•研究报告•

广东省地方鸡线粒体遗传多样性与母系起源

黄勋和^{1,2} 余哲琪¹ 翁茁先^{1,2,3} 何丹林⁴ 易振华⁴ 李威娜^{1,2}
陈洁波^{1,2} 张细权⁴ 杜炳旺⁵ 钟福生^{1,2,3*}

1 (嘉应学院生命科学学院, 广东梅州 514015)

2 (广东省五华三黄鸡科技创新中心, 广东梅州 514015)

3 (湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128)

4 (华南农业大学动物科学学院, 广州 510642)

5 (广东海洋大学农学院, 广东湛江 524088)

摘要: 系统评估地方鸡的遗传变异水平并追溯其母系起源, 可为保护利用优质家禽种质资源库提供科学依据。本研究测定了广东省和邻省共12个地方鸡品种的线粒体DNA D-loop序列, 分析品种间的遗传距离与系统关系, 并构建单倍型系统发生树和中介网络图。360份样品共检测到60个突变位点, 均为转换。定义了85种单倍型, 归属于单倍型类群A、B、C和E, 在12个鸡品种中均有分布, 其中B是优势单倍型类群(187个, 51.94%), E次之(76个, 21.11%)。B02 和C01是优势单倍型(85个, 23.61%; 48个, 13.33%), 为12个鸡品种共有; E03位居第三(35个, 9.72%), 杏花鸡、黄郎鸡和宁都三黄鸡未见此单倍型。杏花鸡集中分布在单倍型类群B, 惠阳胡须鸡和中山沙栏鸡则主要分布在单倍型类群E; 怀乡鸡的单倍型数量最多, 中山沙栏鸡的最少。广东地方鸡品种间遗传距离为0.012–0.015, 单倍型多样性 0.805 ± 0.047 至 0.949 ± 0.026 , 核苷酸多样性 0.0102 ± 0.0017 至 0.0138 ± 0.0009 。邻接树和中介网络图将85种单倍型划分为进化枝A、B、C和E, 广东省与邻省地方鸡单倍型的地理分布模式相似。中性检验显示广东地方鸡未经历明显的群体历史扩张。结果表明广东地方鸡处于较好的保护状态, 遗传多样性水平较高, 品种的形成受到邻省和北方家鸡的影响, 东南亚红原鸡对广东地方鸡也有重要的遗传贡献。

关键词: 广东地方鸡; 线粒体DNA; D-loop; 遗传多样性; 起源

Mitochondrial genetic diversity and maternal origin of Guangdong indigenous chickens

Xunhe Huang^{1,2}, Zheqi Yu¹, Zhuoxian Weng^{1,2,3}, Danlin He⁴, Zhenhua Yi⁴, Weina Li^{1,2}, Jiebo Chen^{1,2},
Xiquan Zhang⁴, Bingwang Du⁵, Fusheng Zhong^{1,2,3*}

1 School of Life Sciences, Jiaying University, Meizhou, Guangdong 514015

2 Guangdong Innovation Centre for Science and Technology of Wuhua Yellow Chicken, Meizhou, Guangdong 514015

3 College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128

4 College of Animal Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642

5 College of Agriculture, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088

Abstract: The evaluation of the genetic diversity of indigenous chickens and the tracing of their matrilineal origin need to be facilitated to protect and utilize the germplasm bank of quality poultry. Twelve indigenous chicken breeds from Guangdong Province and its adjacent regions were used for mitochondrial DNA (mtDNA) D-loop sequencing, and analyses of genetic distance and genetic relationship between breeds were conducted. We constructed a phylogenetic tree and median-joining network based on haplotypes. Sixty mutation sites were detected in 360 samples, and all of these were found to be in transition. Eighty-five haplotypes, belonging to haplogroups A, B, C, and E, were defined. B was the predominant haplogroup (187, 51.94%), followed by E (76, 21.11%). Haplogroups A, B, C, and E were distributed in all the 12 breeds. B02 and C01 were the predominant haplotypes (85, 23.61%; 48, 13.33%), which were shared by all twelve

收稿日期: 2017-10-08; 接受日期: 2017-12-27

基金项目: 广东省自然科学基金(2014A030307018)、广东省公益研究与能力建设项目(2015A020208020, 2016A030303068)和嘉应学院省市共建重点建设项目(嘉院(2017)27号)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: zfs@jyu.edu.cn

breeds; and E03 ranked third (35, 9.72%), and was absent in the Xinghua, Huanglang and Ningdu yellow chicken. Xinghua chickens occurred mainly in haplogroup B, while Huiyang bearded and Zhongshan shalan chickens were distributed mainly in E. The number of haplotypes of Huaixiang chicken was the largest, while the Zhongshan shalan chicken had the fewest. The genetic distance between Guangdong chicken breeds ranged from 0.012 to 0.015, with haplotype diversity and nucleotide diversity ranging from 0.805 ± 0.047 to 0.949 ± 0.026 , and from 0.0102 ± 0.0017 to 0.0138 ± 0.0009 , respectively. Eighty-five haplotypes were divided into clades A, B, C, and E in the phylogenetic tree and median-joining network. Similar patterns of geographical distribution of mtDNA haplotypes was found in the chicken from Guangdong Province and its adjacent regions. A neutral test indicated that Guangdong indigenous chickens have not sustained obvious population expansion. Our results suggested that Guangdong chickens have a desirable conservation status, as they carry high levels of genetic diversity, and demographic histories were influenced to some extent, by the gene flow of domestic chickens from adjacent provinces and northern China. The red junglefowls from Southeast Asia have an important genetic contribution to the indigenous chickens of Guangdong Province.

Key words: Guangdong indigenous chicken; mitochondrial DNA; D-loop; genetic diversity; origin

家鸡作为分布最广泛的畜禽品种之一, 为人类提供了稳定的蛋白质来源, 同时在医学研究、宗教、娱乐和装饰等方面也有重要用途(Lawler, 2015)。地方家禽遗传资源是经长期进化而形成的宝贵资源, 是未来家禽品种改良和适应生产条件变化、保持生产长期持续发展的遗传基础(国家畜禽遗传资源委员会, 2011)。广东省位于华南地区的中心, 与福建、广西、湖南及江西接壤, 与海南省隔海相望, 在“无鸡不成宴”的地方民俗及地理环境和历史的共同作用下, 广东省形成了丰富的地方鸡品种资源(瞿浩等, 2004; 张细权等, 2006)。广东省拥有7个优质地方鸡品种, 是我国家鸡品种数量较多的省份之一, 其中怀乡鸡、惠阳胡须鸡、清远麻鸡、杏花鸡、阳山鸡和中山沙栏鸡入选《中国畜禽遗传资源志: 家禽志》(国家畜禽遗传资源委员会, 2011), 五华三黄鸡也入选了《中国禽类遗传资源》(陈国宏等, 2004)。近年来, 一些研究涉及广东地方鸡品种的遗传多样性评估及驯化历史。然而, 由于微卫星标记(Qu et al, 2006; 黄勋和等, 2016a, b; Huang et al, 2016)和DNA条形码技术(黄勋和等, 2016c)提供群体历史的遗传信息有限, 或研究品种数量较少(Wu et al, 2014), 广东省地方鸡群体历史还需深入探究。

线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)具有母系遗传、无重组、突变速率快等特点, 能够反映近期历史进化事件, 被广泛用于家养动物遗传多样性评估分析以及追溯起源与驯化历史的研究工作(Lan et al, 2017; Zhang et al, 2017)。Liu等(2006)从全球视角分析了家鸡的母系起源, 将家鸡/原鸡mtDNA世系分为9个高度分化的单倍型类群(haplogroup)

(A–I), 其中7个(C和H除外)为野生红原鸡和家鸡所共有。一些单倍型类群表现出明显的系统地理结构, 如A和B主要分布于华南和日本, C主要发现在中国和中国东南部, F和G则局限分布于中国西南和东南亚, 表明家鸡在中国南方、东南亚和印度次大陆得到广泛的传播。针对先前研究样本量小和序列信息不足等问题, Miao等(2013)扩大了样本量并从中选取50份代表样本进行mtDNA全基因组测定, 结合11条已发表的序列, 构建mtDN系统发育树并对单倍型类群进行了系统界定。他们的研究结果极大拓展了对家鸡复杂的驯化与扩散历史的认识, 提示家鸡和红原鸡之间可能存在持续杂交, 或是家鸡的驯化时间较短; 同时首次从单倍型亚类群(sub-haplogroup)水平揭示了分别发生在南亚、中国西南及其邻近东南亚地区的局部驯化事件, 为后续家鸡起源驯化研究提供了新思路。

本文以广东省7个地方鸡品种为研究对象, 并与邻省5个地方鸡种相比较, 评估广东地方鸡品种mtDNA D-loop的遗传多样性水平, 探讨其母系来源, 为广东省地方鸡品种的科学保护和合理利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为7个广东地方鸡品种以及邻省福建、广西、海南、湖南、江西各1个品种(表1)。其中五华三黄鸡入选《中国禽类遗传资源》(陈国宏等, 2004), 其他11个地方鸡品种入选《中国畜禽遗传资源志: 家禽志》(国家畜禽遗传资源委员会, 2011)。

采集地为原产地或保种场。每个品种随机选取30个个体肱静脉取血,置于70%乙醇于-80℃保存。采用血液DNA小量提取试剂盒(广州美基生物科技有限公司)提取基因组DNA, -20℃保存备用。中国南方、北方和西南地区以及东南亚、南亚家鸡共3,363条mtDNA D-loop序列在GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>)下载。

1.2 PCR扩增与序列测定

mtDNA D-loop扩增引物: L16750, 5'-AGGAC TACGGCTTGAAAAGC-3'(Fumihito et al, 1994); H522, 5'-ATGTGCCTGACCGAGGAACCAG-3'(傅衍等, 2001)。反应体系为30 μL, 包括10 × PCR Buffer (含Mg²⁺) 3 μL, dNTP mixture (2.5 mM) 2.4 μL, 正、反向引物(20 μM)各0.3 μL, 模板DNA 1 μL, *rTaq* DNA聚合酶(宝生物工程(大连)有限公司) (5 U/ μL) 0.3 μL。PCR扩增条件: 94℃预变性4 min; 94℃变性30 s, 63℃复性1 min, 72℃延伸50 s, 执行35个循环; 最后72℃延伸7 min。PCR扩增产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测后, 由广州艾基生物技术有限公司进行双向测序。

1.3 序列分析

使用软件Bioedit (Hall et al, 1999)校对测序序列; Clustal_X 1.81 (Thompson et al, 1997)比对序列后, 以红原鸡mtDNA序列(NC_007235)作为参考序列, 使用DnaSP 6.10.01 (Rozas et al, 2017)定义单倍型, 提取变异位点信息(variable sites, V), 计算单倍型多样性(haplotype diversity, Hd)、核苷酸多样性

(nucleotide diversity, π)、核苷酸差异均数(average number of nucleotide differences, K), 并进行Tajima's 中性检验。用MEGA 6.0 (Tamura et al, 2013)分析其碱基组成, Kimura 2-parameter (K2P)模型计算遗传距离, 采用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建广东省和邻省家鸡单倍型的系统发育树。通过NETWORK 5.0.0.1 (Bandelt et al, 1999)构建广东省与邻省地方鸡线粒体单倍型的中介网络图(median-joining network)。

2 结果

2.1 遗传多样性

移除引物序列之后, 获得了520 bp mtDNA D-loop序列, 其中碱基A、T、G、C的平均含量分别为27.4%、30.1%、12.6%、29.9%, A+T和G+C的平均含量分别为57.5%、42.5%。360份样品共检测到60个突变位点, 占总分析位点的11.54%。其中简约信息位点33个, 单一突变位点27个。突变类型均为转换, 包括23个A→G转换和37个T→C转换, 未检测到插入或缺失。以NC_007235为参考序列, 在60个突变位点中定义了85种单倍型, 归属于单倍型类群A、B、C和E(表2)。其中, 单倍型类群A、B、C和E在12种鸡品种中均有分布; B是优势单倍型类群(187个, 51.94%), E次之(76个, 21.11%)。在85种单倍型中, 有共享单倍型21种; 黄郎鸡、河田鸡和清远麻鸡的特有单倍型分别为10、9和8种。B02和C01是优势单倍型(分别为85个, 23.61%; 48个, 13.33%), 为12个鸡品种共有; 单倍型E03位居第三(35个,

表1 本研究的样品信息(每个品种均取30个样本)

Table 1 Sample information of the present study (30 samples for every chicken breed)

品种 Breed	代号 Code	产地 Origin
怀乡鸡 Huaixiang chicken	HX	广东省信宜市 Xinyi, Guangdong
杏花鸡 Xinghua chicken	XH	广东省封开县 Fengkai, Guangdong
阳山鸡 Yangshan chicken	YS	广东省阳山县 Yangshan, Guangdong
清远麻鸡 Qingyuan spotted chicken	QY	广东省清远市 Qingyuan, Guangdong
惠阳胡须鸡 Huiyang bearded chicken	HY	广东省惠州市 Huizhou, Guangdong
五华三黄鸡 Wuhua yellow chicken	WH	广东省五华县 Wuhua, Guangdong
中山沙栏鸡 Zhongshan shalan chicken	SL	广东省中山市 Zhongshan, Guangdong
广西三黄鸡 Guangxi yellow chicken	GX	广西省桂平市 Guiping, Guangxi
文昌鸡 Wenchang chicken	WC	海南省文昌市 Wenchang, Hainan
河田鸡 Hetian chicken	HT	福建省长汀县 Changting, Fujian
黄郎鸡 Huanglang chicken	HL	湖南省衡南县 Hengnan, Hunan
宁都三黄鸡 Ningdu yellow chicken	ND	江西省宁都县 Ningdu, Jiangxi

Table 2 mtDNA D-loop haplotypes and their distribution in the 12 indigenous chicken breeds. Star (*) indicate the corresponding position with the reference sequence NC_007235, Dots (.) within the nucleotide position indicate the same nucleotides as given in reference sequences.

[illegible]

表2 (续) Table 2 (continued)

单倍型 Haplotype	变异位点* Variable sites	单倍型的品种分布(频率) Haplotype distribution in breeds (frequency)	合计 Total
B26	C.....G.....	GX1	1
B27	C.....G.....	GX1	1
B28	C.....C.....G.....	GX1	1
B29	GC.....C.....T.....	GX1	1
B30	C.....T.....	WC1	1
B31	C.....C.....	WC1	1
B32	C.....A.....	WC1	1
B33	C.....C.....	HL2	2
B34	C.....C.....A.....	HL1	1
B35	C.C.....C.....	HL1	1
B36	T.....C.....A.....	HL1	1
B37	C.....G.T..C	HL1	1
B38	C..G.....A.....	HL1	1
B39	T.....C.....	ND1	1
B40	C.....C.....	ND1	1
B41	C.....C.....A.....	ND2	2
B42	C.....A.....	ND3	3
B43	C.....G.....	HT1	1
B44	C.....G.....A.....	HT3	3
B45	C.....C.....	HT1	1
B46	C.....T.....C.....	HT1	1
B47	C.....G.....A.....	HT1	1
B48	C.C.....A.....	HX2, ND1	3
C01	G.....ACC.C.C.G.....T.C.....G.....TC.....	HX2, HY7, QY2, WH4, XH3, YS6, SL6, HT2, GX2, WC4, HL5, ND5	48
C02	G.....ACC.C.C.G.....T.C.....G.....TC.T.....	XH1, HL2	3
C03	G.....ACC.C.C.G.....CT.C.....TC.....	HX2	2
C04	TG.....ACC.C.C.G.....T.C.....G.....TC.....	WH1	1
C05	G.....ACC.C.C.G.....T.C.T.....G.....TC.T.....	HL1	1
C06	C..G.....ACC.C.C.G.....T.C.....TC.....	HL1	1
C07	G.....ACC.C.C.....T.C.....G.....TC.....	HT2	2
C08	G.....ACC.C..G.....T.C.....G.....TC.....	HT2	2
E01	C..GC.....CC.C.....T.C.....	HY1, QY1, WH1, XH1, YS1, SL3, WC1	9
E02	GC.....CC.C.....T.C.....G.....T.....	YS1	1
E03	GC.....CC.C.....T.C.....T.....	HX1, HY8, QY5, WH2, YS2, SL11, HT1, GX1, WC4	35
E04	GC..G.....CC.C.....T.C.T.....T.....	QY3, YS2	5
E05	.A.....GC.....CC.C.....T.C.....T.....	YS1	1
E06	GC.....CC.C.....T.C.....C.....T.....	HX1, HY1	2
E07	GC.....CC.C.....T.C.T.....T.....	HX1, HY1, WC1	3
E08	GC.....CC.C.....T.C.....A..T.....	HX1, WH2, HT2, HL2	7
E09	C..GC.....CC.C.....T.C.....A..T.....	WH3	3
E10	GC.....CC.C.....G.....T.C.....T.....T.....	QY1	1
E11	GC.....C..C.....T.C.....T.....	QY1	1
E12	GC.....CCTC.....T.C.....T.....	QY1	1
E13	GC.....G..CC.C.....T.C.....T.....	QY1	1
E14	GC.....CCTC.....T.C.....A..T.....	HY1	1
E15	GC.....CC.C.....T.C.....A..T.....	HY1	1
E16	GC.....CC.C.....T.C.....G.....A..T.....	HT2, HL1	3
E17	G..C.....CC.C.....CT.C.....A.....	ND1	1

9.72%), 杏花鸡、黄郎鸡和宁都三黄鸡未见此单倍型。

7个广东省地方鸡品种集中分布在单倍型类群A、B、C和E中, 对应的频率分别为12.38% (26/210)、42.86% (90/210)、16.19% (34/210) 和 28.57% (60/210)。不同品种的单倍型、单倍型类群组成有所差异, 怀乡鸡的单倍型数量最多, 中山沙栏鸡的最少; 杏花鸡主要集中分布在单倍型类群B, 惠阳胡须鸡和中山沙栏鸡则主要分布在单倍型类群E (表2, 表3)。

12个地方鸡品种总体单倍型多样性为 0.909 ± 0.010 , 核苷酸多样性为 0.0130 ± 0.0003 , 平均核苷酸差异为6.739, 其中黄郎鸡、河田鸡和五华三黄鸡的核苷酸多样性最高, 广西三黄鸡最低(表3)。中性检测显示, 除了广西三黄鸡以外, 其他地方鸡的Tajima's *D*值差异均不显著(表3)。12个群体间的净遗传距离为0–0.005, 其中广西三黄鸡与中山沙栏鸡和惠阳胡须鸡、宁都三黄鸡与中山沙栏鸡的净遗传距离最大; 品种间双参数遗传距离介于0.008–0.016之间(表4)。

表3 12个地方鸡品种的线粒体DNA D-loop遗传多样性统计。品种代号同表1。

Table 3 Genetic diversity of mtDNA D-loop in the 12 indigenous chicken breeds. Breed codes are the same with Table 1.

品种 Breed	突变位点数 Variable sites	单倍型数量 No. of haplotypes	单倍型类群(个体数) Haplogroups (individuals)	单倍型多样性 Haplotype diversity (SD)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (SD)	平均核苷酸差异 Average number of nucleotide differences	Tajima's <i>D</i> 检验 Tajima's <i>D</i> test
HX	26	19 (A=4, B=9, C=2, E=4)	A(5), B(17), C(4), E(4)	0.949 (0.026)	0.0123 (0.0014)	6.382	−0.0987
HY	25	12(A=3, B=2, C=1, E=6)	A(3), B(7), C(7), E(13)	0.853 (0.039)	0.0132 (0.0008)	6.837	0.2969
QY	27	15 (A=1, B=6, C=1, E=7)	A(3), B(12), C(2), E(13)	0.913 (0.032)	0.0127 (0.0008)	6.623	−0.1011
WH	21	13 (A=1, B=6, C=2, E=4)	A(4), B(13), C(5), E(8)	0.929 (0.022)	0.0138 (0.0009)	7.177	1.2395
XH	25	13 (A=3, B=7, C=2, E=1)	A(4), B(21), C(4), E(1)	0.906 (0.036)	0.0102 (0.0017)	5.285	−0.6955
YS	22	11 (A=2, B=3, C=1, E=5)	A(5), B(12), C(6), E(7)	0.867 (0.042)	0.0134 (0.0009)	6.989	0.9093
SL	18	7 (A=1, B=3, C=1, E=2)	A(2), B(8), C(6), E(14)	0.805 (0.047)	0.0120 (0.0009)	6.248	1.2923
GX	24	10 (A=1, B=7, C=1, E=1)	A(1), B (26), C(2), E(1)	0.561 (0.109)	0.0055 (0.0018)	2.839	−1.8847*
HL	30	20 (A=4, B=10, C=4, E=2)	A(5), B(13), C(9), E(3)	0.963 (0.021)	0.0155 (0.0009)	8.025	0.2160
HT	25	17 (A=3, B=8, C=3, E=3)	A(4), B(15), C(6), E(5)	0.945 (0.025)	0.0141 (0.0011)	7.317	0.5680
ND	18	12 (B=10, C=1, E=1)	B(24), C(5), E(1)	0.876 (0.041)	0.0097 (0.0019)	5.039	0.1757
WC	23	12 (A=1, B=7, C=1, E=3)	A(1), B(19), C(4), E(6)	0.793 (0.067)	0.0108 (0.0015)	5.630	−0.1070
合计 Total	60	85 (A=12, B=48, C=8, E=17)	A(37), B(187), C(60), E(76)	0.909 (0.010)	0.0130 (0.0003)	6.739	−0.9237

**P* < 0.05.

表4 12个鸡品种间的净遗传距离(上三角)和Kimura双参数距离(下三角)。品种代号同表1。

Table 4 Net distances (above diagonal) and K2P distance (below diagonal) among 12 chicken breeds. Breed codes are the same with Table 1.

品种 breed	XH	YS	HX	WH	QY	SL	HY	GX	WC	HL	ND	HT
XH		0.001	0.000	0.001	0.002	0.003	0.003	0.000	0.000	0.001	0.001	0.001
YS	0.013		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.002	0.000
HX	0.012	0.013		0.000	0.001	0.002	0.002	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
WH	0.013	0.014	0.013		0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.001	0.000
QY	0.013	0.013	0.014	0.014		0.000	0.000	0.003	0.000	0.001	0.003	0.001
SL	0.015	0.013	0.014	0.014	0.013		0.000	0.005	0.002	0.001	0.005	0.002
HY	0.015	0.014	0.015	0.014	0.013	0.012		0.005	0.002	0.001	0.004	0.002
GX	0.008	0.012	0.010	0.012	0.012	0.014	0.015		0.001	0.002	0.001	0.002
WC	0.011	0.013	0.012	0.013	0.012	0.013	0.014	0.009		0.001	0.001	0.001
HL	0.014	0.015	0.014	0.015	0.015	0.015	0.016	0.013	0.014		0.001	0.000
ND	0.011	0.014	0.012	0.013	0.014	0.016	0.016	0.008	0.011	0.014		0.001
HT	0.013	0.015	0.013	0.014	0.015	0.015	0.015	0.012	0.013	0.015	0.013	

2.2 系统进化

广东省和邻省家鸡单倍型邻接树(图1)显示, 85 种单倍型被划分为进化枝A、B、C和E; A和B进一步

聚为一枝, C和E也聚为一个更大的进化枝(图1)。中介网络图明显地将单倍型划分为A、B、C和E四个类群(图2)。不同鸡品种在不同单倍型类群的分布频率

图1 基于85种广东省和邻省家鸡线粒体DNA D-loop单倍型构建的邻接树
Fig. 1 Neighbor-joining tree of 85 mtDNA D-loop haplotypes from Guangdong and its adjacent provinces indigenous chicken breeds

图2 广东省和邻省12种地方鸡线粒体DNA D-loop单倍型的中介网络图。连接点数字表示核苷酸转换的位置; 圆的大小对应单倍型频率; 不同鸡品种用不同颜色标注。品种代号同表1。
Fig. 2 Median-joining network of mtDNA D-loop haplotypes of 12 indigenous chicken breeds from Guangdong and its adjacent provinces. The links are labeled by the nucleotide positions to designate transitions. Cycle size is roughly proportional to the haplotype frequency. The breeds are indicated by different colors. Breed codes are the same with Table 1.

不一致, 其中B是优势单倍型类群, 单倍型数量也最多。7个广东地方鸡品种在单倍型类群A、B、C和E均有分布。

2.3 进化枝地理格局

本实验共统计了3,723只家鸡mtDNA D-loop的分布情况, 进化枝A、B、C和E在所有地区都有分布, 其中B为优势单倍型类群, 约占总个体数的29.95%, A次之, 约占总数的22.70%, E位居第三, 约占总数的22.08% (表5)。单倍型类群C在中国南方、中国北方分布广泛, 而在中国西南、东南亚和南亚分布较少。家鸡的线粒体单倍型分布具有一定的地理特性, 部分地区的单倍型类群组成相似(如中国北方和广东省, 东南亚和南亚), 而中国西南、东南亚、南亚家鸡明显拥有更丰富的遗传变异水平。

3 讨论

本文应用mtDNA D-loop分子标记系统研究了7种广东省地方鸡以及5种邻省地方鸡的遗传多样性并探讨其起源。与其他地区的地方鸡相比, 如广西(Liao et al, 2016)、江西(Gao et al, 2017)和华东(贾晓旭等, 2017), 广东地方鸡的遗传多样性均处于较高水平, 这与微卫星DNA的研究结论一致(Huang et al, 2016; 黄勋和等, 2016a)。广东省较早开展了优质地方家禽品种资源现状的调查工作, 并挖掘出一批特

有性状的品种(瞿浩等, 2004), 7个地方鸡品种现均已建立了保种场, 并且制定了科学的保护策略, 地方鸡品种处于较好的保护状态。

广东省地方鸡的遗传组成与地理分布有关。B是广东地方鸡的优势单倍型类群, 约占总数的42.86% (90/210), 与中国南方其他地方鸡(394/863, 45.65%)和东南亚家鸡(289/621, 46.54%)单倍型组成相似; 同时, 广东地方鸡与邻省地方鸡的遗传距离较小, 说明广东地方鸡在品种形成的过程中受到了毗邻省份家鸡的影响。此外, 广东省有广府、客家和潮汕三大民系, 地方鸡的遗传组成与民系的分布呈一定的相关性。杏花鸡的原产地封开县是粤语的发源地, 而周边的清远清城区(清远麻鸡)、信宜县(怀乡鸡)、阳山县(阳山鸡)、中山市(中山沙栏鸡)则是广府、客家的混居地, 这些鸡品种的核基因遗传组成相似(Huang et al, 2016)。惠阳县、紫金县(惠阳胡须鸡)和五华县(五华三黄鸡)则是客家的主要分布地, 这些鸡品种的核基因遗传组成相似(Huang et al, 2016)。

人类活动对家养动物的地理格局形成具有重要的作用(Langford et al, 2013)。自古以来, 广东省原住民与外地居民交往密切, 尤以与近邻的广西、湖南、江西, 以及福建等东南沿海各地的关系更为密切。广东省是全国人口迁移与流动最多的省

表5 家鸡主要进化枝的地理分布。a单倍型数量及该地区的独享型单倍型(括号数值); b不包括广东省家鸡的数量。
Table 5 Geographical distribution of the major clades in domestic chickens. a, Number of haplotypes and unique haplotypes (in parentheses); b, Excluding those from Guangdong Province.

地区 Region	个体数 Individuals	单倍型 ^a /个体数 Haplotypes ^a /individuals									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	Z
广东省 Guangdong	210	8(4)/26	26(13)/90	5(2)/34		15(5)/60					
中国北方 northern China	273	25(12)/111	11(6)/66	11(2)/59	2/2	8/35					
中国南方 ^b southern China	863	28(17)/182	67(45)/394	22(12)/131	5 (3)/13	17(3)/137	1/1	2/4			1(1)/1
中国西南 southwest China	1,153	36(19)/366	22(12)/260	6(2)/29		9/98	22(16)/152	40(31)/237	3(3)/11		
东南亚 Southeast Asia	621	38(29)/146	53(41)/289	5(2)/19	45(41)/67	15(9)/42	12(9)/38	4(1)/11	2 (2)/2	3(3)/7	
南亚 South Asia	603	3(1)/14	4(1)/16	19(16)/31	17(10)/56	102(79)/450	3(1)/12	11(9)/21		1(1)/3	
合计 Total	3,723										

份之一,历史上发生了4次北方移民入粤的高潮(广东省地方志编纂委员会,2004)。北方移民入粤过程中所携带的家鸡与广东省本土家鸡杂交,形成了当今广东地方鸡丰富的品种资源。中性检验显示广东省地方鸡群体没有经历明显的历史扩张,这可能与群体交流幅度较小或群体交流历史较近有关。然而,由于北方家鸡的遗传起源问题存在较大争议,还需进一步探讨其对广东家鸡遗传的影响(Xiang et al, 2014; Peng et al, 2015; Peters et al, 2015; Huang et al, 2018)。

另外值得关注的是,除了中国西南地区,单倍型亚类群C1在东亚家鸡中分布普遍,而在东南亚和南亚家鸡中较少分布。现代红原鸡主要分布在中国西南、广西以及东南亚和南亚地区,但只有东南亚和南亚红原鸡存在较为古老的单倍型亚类群C*(Miao et al, 2013; Huang et al, 2018)。鉴于我国东南沿海与东南亚地区的经贸往来和人文交流历史,东南亚家鸡/红原鸡可能对广东省地方鸡的形成有较大的遗传贡献。

综上,线粒体DNA D-loop研究表明广东地方鸡的遗传多样性均处于较高水平,其群体历史受毗邻省份家鸡和北方移民入粤历史事件以及东南亚等红原鸡的影响,从而形成了当今广东省丰富的地方鸡品种资源。

参考文献

- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.
- Chen GH, Wang KH, Wang JY, Ding C, Yang N (2004) Poultry Genetic Resources in China. Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai. (in Chinese) [陈国宏, 王克华, 王金玉, 丁铲, 杨宁 (2004) 中国禽类遗传资源. 上海科学技术出版社, 上海.]
- China National Commission of Animal Genetic Resources (2011) Animal Genetic Resources in China: Poultry. China Agriculture Press, Beijing. (in Chinese) [国家畜禽遗传资源委员会 (2011) 中国畜禽遗传资源志: 家禽志. 中国农业出版社, 北京.]
- Editorial Committee of Local Historiography of Guangdong (2004) Guangdong Provincial Local-Records Compilation: Executive Summary. Guangdong People Press, Guangzhou. (in Chinese) [广东省地方志编纂委员会 (2004) 广东省志•总述. 广东人民出版社, 广州.]
- Fu Y, Niu D, Luo J, Ruan H, He GQ, Zhang YP (2001) Studies of the origin of Chinese domestic fowls. *Acta Genetica Sinica*, 28, 411–417. (in Chinese) [傅衍, 牛冬, 罗静, 阮晖, 何国庆, 张亚平 (2001) 中国家鸡的起源探讨. 遗传学报, 28, 411–417.]
- Fumihito A, Miyake T, Sumi S, Takada M, Ohno S, Kondo N (1994) One subspecies of the red jungle fowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 91, 12505–12509.
- Gao YS, Jia XX, Tang XJ, Fan YF, Lu JX, Huang SH, Tang MJ (2017) The genetic diversity of chicken breeds from Jiangxi, assessed with BCDO2 and the complete mitochondrial DNA D-loop region. *PLoS ONE*, 12, e0173192.
- Hall TA (1999) Bioedit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98.
- Huang XH, Chen JB, He DL, Zhang XQ, Zhong FS (2016c) DNA barcoding of indigenous chickens in China: A reevaluation. *Scientia Agricultura Sinica*, 49, 2622–2633. (in Chinese with English abstract) [黄勋和, 陈洁波, 何丹林, 张细权, 钟福生 (2016c) DNA条形码技术鉴定地方鸡品种的重新评估. 中国农业科学, 49, 2622–2633.]
- Huang XH, Li LZ, Zhang JF, He DL, Zhang XQ, Chen JB, Li WN, Du BW, Zhong FS (2016a) Evaluation of diversity and evolution of the microsatellite LEI0258 in chicken MHC-B region from South China. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 47, 2175–2183. (in Chinese with English abstract) [黄勋和, 李丽芝, 张金枫, 何丹林, 张细权, 陈洁波, 李威娜, 杜炳旺, 钟福生 (2016a) 华南家鸡MHC-B区域复合微卫星位点LEI0258的遗传多样性与进化研究. 畜牧兽医学报, 47, 2175–2183.]
- Huang XH, Wu YJ, Miao YW, Peng MS, Chen X, He DL, Suwannapoom C, Du BW, Li XY, Weng ZX, Jin SH, Song JJ, Wang MS, Chen JB, Li WN, Otecko NO, Geng ZY, Qu XY, Wu YP, Yang XR, Jin JQ, Han JL, Zhong FS, Zhang XQ, Zhang YP (2018) Was chicken domesticated in northern China? New evidence from mitochondrial genomes. *Science Bulletin*, DOI: 10.1016/j.scib.2017.12.004.
- Huang XH, Zhang JF, He DL, Zhang XQ, Zhong FS, Li WN, Zheng QM, Chen JB, Du BW (2016) Genetic diversity and population structure of indigenous chicken breeds in South China. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 3, 97–101.
- Huang XH, Zhang JF, Tan KF, Li LZ, Li WN, Zhong FS (2016b) Diversity and evolution of the highly tandem repeat LEI0258 with in MHC-B region in Wuhua three-yellow chicken. *Guangdong Agricultural Sciences*, 43, 163–168. (in Chinese with English abstract) [黄勋和, 张金枫, 谭坤凤, 李丽芝, 李威娜, 钟福生 (2016b) 五华三黄鸡MHC-B区域复合微卫星位点LEI0258遗传多样性与进化研究. 广东农业科学, 43, 163–168.]
- Jia XX, Tang XJ, Fan YF, Lu JX, Huang SH, Ge QL, Gao YS, Han W (2017) Genetic diversity of local chicken breeds in East China based on mitochondrial DNA D-loop region.

- Biodiversity Science, 25, 540–548. (in Chinese with English abstract) [贾晓旭, 唐修君, 樊艳凤, 陆俊贤, 黄胜海, 葛庆联, 高玉时, 韩威 (2017) 华东地区地方鸡品种mtDNA控制区遗传多样性. 生物多样性, 25, 540–548.]
- Lan D, Hu YD, Zhu Q, Liu Y (2017) Mitochondrial DNA study in domestic chicken. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 28, 25–29.
- Langford SM, Kraitsek S, Baskerville B, Ho SYW, Gongora J (2013) Australian and Pacific contributions to the genetic diversity of Norfolk Island feral chickens. *BMC Genetics*, 14, 91.
- Lawler A (2015) *Why Did the Chicken Cross the World?* G Duckworth, New York.
- Liao YY, Mo GD, Sun JL, Wei FY, Liao DJ (2016) Genetic diversity of Guangxi chicken breeds assessed with microsatellites and the mitochondrial DNA D-loop region. *Molecular Biology Reports*, 43, 415–425.
- Liu YP, Wu GS, Yao YG, Miao YW, Luikart G, Baig M, Beja-Pereira A, Ding ZL, Palanichamy MG, Zhang YP (2006) Multiple maternal origins of chickens: Out of the Asian jungles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38, 12–19.
- Miao YW, Peng MS, Wu GS, Ouyang YN, Yang ZY, Yu N, Liang JP, Pianchou G, Beja-Pereira A, Mitra B, Palanichamy MG, Baig M, Chaudhuri TK, Shen YY, Kong QP, Murphy RW, Yao YG, Zhang YP (2013) Chicken domestication: An updated perspective based on mitochondrial genomes. *Heredity*, 110, 277–282.
- Peng MS, Shi NN, Yao YG, Zhang YP (2015) Caveats about interpretation of ancient chicken mtDNAs from northern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 112, E1970–E1971.
- Peters J, Lebrasseur O, Best J, Miller H, Fothergill T, Dobney K, Thomas RM, Maltby M, Sykes N, Hanotte O, O'Connor T, Collins MJ, Larson G (2015) Questioning new answers regarding Holocene chicken domestication in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 112, E2416.
- Qu H, Shu DM, Yang CF (2004) The actuality and development proposal in Guangdong quality chicken germplasm resources. *Guangdong Agricultural Sciences*, 31(6), 4–7. (in Chinese) [瞿浩, 舒鼎铭, 杨纯芬 (2004) 广东优质鸡种质资源的现状及发展建议. 广东农业科学, 31(6), 4–7.]
- Qu LJ, Li XY, Xu GF, Chen KW, Yang HJ, Zhang LC, Wu GQ, Hou ZC, Xu GY, Yang N (2006) Evaluation of genetic diversity in Chinese indigenous chicken breeds using microsatellite markers. *Science in China Series C: Life Science*, 49, 332–341.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. *Molecular Biology Evolution*, 34, 3299–3302.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725–2729.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The Clustal_X Windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876–4882.
- Wu YP, Huo JH, Xie JF, Liu LX, Wei QP, Xie MG, Kang ZF, Ji HY, Ma YH (2014) Phylogeography and origin of Chinese domestic chicken. *Mitochondrial DNA*, 25, 126–130.
- Xiang H, Gao JQ, Yu BQ, Zhou H, Cai DW, Zhang YW, Chen XY, Wang X, Michael H, Zhao XB (2014) Early Holocene chicken domestication in northern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 111, 11564–11569.
- Zhang L, Zhang P, Li QQ, Gaur U, Liu YP, Zhu Q, Zhao XL, Wang Y, Yin HD, Hu YD, Liu AP, Li DY (2017) Genetic evidence from mitochondrial DNA corroborates the origin of Tibetan chickens. *PLoS ONE*, 12, e0172945.
- Zhang XQ, Liang SD, Zhang DX (2006) Review on new breed selection of quality chicken in Guangdong Province. *China Poultry*, 28(1), 9–11. (in Chinese) [张细权, 梁少东, 张德祥 (2006) 广东优质鸡新品种选育回顾. 中国家禽, 28(1), 9–11.]

(责任编辑: 曲鲁江 责任编辑: 时意专)