTCTAGTCTCCAGTT	60	227-233	10
MCW0097	GGAGAGCATCTGCCTTCCTAG	TGGTCTTCCAGTCTATGGTAG	56	263-309	11
MCW0198	GATCTTTGCTACCATCCACTG	ACCCATCTGGTTGGACTATGC	58	97-152	12
MCW0104	TAGCACAACCAAGCTGTGAG	AGACTTGCACAGCTGTGTACC	56	189-263	13
LEI0098	AAAAGACAATGCAATTGGTGC	CTGCCACTGATGCTGCTACT	60	147-170	14
MCW0080	GAAATGGTACAGTGCAGTTGG	CCGTGCATTCTTAATTGACAG	58	278-337	15
MCW0330	TGGACCTCATCAGTCTGACAG	AATGTTCTCATAGAGTTCTCTGC	56	260-290	17
MCW0217	GATCTTTCTGGAACAGATTTT	CTGCACTTGGTTCAGGTTCTG	56	153-174	18
MCW0094	GGAGCTGGTATTTGTCCTAAG	GCACAGCCTTTTGACATGTAC	60	77-95	19
MCW0165	CAGACATGCATGCCCAGATGA	GATCCAGTCTGCAGGCTGC	55	125-144	23
MCW0285	AGTTGGAGGTTATATTA CGGG	TATGACATAATCCACGCTGAG	58	156-300	26
MCW0328	ATGGAACAGATGGAGCTGGC	CTCCAATCCCAGGCTCCAAC	57	262-324	27
ADL0284	CAGAGTTCATCCGCCACTGC	CCTCCCCACTAACATTGGAA	60	137-167	28
LEI0254	AGACCACTGGATCCAACCTC	GTCTGGAACCTATCCCTTCATC	55	89-101	Z

$$H = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r (1 - \sum_{j=1}^n P_j^2)$$

其中, H 为群体平均杂合度, P_j 分别为群体中第 j 个等位基因频率, i 为座位, r 为座位总数。

H 是表示在被检测的位点上群体中的杂合子频率, 是度量群体变异程度的一个最适参数, 其高低反映了群体的遗传多样性程度。

2 结果

2.1 微卫星座位的等位基因频率

采用 23 对微卫星引物进行 PCR 扩增和电泳检测, 各位点等位基因片段大小范围列于表 2。各座位在雪峰乌骨鸡中检测到的等位基因频率在

0.0208–0.7000 之间, 检测的所有座位都呈现出多态, 每个座位的等位基因数在 2–6 个之间, 共检测到 79 个等位基因, 平均为 3.435 个。座位 MCW0120 和 ADL0284 的等位基因数最多, 有 6 个; 而 ADL0190、MCW0029、MCW0134、MCW0094、MCW0328 等 5 个座位等位基因数最少, 各有 2 个; 其他座位各有 3–5 个等位基因。各座位的等位基因数及其频率见表 3。

2.2 各座位的杂合度及多态信息含量

根据各等位基因频率计算出各座位的杂合度及多态信息含量(表 3)。各座位的杂合度在 0.4550–0.8026 之间, 群体平均杂合度为 0.6285; 各座位的多态信息含量范围在 0.3515–0.7738 之间, 有

表3 各座位的等位基因频率、杂合度和多态信息含量

Table 3 Allele frequencies, heterozygosity and polymorphism information content at each locus assayed

座位 Locus	等位基因频率 Allele frequencies						等位基因数 No. of allele	杂合度 Heterozygosity	多态信息含量 PIC
	P1	P2	P3	P4	P5	P6			
ADL0188	0.3166	0.2167	0.2000	0.2667			4	0.7417	0.6939
ADL0190	0.5167	0.4833					2	0.4994	0.3747
MCW0224	0.5714	0.3878	0.0408				3	0.5214	0.4211
MCW0170	0.1500	0.2167	0.5000	0.1333			4	0.6628	0.5690
MCW0029	0.5000	0.5000					2	0.5000	0.3750
MCW0176	0.2333	0.2167	0.5500				3	0.5961	0.5342
MCW0120	0.2800	0.2400	0.1200	0.1500	0.1500	0.0700	6	0.8026	0.7738
ADL0121	0.2414	0.3793	0.3793				3	0.7110	0.6530
MCW0134	0.3500	0.6500					2	0.4550	0.3515
MCW0035	0.2333	0.4833	0.2833				3	0.6317	0.5434
MCW0097	0.0667	0.2667	0.3176	0.3500			4	0.7016	0.6463
MCW0198	0.2500	0.2667	0.4833				3	0.6328	0.5412
MCW0104	0.2755	0.2245	0.2245	0.2755			4	0.7474	0.7015
LEI0098	0.1167	0.1833	0.7000				3	0.4628	0.3836
MCW0080	0.3167	0.4667	0.2166				3	0.6439	0.5846
MCW0330	0.2245	0.2551	0.2857	0.1837	0.0510		5	0.7666	0.7227
MCW0217	0.1600	0.4000	0.4400				3	0.6208	0.5390
MCW0094	0.4285	0.5715					2	0.4899	0.3700
MCW0165	0.5300	0.0800	0.1600	0.0600	0.1700		5	0.6546	0.5902
MCW0285	0.4500	0.2833	0.2667				3	0.6461	0.5771
MCW0328	0.5000	0.5000					2	0.5000	0.3750
ADL0284	0.2813	0.2604	0.0417	0.0208	0.1875	0.2083	6	0.7723	0.7163
LEI0254	0.1333	0.1333	0.3667	0.3667			4	0.6955	0.6041
群体平均数及标准误 Mean and standard error (Mean±SE)							3.4350±0.2501	0.6285±0.0225	0.5496±0.0276

PIC: 多态信息含量; P1, P2, P3, P4, P5, P6表示不同的等位基因。

PIC, Polymorphic information content; P1, P2, P3, P4, P5 and P6 represent different alleles.

16个座位的 $PIC > 0.5$, 7个座位 $0.25 < PIC < 0.5$, 群体平均值为0.5496, 说明本实验所选微卫星标记可有效地用于雪峰乌骨鸡遗传多样性分析。

3 讨论

汤青萍等(2005)认为, 利用微卫星标记进行群体变异和遗传关系检测时, 选择的引物应尽可能地分散到被检测物种的所有染色体上, 检测的引物数量应不低于20对, 才能得到较准确的结果。本研究所选微卫星座位的覆盖程度和数目以及实验的样本数均达到联合国粮食与农业组织(FAO, 1998)对家养动物遗传多样性检测的要求。实验结果能很好地反映雪峰乌骨鸡自然群体遗传多样性, 具有较高的可靠性。

本实验得出的平均杂合度与已报道的国内其他地方鸡群体相比, 高于叶朗惠等(2006)利用33对微卫星引物分析得到的茶花鸡平均杂合度(0.6129); 高于王得前等(2003)、吴信生等(2004)利用7对微卫星引物对中国12个地方鸡种分析得到的平均杂合度(0.3514–0.5929之间)和多态信息含量(0.3143–0.5159之间); 也高于高玉时等(2005)利用20个微卫星引物对我国禽品种资源库中保存的19个地方鸡品种检测的群体平均杂合度(0.5824–0.7432之间); 然而略低于汤青萍等(2005)利用27个微卫星引物对云南西双版纳斗鸡(Banna game chicken)的检测结果(平均杂合度为0.662); 低于白文林等(2007)利用5个微卫星引物对边鸡(Bian chicken)、大骨鸡(big bone chicken)的检测结果(平均杂合度分别为0.7457和0.7301)及叶朗惠等(2006)利用33对微卫星引物对尼西鸡(Nixi chicken)的研究结果(平均杂合度为0.635)。与国外地方鸡群体的平均杂合度相比也较高。Hillel等(2003)采用22个微卫星标记对来自欧洲国家的具有广泛代表性的50个鸡品种(品系)群体群体的DNA池进行了检测分析, 除2个群体(Yurlovcrower, in Russia; Broiler dam line D)的杂合度(均为0.62)与本研究的结果比较接近外, 其他48个群体的杂合度均小于雪峰乌骨鸡自然群体。不难发现高杂合度的品种, 在长期进化过程中保留了较多的原始遗传特征。本实验多态信息含量指标的分析结果与群体平均杂合度分析的结果一致, 为高度多态, 显示了雪峰乌骨鸡自然群体的遗传多样性水

平较高, 其原因可能在于: (1)推测雪峰山区是此乌鸡在大冰川时期的避难所, 冰川期过后就地繁殖开来; (2)雪峰乌骨鸡生活在偏僻的山区, 交通闭塞, 山高谷狭, 岭谷高差较大, 地理隔离相对明显, 样本之间不存在基因交流, 长期以来以各自独立的生活着, 使样本保持各自的遗传特征; (3)雪峰山优越的自然地理环境, 乌鸡受自然选择的压力比较小, 大多数基因型均能适应环境而保留下来; (4)各地的乌鸡长期以来处于农户散养状态下, 人工选择强度低, 与其他鸡品种没有基因交流。因此, 可以看出雪峰乌骨鸡种具有丰富的遗传基础, 具有较大的进化潜力和较好的培育前景, 是培育新品种(类型)的理想材料。

雪峰乌骨鸡自然群体遗传变异大, 保持了较多的原始性状, 具有较大的选择潜力, 对其保种和选育利用非常有利, 是应用于遗传育种的好种源, 应重点保护。当地政府一方面应加强对该鸡种资源的保护, 除建立保种核心群外, 可在其产地建立雪峰乌骨鸡自然保种区, 扩大其群体繁育数量, 避免近交和外来鸡种的侵入, 切勿盲目利用杂交优势改变其经济性状; 另一方面, 有必要对其进行系统选育, 提高鸡种的遗传纯合程度, 将某些典型的品种特征和优良性状固定下来, 形成该品种自身突出的特点和优势, 同时也有利于进行配套杂交利用, 产生更加显著的杂种优势。只有切实采取有效的保护措施和坚持合理利用, 才能使其在我国畜牧业的可持续发展和社会经济中发挥重要作用。

致谢: 本研究得到云南省生物多样性与生物技术人才培养基地提供的技术指导。在采样中得到了湖南怀化市高级畜牧师彭祖安同志的热心帮助, 谨此表示感谢。

参考文献

- Bai WL (白文林), Yin RH (尹荣焕), Yang GQ (杨桂芹), Zhao SJ (赵素君), Gong YQ (宫艳秋), Luo GB (罗光彬) (2007) Analysis on population genetic diversity of Bian Chicken breed using microsatellite DNA markers. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* (江西农业大学学报), **29**, 423–428. (in Chinese with English abstract)
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, **32**, 314–331.

- Chen HJ (陈红菊), Yue YS (岳永生), Fan XZ (樊新忠), Zhang CS (张传生), Du LX (杜立新) (2003) Analysis of genetic diversity of Shandong indigenous chicken breeds using microsatellite markers. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), **30**, 855–860. (in Chinese with English abstract)
- Du ZQ (杜志强), Qu LJ (曲鲁江), Li XY (李显耀), Hu XX (胡晓湘), Huang YH (黄银花), Li N (李宁), Yang N (杨宁) (2004) Genetic diversity in Tibetan chicken. *Hereditas(Beijing)* (遗传), **26**, 167–171. (in Chinese with English abstract)
- FAO (1998) Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): original working group report. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans (<http://dad.Fao.org/en/refer/library/guidelin/workgrp.pdf>)
- Gao YS (高玉时), Qian Y (钱勇), Tu YJ (屠云洁), Chen GH (陈国宏), Li HF (李慧芳), Chen KW (陈宽维), Gu R (顾荣) (2005) Analysis of genetic variation of Chinese native chicken breeds using microsatellite and AFLP fingerprintings. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)* (西北农林科技大学学报(自然科学版)), **33**(12), 6–12. (in Chinese with English abstract)
- Gao YS (高玉时), Yang N (杨宁), Li HF (李慧芳), Wang KH (王克华), Tong HB (童海兵) (2004) Analysis of genetic diversity of preserved population of native chicken breeds by microsatellite and file foundation of markers. *Hereditas (Beijing)* (遗传), **26**, 859–864. (in Chinese with English abstract)
- Hillel J, Groenen MA, Tixier Boichard M, Korol AB, David L, Kirzhner VM, Burke T, Barre-Dirie A, Crooijmans RP, Elo K, Feldman MW, Freidlin PJ, Mäki-Tanila A, Oortwijn M, Thomson P, Vignal A, Wimmers K, Weigend S (2003) Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genetics Selection Evolution*, **35**, 533–557.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583–590.
- Romanov MN, Weigend S (2001) Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers. *Poultry Science*, **80**, 1057–1063.
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniaatis T (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor-laboratory Press, New York.
- Takahashi H, Nirasawa K, Nagamine Y, Tsudzuli M, Yamamoto Y (1998) Genetic relationships among Japanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms. *Journal of Heredity*, **89**, 543–546.
- Tang QP (汤青萍), Chen KW (陈宽维), Li HF (李慧芳), Zhang SJ (章双杰), Zhao DW (赵东伟) (2005) Analysis of genetic differentiation of Chinese game chicken by using microsatellite. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)* (西北农林科技大学学报(自然科学版)), **33**(3), 19–23, 28. (in Chinese with English abstract)
- Vanhala T, Tuiskul haavisto M, Elo K, Vilkki J, Maki-Tanila A (1998) Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers. *Poultry Science*, **77**, 783–790.
- Wang DQ (王得前), Chen GH (陈国宏), Wu XS (吴信生), Zhang XY (张学余), Wang KH (王克华), Cheng R (成荣), Liu B (刘博), Xu Q (徐琪), Zhou QL (周群兰) (2003) The genetic relationship analysis among Chinese native chicken breeds by microsatellites. *Journal of Yangzhou University (Agriculture and Life Sciences Edition)* (扬州大学学报(农业与生命科学版)), **24** (2), 1–6. (in Chinese with English abstract)
- Wu XS (吴信生), Chen GH (陈国宏), Wang DQ (王得前), Zhang XY (张学余), Wang KH (王克华), Cheng R (成荣), Liu B (刘博), Xu Q (徐琪), Zhou QL (周群兰) (2004) Analysis of genetic relationship among Chinese native chicken breeds using microsatellites markers. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), **31**, 43–50. (in Chinese with English abstract)
- Ye LH (叶朗惠), Huo JL (霍金龙), Miao YW (苗永旺), Zhu SQ (朱胜全), Chen T (陈涛), Liu LX (刘丽仙), Pan WR (潘伟荣), Bi BL (毕保良) (2006) Genetic diversity analysis of Nixi Chicken using microsatellite DNA markers. *Zoological Research* (动物学研究), **27**, 68–74. (in Chinese with English abstract)
- Ye LH (叶朗惠), Miao YW (苗永旺), Huo JL (霍金龙), Wei HJ (魏红江), Liu JP (刘建平), Liu LX (刘丽仙), Zhu SQ (朱胜全), Chen T (陈涛) (2006) Genetic diversity of Chahua chicken based on microsatellite markers. *Chinese Journal of Zoology* (动物学杂志), **41**(2), 37–42. (in Chinese with English abstract)
- Zhang XQ (张细权), Lü XM (吕雪梅), Yang YH (杨玉华), Liu JS (刘敬顺), Yang GF (杨关福), Wu XH (吴显华) (1998) Population genetic variability of microsatellite polymorphisms and RAPDs in Chinese chicken breeds in Guangdong. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), **25**, 112–119. (in Chinese with English abstract)
- Zhang YW (张云武), Zhang YP (张亚平) (2001) Microsatellites and its application. *Zoological Research* (动物学研究), **22**, 315–320. (in Chinese with English abstract)
- Zhu Q (朱庆), Li L (李亮) (2002) Genetic diversity in Sichuan black bone chicken lines as revealed by microsatellite DNA markers. *Sichuan Animal & Veterinary Science* (四川畜牧兽医), **29** (8), 26–29. (in Chinese)

(责任编辑: 张细权 责任编辑: 时意专)