

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2022.03.004

五黑乌骨鸡与黄山黑鸡性能比较及微卫星多样性分析

王 斌

(桐城师范高等专科学校,安徽桐城 231400)

摘要:为了解安徽地方黑鸡品种生长发育、繁殖性能和遗传距离,比较分析了五黑乌骨鸡和黄山黑鸡外貌特征、体尺发育、蛋品质和繁殖性能,以及微卫星标记在 2 个群体中的遗传多样性。结果表明,五黑乌骨鸡体质量、体长、骨盆宽和胫长均显著高于黄山黑鸡($P < 0.05$),胸宽和胸深显著低于黄山黑鸡($P < 0.05$),龙骨长和胫围在 2 品种间差异无统计学意义($P > 0.05$)。五黑乌骨鸡蛋重、蛋壳厚度、蛋壳强度和蛋黄比显著高于黄山黑鸡($P < 0.05$)。2 品种间蛋壳厚度无统计学意义($P > 0.05$)。五黑乌骨鸡的绿壳蛋率为 71.2%,黄山黑鸡蛋壳粉色。MCW0034 等 9 个微卫星标记在 2 个群体中共检测到 140 个等位基因,不同座位上的等位基因大小在 56~341 bp 之间;平均多态信息含量为 0.760 4,平均有效等位基因数为 6.428 7,平均基因杂合度为 0.785 0。五黑乌骨鸡蛋品质高于黄山黑鸡,可能与体质量和体尺指标有关。微卫星标记的研究结果为我省地方黑鸡品种的种质特性研究提供了基础数据,为地方鸡种资源合理保护和利用提供了理论依据。

关键词:五黑乌骨鸡;黄山黑鸡;体型外貌;微卫星;遗传多样性

中图分类号:S831 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2022)03-0018-05

Performance Comparison and Microsatellite Diversity Analysis of Wuhei Black-bone Chicken and Huangshan Black Chicken

WANG Bin

(Tongcheng Teachers College, Tongcheng, Anhui 231400, China)

Abstract: In order to understand the growth, development, reproductive performance and genetic diversity of Anhui local black-bone chicken breeds, the appearance characteristics, body size, egg quality, reproductive performance, and genetic diversity of microsatellite markers in Wuhei Black-bone and Huangshan Black chickens were comparatively studied. The results showed that the body weight, body length, pelvic width and shanklength of Wuhei Black-bone chicken were significantly higher ($P < 0.05$), and the breast width and depth were significantly lower than those of Huangshan Black chicken ($P < 0.05$). Keel length and shank girth were not significantly different between the two breeds ($P > 0.05$). The body weight, shell thickness, shell strength and yolk ratio of Wuhei Black-bone chicken were significantly higher than those of Huangshan Black chicken ($P < 0.05$). There was no significant difference in shell thickness between the two breeds ($P > 0.05$). Green shell egg rate of Wuhei Black-bone chicken was 71.2%, while the color of egg shell was pink for Huangshan Black chicken. The nine microsatellite markers detected 140 alleles in the two populations, and the fragment-size of alleles at different loci was between 56~341 bp. The average polymorphic information content was 0.760 4, and the average number of effective alleles was 6.428 7. The average gene heterozygosity was 0.785 0. The higher egg quality of Wuhei Black-bone chicken might be related to a better body weight and size. The results of microsatellite genetic diversity could provide basic data for the understanding of the characteristics of local chicken breeds in Anhui province, and provide a scientific basis for the rational preservation and utilization of local chicken resources.

Keywords: Wuhei black-bone chicken; Huangshan black chicken; characteristics; microsatellite; genetic diversity

收稿日期:2022-03-29

基金项目:安徽省重点研发计划项目(201904f06020028),安徽省高校自然科学研究项目(KJ2020A0891)。

作者简介:王斌(1981—),男,安徽桐城人,副教授,硕士,研究方向:家禽养殖。

0 引言

随着人民生活水平的提升,饮食理念、方式、习惯都发生了改变,因而行业开始高度重视优质禽产品的研究开发。利用地方鸡遗传资源生产优质土鸡体现了养鸡业向现代化、优质化、生态化的转型,是养鸡业发展的显著趋势和强大动力。

微卫星DNA已广泛用于畜禽群体遗传多样性分析^[1-2]。畜禽群体遗传多样性分析有助于综合评估品种遗传资源现状,有助于保护和开发地方品种,有助于建立优良基因库,是遗传资源管理不可或缺的重要环节^[3]。黄山黑鸡核心产区位于安徽省黄山市黟县^[4],五黑乌骨鸡核心产区位于安徽省安庆市望江县鸦滩镇,两地都是山林环绕,天然封闭式山地养殖环境,历经当地的长期驯化和人工选择,形成抗病力强的肉蛋兼用型优质地方鸡种^[5]。为了比较这2个群体鸡,本试验检测了黄山黑鸡和五黑乌骨鸡种群生产性能和蛋品质,用微卫星标记分析2个群体鸡遗传的多样性,旨在为地方黑鸡品种种质特性研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

五黑乌骨鸡和黄山黑鸡分别饲养于安庆市望江县鸦滩镇五黑乌骨鸡保种场和黄山市黟县黄山黑鸡保种场,公、母各30只,翅静脉采血。五黑乌骨鸡成年体质量、体尺和蛋品质测量方法参考GB/T 37117-2018^[6],繁殖性能指标参考保种场近3 a生产记录。黄山黑鸡体型外貌、生长发育和繁殖性能数据来源于黄山黑鸡国家标准GB/T 37117-2018^[6]。

1.2 试验方法

1.2.1 体质量和体尺测量

体质量用宇衡电子秤(YUH,中国浙江金华市生产,最大称量6千克,最小称量0.003千克)称量;胫围、龙骨长、体斜长用皮尺测量;胸宽、胸深、骨盆宽和胫长用电子数显卡尺测量。

1.2.2 蛋品质测定

用蛋品测定仪(EA1560,ORKA)测定蛋重、蛋黄颜色、蛋白高度和哈氏单位;用电子数显卡尺测量鸡蛋纵径(LE)和横径(WE),计算蛋形指数(LE/WE);用蛋壳强度计(卵壳强度计II,富士平工业株式会社)测量蛋壳强度(BS);用蛋壳厚度测定仪(SINCE 1916,富士平工业株式会社)测量蛋壳大头、小头和中间厚度(STB),计算平均蛋壳厚度。

1.2.3 微卫星片段的PCR扩增和电泳鉴定

采用试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司产品]提取血液基因组DNA,提取方法参考试剂盒说明书。微卫星引物及扩增条件如表1所示。

PCR扩增的反应体系为20 μL,其中2×Reaction Mix 10 μL,上、下游引物各0.24 μL,DNA聚合酶0.2 μL,模板DNA为1 μL,最后加入8.32 μL dd H₂O补足反应体系至20 μL。

表1 9对微卫星引物序列及扩增条件

位点	引物序列(5'→3')	退火温度/℃
MCW0034	F TGTCTTCCAATTACATTCATGGG	58~63
	R TGCACGCACTTACATACTTAGAGA	
MCW0123	F GGCTGATGTAAGAAGGGATGA	
	R CCACTAGAAAAGAACATCCTC	
LER0234	F CGTGGCTGTGAACAAATATG	
	R ATGCATCAGATTGCTATTCAA	
ADL0268	F CAACTTCCCCTCTACCTACT	
	R CTCCACCCCTCTCAGAACTA	
ADL0278	F TGTCTCCAAGAACAGTGTG	
	R CCAGCAGTCTACCTTCCTAT	
LEI0072	F GACTCTTTCAGTACATACTGG	
	R TAAGCTGACATTCCACCACCAG	
ABI12114	F AGATTTCTGGCTTCTGCA	
	R GACTAGTAGTGAAGACTGTT	
MCW135	F CATGTTCTGCATTATTGCTCC	
	R ATATGCTGCAGAGGGCAGTA	
MCW0183	F TGAGATTTACTGGAGCCTGCC	
	R ATCCCAGTGTCCAGTATCCGA	

扩增条件为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,58~63℃退火30 s,72℃延伸1 min,35个循环;最后72℃延伸5 min。

PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测合格后,采用10%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离片段。硝酸银染色后UVITEC凝胶成像,FireReader软件分析等位片段大小。

1.2.4 数据统计分析

采用SPSS 22.0分析统计软件,五黑乌骨鸡和黄山黑鸡体尺、生长、蛋品质和繁殖等各指标采用t检验,其中黄山黑鸡的数据来源于GB/T 37117-2018。读取的微卫星片段,采用POPGENE Version 1.32计算有效等位基因数、多态信息含量、观察杂

合度。采用“平均数±标准差”表示数据, $P<0.05$ 表示数据有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡成年体质量、体尺及体型外貌比较分析

2.1.1 成年体质量及体尺比较分析

五黑乌骨鸡母鸡体质量、体斜长、骨盆宽和胫

长均显著高于黄山黑鸡母鸡($P<0.05$), 而胸宽和胸深显著低于黄山黑鸡母鸡($P<0.05$), 2 群体间龙骨长和胫围数据无统计学意义, 如表 2 所示。五黑乌骨鸡公鸡体质量、体斜长、骨盆宽、龙骨长和胫长均显著高于黄山黑鸡($P<0.05$), 而胸宽、胸深显著低于黄山黑鸡($P<0.05$), 2 群体间胫围数据无统计学意义。

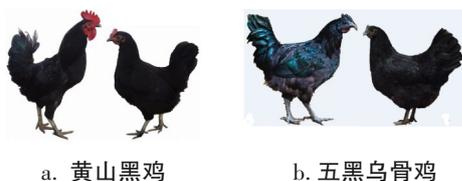
表 2 300 日龄五黑乌骨鸡与黄山黑鸡体质量及体尺测定比较

品种	性别	体质量/g	体斜长/cm	胸宽/cm	胸深/cm	骨盆宽/cm	龙骨长/cm	胫围/cm	胫长/cm
五黑乌骨鸡	公	1 694.0±149.0 ^a	21.1±0.7 ^a	7.2±0.3	8.9±0.6 ^b	9.4±0.6 ^a	12.3±0.6 ^a	3.7±0.2	9.0±0.6 ^a
	母	1 332.0±197.3 ^a	18.4±1.1 ^a	6.3±0.5 ^b	8.8±0.6 ^b	8.3±0.5 ^a	10.0±0.7	3.3±0.2	7.5±0.6
黄山黑鸡	公	1 500.0±150.0 ^b	18.5±1.5 ^b	7.5±0.5	9.5±0.5 ^a	6.5±0.5 ^b	11.8±0.8 ^b	3.9±0.3	8.5±0.5 ^b
	母	1 155.0±115.0 ^b	16.5±2.0 ^b	7.0±0.5 ^a	9.0±0.5 ^a	6.3±0.5 ^b	9.9±0.8	3.3±0.2	7.5±0.5

注:同一性别同列不同小写字母表示数据有统计学意义($P<0.05$)。*数据参考黄山黑鸡国家标准 GB/T 37117-2018。

2.1.2 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡体型外貌比较

五黑乌骨鸡和黄山黑鸡的外貌如图 1 所示。



注:黄山黑鸡图片来源于国家标准 GB/T 37117-2018^[6]。

图 1 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡(公、母)^[6]

五黑乌骨鸡体型中等,喙呈青黑色。单冠,冠齿 3~8 个。冠、肉垂和耳叶均为乌黑色,极少数呈红色。虹彩为墨绿色,皮肤黑色。骨、内脏、毛、皮、肉为黑色(五黑特征)。胫呈青黑色。全身羽毛黑色,公鸡蓑羽、翼羽、鞍羽和尾羽有翠绿光泽。

黄山黑鸡头短圆,体型偏小。喙呈黑色或青色。单冠,冠齿 5~7 个。冠、肉垂和耳叶均为红色,虹彩为橙黄色,皮肤白色。胫为黑或青色,少数有黑色胫羽。颈羽呈黑或麻黄色,其他均为黑色。

2.2 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡生长发育性能比较

五黑乌骨鸡公鸡和母鸡各周龄体质量均显著高于黄山黑鸡($P<0.05$)。五黑乌骨鸡出雏体质量平均为 37 g;4 周龄平均体质量,公、母分别为 247 g 和 215 g;8 周龄平均体质量,公、母分别为 535 g 和 459 g;12 周龄平均体质量,公、母分别为 825 g 和 710 g, 如表 3 所示。

表 3 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡各周龄平均体质量比较

种类	性别	周龄			
		0	4	8	12
五黑乌骨鸡	公	37±7 ^a	247±31 ^a	535±49 ^a	825±119 ^a
	母	36±6 ^a	215±29 ^a	459±54 ^a	710±97 ^a
黄山黑鸡	公	32±5 ^b	225±35 ^b	480±60 ^b	790±110 ^b
	母	32±5 ^b	195±35 ^b	410±60 ^b	670±90 ^b

注:相同性别同列不同小写字母表示数据有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡蛋品质比较分析

五黑乌骨鸡蛋重和蛋黄比率均显著高于黄山黑鸡($P<0.05$), 蛋形指数、蛋壳厚度、蛋壳强度和哈氏单位在 2 个群体间无统计学意义, 如表 4 所示。

2.4 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡繁殖性能比较

由表 5 可知,五黑乌骨鸡 5% 产蛋率日龄早于黄

表 4 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡蛋品质测定结果

品种	蛋重/g	蛋形指数	蛋壳厚度/mm	哈氏单位	蛋壳强度/($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)	蛋黄比率/%
五黑乌骨鸡	48.2±3.7 ^a	1.32±0.10	0.38±0.03	83.7±5.0	3.6±0.1	33.4±6.9 ^a
	43.0±3.0 ^b	1.32±0.02	0.36±0.04	81.5±4.0	3.4±0.2	31.2±6.2 ^b

注:同列不同小写字母表示数据有统计学意义($P<0.05$)。

山黑鸡,蛋壳70%为绿壳,受精率93.1%,受精蛋孵化率95.0%。黄山黑鸡5%产蛋率日龄平均165天,蛋壳粉色,种蛋受精率93.5%,受精蛋孵化率94.5%。

2.5 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡微卫星遗传多样性分析

2个群体鸡在9个微卫星座位中共检测到140

表5 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡繁殖性能

品种	5%产蛋率日龄/d	蛋壳颜色	受精率/%	受精蛋孵化率/%
五黑乌骨鸡	157±12 ^b	70%绿色	93.1±0.7	95.0±0.4
黄山黑鸡	187±13 ^a	粉色	93.5±0.5	94.5±0.8

注:同一列相同字母表示数据有统计学意义($P<0.05$),不同小写字母表示数据有高度统计学意义($P<0.01$),无标示字母表示数据无统计学意义。

表6 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡群体微卫星遗传多样性

位点	多态信息含量PIC		杂合度Ho		有效等位基因数Ne		片段大小/(bp)
	黄山黑鸡	五黑乌骨鸡	黄山黑鸡	五黑乌骨鸡	黄山黑鸡	五黑乌骨鸡	
MCW0034	0.847 7	0.855 3	0.862 8	0.868 8	7.288 3	7.622 2	194~216
MCW0123	0.860 6	0.796 2	0.872 6	0.820 7	7.850 2	5.577 2	56~98
LER0234	0.923 6	0.920 4	0.928 1	0.924 9	13.902 4	13.317 9	208~302
ADL0268	0.684 1	0.773 7	0.728 2	0.802 2	3.678 7	5.054 9	101~117
ADL0278	0.812 3	0.787 7	0.828 7	0.811 5	5.837 5	5.306 0	107~140
LEI0072	0.737 7	0.883 0	0.765 9	0.892 5	4.272 2	9.301 1	52~102
ABI12114	0.279 2	0.537 7	0.302 4	0.602 6	1.433 4	2.516 7	166~185
MCW135	0.864 9	0.863 0	0.875 5	0.875 7	8.032 8	8.041 9	109~163
MCW0183	0.534 0	0.727 1	0.610 8	0.756 9	2.569 4	4.114 3	265~341
平均	0.727 1	0.793 8	0.752 8	0.817 3	6.096 1	6.761 4	

3 讨论

3.1 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡生长发育和体型外貌分析

体型外貌是反映品种特征的重要指标之一^[7],本研究表明五黑乌骨鸡和黄山黑鸡体型外貌和生长发育存在明显的差异。外貌性状除受遗传、地理、气候环境等因素影响外更受当地人文习俗影响。当地人们在追求药用、营养等价值的同时,并未对五黑乌骨鸡体型进行特定要求和选择,因而使得其体型大小适中。黑色食品在徽州饮食文化中盛行,在黄山地区的冬令时节,有“斤鸡马蹄鳖”的风俗,刚开啼的黄山黑公鸡就是“斤鸡”^[8]。根据国

家标准记载以及试验过程检测,因黄山黑鸡体型偏小,因而各周龄体质量均明显低于五黑乌骨鸡。

个等位基因,不同座位上的等位基因数在56~341 bp间,平均每个座位上的等位基因数为15个,LER0234位点等位基因数最高,ADL0268位点等位基因数最低,如表6所示。

五黑乌骨鸡群体9个微卫星座位的平均多态信息含量PIC为0.794,杂合度Ho为0.817,有效等位基因数Ne为6.761;黄山黑鸡群体9个微卫星座位的平均PIC为0.727,Ho为0.753,Ne为6.096。在微卫星座位LER0234上的Ne最多,在两个群体中分别达13.318和13.902;而ABI12114座位的Ne最低,在两个群体中分别为2.517和1.433。除ABI12114座位,其他8个微卫星座位的PIC均大于0.5,为高度多态。

家标准记载以及试验过程检测,因黄山黑鸡体型偏小,因而各周龄体质量均明显低于五黑乌骨鸡。

3.2 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡蛋品质比较分析

蛋品质差异主要受品种、饲料营养、饲养环境、生产管理等诸多因素影响^[9]。鸡蛋质量可以通过一系列指标来评估,如蛋重、蛋形指数、蛋壳厚度、哈氏单位、蛋壳强度和蛋黄比例等^[10]。研究发现,蛋重与体型大小存在密切关系,五黑乌骨鸡因体型明显大于黄山黑鸡,使得其蛋重亦显著高于黄山黑鸡蛋重。哈氏单位主要受蛋重和浓蛋白高度的影响^[11]。优质鸡蛋的蛋白高度上限接近蛋黄直径的1/2,即平均大约为1.5 cm,其哈氏单位通常在75以上。蛋鸡育种中通常以鸡蛋哈氏单位大于72作为选留

的依据。地方土鸡受蛋重偏小的影响,不使用常规蛋品仪直接测量,人工测量其蛋白高度后,经计算的哈氏单位值在 80 左右。

3.3 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡繁殖性能比较分析

蛋鸡的开产日龄与产蛋量和维持时间有密切的关系,家禽开产越早,其初始生产性能越高^[12]。五黑乌骨鸡 5% 产蛋率日龄为 157 天,早于黄山黑鸡。可以推测,五黑乌骨鸡的产蛋性能优于黄山黑鸡。影响孵化率的主要因素有品种、种蛋大小、蛋壳质量、种蛋的储存条件等,2 个地方鸡种的种蛋受精率、受精蛋孵化率等数据均无统计学意义。可见,不同地区的地方鸡种孵化发育技术手段基本相同。研究发现,母鸡 1 号染色体 SLCO1B3 基因启动子区 EAV-HP 插入,使得 SLCO1B3 基因在卵壳腺中特异表达,导致母鸡产绿壳蛋^[13]。黄山黑鸡产蛋壳粉色说明其卵壳腺基因表达与普通地方鸡种无差别,而五黑乌骨鸡的 70% 绿壳蛋率,说明其品种仍需加强提纯选育。

3.4 五黑乌骨鸡与黄山黑鸡微卫星多样性分析

五黑乌骨鸡与黄山黑鸡均分布于黄山山脉,2 个种群体型外貌的明显差异是否为人为选育留种所致,需要从遗传关系角度分析。微卫星的重复数量在同一物种的不同基因型个体间存在较大差异,因而可以作为遗传多样性分析的有效手段。莫国东^[14]等利用 8 个微卫星标记分析了广西三黄鸡群体遗传多样性,发现其主要起源于东亚和云南或云南周边地区地方鸡血统等 5 个来源,并存在少量外来

商业鸡种血统。黄勋和^[15]等利用 LEI0258 微卫星位点分析了中国 8 种乌骨鸡和 4 种黑羽鸡,发现乌骨鸡与黑羽鸡保持相当的遗传变异,且鉴定的部分等位基因为乌骨鸡所特有。黄勋和^[16]等应用 MHC-B 区复合微卫星位点 LEI0258 分析华南鸡的遗传多样性与进化历史,根据中介网络图结果揭示,华南家鸡主要起源于红原鸡。本研究中 2 个鸡种的有效等位基因数均在 6 以上,与多数保种群的有效等位基因位点数相似。

多态信息含量和杂合度等计算可反应群体内遗传多样性和近交情况,可以作为群体内个体间遗传距离和群体保种效果的判断依据^[17]。本试验选取了多态性较为丰富的微卫星标记,以尽可能提供较多的遗传信息,且扩增片段的长度多分布在 100~200 bp 间,便于 PCR 扩增和电泳检测。9 个微卫星标记的多态信息含量和平均杂合度均显示 2 个种群的遗传多样性较为丰富。通过以上分析,说明 2 个黑鸡群体可提供的遗传信息量较大,一方面说明 2 个群体在相对封闭的保种环境中,保留了丰富的遗传性状;另一方面亦可能存在商业鸡种引入杂交的风险,增加群体的遗传多样性。

4 结论

五黑乌骨鸡与黄山黑鸡均起源于黄山山脉,但 2 个种群因当地习惯不同而产生明显的外貌特征和生产性能差异;2 个黑鸡群体均表现出较为丰富的遗传多样性,仍需密切关注和监测保种效果。

参考文献:

- [1] 冯延芝,李芳东,魏琦琦,等.基于 RNA-Seq 的杜仲转录组微卫星特征分析[J].中国农业大学学报,2016,21(9):68-79.
- [2] ZHAN S, JIE D, MA L Y. Genetic diversity of *Xanthoceras sorbifolium bunge* germplasm using morphological traits and microsatellite molecular markers[J]. PLoS ONE, 2017, 12(6): e0177577.
- [3] GROENEVELD L F, LENSTRA J A, EDING H, et al. Genetic diversity in farm animals—a review[J]. Animal Genet, 2010, 41(S1): 6-31.
- [4] 刘伟,詹凯,郭盼盼,等.基于微卫星标记的安徽省四个地方鸡种群遗传多样性及其遗传结构分析[J].中国家禽,2017,39(5):8-12.
- [5] 舒宝屏.黄山黑鸡发展之路[J].畜禽业,2019,30(1):34+36.
- [6] 国家市场监督管理总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 37117-2018: 黄山黑鸡[S]. 北京:中国标准出版社,2018.
- [7] 李欣钰,邱晓辉,陈昌义,等.广丰白翎鹅体质量与体尺性状指标主成分分析[J].中国畜牧兽医,2012,39(9):164-168.
- [8] 李永胜,王雄杰,李欣,等.黄山黑鸡的遗传资源调查与利用前景[J].中国家禽,2009,31(22):67-68.
- [9] 张书迪,卢运明,王维部,等.鸡蛋品质的评价及其影响因素[J].中国家禽,2019,41(5):64-67.
- [10] 吕骅,吴海洪.家禽生产[M].杭州:浙江大学出版社,2017.
- [11] 李小利.哈氏单位是检验鸡蛋品质的重要指标[J].检验检疫学刊,2013,23(2):48-49+72.
- [12] 董修建,赵超,马学会,等.不同蛋鸡品种鸡蛋品质的比较分析[J].中国家禽,2005,27(9):16-18.