

江西省 3 个地方鸡种遗传多样性分析

谭玉文¹, 饶友生¹, 刘慧琳¹, 肖月玲^{1,2}, 徐霞^{1,3}, 陈颖¹, 朱学农¹

(1. 南昌师范学院 生物技术研究/江西省地方鸡种遗传改良重点实验室, 江西 南昌 330032;

2. 城南中学, 江西 永新 343400; 3. 江西省南城县第一中学, 江西 抚州 344700)

摘要: 为探究江西省 3 个地方鸡种的遗传多样性, 为江西省家禽群体遗传资源的合理利用和种质资源保护提供依据, 利用飞行质谱分型技术对宁都黄鸡、白耳黄鸡、安义瓦灰鸡 3 个群体(463 只个体) 1 号染色体上的 25 个单核苷酸多态性(SNP)位点进行基因型分型, 计算每个 SNP 位点的等位基因频率、表观杂合度、期望杂合度、多态信息含量及群体间 Nei 氏标准遗传距离。结果显示, 所有位点在 3 个群体中的平均有效等位基因数、期望杂合度和多态信息含量分别为 1.636、0.367 和 0.291, 其中白耳黄鸡的平均有效等位基因数、期望杂合度和多态信息含量最高(1.684、0.387 和 0.303), 安义瓦灰鸡最低(1.562、0.328 和 0.262)。遗传距离和系统聚类结果显示, 3 个群体的遗传相似性都比较高, 安义瓦灰鸡和白耳黄鸡 2 个群体聚为一类, 宁都黄鸡单独聚为一类。

关键词: 地方鸡种; 飞行质谱; 遗传多样性; 种质资源; 单核苷酸多态性

中图分类号: S831.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2020)01-0137-05

Genetic Diversity Comparison of Three Local Chicken Breeds in Jiangxi Province

TAN Yuwen¹, RAO Yousheng¹, LIU Huilin¹, XIAO Yueling^{1,2}, XU Xia^{1,3}, CHEN Ying¹, ZHU Xuenong¹

(1. Institute of Biotechnology, Nanchang Normal University/Jiangxi Province Key Lab of Genetic Improvement of

Indigenous Chicken Breeds, Nanchang 330032, China; 2. Chengnan Middle School, Yongxin 343400, China;

3. Nancheng No. 1 Middle School, Fuzhou 344700, China)

Abstract: The genetic diversity and genetic distance of three local chicken breeds in Jiangxi Province were studied, which would provide a genetic basis for the rational utilization of genetic resources and the protection of germplasm resources in poultry populations in Jiangxi Province. In this paper, the genetic diversity of 25 SNPs selected from chromosome 1 was detected by flight mass spectrometry in Ningdu yellow chicken, White-eared yellow chicken, and Anyi tile-like gray chicken (463 individuals). The allelic frequency, apparent heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), polymorphic information content (PIC), and Nei's standard genetic distance between populations were calculated for each SNP locus. The results showed that the average effective allele number (N_e), H_e and PIC of all loci in the three populations were 1.636, 0.367 and 0.291, respectively. The average N_e , H_e and PIC of the White-eared yellow chicken were the highest (1.684, 0.387 and 0.303); the average N_e , H_e and PIC of the Anyi tile-like gray chicken were the lowest (1.562, 0.328 and 0.262). The genetic distance and systematic clustering results showed that the genetic similarity of the three groups was relatively high. Two groups of Anyi gray chicken and White-eared yellow chicken were clustered into one group, and Ningdu yellow chicken was a single group.

收稿日期: 2014-07-19

基金项目: 江西省自然科学基金项目(20161BAB214155); 江西省教育厅项目(GJJ171123, GJJ171124); 南昌师范学院“11531”工程建设项目

作者简介: 谭玉文(1981-), 男, 湖南衡阳人, 讲师, 博士, 主要从事禽类营养与种质资源保护研究。E-mail: 5154070@qq.com

通信作者: 朱学农(1981-), 女, 湖南邵阳人, 副教授, 博士, 主要从事禽类遗传育种与基因组学研究。

E-mail: 16541559@qq.com

Key words: Local chicken; Flight mass spectrometry; Genetic diversity; Germplasm resources; Single nucleotide polymorphism

单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 是指 DNA 序列上单个核苷酸的变化, 其核苷酸变异主要是由碱基的颠换、转换、插入或缺失所引起的^[1]。SNP 由于其分布广、遗传稳定性强、密度高且易于自动化检测等优点, 被认为是第 3 代分子遗传标记。SNP 不仅运用于寻找人类遗传病相关基因的突变位点, 而且在构建家禽遗传连锁图谱和遗传育种中也被广泛应用^[2]。同时 SNP 可能对发生在编码区的基因的功能特性产生影响, 对家禽的生产性能、肉质、抗病性能进行数量性状基因座 (QTL) 分析具有重要意义^[3-4]。

宁都黄鸡、白耳黄鸡和安义瓦灰鸡都是江西省优质地方鸡种, 有着优异的生产性能和营养价值。近年来, 江西省为这 3 个鸡种种质资源保护投入了大量的人力与物力。以宁都黄鸡、白耳黄鸡和安义瓦灰鸡 3 个品种为研究对象, 在鸡 1 号染色体的 Contig. 060226. 1 上 500 kb 区域选取 25 个 SNP 位点进行飞行质谱分型, 并进行遗传多样性比较及遗传距离的分析, 以揭示 3 个地方鸡种的遗传特征, 为江西省地方鸡品种资源开发和种质资源保护提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试动物

宁都黄鸡 (155 只) 来自江西赣州宁都黄鸡保种场, 白耳黄鸡 (150 只) 来自江西上饶广丰白耳黄鸡保种场, 安义瓦灰鸡 (158 只) 来自江西南昌安义瓦灰鸡保种场。

1.2 血液采集及 DNA 提取

用一次性注射器从鸡翅静脉中抽取约 1 mL 血液, 注入经高压灭菌后并装有 35 μ L 2% EDTA 抗凝剂的离心管内, 摇匀并编号, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。用 NRBC Blood DNA 提取试剂盒 (OMEGA 公司) 提取供试鸡血液的总 DNA, 以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 用 Nan-

odrop 2000 检测 DNA 含量, 稀释成终质量浓度为 100 ng/ μ L, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 用于后续的飞行质谱分型分析。

1.3 飞行质谱分型

采用 Sequenom Mass Array 系统 (北京华诺时代科技有限公司) 对已选定的 25 个 SNP 位点在宁都黄鸡、白耳黄鸡、安义瓦灰鸡 3 个群体中进行基因型分型。基因型分型的具体步骤如下: ①以各 SNP 位点为中心在其前后截取 100 bp 以上长度的 DNA 序列, 利用 Assay Designer 设计各位点相应的引物; ②以提取的总 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 再对 PCR 产物碱性磷酸酶处理后进行单碱基延伸反应; ③将产物转移到 Spectro 芯片上, 用飞行时间质谱 (MALDI-TOF) 进行分析^[5]。

1.4 数据处理与统计分析

检测结果使用 TYPER 4.0 软件分型, 利用 Microsatellite Toolkit 软件计算有效等位基因数 (Ne)、表观杂合度 (Ho)、期望杂合度 (He)、多态信息含量 (PIC)。用 Popgene 32 软件进行群体 Nei 氏遗传距离、相似性分析及聚类分析, 并对各位点进行 Hardy-Weinberg 平衡检验。

2 结果与分析

2.1 3 个鸡群体遗传多样性的比较

由表 1 可知, 25 个 SNP 在 3 个鸡群体中的平均有效等位基因数、期望杂合度和多态信息含量分别为 1.636、0.367 和 0.291, 其中白耳黄鸡的平均有效等位基因数、期望杂合度和多态信息含量最高 (1.684、0.387 和 0.303); 安义瓦灰鸡最低 (1.562、0.328 和 0.262); 宁都黄鸡平均值介于白耳黄鸡和安义瓦灰鸡之间 (1.662、0.386 和 0.302)。宁都黄鸡和安义瓦灰鸡表观杂合度均为 0.271, 白耳黄鸡的表观杂合度最高为 0.290。

表 1 3 个鸡群体中 25 个 SNP 位点的遗传参数

Tab. 1 Genetic parameters of 25 SNPs in three chicken populations

SNP 位点 SNP Locus	宁都黄鸡 Ningdu yellow chicken				白耳黄鸡 White-eared yellow chicken				安义瓦灰鸡 Anyi tile-like gray chicken			
	Ho	He	PIC	Ne	Ho	He	PIC	Ne	Ho	He	PIC	Ne
rs13511496	0.065	0.062	0.060	1.067	0.201	0.186	0.169	1.237	0.222	0.216	0.193	1.276
rs13511501	0.395	0.441	0.344	1.790	0.342	0.474	0.362	1.901	0.386	0.355	0.292	1.551
rs13511505	0.458	0.420	0.332	1.724	0.327	0.316	0.266	1.462	0.475	0.439	0.343	1.784
rs13511510	0.226	0.339	0.281	1.512	0.313	0.400	0.320	1.667	0.038	0.037	0.037	1.039
rs13511515	0.310	0.287	0.246	1.404	0.473	0.492	0.371	1.968	0.601	0.497	0.373	1.987

续表 1 3 个鸡群体中 25 个 SNP 位点的遗传参数

Tab. 1(Continued) Genetic parameters of 25 SNPs in three chicken populations

SNP 位点 SNP Locus	宁都黄鸡 Ningdu yellow chicken				白耳黄鸡 White-eared yellow chicken				安义瓦灰鸡 Anyi tile-like gray chicken			
	Ho	He	PIC	Ne	Ho	He	PIC	Ne	Ho	He	PIC	Ne
rs13511519	0.348	0.493	0.371	1.970	0.303	0.418	0.330	1.716	0.484	0.429	0.337	1.753
rs13511532	0.073	0.493	0.371	1.125	0.534	0.498	0.374	1.993	0.557	0.484	0.367	1.939
rs13511663	0.442	0.473	0.361	1.896	0.413	0.450	0.375	1.999	0.456	0.488	0.369	1.955
rs13511671	0.077	0.482	0.366	1.932	0.114	0.413	0.328	1.705	0.133	0.499	0.375	1.998
rs13771488	0.222	0.498	0.374	1.991	0.236	0.470	0.360	1.888	0.368	0.471	0.36	1.891
rs13918096	0.017	0.489	0.370	1.957	0.061	0.476	0.363	1.888	0.007	0.463	0.356	1.862
rs13923889	0.377	0.434	0.340	1.766	0.354	0.497	0.374	1.989	0.239	0.493	0.372	1.973
rs13923922	0.111	0.172	0.157	1.207	0.179	0.303	0.257	1.435	0.013	0.013	0.012	1.013
rs13923965	0.510	0.499	0.375	1.997	0.429	0.437	0.342	1.778	0.259	0.253	0.221	1.339
rs14870741	0.490	0.499	0.374	1.996	0.271	0.357	0.294	1.555	0.503	0.499	0.375	1.997
rs14875474	0.046	0.082	0.079	1.090	0.169	0.232	0.205	1.302	0.209	0.335	0.279	1.504
rs14875536	0.441	0.485	0.367	1.940	0.333	0.366	0.299	1.578	0.219	0.262	0.227	1.355
rs15388951	0.432	0.456	0.352	1.838	0.373	0.499	0.375	1.997	0.186	0.358	0.294	1.559
rs15388982	0.129	0.122	0.114	1.137	0.173	0.180	0.164	1.220	0.297	0.271	0.234	1.371
rs15389128	0.155	0.437	0.342	1.776	0.135	0.298	0.253	1.425	0.089	0.119	0.112	1.135
rs15389143	0.355	0.390	0.314	1.629	0.413	0.499	0.375	1.999	0.348	0.375	0.305	1.600
rs15389181	0.299	0.305	0.259	1.440	0.284	0.294	0.251	1.425	0.082	0.079	0.076	1.086
rs15389366	0.529	0.499	0.374	1.996	0.493	0.496	0.373	1.983	0.348	0.319	0.264	1.469
rs317494619	0.260	0.305	0.259	1.440	0.315	0.434	0.340	1.766	0.226	0.316	0.266	1.462
rs317941094	0.000	0.480	0.365	1.921	0.014	0.182	0.165	1.223	0.019	0.124	0.116	1.142
平均值 Mean	0.271	0.386	0.302	1.662	0.290	0.387	0.303	1.684	0.271	0.328	0.262	1.562

2.2 3 个鸡群体遗传距离和聚类分析

用 Popgene 32 软件对 3 个鸡群体间的 Nei 氏相似性系数和遗传距离进行分析,同时根据遗传距离,采用 UPGMA 法进行聚类分析。白耳黄鸡和安义瓦灰鸡的相似性最高,为 0.963 4,宁都黄鸡与白耳黄鸡相似性为 0.952 6,宁都黄鸡与安义瓦灰鸡相似性最低为 0.931 0 (表 2);聚类分析显示,安义瓦灰鸡与白耳黄鸡聚为一类,宁都黄鸡单独聚为一类(图 1)。

表 2 3 个鸡群体间的 Nei 氏遗传相似性系数(右上)和遗传距离(左下)

Tab. 2 Nei's genetic similarity coefficient(upper right) and genetic distance(lower left) in three chicken populations

品种 Breed	安义瓦灰鸡 Anyi tile-like gray chicken	白耳黄鸡 White-eared yellow chicken	宁都黄鸡 Ningdu yellow chicken
安义瓦灰鸡 Anyi tile-like gray chicken	—	0.963 4	0.931 0
白耳黄鸡 White-eared yellow chicken	0.037 3	—	0.952 6
宁都黄鸡 Ningdu yellow chicken	0.071 5	0.048 5	—

2.3 3 个鸡群体的 Hardy-Weinberg 平衡检验

由表 3 可知,宁都黄鸡中有 10 个 SNP 位点不

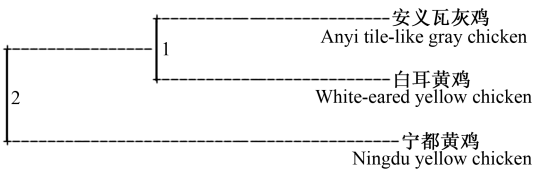


图 1 3 个鸡群体基于 Nei 氏遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA clustering map based on Nei's genetic distance in three local breeds

符合遗传平衡法则,白耳黄鸡中有 16 个 SNP 位点不符合遗传平衡法则,安义瓦灰鸡中有 11 个 SNP 位点不符合遗传平衡法则,3 个鸡群体部分位点偏离的这种现象可能是各保种场对鸡群进行人工选育的结果。

3 结论与讨论

遗传多样性的检测能有效地指导育种方案的制定和工作成果的检验,其中杂合度、等位基因数和多态信息含量是评价遗传多样性 3 个重要的参数^[6]。在本研究中,宁都黄鸡、白耳黄鸡和安义瓦灰鸡在 25 个位点的平均期望杂合度分别为 0.386、0.387、0.328,且平均表观杂合度低于平均期望杂合度,可能是不同群体由于地域隔离经历了一定程度的近交或自交,引起杂合子缺失,纯合子比例较高^[7],或者是出现了基因突变或者随机性的基因漂移导致这种

表 3 3 个鸡群体 25 个 SNP 位点的 Hardy-Weinberg 平衡检验
Tab.3 Hardy-Weinberg equilibrium test of 25 SNPs loci in three breeds

SNP 位点 SNP Locus	安义瓦灰鸡 Anyi tile-like gray chicken		白耳黄鸡 White-eared yellow chicken		宁都黄鸡 Ningdu yellow chicken	
	χ^2	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>
rs13511496	0.089	0.765	0.377	0.539	0.172	0.678
rs13511501	1.186	0.276	11.502	0.001 **	1.704	0.192
rs13511505	1.018	0.313	0.172	0.679	1.273	0.259
rs13511510	0.059	0.808	7.073	0.008 **	17.248	0.000 **
rs13511515	7.016	0.008 **	0.215	0.643	0.904	0.342
rs13511519	2.547	0.111	0.782	0.001 **	13.270	0.000 **
rs13511532	3.557	0.059	0.757	0.384	0.961	0.001 **
rs13511663	0.711	0.399	4.476	0.034 *	0.667	0.414
rs13511671	85.103	0.000 **	78.108	0.000 **	109.249	0.000 **
rs13771488	6.314	0.012 *	31.449	0.000 **	41.370	0.000 **
rs13918096	131.715	0.000 **	87.161	0.000 **	106.967	0.000 **
rs13923889	41.278	0.000 **	12.238	0.000 **	2.682	0.101
rs13923922	0.006	0.936	4.179	0.000 **	19.003	0.000 **
rs13923965	0.097	0.756	0.060	0.806	0.068	0.795
rs14870741	0.010	0.922	8.394	0.004 **	0.047	0.829
rs14875474	20.800	0.000 **	10.418	0.001 **	28.878	0.000 **
rs14875536	4.063	0.044 *	1.194	0.275	1.084	0.298
rs15388951	36.152	0.000 **	9.536	0.002 **	0.419	0.517
rs15388982	1.546	0.214	0.206	0.650	0.737	0.391
rs15389128	10.090	0.001 **	44.281	0.000 **	64.627	0.000 **
rs15389143	0.813	0.367	4.476	0.034 *	1.012	0.314
rs15389181	0.291	0.590	0.351	0.554	0.081	0.776
rs15389366	1.291	0.256	0.003	0.954	0.562	0.453
rs317494619	12.649	0.000 **	10.793	0.001 **	3.481	0.062
rs317941094	113.343	0.000 **	126.856	0.000 **	153.000	0.000 **

注：* 表示差异显著 ($P<0.05$)，** 表示差异极显著 ($P<0.01$)。

Note: * indicates that the difference is significant ($P<0.05$), ** indicates that the difference is extremely significant ($P<0.01$).

情况^[8]。多态信息含量是评估群体遗传多样性和衡量等位基因片段多态性的理想指标。当 $PIC>0.50$ 时,表示具有高度多态性;当 $0.25<PIC<0.50$ 时,表示具有中度多态性;当 $PIC<0.25$ 时,表示具有低度多态性^[9]。本研究中,3 个鸡群群体的平均多态信息含量均介于 $0.25\sim0.50$,属于中度多态性。这一结果低于陈宽维等^[10]所报道这 3 个品种的多态信息含量结果,主要是由于所选 3 个地方品种的 SNP 位点属于双等位基因的标记,双等位基因位点携带的多态信息相对较少,所以其多态性比微卫星其他分子标记要低^[11]。此外,经过多年的人工选育也可使多态信息含量降低。从杂合度和多态信息含量这 2 个参数可以看出,江西这 3 个地方鸡的群体平均杂合度和平均多态信息含量高低的研究结果基本一致,表明这些群体是具有选择潜力的,可进一步选育。

遗传距离是指不同的种群或种间的基因差异的程度,估算群体间的遗传距离是探究物种起源、构建系统发育树、分析群体间亲缘关系的基础^[12],并对

育种中指导亲本选配有着积极的作用。本研究中,3 个品种的遗传相似性指数都大于 90%,说明这 3 个品种的亲缘关系都比较近,聚类分析结果显示,安义瓦灰鸡与白耳黄鸡聚为一类,宁都黄鸡单独聚为一类,这个结果也与陈宽维等^[10]的聚类结果相一致。Hardy-Weinberg 平衡的检验结果显示部分位点处于不平衡的状态,这与张德宁等^[13]对黄选 1 号三疣梭子蟹生长性状 SNP 的研究结果相类似。偏离 Hardy-Weinberg 平衡的位点可能是人工选育、遗传漂变等因素所致,3 个鸡群都是经过多代人工选育的种群,这样可能会引起杂合子丢失,导致部分等位基因的频率发生改变。

参考文献:

- [1] USECHE F J,GAO G,HARAF EY M,*et al.* High-throughput identification,database storage and analysis of SNPs in EST sequences[J]. Genome Inform,2001,12:194-203.
- [2] GROENEN M A,WAHLBERG P,FOGLIO M,*et al.* A high-density SNP-based linkage map of the chicken genome re-

- veals sequence features correlated with recombination rate [J]. *Genome Research*, 2009, 19(3): 510-519.
- [3] RAO Y, SHEN X, XIA M, *et al.* SNP mapping of QTL affecting growth and fatness on chicken GGA1 [J]. *Genet Sel Evol*, 2007, 39(5): 569-582.
- [4] WAHLBERG P, CARLBORG O, FOGLIO M, *et al.* Genetic analysis of an F_2 intercross between two chicken lines divergently selected for body-weight [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10: 248.
- [5] 王樟凤, 朱学农, 饶昕昊, 等. 江西省三个地方鸡种群有效规模的估算 [J]. *中国家禽*, 2016, 38(20): 10-15.
- WANG Z F, ZHU X N, RAO X H, *et al.* Estimation of the effective size of population for three kinds of native chickens in Jiangxi Province [J]. *China Poultry*, 2016, 38(20): 10-15.
- [6] 张永德, 曾兰, 宾石玉, 等. 尼罗罗非鱼选育家系的遗传多样性研究 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2014, 32(3): 94-101.
- ZHANG Y D, ZENG L, BIN S Y, *et al.* Genetic diversity analysis of Nile tilapia breeding families [J]. *Journal of Guangxi Normal University (Natural Science Edition)*, 2014, 32(3): 94-101.
- [7] 邵敬国. 我国红火蚁 *Solenopsis invicta* 社会型鉴定及不同地理种群遗传差异性分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- SHAO J G. Analysis of social forms & genetic diversity in different geographic populations of *Solenopsis invicta* in China [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008.
- [8] FRANKHAM R, YOO B H, SHELDON B L. Reproductive fitness and artificial selection in animal breeding: Culling on fitness prevents a decline in reproductive fitness in lines of *Drosophila melanogaster* selected for increased inebriation time [J]. *Theor Appl Genet*, 1988, 76(6): 909-914.
- [9] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3): 314-331.
- [10] 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.
- CHEN K W, LI H F, WANG J Y, *et al.* Study on genetic diversity of 27 indigenous chicken breeds or strains in East China [J]. *Acta veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2006, 37(1): 7-11.
- [11] HOU S, MA A, WANG X, *et al.* Isolation and characterization of 45 polymorphic microsatellite loci of turbot (*Scophthalmus maximus*) and cross-species amplification [J]. *Chinese Journal of Oceanology & Limnology*, 2011, 29: 311-316.
- [12] 梁瑞圆, 陈晓勇, 孙洪新, 等. 五个地方绵羊种群 mtDNA D-loop 区系统进化及遗传多样性分析 [J]. *华北农学报*, 2018, 33(1): 135-142.
- LIANG R Y, CHEN X Y, SUN H X, *et al.* Phylogeny and genetic diversity of five local sheep breeds on mtDNA D-loop [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(1): 135-142.
- [13] 张德宁, 吕建建, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹生长相关 SNP 位点的鉴定 [J]. *中国水产科学*, 2015, 22(3): 393-401.
- ZHANG D N, LÜ J J, LIU P, *et al.* Identifying SNP markers correlated with growth of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) based on a comparative transcriptome [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(3): 393-401.