

# 19个地方鸡种遗传变异的微卫星和 AFLP 指纹分析

高玉时<sup>1</sup>, 钱勇<sup>1</sup>, 屠云洁<sup>1</sup>, 陈国宏<sup>2</sup>, 李慧芳<sup>1</sup>, 陈宽维<sup>1</sup>, 顾荣<sup>1</sup>

(1 中国农业科学院 家禽研究所, 江苏 扬州 226003;

2 扬州大学 动物科技学院, 江苏 扬州 225001)

**[摘要]** 利用20个微卫星标记和6对AFLP引物组合对19个地方鸡种进行了遗传检测,并根据两种标记分析的遗传距离进行了聚类分析。结果发现,19个地方鸡种在20个微卫星位点上的平均杂合度为0.5824~0.7432,平均多态信息含量为0.5238~0.7023;6对AFLP引物组合在19个地方鸡种中共检测到294条多态性条带,平均每个引物组合产生49条,同时在每个品种群体中还检测到了数量不等的特异性条带;19个地方鸡种两种标记分析的聚类结果具有较大的一致性,并与所保存地方鸡种的地理分布、现实状况相吻合。这表明同时应用微卫星和AFLP指纹分析我国地方鸡种的遗传多态性和品种间的亲缘关系,其结果具有更高的可靠性和科学性。

**[关键词]** 地方鸡种;微卫星;AFLP;遗传特性

**[中图分类号]** S831.2;S813.9

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2005)12-0006-07

我国地方鸡种资源丰富,优特性状明显,抗逆性强,是我国乃至世界上宝贵的家禽育种素材。检测地方鸡种遗传资源的多样性、遗传基础的宽与窄以及不同种群的遗传关系,不仅有利于我国地方鸡种资源的保存和利用,而且对我国畜牧业的可持续发展有促进作用。

微卫星标记在基因组中具有数量多、分布广、多态性丰富、呈共显性遗传、易于检测等优点;扩增片段长度多态性标记(AFLP)具有稳定性好、重复性和可比性强、检测快捷、效率高及无需知道基因组序列信息、易于实现自动化分析等优势。因此,这两种标记技术已经被广泛应用于构建家禽基因连锁图谱、制作家禽指纹图、分析群体遗传结构及遗传关系等<sup>[1~12]</sup>。但迄今还未见同时利用AFLP和微卫星标记分析我国地方鸡种遗传特性的报道。本试验对国家家禽品种资源基因库及其他保种区、保种场保存的19个地方鸡种的基因进行了微卫星和AFLP指纹分析,旨在探明这些地方鸡种的遗传变异状况及各品种之间的遗传相关性,以期为地方鸡种资源的保护及其开发利用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本研究所用的19个地方鸡种的血样分别来自

国家家禽品种资源基因库或其他保种区、保种场,各品种名称、数量和来源详见表1。每个鸡种取40份血液样品(公母各半),血样用ACD抗凝。

PCR扩增反应所用Taq DNA聚合酶、dNTP等试剂,以及电泳所用的Marker:pBR322均购自上海生工生物公司;经筛选的20个微卫星引物亦由上海生工生物公司合成。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取及池DNA构建 采用酚-氯仿法提取每个个体的基因组总DNA。每个鸡种所有个体的基因组DNA等量混合后,构建各个鸡种的池DNA,用三羟甲基氨基甲烷缓冲液(TE)稀释至终浓度50 ng/ $\mu$ L,用于AFLP分析。

1.2.2 微卫星指纹分析 本试验所用20个微卫星标记引物分别为ADL212, ADL210, ADL136, ADL185, MCW150, ADL158, ADL125, MCW4, ADL176, MCW62, MCW88, MCW29, MCW145, MCW104, MCW134, ADL166, MCW120, MCW32, MCW5, ADL231。这些引物的序列及PCR扩增反应体系见文献[13]。

1.2.3 AFLP指纹分析 从每个鸡种的池DNA中取4  $\mu$ L基因组DNA,用Pst I和Mse I进行双酶切,酶切片段与Pst I和Mse I接头连接。酶切与连接同步进行,Pst I和Mse I序列为:

**[收稿日期]** 2005-08-29

**[基金项目]** 江苏省自然科学基金项目(BK2002502);“六大大人才高峰”项目(NY2005025);公益性研究项目(BM2005708)

**[作者简介]** 高玉时(1967-),男,江苏扬州人,副研究员,硕士,主要从事家禽遗传育种研究。E-mail:gaoy100@sina.com

*Pst* I 接头 1: 5'-CTC GTA GAC TGC GTA CAT GCA-3';  
*Pst* I 接头 2: 5'-TGT ACG CAG TCT AC-3';  
*Mse* I 接头 1: 5'-GAC GAT GAG TCC TGA G-3';  
*Mse* I 接头 2: 5-TAC TCA GGA CTC AT-3'

表 1 19 个地方鸡种的序号、名称和来源

Table 1 Code, name and source of 19 chicken breeds

序号 Code	品种 Breeds	来源 Source
C1	黔东南小香鸡 Qiangdongnan xiaoxiang sooty chickens	贵州省榕江县保种场 Conservation farm in Rongjiang county Guizhou province
C2	固始鸡 Gushi chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C3	东乡黑鸡 Dongxiang black chickens	江西东乡黑鸡保种场 Conservation farm in Dongxiang county Jiangxi province
C4	旧院黑鸡 Jiuyuan black chickens	四川省万源县保种场 Conservation farm in Wanyuan county Sichuan province
C5	兴文乌鸡 Xingwen sooty chickens	四川省兴文乌鸡保种场 Conservation farm in Xingwen county Sichuan province
C6	盐津乌骨鸡 Yanjin sooty chickens	云南省牛赛保种场 Conservation farm in Niuzai county Yunnan province
C7	茶花鸡 Chahua chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C8	仙居鸡 Xianju chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C9	藏鸡 Zang chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C10	北京油鸡 Beijing fatty chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C11	寿光鸡 Shouguang chickens	山东省寿光县保种场 Conservation farm in Shouguang county Shandong province
C12	萧山鸡 Xiaoshan chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C13	崇仁麻鸡 Chongren partridge chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C14	丝羽乌骨鸡 Silkies	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C15	鹿苑鸡 Luyuan chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C16	狼山鸡 Langshang chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C17	白耳黄鸡 Baier chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C18	河南斗鸡 Henan game chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds
C19	大骨鸡 Dagu chickens	国家家禽基因库 State Gene Bank of China Native Poultry Breeds

引物序列见表 2。AFLP 预扩增、扩增反应和凝胶电泳参照文献[14,15]的方法进行,扩增产物用荧光标记(FAM)后再通过 ABI377 测序仪进行 4%含

尿素的变性聚丙烯酰胺电泳,并在测序仪上进行 AFLP 指纹图谱的分析。

表 2 AFLP 预扩增和选择性扩增引物序列

Table 2 Preamplification and selective amplification primers sequence used in AFLP analysis

<i>Pst</i> I 引物 Primers <i>Pst</i> I	序列 Sequences	<i>Mse</i> I 引物(荧光标记) Primers <i>Mse</i> I (FAM)	序列 Sequences
1	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GAA	1	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
2	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GAC	2	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C
3	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GAG	3	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA G
4	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GAT	4	5'- GAT GAG TCC TGA GTA ACA T
5	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GTA	5	5'- GAT GAG TCC TGA GTA ACT A
6	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GTC	6	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C
7	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GTT	7	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G
8	5'-GAC TGC GTA CAT GCA GTG	8	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT T

1.2.4 数据统计和分析 分析统计 19 个地方鸡种在 20 个微卫星位点上的等位基因组成,计算各群体中的基因频率、杂合度(Heterozygosity, H)、多态信息含量(Polymorphic information content, PIC)等指标,计算 2 个群体间的 Nei 氏标准遗传距离  $D_s$ <sup>[16]</sup>,并用 NTSYSpC 按照 UPGMA 法聚类,有关计算公式见文献[13]。

根据各鸡种基因组 DNA 的 AFLP 标记检测结果,选取清晰可辨的多态性谱带用于数据统计分析。

有带的记为 1,无带的记为 0,建立数据库。利用 SPSS 软件,按公式  $G_s = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$  计算各品种间的遗传相似系数(Genetic similarity,  $G_s$ );其中,  $N_{xy}$  为两个品种共有的带谱数;  $N_x$  与  $N_y$  分别为每个品种的总带谱数。各鸡种间的遗传距离( $D_s$ )按公式  $D_s = 1 - G_s$  计算<sup>[17]</sup>。根据  $D_s$  值,利用 NTSYSpC 分析软件按照 UPGMA 法进行聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 微卫星分析结果

2.1.1 19 个地方鸡种 20 个微卫星标记的等位基因 20 个微卫星标记在 19 个地方鸡种保种群中共

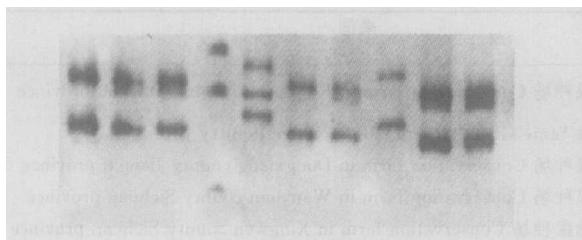


图 1 寿光鸡在 ADL185 微卫星基因座的部分扩增结果  
Fig. 1 A Portion of PCR results of ADL185 in Shouguang chickens

2.1.2 19 个地方鸡种的平均基因杂合度、多态信息含量和平均遗传距离 由表 3 可以看出,19 个地方鸡种 20 个微卫星标记的平均杂合度为 0.582 4~0.743 2。藏鸡平均基因杂合度最高,为 0.743 2,白耳黄鸡最低,为 0.582 4;平均多态信息含量为 0.523 8~0.702 3,均大于 0.5。群体杂合度( $H$ )表示被检测基因座上群体中杂合子的频率,它是群体杂合程度的度量单位,群体平均杂合度的高低反映

表 3 19 个地方鸡种保种群的平均基因杂合度、多态信息含量和平均遗传距离

Table 3 Mean heterozygosity and PIC and Mean genetic distance in 19 Chinese native chicken breeds

品种 Breed	杂合度 H	多态信息含量 PIC	平均遗传距离 Mean genetic distance	品种 Breed	杂合度 H	多态信息含量 PIC	平均遗传距离 Mean genetic distance
C1	0.692 6	0.644 7	0.370	C11	0.712 4	0.671 0	0.410
C2	0.702 0	0.653 7	0.431	C12	0.727 9	0.687 7	0.405
C3	0.679 6	0.654 2	0.448	C13	0.671 3	0.652 3	0.453
C4	0.707 6	0.699 3	0.378	C14	0.732 4	0.691 5	0.506
C5	0.726 1	0.685 4	0.385	C15	0.736 6	0.695 3	0.505
C6	0.608 7	0.594 2	0.386	C16	0.680 0	0.632 9	0.507
C7	0.733 1	0.693 3	0.414	C17	0.582 4	0.523 8	0.355
C8	0.741 9	0.700 2	0.371	C18	0.702 8	0.654 8	0.517
C9	0.743 2	0.702 3	0.395	C19	0.721 4	0.677 5	0.374
C10	0.701 6	0.653 9	0.347				

用 Popgene 软件计算了 19 个品种间的 Nei 氏遗传距离  $D_s$ , 计算结果表明,19 个地方鸡种之间的  $D_s$  遗传距离为 0.200 8~0.517,其中东乡黑鸡与鹿苑鸡之间的  $D_s$  遗传距离最大,为 0.787 8;旧院黑鸡与兴文乌鸡之间的  $D_s$  遗传距离最小,为 0.517。由 Nei 氏遗传距离  $D_s$  统计了各鸡种的平均遗传距离如表 3 所示。由表 3 可以看出,河南斗鸡与其他鸡种的平均距离最远,为 0.517;北京油鸡与其他鸡种的遗传距离最近,为 0.347。

检测到 184 个等位基因,其中等位基因数最多的引物有 ADL210、MCW62 和 MCW32,达 19 个;最少的为 MCW145 和 MCW134,仅有 6 个;获得的平均等位基因数为 9.2 个,均表现为多态性。部分鸡种的多态性扩增结果见图 1 和图 2。

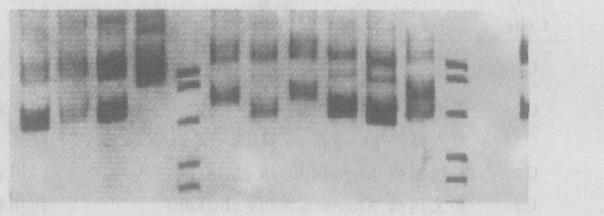


图 2 崇仁麻鸡在 MCW150 微卫星基因座的部分扩增结果  
Fig. 2 A Portion of PCR results of MCW150 in Chongren Partridge chickens

了群体的遗传一致性程度。群体的杂合度越低,说明该群体的遗传一致性越高,群体的遗传变异越少,群体的遗传多样性越差。本研究结果表明,我国地方鸡种具有丰富的多态性,这也说明了有些地方鸡种虽然已被收集到基因库进行了小群保种,但由于保种过程中实施了科学的“家系等量随机选配法”,因此,并未出现纯合子过高的现象。

### 2.2 AFLP 分析结果

2.2.1 AFLP 多态标记检测结果 利用 6 种 AFLP 引物组合,在 19 个地方鸡种中共检测到 294 条多态性条带,平均每个引物组合产生 49 条多态性标记,变化为 37~69 条(表 4)。6 种 AFLP 引物组合在 19 个地方鸡品种中还检测到了数量不等的特异性条带,其中藏鸡的特异性条带最多,有 15 条,仙居鸡最少,只有 1 条。该研究结果表明,我国地方鸡种遗传多样性较为丰富;同时也说明 AFLP 检测效率

较其他标记方法高。

表 4 6 种 AFLP 引物组合在 19 个地方鸡种群体中的检测结果

Table 4 Amplification results of 6 AFLP primer combination in 12 indigenous chicken breeds

引物组合 Primer combination	多态性条带数 No. of polymorphic band	各鸡种的品种特异性条带数 Breed specific band																		
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19
P1	38	1				1	1			2	1		1	2	3		1		2	2
P2	44	1	3					2		3	1	2	1		1	1		2	1	
P3	37		1	1	1	4			1	1			1	2	4		1		3	2
P4	39			1				3		3	1					2	1	1	2	1
P5	69	3		7	5			1		5		2	1		3		1	4	4	1
P6	67	3	1		3		1			1	2			1	2					3
合计 Total		8	5	9	9	5	2	6	1	15	5	4	5	5	13	3	4	7	12	9

注 (Note): P1. P-GAT/M-CAG; P2. P-GAT/M-CAT; P3. P-GAT/M-CTA; P4. P-GAT/M-CTG; P5. P-GAT/M-CT A; P6. P-GAT/M-CTC.

2.2.2 遗传相似性分析 根据 6 种 AFLP 引物组合的检测结果,计算了 9 个地方鸡种的遗传相似系数,并据此计算了各鸡间的遗传距离。其中藏鸡与茶花鸡遗传相似系数最高(0.821),遗传距离最低(0.179);河南斗鸡与丝羽乌骨鸡遗传相似系数最低(0.198),遗传距离最大(0.802)。该研究结果表明,我国地方鸡种之间的遗传相似程度与各鸡种所处的地理位置、保存的现实状况有密切关系。

2.3 各品种间的遗传距离与聚类分析

根据微卫星和 AFLP 指纹分析结果,将计算获得的遗传距离分别用 NTSYSpc 软件的 UPGMA 法,对 19 个地方鸡种保种群进行聚类分析,结果如图 3 所示。从图 3 可以看出,两种方法的分析结果有较大的一致性,如北京油鸡、大骨鸡、寿光鸡聚为 1

类;仙居鸡、萧山鸡聚为 1 类;东乡黑鸡、盐津乌骨鸡、黔南小香乌鸡、旧院黑鸡与兴文乌骨鸡聚为 1 类;茶花鸡和藏鸡聚为 1 类;崇仁麻鸡、丝羽乌骨鸡、江西白耳鸡聚为 1 类;鹿苑鸡、狼山鸡聚为 1 类。但两种方法分析结果也存在一定的差异。在微卫星分析结果中,河南斗鸡与江苏省的狼山鸡和鹿苑鸡聚在一起,固始鸡与北京油鸡、大骨鸡、寿光鸡聚为 1 类;而在 AFLP 分析结果中,河南斗鸡与北京油鸡、大骨鸡、寿光鸡聚为 1 类,固始鸡单独聚为 1 类。其原因可能是因为本试验所用的微卫星和 AFLP 标记,对其中某些品种的分析不是很适合,所用两种标记的引物或引物组合的数量与庞大的基因组相比还略显不足;另外,试验的误差也可能是出现结果不一致的原因之一。

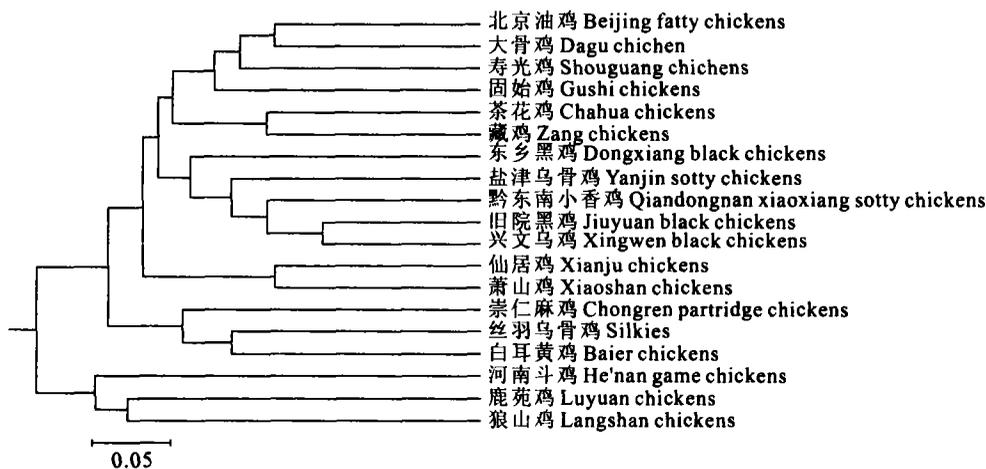


图 3 19 个地方鸡种微卫星分析结果的 UPGMA 聚类

Fig. 3 Dendrogram of relationships among 19 Chinese native chicken breeds using UPGMA method of clustering with analysis results of microsatellite

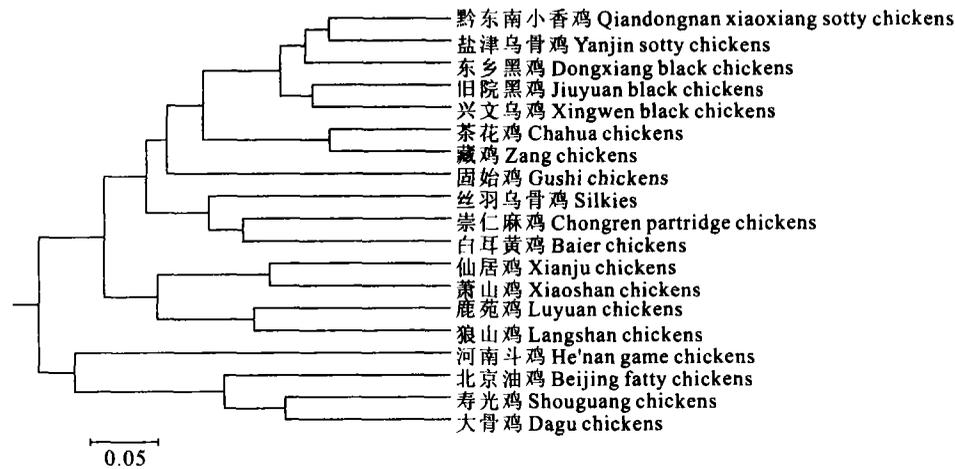


图 4 19 个地方鸡种 AFLP 分析结果的 UPGMA 聚类

Fig. 4 Dendrogram of relationships among 19 Chinese native chicken breeds using UPGMA method of clustering with analysis results of AFLP

### 3 讨论

#### 3.1 利用 AFLP 与微卫星指纹双标记分析地方鸡种遗传特性的优越性

微卫星标记一直被认为是最有价值的遗传分析工具,但微卫星分析方法存在不能反映微卫星位点在 DNA 序列上的差异等缺陷。据文献[18]报道,在一些物种之间,微卫星重复序列两端的侧翼序列可以发生插入或缺失,而且多在几个相邻碱基上同时发生。因此,单纯使用 PCR 产物片段进行研究,其结果可能不完全准确。此外,由于 PCR 扩增受多种因素的影响,导致一些等位基因无法扩增出来,或出现无效基因增多的现象<sup>[18]</sup>。

AFLP 指纹技术是基于 RFLP 和 RAPD 的 PCR 方法,其原理是对基因组 DNA 进行两种特定的酶切,再根据酶切位点连接适当的接头,经过预扩增和选择性扩增,扩增产物经电泳后可获得 DNA 指纹图。选用不同的引物组合,不同基因型 DNA 有不同的酶切位点,从而产生扩增片段长度多态性。由于用该标记分析无需知道基因组的序列信息,目前在动物的遗传多样性分析和品种鉴定等方面独具优势,尤其是适于对遗传多样性较贫乏的近缘品种(系)、濒危品种及遗传背景了解极少的种群的遗传分析。

因此,本研究利用 AFLP 和微卫星两种标记同时分析,在方法上可以相互弥补,其结果可以相互佐证,更能科学真实地反映出我国地方鸡种的遗传特性。

#### 3.2 AFLP 标记用于家禽品种(系)鉴定与保护的可行性

AFLP 分析适用于家禽品种(系)的鉴定和保护<sup>[9]</sup>。本研究表明,6 种 AFLP 引物组合在 19 个地方鸡品种中检测到了数量不等的特异性条带,其中藏鸡在池 DNA 中检测到的特异性条带最多,为 15 条,仙居鸡最少,为 1 条。经重复试验后,仍然检测到这些标记。因此,推测这类标记可能在某一品种中是独有的,在该品种中,利用这类独特的特异性标记并结合检测到的 AFLP 多态性标记组合,建立该品种的 DNA 指纹,可以将该品种与其他品种区分开来,也可作为鉴定鸡种真伪的科学依据,对保护育种工作者的知识产权和合法权益具有重要的意义。

#### 3.3 19 个地方鸡种群间的遗传变异分析

群体间的遗传变异一般以等位基因频率计算的 2 个群体间的遗传距离来估算。遗传距离是研究物种遗传多样性的基础,它反映了所研究群体的系统进化历史。一般认为,群体分化时间越短,遗传距离越小。

在聚类结果中,第 1 类群中包括分布于辽宁省庄河县的大骨鸡。据资料<sup>[19]</sup>记载,大骨鸡是山东移民带来的大型寿光鸡与当地鸡种杂交后经长期选育而成的优良兼用品种。北京油鸡也是一个很珍贵的兼用品种,其与寿光鸡同属黄淮海地区,因而北京油鸡和大骨鸡聚在一起与寿光鸡的桥梁作用有相当大的关系。本试验两种标记分析结果都证明了这一点。

对品种的选择一般关注的是体型外貌、生产性能等表型性状或经济性性状,即编码基因。由于微卫星

位点分布在非编码区的居多,仅少数分布在编码区。因此,微卫星受到的选择压力很小。AFLP 多态标记揭示的是遗传物质 DNA 的差异,与应用表型性状、生产性能等方法相比,可以更真实地反映这些鸡种的遗传背景和亲缘关系。因此,聚类结果应与鸡种的产地分布有较强的相关关系,而与鸡种的表型性状和生产性能无必然的联系。从获得的聚类图可以看到,浙江省的仙居鸡、萧山鸡,江西省的丝羽乌骨鸡、崇仁麻鸡和白耳鸡,江苏省的狼山鸡、鹿苑鸡等,这些地区的鸡品种在体型外貌、经济性能等方面都有较明显的差异,但能按地区各自聚为 1 类,2 种标记方法均证明了上述理论,同时也说明以上这些为基因库所保存的品种,群体间相对封闭,免受了外来基因的干扰。

微卫星指纹分析结果表明,河南斗鸡与其他鸡

种的平均遗传距离最远;AFLP 指纹分析同样表明,该鸡种与其他鸡种的相似系数最低。这可能是因为饲养斗鸡与其他鸡品种的目的不同,因而在长期的选育过程中,斗鸡也就与其他鸡品种间产生了较大的分化,导致其与其他鸡品种的遗传距离较远。

从鸡品种系统聚类过程还可看出,我国地方鸡种间存在着相互交叉、相互牵制的错综复杂的关系。如在本试验的 2 种标记分析结果中,东乡黑鸡将西南相毗邻几个省的鸡种与江西省的鸡种联系在一起,这一方面说明我国地方鸡种的起源、演化和形成过程相当复杂;另一方面也说明,随着我国交通、信息的发展,原有的地区隔离已不再存在,品种之间的交流越来越频繁。因此,应尽快落实政策,切实保护好我国地方鸡种的遗传多样性。

#### [参考文献]

- [1] 张细权,吕雪梅,杨玉华,等.用微卫星和 RAPD 分析分析家鸡品种的遗传变异[J].遗传学报,1998,25(2):192-199.
- [2] 陈红菊,岳永生,樊新忠,等.利用微卫星标记分析山东地方鸡品种的遗传多样性[J].遗传学报,2003,30(9):855-860.
- [3] 吴信生,陈国宏,王德前,等.利用微卫星分析技术分析中国部分地方鸡品种的遗传结构[J].遗传学报,2004,31(1):43-50.
- [4] Takahashi H, Nirasawa K, Nagamine Y, et al. Genetic relationships among Japanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(6): 543-546.
- [5] Vanhala T, Tuiskula-Haavisto M, Elo K, et al. Evaluation of genic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers[J]. Poultry Science, 1998, 77: 783-790.
- [6] 吴萍,王金玉,陈宽维,等.应用微卫星标记分析中国地方鸡种的遗传变异[J].生物多样性,2003,11(6):461-466.
- [7] Romanov M N, Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers[J]. Poultry Science, 2001, 80: 1057-1063.
- [8] Zhou H, Lamont S J. Genetic characterization of bio-diversity in highly inbred chicken lines by microsatellite markers[J]. Anim enet, 1999, 30: 256-264.
- [9] 任军,黄路生,艾华水,等.24 个中外猪种(群)的 AFLP 多态性及其群体遗传关系[J].遗传学报,2002,29(7):774-781.
- [10] 苟本富,叶华虎,魏泓. AFLP 标记在小香羊多态性检测中的应用[J].动物学杂志,2003,38(5):45-49.
- [11] 万春玲,朱玉芳. AFLP 标记在研究家蚕遗传多态性方面的应用[J].生物技术,1999,9(5):4-9.
- [12] Ajmone-Marson P, Valentini A, Cassandro M, et al. AFLPTM Marker for fingerprinting in cattle[J]. Animal Genetics, 1997, 28: 418-426.
- [13] 高玉时,杨宁,李慧芳,等.地方鸡品种保种群微卫星指纹分析与保种效果监测[A].陈宏权.第九次全国畜禽遗传标记研讨会论文集[C].北京:中国农业科技出版社,2004.124-129.
- [14] 张春庆,杨凯,贾继增. DAN 指纹技术——AFLP 的优化[J].山东农业大学学报(自然科学版),2002,33(1):89-92.
- [15] 李慧芳,陈宽维,赵永高.高邮鸭荧光标记 AFLP 指纹技术研究[A].陈宏权.第九次全国畜禽遗传标记研讨会论文集[C].北京:中国农业科技出版社,2004.31-34.
- [16] Nei M, Takezaki N. Estimation of genetic distance and phylogenetic trees from DNA analysis[J]. Genet Appl Livest Prod, Canada, 1992, 21: 405-419.
- [17] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1979, (75): 213-219.
- [18] 曲鲁江.中国地方鸡种的分子遗传多样性分析[D].北京:中国农业大学,2004.
- [19] 郑丕留.中国家禽品种志[M].上海:上海科学技术出版社,1989.

## Analysis of Genetic Variation of Chinese Native Chicken Breeds using microsatellite and AFLP Fingerprintings

GAO Yu-shi<sup>1</sup>, QIAN Yong<sup>1</sup>, TU Yun-jie<sup>1</sup>, CHEN Guo-hong<sup>2</sup>,

LI Hui-fang<sup>1</sup>, CHEN Kuan-wei<sup>1</sup>, GU Rong<sup>1</sup>

(1 Institute of Poultry, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Yangzhou, Jiangsu 225003, China;

2 College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225001, China)

**Abstract:** The 20 microsatellite markers and 6 AFLP primers combinations were used to detect genetic variation of 19 Chinese Native chicken breeds. The results showed that the range of heterozygosity was 0.582 4—0.743 2 and the mean polymorphism information content of 20 microsatellite was 0.523 8—0.702 3. The 6 AFLP primers combinations generated 294 polymorphic bands, 49 polymorphic markers were detected by one primer combination on the average. 1—15 specific bands were produced in the pool DNA of them. The clustering results of microsatellite were in accordance with that of AFLP and were consistent with the location and present status of 19 chickens. It showed that it was of better credibility to analyze the genetic diversity and relative relationship by using microsatellite and AFLP fingerprinting.

**Key words:** native chicken breed; microsatellite; DNA fingerprinting; genetic variation

(上接第 5 页)

**Abstract ID:** 1671-9387(2005)12-0001-EA

## Study of technologies of superovulation on Poll Dorset sheep

QUAN Fu-sheng, ZHAO Xiao-e, ZHANG Zhi-ping, AN Zhi-xing, LIU Feng-jun

LI Yu-qiang, LI Xiang-chen, ZHANG Yong

(Institution of Bio-engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shanxi 712100, China)

**Abstract:** This study was conducted to investigate the superovulation (SOV) efficiency of two different FSHs (made in Canada and China respectively) on Poll Dorset sheep. Therefore, the experiment compared several factors on SOV, including ways of drug administration, repeated SOV, multi- or primiparous ewes, season, natural estrous and induced estrous and unknown estrous cycles. At the same time, the effects of corpora lutea degradation, follicles and estrous delayed on SOV were observed. The results of this study show that FSH (CA) had the best effect on SOV, the second was the combination of FSH (made in Ningbo and in Chinese Academy of Science). Repeated superovulation had no significant effect on SOV efficiency. Multiparous ewes had better SOV result than primiparous ewes. SOV was better in natural estrous ewes than induced estrous and unknown estrous cycle ewes. Useable embryo recovery was significantly low in ewes of corpora lutea degradation. Follicles' existing in ovary or not had no significant difference on SOV and the efficiency of SOV was significantly lower in the estrous delayed ewes than in normal estrous ewes.

**Key words:** poll dorset sheep; FSH; superovulation; embryo transfer