

汶上芦花鸡种质资源的遗传多样性分析

杜胭脂^{1,2}, 陈玉霞¹, 康丽¹, 徐来祥², 唐辉¹, 姜运良^{1*}

(1. 山东农业大学动物科技学院/动物医学院 动物分子遗传实验室, 泰安 271018;

2. 曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165)

摘要: 为了评估汶上芦花鸡群体的遗传多样性, 本研究采用联合国粮农组织(FAO)和国际动物遗传学会(ISAG)联合推荐的 27 对微卫星引物, 对济宁汶上芦花鸡的 100 个个体(60 只母鸡, 40 只公鸡)进行了遗传多样性检测, 分析了该群体在 DNA 水平上的遗传多样性。结果, 共检测到 86 个等位基因, 每个微卫星座位的等位基因数从 2 个到 6 个不等, 平均等位基因数为 3.185, 平均期望杂合度和多态信息含量分别为 0.465 5 和 0.402 3。对分布在不同地方的 3 个群体的遗传距离分析表明, 群体间的遗传距离为 0.05~0.10。以上结果表明, 汶上芦花鸡群体的遗传多样性偏低, 必须采取一定的措施保护这一优良地方品种。

关键词: 汶上芦花鸡; 微卫星标记; 遗传多样性; 保护

中图分类号: S831.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2014)10-1616-06

Analysis on the Genetic Diversity of Wenshang Barred Chicken Breed

DU Yan-zhi^{1,2}, CHEN Yu-xia¹, KANG Li¹, XU Lai-xiang², TANG Hui¹, JIANG Yun-liang^{1*}

(1. *Laboratory of Animal Molecular Genetics, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China;*

2. *College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China*)

Abstract: In this study, one hundred chickens including 60 hens and 40 roosters were sampled for the evaluation of genetic diversity on Wenshang Barred chicken breed by using 27 pairs of primers recommended jointly by FAO (Food and Agriculture) and ISAG (the International Society for Animal Genetic). The genetic diversity at DNA level were analyzed in this study. Totally 86 alleles were detected, the number of alleles varied from 2 to 6, giving a mean value of 3.185 alleles *per locus*. The average heterozygosity and polymorphism information content of 27 microsatellite loci were 0.465 5 and 0.402 3, respectively. The genetic distances between 3 populations distributed in different areas vary from 0.05 to 0.10. The results indicated that Wenshang Barred chicken breed had low heterozygosity and polymorphism information content, which imply that effective methods should be taken to protect this breed.

Key words: Wenshang Barred chicken; microsatellite marker; genetic variability; conservation

地方品种经过长期的人工和自然选择具有较好的适应性、抗病性等优良性状, 是新品种培育及特色农产品开发的重要基础。汶上芦花鸡分布于山东省汶上县及附近地区, 该鸡种因全身羽毛均为黑白相

间、宽窄一致的斑纹, 俗称“芦花鸡”。汶上芦花鸡的形成历史悠久, 是山东省优良地方品种之一, 因其耐粗饲、抗病力强、产蛋较多、肉质好, 深受消费者喜爱, 2002 年 10 月被列入山东省地方良种家禽重点

收稿日期: 2014-01-25

基金项目: 山东省农业良种工程(畜禽种质资源收集、保护与评价)

作者简介: 杜胭脂(1989-), 女, 山东临沂人, 硕士生, 主要从事动物分子遗传学研究, Tel: 0538-8241593, E-mail: lyusk08@126.com

* 通信作者: 姜运良, E-mail: yljia723@aliyun.com

保护名录^[1]。为了解汶上芦花鸡遗传资源的现状,本研究采用微卫星标记技术,对汶上芦花鸡种质资源的遗传多样性进行了评估。

微卫星又称短序列串连重复(Short tandem repeats, STR)或简单串连重复(Simple sequence repeats, SSR),是继 RFLPs 之后出现的第 2 代分子遗传标记^[2]。因具有在基因组中数量多、分布广且均匀、多态性丰富、等显性遗传以及检测简便、快捷等特点而被广泛应用于家养动物群体的遗传多样性检测、群体遗传距离分析、起源与进化关系和基因组扫描等研究^[3-5]。近些年来,在世界遗传学应用与家畜生产大会(WCGALP)和国际动物遗传学年会(IS-AG)上,有关微卫星 DNA 标记在“遗传多样性保护”和“保种遗传学”中的应用报道较多^[6]。目前虽然有关汶上芦花鸡与其他品种遗传距离分析的报道^[7-9],但缺少对该品种遗传多样性进行系统评估的研究。

本研究选择 ISAG-FAO 联合推荐的 27 对微卫星引物^[10],采用 PCR 扩增和聚丙烯酰胺电泳分型技术,对汶上芦花鸡群体的遗传多样性现状进行检测和评估,以期对汶上芦花鸡等地方鸡品种资源的有效保护和利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物和材料

试验鸡只材料分别来自山东省济宁市汶上县汶上芦花鸡研究所、汶上芦花鸡种畜场和汶上芦花鸡原种鸡场 3 个鸡场,随机选取 100 个个体(雌雄比为 3:2)。翅静脉采集血样,EDTA 抗凝,低温贮存带回实验室, -20 °C 保存。

1.2 主要耗材和来源

ExTaq DNA 聚合酶、10 × ExTaq Buffer、dNTP mixture、DL1000 DNA Marker、RNase-free H₂O 来自 TaKaRa 公司,血液基因组 DNA 提取试剂盒购自天根公司,甲醛、溴化乙锭(EB)、溴酚蓝、氯化钠、无水乙醇、异丙醇、琼脂糖、10 × TAE、10 × TBE 缓冲液、30% 丙烯酰胺、10% 过硫酸胺和银染试剂等常规试剂购自普天生物工程有限公司。

1.3 引物设计与合成

选择 ISAG-FAO 联合推荐的 27 对引物(ADL0268、MCW0206、LEI0166、MCW0295、MCW0014、MCW0183、ADL0278、MCW0067、MCW0104、MCW0123、MCW0330、MCW0069、MCW0248、MCW0111、MCW0020、MCW0034、

LEI0234、MCW0103、MCW0222、MCW0016、MCW0037、MCW0098、LEI0094、MCW0078、LEI0192、ADL0112 和 MCW0216),由上海生工生物工程有限公司合成。引物位点所在的染色体、引物序列及其退火温度见表 1。

1.4 基因组的提取与微卫星检测

根据天根试剂盒说明书提取基因组 DNA,对所提取的 DNA 进行凝胶电泳检测和 OD 值测定,据此计算出 DNA 的浓度。将其中一部分冻存,另一部分用于 PCR 检测。PCR 的总体积为 20 μL, RNase-free H₂O 14.5 μL, 10 × Ex Taq Buffer 2 μL, 2.5 mmol · L⁻¹ dNTPs 1.6 μL, 上下游引物(10 μmol · L⁻¹)各 0.4 μL, TaKaRa Ex Taq 0.1 μL, 基因组 DNA 1 μL。扩增程序:94 °C 预变性 5 min, 35 个循环(94 °C 45 s, 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min), 72 °C 延伸 5 min。经 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物,银染法检测电泳结果,判断微卫星基因型。

1.5 数据统计与分析

微卫星标记呈共显性,因此可以直接从表型获知其基因型。利用 PopGen32 和 PIC-VALC 软件,分析各等位基因的频率(*P*)、杂合度(*H*)、*F* 检验和多态信息含量(*PIC*)等,用 MEGA5.2 软件构建进化树。

2 结果

2.1 微卫星座位检测

图 1 是该群体在微卫星位点 MCW0330 的部分检测结果,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳能够区分出 AA、AB、BB、BC 和 CC 等 5 种基因型。

通过对 27 个微卫星位点的 PCR 检测、聚丙烯酰胺凝胶电泳分带和银染色法获得的带型的统计分析,共发现了 86 个等位基因。每个位点的等位基因数为 2~6 个不等,平均等位基因数为 3.185。其中,LEI0192 座位的等位基因数最多,为 6 个;而 MCW0014、MCW0248、MCW0067、MCW0222、MCW0037 和 MCW0098 座位的等位基因数最少,只有 2 个(表 2)。

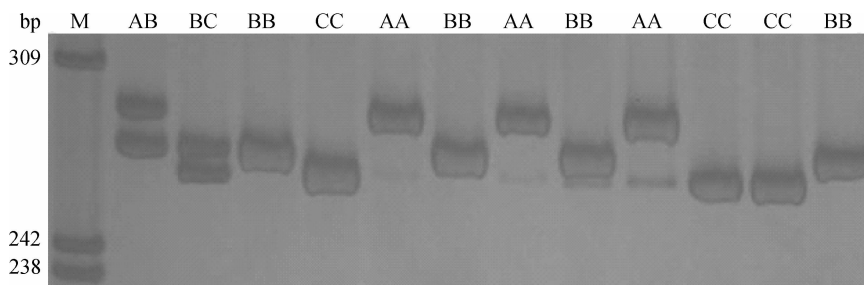
2.2 微卫星位点的杂合度和多态信息含量

所检测的 27 个微卫星座位的期望杂合度(*HE*)为 0.060~0.790,平均值为 0.466;多态信息含量(*PIC*)的范围在 0.056 5~0.753 5,平均值为 0.402 3。各微卫星位点的杂合度和多态信息含量的统计分析结果见表 2。

表 1 微卫星位点、引物序列和退火温度

Table 1 Microsatellite locus, primer sequence and annealing temperature

| 染色体 Chromosome | 座位 Loci | 上游引物序列(5'-3') Forward primer | 下游引物序列(5'-3') Antisense primer | 退火温度/°C Annealing temperature |
|-------------------|------------|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | ADL0268 | CTCCACCCCTCTCAGAACTA | CAACTTCCCATCTACCTACT | 60 |
| 2 | MCW0206 | CTTGACAGTGATGCATTAATG | ACATCTAGAATTGACTGTTTAC | 60 |
| 3 | LET0166 | CTCCTGCCCTTAGCTACGCA | TATCCCCTGGCTGGGAGTTT | 60 |
| 4 | MCW0295 | ATCACTACAGAACACCCTCTC | TATGTATGCACGCAGATATCC | 58 |
| 6 | MCW0014 | TATTGGCTCTAGGAACTGTC | GAAATGAAGGTAAGACTAGC | 57 |
| 7 | MCW0183 | ATCCCAGTGTGAGTATCCGA | TGAGATTTACTGGAGCCTGCC | 59 |
| 8 | ADL0278 | CCAGCAGTCTACCTTCCTAT | TGTCATCCAAGAACAGTGTG | 53 |
| 10 | MCW0067 | GCACTACTGTGTGCTGCAGTTT | GAGATGTAGTTGCCACATTCCGAC | 59 |
| 13 | MCW0104 | TAGCACAACCTCAAGCTGTGAG | AGACTTGCACAGCTGTGTACC | 60 |
| 14 | MCW0123 | CCACTAGAAAAGAACATCCTC | GGCTGATGTAAGAAGGGATGA | 59 |
| 17 | MCW0330 | TGGACCTCATCAGCTGACAG | AATGTTCTCATAGAGTTCCCTGC | 61 |
| E60C04W23 | MCW0069 | GCACTCGAGAAAACCTTCCTGCG | ATTGCTTCAGCAAGCATGGGAGGA | 65 |
| 1 | MCW0248 | GTTGTTCAAAAAGAAGATGCATG | TTGCATTAACCTGGGCACTTTC | 59 |
| 1 | MCW0111 | GCTCCATGTGAAGTGGTTTA | ATGTCCACTTGTCAATGATG | 59 |
| 1 | MCW0020 | TCTTCTTTGACATGAATTGGCA | GCAAGGAAGATTTTGTACAAAATC | 61 |
| 2 | MCW0034 | TGCACGCACTTACATACTTAGAGA | TGTCCTTCCAATTACATTCATGGG | 59 |
| 2 | LEI0234 | ATGCATCAGATTGGTATTCAA | CGTGGCTGTGAACAAATATG | 59 |
| 3 | MCW0103 | AACTGCGTTGAGAGTGAATGC | TTTCTAACTGGATGCTTCTG | 61 |
| 3 | MCW0222 | GCAGTTACATTGAAATGATTCC | TTCTCAAAACACCTAGAAGAC | 51 |
| 3 | MCW0016 | ATGGCGCAGAAGGCAAAGCGATAT | TGGCTTCTGAAGCAGTTGCTATGG | 67 |
| 3 | MCW0037 | ACCGGTGCCATCAATTACCTATTA | GAAAGCTCACATGACACTGCGAAA | 59 |
| 4 | MCW0098 | GGCTGCTTTGTGCTCTTCTCG | CGATGGTCGTAATTCTCACGT | 60 |
| 4 | LEI0094 | GATCTCACAGTATGAGCTGC | TCTCACACTGTAACACAGTGC | 61 |
| 5 | MCW0078 | CCACACGGAGAGGAGAAGGTCT | TAGCATATGAGTGTACTGAGCTTC | 65 |
| 6 | LEI0192 | TGCCAGAGCTTCAGTCTGT | GTCATTACTGTTATGTTTATTGC | 60 |
| 10 | ADL0112 | GGCTTAAGCTGACCCATTAT | ATCTCAAATGTAATGCGTGC | 57 |
| 13 | MCW0216 | GGGTTTTACAGGATGGGACG | AGTTTCACTCCCAGGGCTCG | 59 |



M, pBR322 DNA/*Msp* I marker

图 1 微卫星位点 MCW0330 的基因型分析(12%非变性聚丙烯酰胺凝胶)

Fig. 1 Genotypes of microsatellite MCW0330 loci with 12% polyacrylamide gel

表 2 汶上芦花鸡群体各微卫星座位的等位基因频率、杂合度和多态信息含量

Table 2 Allele frequency, heterozygosity and polymorphism information content at each locus in Wenshang Barred chicken population

| 座位 Loci | 等位基因频率 Allele frequency | | | | | | 等位基 因数 <i>N</i> | 观察杂合度/ 期望杂合度 <i>HO/HE</i> | 多态信息含量 <i>PIC</i> |
|---------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------|---------------------------------|----------------------|
| | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | | | |
| ADL0268 | 0.055 | 0.300 | 0.505 | 0.140 | | | 4 | 0.20/0.64 | 0.570 7 |
| MCW0206 | 0.395 | 0.585 | 0.020 | | | | 3 | 0.59/0.50 | 0.394 2 |
| ADL0166 | 0.140 | 0.830 | 0.030 | | | | 3 | 0.18/0.29 | 0.262 3 |
| MCW0295 | 0.265 | 0.675 | 0.060 | | | | 3 | 0.43/0.47 | 0.402 8 |
| MCW0014 | 0.155 | 0.845 | | | | | 2 | 0.15/0.26 | 0.227 6 |
| MCW0183 | 0.150 | 0.715 | 0.135 | | | | 3 | 0.39/0.45 | 0.405 6 |
| ADL0278 | 0.380 | 0.550 | 0.070 | | | | 3 | 0.30/0.55 | 0.456 5 |
| MCW0067 | 0.305 | 0.695 | | | | | 2 | 0.27/0.43 | 0.334 1 |
| MCW0104 | 0.130 | 0.560 | 0.310 | | | | 3 | 0.40/0.58 | 0.499 3 |
| MCW0123 | 0.700 | 0.030 | 0.270 | | | | 3 | 0.40/0.44 | 0.363 7 |
| MCW0330 | 0.350 | 0.425 | 0.195 | 0.030 | | | 4 | 0.36/0.66 | 0.590 0 |
| MCW0069 | 0.020 | 0.130 | 0.370 | 0.480 | | | 4 | 0.52/0.62 | 0.539 6 |
| MCW0248 | 0.030 | 0.970 | | | | | 2 | 0.06/0.06 | 0.056 5 |
| MCW0111 | 0.610 | 0.365 | 0.020 | 0.005 | | | 4 | 0.26/0.50 | 0.394 7 |
| MCW0020 | 0.495 | 0.200 | 0.305 | | | | 3 | 0.43/0.63 | 0.549 3 |
| MCW0034 | 0.780 | 0.015 | 0.155 | 0.050 | | | 4 | 0.24/0.37 | 0.332 2 |
| LEI0234 | 0.215 | 0.335 | 0.025 | 0.200 | 0.225 | | 5 | 0.42/0.75 | 0.706 8 |
| MCW0103 | 0.410 | 0.440 | 0.150 | | | | 3 | 0.00/0.62 | 0.534 4 |
| MCW0222 | 0.140 | 0.860 | | | | | 2 | 0.00/0.24 | 0.211 2 |
| MCW0016 | 0.495 | 0.490 | 0.015 | | | | 3 | 0.47/0.52 | 0.396 8 |
| MCW0037 | 0.250 | 0.750 | | | | | 2 | 0.00/0.38 | 0.304 7 |
| MCW0098 | 0.170 | 0.830 | | | | | 2 | 0.00/0.28 | 0.242 4 |
| LEI0094 | 0.305 | 0.010 | 0.675 | 0.010 | | | 4 | 0.43/0.45 | 0.366 2 |
| MCW0078 | 0.130 | 0.700 | 0.170 | | | | 3 | 0.22/0.47 | 0.418 3 |
| LEI0192 | 0.205 | 0.185 | 0.030 | 0.155 | 0.32 | 0.105 | 6 | 0.69/0.79 | 0.753 5 |
| ADL0112 | 0.880 | 0.115 | 0.005 | | | | 3 | 0.24/0.21 | 0.191 8 |
| MCW0216 | 0.045 | 0.730 | 0.225 | | | | 3 | 0.18/0.42 | 0.358 1 |

2.3 汶上芦花鸡群体间的杂合度和多态信息含量

根据采样地点的不同,将 100 个芦花鸡个体分为 3 个亚群,分别采自汶上芦花鸡研究所、汶上芦花鸡种畜场和汶上芦花鸡原种鸡场,依次定义为第一亚群(YQ1)、第二亚群(YQ2)和第三亚群(YQ3)。各亚群的期望杂合度和多态信息含量见表 3。根据杂合度和多态信息含量结果可知,第一亚群和第二

亚群的期望杂合度和多态信息含量高于第三亚群。

2.4 汶上芦花鸡种群间的遗传距离及聚类分析

遗传距离分析结果见表 4,表中右上角显示的是汶上芦花鸡种群间的遗传一致性。左下角显示的是汶上芦花鸡种群间的遗传距离,由表 4 可知,第二亚群和第三亚群的遗传距离最大,为 0.095 5;第一亚群和第三亚群的遗传距离最小,为 0.048 5。

表 3 汶上芦花鸡种群间的平均期望杂合度 (HE) 和多态信息含量 (PIC)Table 3 The HE and PIC of 3 Wenshang Barred chicken populations

| 项目 Item | 第一亚群 The first population | 第二亚群 The second population | 第三亚群 The third population |
|--------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 平均期望杂合度 HE | 0.523 7 | 0.471 9 | 0.434 3 |
| 多态信息含量 PIC | 0.391 1 | 0.393 1 | 0.369 4 |

表 4 汶上芦花鸡群体间的遗传距离

Table 4 The genetic distance of 3 Wenshang Barred chicken populations

| | 第一亚群 YQ1 | 第二亚群 YQ2 | 第三亚群 YQ3 |
|----------|----------|----------|----------|
| 第一亚群 YQ1 | * * * * | 0.952 6 | 0.933 2 |
| 第二亚群 YQ2 | 0.048 5 | * * * * | 0.908 9 |
| 第三亚群 YQ3 | 0.070 2 | 0.095 5 | * * * * |

系统发育分析是采用数学方法具体且形象地描述样品种或类群之间关系的科学,在微卫星多态性分析中常用基因频率和遗传距离进行系统发育分析。本研究用 MEGA5.2 软件,基于遗传距离,进行了群体的系统发育分析,构建的系统发育树(图 2)显示,第一亚群和第二亚群聚为一类。

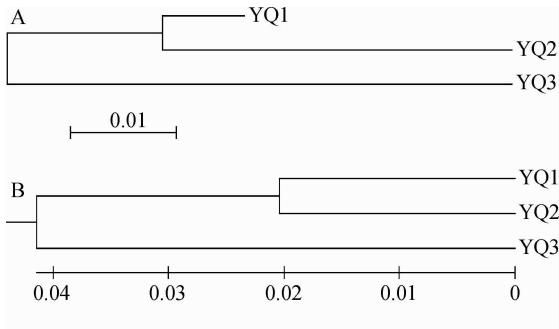


图 2 基于遗传距离的汶上芦花鸡 3 个亚群的 NJ(A)和 UPGMA(B)系统发育树图

Fig. 2 NJ(A) and UPGMA(B) phylogenetic dendrogram based on genetic distance of 3 Wenshang Barred chicken populations

3 讨论

地方品种资源的评价和保护利用具有重要的意义。以前有对汶上芦花鸡这一地方品种资源和我国其他地方品种遗传距离的分析,但该品种的遗传多样性现状尚缺乏系统的评估。本研究采用国际上通用的 27 个微卫星标记对从 3 个鸡场采集的 100 个个体进行了微卫星分析,对汶上芦花鸡的遗传多样性进行了评估。Q. P. Tang 等认为,利用微卫星标记进行群体变异和遗传关系检测时,检测的引物数

量应不低于 20 对,才能得到较准确的结果^[11]。本研究选择微卫星座位的数目以及试验的样本数均达到联合国粮食与农业组织对家养动物遗传多样性检测的要求,即所检测的样本数不应低于 40。本研究所用的引物数量为 27 对,试验个体数为 100,较好地反映了汶上芦花鸡自然群体遗传多样性的现状。

群体的杂合度(H)又称基因多样性,反映群体内各基因座位的变异情况,是度量群体遗传变异的一个理想参数。品种杂合度的高低反映了群体的一致性程度,群体的平均杂合度高,表明该群体的遗传变异大,遗传多样性丰富;平均杂合度低,表明遗传变异小,则遗传多样性贫乏^[12]。杂合度可分为观察杂合度和期望杂合度,观察杂合度接近期望杂合度,表明该品种受外来选择及近交等因素的影响较小,群体处于遗传平衡状态。从表 2 可以看出,汶上芦花鸡群体的观察杂合度普遍低于期望杂合度,表明纯合子个体较多。汶上芦花鸡群体观察杂合度较低,可能因为长期闭锁的生产环境、品种数量的不断减少,因此群体间不同程度的近交,从而导致等位基因纯合的机率增加,种群杂合度降低。

多态信息含量(PIC)是衡量片段多态性的一个重要指标。根据 T. Vanhala 等确定的位点多态性标准:当 $PIC > 0.5$ 时,该座位为高度多态座位;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,该座位为中度多态座位;当 $PIC < 0.25$ 时,该座位为低度多态座位^[13]。在检测的 27 个微卫星座位中,7 个微卫星座位属于高度多态座位,15 个座位属于中度多态座位,5 个座位属于低度多态座位,且群体平均多态信息含量为

0.402 3,这表明汶上芦花鸡群体 *PIC* 整体上为中度多态性,遗传多样性不丰富。崔景香等对地方鸡品种遗传多样性的微卫星标记研究中所检测的汶上芦花鸡 *PIC* 结果为 0.307 5^[7];陈宽维等对华东 27 个地方鸡品种(品系)的遗传变异检测中得到的汶上芦花鸡 *PIC* 结果为 0.544^[8];曲鲁江等利用微卫星标记分析中国地方鸡种的遗传多样性时检测的 *PIC* 结果为 0.571^[9],与本研究的结果略有区别。可能与采集的汶上芦花鸡样本的来源、大小及微卫星标记的数量及位点不同有关。

通过对其中 15 个位点的 *F* 检验可以发现,*F_{is}* (群体内近交系数)、*F_{st}* (群体间基因分化系数)和 *F_{it}* (总群体近交系数)分别为 0.315 4、0.351 2 和 0.052 3;可见,汶上芦花鸡群体内近交系数达 31.54%,种群内近交程度较高;种群间遗传分化不明显,35.12%的遗传变异是由群体间变异引起的,而 64.88%的遗传变异是由种群内个体间的差异引起的,总群体近交系数平均值为 5.23%,可见,种群内的近交程度较高,而种群间的近交程度偏低,可知汶上芦花鸡群体的遗传多样性程度偏低主要是由种群内的近交引起的。本研究所采集的 3 个汶上芦花鸡群体的遗传结构略有区别,这可能与饲养环境管理方式有一定的关系。第一亚群(汶上芦花鸡研究所)和第二亚群(汶上芦花鸡种畜场)主要采用散养的方式,自然受精,群体内的近交相对较低;而第三亚群(汶上芦花鸡原种鸡场)则主要采用笼养,人工授精,公鸡数量有限,导致群体内近交现象较严重。

本研究的结果表明,汶上芦花鸡群体的杂合度和多态信息含量相对偏低,为此,必须采取相关保种措施,使汶上芦花鸡在保留原有羽色美观,肉质鲜美等优良特点的基础上,提高其遗传多样性,保留好这一地方特色品种,使之进一步适应市场需求,促进开发利用,提高养殖效益。由于目前汶上芦花鸡的开发利用已初具规模,因此建议采取保种与开发相结合的方法保存这一地方品种资源,以通过杂交利用获得的收益促保种,通过扩大保种群、品种选育为开发利用提供保障。

参考文献:

[1] 李莲英,崔焕芹,何树银,等.优良品种-汶上芦花鸡

[J].家禽科学,2008,5:24-25.

- [2] ROMANOV M N, WEIGEND S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers [J]. *Poult Sci*, 2001, 80: 1057-1063.
- [3] SAITBEKOV A N, GAILLARD C, OBEXER-RUFF G, et al. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis [J]. *Anim Genet*, 1999, 30: 36-41.
- [4] MUKESH M, SODH I M, BHATIA S, et al. Genetic diversity of Indian native cattle breeds as analyzed with 20 microsatellite loci [J]. *J Anim Breed Genet*, 2004, 121: 416-424.
- [5] ZHANG A L. Genetic diversity of six Chinese indigenous goat breeds using microsatellite analysis [J]. *J Agri Biotech*, 2006, 14(1): 38-44.
- [6] GODDARD M E. Animal breeding in the post-genomic era [J]. *Anim Sci*, 2003, 76: 353-365.
- [7] 崔景香, 李传忠, 王慧, 等. 地方鸡品种遗传多样性的微卫星标记研究 [J]. 西南农业学报, 2008, 21(3): 813-816.
- [8] 陈宽维, 李慧芳, 王金玉, 等. 华东 27 个地方鸡品种(品系)的遗传变异 [J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(1): 7-11.
- [9] 曲鲁江, 李显耀, 杨宁, 等. 利用微卫星标记分析中国地方鸡种的遗传多样性 [J]. 中国科学 C 辑(生命科学), 2006, 36(1): 17-26.
- [10] FAO. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9. Rome. 2011.
- [11] TANG Q P, CHEN K W, LI H F, et al. Analysis of genetic differentiation of Chinese game chicken by using microsatellite [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2005, 33(3): 19-23.
- [12] 陈涛, 苗永旺, 霍金龙, 等. 盐津乌骨鸡微卫星 DNA 多态性研究 [J]. 云南农业大学学报, 2007, 22(4): 543-546.
- [13] VANHALA T, TUISKULA - HAAVISTO M, ELO K, et al. Evaluation of genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers [J]. *Poult Sci*, 1998, 77(6): 783-790.

(编辑 郭云雁)