

中国重点保护地方鸭品种资源的多样性分析

汤青萍¹, 李慧芳¹, 屠云洁¹, 陈宽维¹, 杨宁², 马月辉³, 赵东伟¹

(1 中国农业科学院 家禽研究所, 江苏 扬州 225003;

2 中国农业大学 动物科学与技术学院, 北京 100094;

3 中国农业科学院 畜牧研究所, 北京 100094)

[摘要] 通过资源调查摸清了我国8个重点保护地方鸭品种(建昌鸭、攸县麻鸭、北京鸭、绍兴鸭、高邮鸭、连城白鸭、金定鸭、莆田黑鸭)的保种现状,并选用28个多态性较好的微卫星标记,对其进行了遗传多样性分析。结果显示,建昌鸭已经濒临灭绝,其他7个鸭品种均处于正常保种状态;28个微卫星位点的平均PIC为0.472,除A PL 23、A PL 79为中度多态外,其余26个微卫星均为高度多态;8个地方鸭品种中,有些品种有特异性片段和特异性缺失片段;群体平均杂合度建昌鸭最高(0.588),金定鸭最低(0.514)。8个地方鸭种被聚类为3个类群, I类:攸县麻鸭、北京鸭和建昌鸭; II类:绍兴鸭和高邮鸭; III类:莆田黑鸭、金定鸭和连城白鸭。

[关键词] 鸭; 微卫星; 遗传多样性; 品种保护

[中图分类号] S834.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)02-0047-06

Analysis of genetic diversity of the domestic concern duck breeds in China

TANG Qing-ping¹, LI Hui-fang¹, TU Yun-jie¹, CHEN Kuan-wei¹,
YANG Ning², MA Yue-hui³, ZHAO Dong-wei¹

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

2 College of Animal Science and Technology, Chinese Agricultural University, Beijing 100094, China;

3 Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agriculture Science, Beijing 100094, China)

Abstract: The conservation of eight duck breeds of domestic concern in China were investigated and 28 high polymorphic microsatellite markers were genotyped to evaluate the genetic variation between populations. The results indicated that Jianchang was to die out, other seven duck breeds were at normal conserved situation. The averaged polymorphism information content (PIC) of all loci was 0.472, and all loci showed high polymorphism, except A PL 23 and A PL 79, which were of medium polymorphism. Population-specific alleles and absence private alleles were also scored in the duck populations. The highest (0.588) and lowest (0.514) mean heterozygosities were observed in the Jianchang and Jinding respectively. By using Neighbor-Joining method, a phylogenetic tree was reconstructed. Youxian Sheldrake, Beijing Duck and Jianchang formed a branch; The second branch comprised Shaoxing and Gaoyou; The third group included Black Putian, Jinding and White Liancheng. The information about the conservation and genetic variation may be useful as an initial guide for future conservation strategies.

Key words: duck breed; microsatellite; genetic diversity; breed conservation

[收稿日期] 2006-01-09

[基金项目] 国家“863”计划项目(2001AA 243081); 国家自然科学基金项目(2004DKA 30450-04)

[作者简介] 汤青萍(1976-),女,青海格尔木人,助理研究员,主要从事家禽遗传资源及育种研究。E-mail: tqp0979@163.com

[通讯作者] 陈宽维(1955-),男,江苏姜堰人,研究员,主要从事家禽遗传育种与家禽资源保护研究。E-mail: ckw@yzcn.net

我国的养禽业具有悠久的历史,由于我国特有的地理条件(多泥滩、海涂、湖泊),家鸭(*Anas platynchos domestica*)在我国禽业中历来都是仅次于鸡的第二大养殖禽种。尽管20世纪80年代以来,我国水禽业特别是养鸭业有了较大规模的发展,但由于大部分地方水禽品种生产性能较低,受外来品种的冲击,某些地方品种逐渐被培育品种或杂交品种所取代。另外,保种经费长期投入不足及品种资源的综合利用不够等情况,给我国固有的地方水禽资源保存与利用带来了一些危机。2000-08-23农业部公布的列入国家级品种资源保护的鸭品种有:北京鸭、攸县麻鸭、连城白鸭、建昌鸭、金定鸭、绍兴鸭、莆田黑鸭和高邮鸭^[1]。对这些品种资源进行调查、分析和保护十分必要。

微卫星是20世纪80年代末期发展起来的一种遗传标记,一般由2~6bp的短核苷酸组成,核心序列重复10~20次左右。微卫星广泛分布于基因组中,且随机分布,在基因组中大约每隔10~50kb就有1个微卫星。相对于其他遗传标记,微卫星因多态信息含量高,数量多,分布均匀,呈共显性遗传以及分析方便、快捷,而被国内外学者广泛应用于分析品种遗传多样性、绘制系统发生树等的研究^[2-4]。本研究借助微卫星DNA标记,从分子水平对我国重点保

护地方鸭品种资源的遗传多样性进行了研究,以期为国家制定科学有效的保护政策和措施提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 鸭血样 各个品种均来自公认的有品种代表性的地区,采样设计按照常洪^[5]关于评估遗传多样性抽样公式和样本含量的方法,每品种采集60只鸭(公母之比为1:4)的血样,翅静脉采血。北京鸭血样采自北京种鸭场;攸县麻鸭血样采自湖南攸县;连城白鸭血样采自福建省连城县文亨乡茗尘亭;建昌鸭血样采自四川省德昌县德州镇;金定鸭和莆田黑鸭血样采自福建省石狮市江镇莲埭;绍兴鸭血样采自绍兴市皋埠镇滨河路;高邮鸭血样采自高邮种鸭场。

1.1.2 试剂 *Taq* DNA聚合酶和dNTPs均购自北京鼎国生物公司;DNA分子量标准为pBR322DNA/MspI Markers。引物由上海生物工程技术有限公司(Sangon)合成。

1.1.3 微卫星引物 根据GenBank和文献[6-8]报道的35对微卫星引物,筛选其中的28对(表1)作为试验位点。

表1 28对微卫星位点引物的概况

Table 1 Information of primers, repeat, No. GenBank and annealing temperature

| 座位 Loci | 引物序列 Primer | 重复序列 Repeat | 序列号 No. GenBank | 退火温度/ Annealing temperature |
|------------|--|---|--------------------|-----------------------------------|
| APL 2 | F: 5'-GATTCAACCTTAGCTATCATGTCTCC-3' R: 5'-CGCTCTTGCCAAATGTCC-3' | (CA) ₁₅ GA(CA) ₃₂ | A Y498540 | 60 |
| APL 11 | F: 5'-AACTACAGGGCACCCTTATTTCC-3' R: 5'-TTGCA TCA GGGTCTGTA TTTTC-3' | (GA) ₂₅ | A Y498541 | 60 |
| APL 12 | F: 5'-AGTTGACCCCTAATGTCA GCA TC-3' R: 5'-AAGA GACACTGA GAA GTGCTA TTG-3' | (GA) ₂₇ | A Y498542 | 60 |
| APL 23 | F: 5'-GAA GAGGCA GTGGCAACG-3' R: 5'-GCTGA GATGCTCCCA GGAC-3' | (TG) ₁₃ (TC) ₃ | A Y498544 | 60 |
| APL 26 | F: 5'-AA CAGGGA TAA CATA GA GAA GTGG-3' R: 5'-TGA GCA GCTGTCTGGTA TCTA TTC-3' | (CA) ₁₁ (GA) ₉ | A Y498545 | 55 |
| APL 36 | F: 5'-ATGCTTTGCTGTTGGA GAGC-3' R: 5'-TCCACTGGGTGCAAA CAA G-3' | (CA) ₁₃ | A Y498546 | 60 |
| APL 83 | F: 5'-GAA TAAA GTA ACGGGCTTCT CT-3' R: 5'-CTGCTTGGTT TTGGAAA GT-3' | (CA) ₇ A(CA) ₆ | A J272583 | 55 |
| APL 82 | F: 5'-GGACCTCAGG AAAA TCA GTG TA-3' R: 5'-GCA GGCA GAG CAGGAAA TA-3' | (CA) ₉ | A J272582 | 55 |
| APL 81 | F: 5'-ATTA GAGCA G GAGTTA GGA GAC-3' R: 5'-GCAA GAA GTG GCTTTTTTC-3' | (AC) ₁₂ | A J272581 | 55 |
| APL 80 | F: 5'-GGA TGTTGCC CCACA TATTT-3' R: 5'-TTGCCTTGT TATGA GCCA TTA-3' | (AT) ₄ (GT) ₁₁ | A J272580 | 58 |
| APL 79 | F: 5'-ACATCTTTGG CATTTTGAA-3' R: 5'-CATCCACTAG AACACA GACA TT-3' | (TTCC) ₁₈ | A J272579 | 55 |

续表1 Continued of Table 1

| 座位 Loci | 引物序列 Primer | 重复序列 Repeat | 序列号 No. GenBank | 退火温度/ Annealing temperature |
|------------|---|---|--------------------|-----------------------------------|
| APL 78 | F: 5'-AACCAAGACA GAA TAA TCCT TA -3 R: 5'-GAACACAACCT GCTTTGCTA -3 | (GT) ₉ (AT) ₅ | AJ272578 | 55 |
| APL 77 | F: 5'-TCACTTGCTC TTCACCTTCT TT-3 R: 5'-GTA TGACA GC A GACACGGTA A -3 | (GT) ₁₀ | AJ272577 | 55 |
| CMO 12 | F: 5'-GGA TGTTGCC CCACA TATTT-3 R: 5'-TTGCCTTGTT TA TGA GCCA T T-3 | (AT) ₁₅ | AJ271212 | 58 |
| CMO 11 | F: 5'-CTCCA TGA ACACA GACA T T-3 R: 5'-CATCTTTGGC A TTTTGAA G-3 | (GGAA) ₁₃ (GGGA) ₁₅ | AJ271211 | 45 |
| APH01 | F: 5'-TACCTTGCTCTTCACTTTCTTT-3 R: 5'-GTA TGACA GCA GACA CGGTAA -3 | (CA) ₁₀ | AJ272577 | 47 |
| APH07 | F: 5'-ACA TCTTTGGCA TTTTGAA -3 R: 5'-CATCCA TGA AACA CA GACA TT-3 | (GGAA) ₁₈ | AJ272579 | 47 |
| APH09 | F: 5'-GGA TGTTGCCCA CA TTT-3 R: 5'-TTGCCTTGTTA TGA GCCA TTA -3 | (CA) ₁₁ | AJ272580 | 55 |
| APH10 | F: 5'-ATTA GA GCA GGA GTTA GGA GAC-3 R: 5'-GCAA GAA GTGGCTTTTTC-3 | (CA) ₁₂ | AJ272581 | 55 |
| APH11 | F: 5'-GGA CCTCA GGAAA TCA GTGTA -3 R: 5'-GCA GGCA GA GCA GGAA TA -3 | (CA) ₉ | AJ272582 | 55 |
| APH14 | F: 5'-GAA TAAA GTAA CCGGCTTCTCT-3 R: 5'-CTGCTTGGTTTTGGAAA GT-3 | (CA) ₇ A (CA) ₆ | AJ272583 | 47 |
| SMO 6 | F: 5'-GGGGTGGGAAA GAA GCA GTTGA G-3 R: 5'-TCCTGGGACTTTGAAA GTGGCTC-3 | (TG) ₁₈ T ₄ (TG) ₂ | AJ427846 | 58 |
| SMO 7 | F: 5'-TTTTCA CCA GTTCACTTCA GCC-3 R: 5'-GATTCAAA TTTGCCGCA GGA TTA -3 | (GT) ₁₂ | AJ427847 | 55 |
| SMO 9 | F: 5'-TTTGGG GTTTGGA GTTCGTGGGG-3 R: 5'-ATTTCCCTGCAAAA CTTACGGCA -3 | (TG) ₁₁ (TTG) ₁₂ | AJ427849 | 58 |
| SMO 10 | F: 5'-TCCTA GCGACA GCAA TTCTAA TG-3 R: 5'-CAT TGTTCA TTGTTCTTCTTCA -3 | (TG) ₃₁ | AJ427850 | 55 |
| SMO 11 | F: 5'-AAA TCAACCAA GA GGCA TA GCC-3 R: 5'-GCA GTTGT TTTGGA GGACA GACA -3 | (TG) ₁₂ GA (G) ₁₃ (AG) ₅ | AJ427851 | 68 |
| SMO 12 | F: 5'-CCTGGTGGGA TAGGTTAAAA TG-3 R: 5'-TGTTCA TCAAAA GCA GA GGGG-3 | (TG) ₉ T ₁₁ | AJ427852 | 47 |
| SMO 13 | F: 5'-ACCA TCTTCCTTTCCTCCCA ACC-3 R: 5'-GGGCTTGA GGCA TACACTCCCTA -3 | (TG) ₁₃ | AJ427853 | 58 |

1.2 地方鸭品种资源保存现状调查

采集血样的同时对各品种根据《家禽品种资源调查技术规范》^[9]进行资源调查,重点对品种特征、生产性能、保种数量、开发利用的变化情况以及目前的保种方法、取得的成果等信息逐一进行原产地现场调查。

1.3 地方鸭品种资源的微卫星分析

1.3.1 地方鸭血液基因组DNA的提取 参照文献[10],采用常规的酚/氯仿方法提取鸭DNA,测其浓度。

1.3.2 地方鸭基因组DNA的PCR扩增 PCR扩增体系25 μL,其中模板DNA 50 ng,10×Buffer 2.5 μL,dNTPs 0.2 mmol/L,上下游引物各5 pmol/L,Mg²⁺ 2.0 mmol/L,Taq DNA聚合酶1 U。反应条

件:95 预变性3 min;94 变性45 s,45~68 (具体温度依引物而定)复性45 s,72 延伸1 min,30~35个循环;最后72 延伸5 min。扩增产物变性后立即进行8 g/L变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电泳结束后用硝酸银染色,成像后分析结果。

1.3.3 试验数据处理 由于微卫星标记基因呈共显性,因此可以直接从表型获知其基因型,再根据等位基因出现的次数计算其基因频率。并参考文献[11]中的公式计算各鸭品种的多态信息含量(Polymorphism Information Content, PIC)、群体遗传杂合度(Heterozygosity, H)和各品种间的Nei氏标准遗传距离(D_s)。运用DISPAN软件对遗传距离D_s采用非加权组平均法(UPGMA)进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 地方鸭品种资源的保存现状及特征

由表2可知,2002年我国地方鸭品种资源的保

种形势比较严峻,建昌鸭已经濒临灭绝,其他7个鸭品种均处于正常状态(家禽品种的濒危等级划分参考文献[12])。

表2 中国地方鸭品种资源保存现状及其特征(2002年调查结果)

Table 2 Conservation status and characteristics of Chinese indigenous duck breeds (2002 result)

| 品种 Breed | 类型 Type | 现存 数量/万只 Amount | 保种方式 Conservation Type | 羽色 Feature color | 蛋色 Egg color | 体质量/g Body weight | | 年产 蛋量/枚 No. egg produc- tion per year |
|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------|-------------|--|
| | | | | | | 公 Male | 母 Female | |
| 绍兴鸭 Shaoxing duck | 蛋用 Egg | 2 000 | 保种场/区 Conservation fam/zone | 麻 Spotty | 青/白 Green/ white | 1 450 | 1 500 | 250~ 300 |
| 金定鸭 Jinding duck | 蛋用 Egg | 350 | 保种场/区 Conservation fam/zone | 麻 Spotty | 青 Green | 1 760 | 1 730 | 260~ 300 |
| 攸县麻鸭 Youxian sheldrake duck | 蛋用 Egg | 50 | 保种场/区 Conservation fam/zone | 麻 Spotty | 青/白 Green/w hite | 1 170 | 1 260 | 230~ 290 |
| 连城白鸭 W hite L iancheng duck | 蛋药兼用 Egg and medicine | 200 | 保种场/区 Conservation fam/zone | 麻 Spotty | 白 W hite | 1 440 | 1 320 | 250~ 270 |
| 莆田黑鸭 B lack P utian duck | 蛋用 Egg | 100 | 保种场/区 Conservation fam/zone | 黑 B lack | 白 W hite | 1 340 | 1 630 | 270~ 290 |
| 高邮鸭 G aoyou duck | 蛋肉兼用 Egg and meat | 10 | 保种场/区 Conservation fam/zone | 麻 Spotty | 青/白 Green/ w hite | 2 800 | 2 500 | 206 |
| 建昌鸭 J ianchang duck | 肉用 M eat | 0.2 | 保种场 Conservation fam | 麻 Spotty | 青/白 Green/ w hite | 2 410 | 2 035 | 140~ 150 |
| 北京鸭 B eijing duck | 肉用 M eat | 20 | 保种场 Conservation fam | 白 W hite | 白 W hite | 4 000 | 3 500 | 200~ 240 |

2.2 地方鸭品种的微卫星分析

高邮鸭部分位点电泳结果见图1。

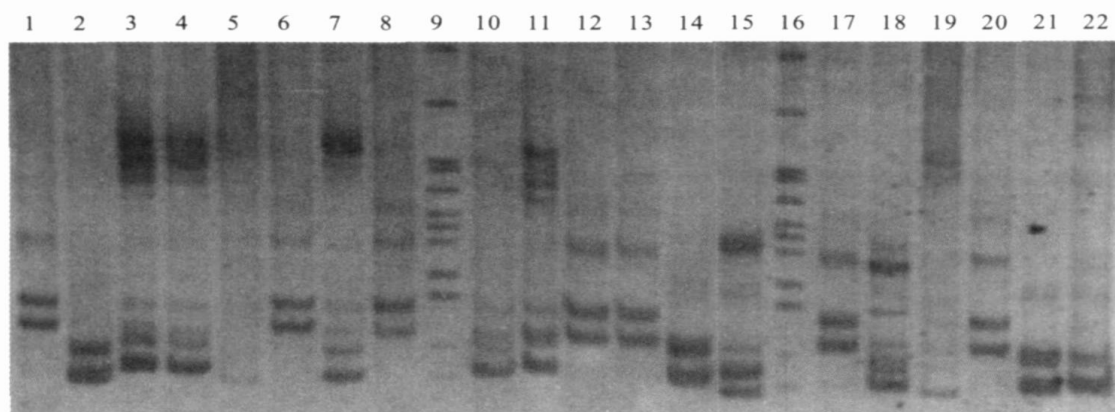


图1 高邮鸭AFL80位点扩增产物电泳结果

1~ 8, 10~ 15, 17~ 22 高邮鸭个体; 9, 16 pBR322DNA/M sp I

Fig 1 PCR productions of AFL80 on PAGE gel

1- 8, 10- 15, 17- 22 Gaoyou duck samples; 9, 16 pBR322DNA/M sp I

从图1可见, 高邮鸭在A FL 80 位点表现出较高的多态性, 共检测到6 个等位基因; 5, 19 泳道扩增产物太少, 银染条带太淡看不清楚, 需要重新试验; 第10 泳道为一个基因纯合个体, 片段长度为115 bp, 1, 6, 8, 12, 13, 17 和20 泳道个体均属于同一种基因型, 其序列长度为141 和129 bp, 是这个群体的主基因。

2.2.1 地方鸭在28 个微卫星位点上的遗传变异
28 个微卫星位点在8 个群体上, A PL 2 检测到11 个等位基因, A PH 09 检测到10 个等位基因, SMO 10 检测到的等位基因最少, 仅2 个。Botstein 等^[13]首先提出了衡量基因变异程度高低的多态信息含量指标: 当 $PI > 0.5$ 时, 该座位为高度多态; $0.25 < PI < 0.5$ 时, 为中度多态; $PI < 0.25$ 时为低度多态信息。本研究8 个鸭品种在28 个微卫星位点上的平均 PI 为0.472, 除A PL 23, A PL 79 为中度多态外, 其余26 个微卫星均为高度多态。在检测的8 个鸭种中, 有些品种具有特异性片段, 如绍兴鸭在A PL 82 上的186 bp, 莆田黑鸭在CMO 11 上的193 bp; 有些品种具有特异性缺失片段, 如高邮鸭在A PL 12 上的143 bp, 金定鸭在A PL 78 上的246 bp。这些特异性片段和特异性缺失片段, 有可能会成为品种鉴定或重要经济性状分子辅助选择的标记。

2.2.2 地方鸭品种的遗传变异 由表3 可以看出, 8 个地方鸭品种中, 平均杂合度最高的为建昌鸭(0.588), 其次为绍兴鸭(0.580), 最低的为金定鸭(0.514)。

表3 8 个地方鸭品种在28 个微卫星位点上的平均遗传变异参数

Table 3 Heterozygosity and polymorphism information contents of 8 duck breeds

| 品种 Breed | 杂合度 H | 多态信息含量 PIC |
|---------------------------|----------|---------------|
| 绍兴鸭 Shaoxing duck | 0.580 | 0.497 |
| 金定鸭 Jinding duck | 0.514 | 0.435 |
| 攸县麻鸭 Youxian sheldrake | 0.551 | 0.481 |
| 连城白鸭 Liancheng white duck | 0.526 | 0.442 |
| 莆田黑鸭 Putian black duck | 0.535 | 0.457 |
| 高邮鸭 Gaoyou duck | 0.563 | 0.484 |
| 建昌鸭 Jianchang duck | 0.588 | 0.513 |
| 北京鸭 Beijing duck | 0.549 | 0.470 |

2.3 地方鸭品种间的聚类分析

由图2 可知, 8 个地方鸭品种被聚类为3 个类群。I 类: 攸县麻鸭、北京鸭和建昌鸭; II 类: 绍兴鸭

和高邮鸭; III 类: 莆田黑鸭、金定鸭和连城白鸭。



图2 8 个地方鸭品种的UPGMA 聚类图

Fig 2 Dendrogram of relationships among 8 indigenous duck breeds using UPGMA method

3 讨论

3.1 中国地方鸭品种资源保存现状

我国上世纪70 年代开展的畜禽遗传资源调查工作, 对摸清我国畜禽遗传资源状况起了很大作用。但30 年来, 我国畜禽品种资源状况发生了很大变化, 进一步开展我国畜禽品种资源现状的调查工作, 建立畜禽品种资源动态监测体系, 对有效地开展畜禽品种资源保护和开发很有必要。本研究结果显示, 我国8 个重点保护鸭品种中建昌鸭已经濒临灭绝, 其他7 个鸭品种均处于正常状态。笔者建议对于正常保种的鸭种, 需定期开展调查、监督, 了解群体的现状与发展趋势; 对于濒危的鸭品种, 需强制性建立保种群, 加强保种技术与管理措施的落实, 可采集组织和血样, 贮存DNA 信息, 分析评价遗传结构的动态变化, 强制性开展冷冻胚胎、精液、卵母细胞、体细胞保存^[12]。

3.2 中国地方鸭品种的遗传多样性

遗传杂合度(H) 又称基因多样性, 反映了各群体在多个位点上的遗传变异, 一般认为其为度量群体遗传变异的一个最适参数。本研究结果表明, 建昌鸭平均杂合度最高(0.588), 金定鸭最低(0.514)。金定鸭饲养于福建金定鸭保种场, 作者建议该保种场进一步优化保种方案, 定期监测保种效果, 避免群体因遗传基础变窄而使潜在的基因流失。建昌鸭现存数量比较少, 品种一致性较差, 遗传多样性相对较高, 需要尽快采取有效的保护措施, 在保持该品种特征的基础上, 扩大群体规模, 进行必要的选育以提高品种一致性。

3.3 中国地方鸭群体系统发生关系

8 个地方鸭种被聚类为3 个类群。第I 类中北京鸭与建昌均属于肉用型品种; 第II 类中绍兴鸭、高邮鸭均是分布在江浙地区优秀的蛋用及兼用型鸭种;

第Ⅲ类中莆田黑鸭、金定鸭、连城白鸭是福建的3个蛋用品种。本试验的聚类结果与各品种的生态地域分布和经济类型有一定的关系,尤其与生态地域的关系较为密切,对了解和获取各品种内和品种间的遗传信息及遗传关系,提供了更准确、更普遍性的依据,为水禽遗传育种提供了准确、可靠的参考资料。

3.4 对中国地方鸭品种保存的建议

在畜禽品种资源保存过程中,定期对保种群体进行资源调查及分子遗传评估十分必要。这一方面,能够在保种过程中对保种效果进行监测,以便及时采取措施;另一方面,能从分子遗传学角度评估各项遗传指标,具有更高的可靠性和重复性,从而可为建立切实的保种目标提供参考。

对于国家重点保护的鸭品种,作者建议应定期地开展调查、监督,了解群体的现状与发展趋势,在保护群体遗传多样性的同时,加大扩繁群的选择力度,提高地方鸭种的生产性能,加速产业化开发进程,促进资源优势向经济优势转化。

[参考文献]

- [1] 齐景发,贾幼陵,何新天,等.中国畜禽遗传资源状况[M].北京:中国农业出版社,2004:16
- [2] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers[J]. Nucleic Acids Res, 1989, 7(16): 6463-6467.
- [3] Hamada H, Petrino M G, Kakunaga T. A novel repeated

element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes[J]. Proc Natl Sci USA, 1982, 79(21): 6465-6469.

- [4] Takezaki N, Nei M. Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [J]. Genetics, 1996, 144: 389-399.
- [5] 常洪.家畜遗传资源学纲要[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [6] Maak S, Neumann K, Von L G, et al First seven microsatellites developed for the Peking duck (*Anas platyrhynchos*) [J]. Anim Genet, 2000, 31(3): 233.
- [7] Paulus B K, Tiedemann R. Ten polymorphic autosomal microsatellite loci for the Eider duck *Somateria mollissima* and their cross-species applicability among waterfowl species (Anatidae) [J]. Molecular Ecology, 2003, 3: 250-252.
- [8] Denk G A, Gautschi B, Carter K, et al Seven polymorphic microsatellite loci for paternity assessment in the mallard (*Anas platyrhynchos*) [J]. Molecular Ecology, 2004, 4: 506-508.
- [9] 陈伟生.畜禽品种资源调查技术规范[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [10] 萨姆布鲁克,弗里奇,曼尼阿蒂斯.分子克隆实验指南[M].2版.金冬雁,黎孟枫,等译.北京:科学出版社,2002.
- [11] 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.
- [12] 刘文丑,王志刚.家畜品种的濒危等级划分与保种的措施[C]//国家畜禽遗传资源管理委员会.国家畜禽遗传资源保护与利用学术研讨会论文集.北京:[s.n.],2005.
- [13] Bostein 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, 1983, 32: 314-331.

(上接第46页)

- [7] Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, et al Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86: 6196-6200.
- [8] Zardoya R, Meyer A. Phylogenetic performance mitochondrial protein coding genes in resolving relationship among vertebrates[J]. Mol Biol Evol, 1996, 13: 933-942.
- [9] Iw in D M, Kocher T D, Wilson A C. Evolution of the cytochrome b gene of mammals[J]. J Mol Evol, 1991, 32: 128-144.
- [10] Chen H, Leibenguth F. Studies on multilocus fingerprints, RAPD markers and mitochondrial DNA of a gynogenetic fish

(*Carassius auratus* Gibelio) [J]. Biochem Genet, 1995, 33: 297-306.

- [11] Troy C S, MacHugh D E, Bailey J F, et al Genetic evidence for near-eastern origins of European cattle[J]. Nature, 2001, 410(6832): 1088-1091.
- [12] 陈幼春.中国黄牛生态种特征及其利用方向[M].北京:农业出版社,1990.
- [13] 史荣仙,付茂忠,赖松家,等.长江流域水牛血液蛋白多态性研究[J].遗传,1995,17(1):7-11.
- [14] 邱怀.中国牛品种志[M].上海:上海科学技术出版社,1986.