

DNA 指纹图带与鸡的蛋重性状的遗传相关分析^①

黄海根 孟安明 齐顺章

(中国农业大学生物学院, 北京 100094)

宫桂芬 李俊英 王宏伟 仇宝琴

(北京市种禽公司, 北京 102209)

摘要 用蛋重大的和蛋重小的北京白鸡做亲本交配获得 F_1 代个体, 再用 F_1 代个体交配获得 125 只 F_2 代个体。以人源小卫星 DNA 33.6 做探针对上述 125 只鸡进行 DNA 指纹分析, 发现其中有两条指纹图带与蛋重性状有关, 经简单线性相关分析表明, 这两条图带(D6.2 和 D6.3)的出现频率与蛋重的相关系数分别为-0.80 和-0.81。

关键词 DNA 指纹图, 蛋重性状, 遗传相关

中图分类号 Q953

Genetic Correlation Analysis Between DNA Fingerprint Bands and Egg Weight Trait of Chickens

HUANG Haigen MENG Anming QI Shunzhang

(College of Biology, China Agricultural University, Beijing 100094)

GONG Guifen LI Junying WANG Hongwei QIOU Baoqin

(Beijing Poultry Breeding Co., Beijing 102209)

Abstract Beijing White Chickens laying larger eggs and those laying smaller eggs were used as parental individuals for mating to produce the F_1 progeny and then the F_1 progeny individuals were mated to produce 125 individuals of the F_2 progeny. Two bands associated with the egg weight trait were identified by DNA fingerprints of the 125 individuals generated with human minisatellite probe 33.6. The simple linear correlation analysis showed that the coefficients of correlation between frequencies of the two bands (D6.2 and D6.3) and egg weights are -0.80 and -0.81.

Key words DNA fingerprints, Egg weight trait, Genetic correlation

在畜禽育种实践中, 早期选育能大大缩短育种周期, 提高经济效益。但是, 绝大多数数量性状是不能直接用于早期选育的。遗传标记辅助选择便是为了达到早期选育的一种重要手段, 它可在个体生长发育的早期进行检测, 如蛋白质多态性、血型、RFLPs 及 DNA 指纹图等。DNA 指纹图技术自 1985 年问世以来⁽¹⁾, 由于它的变异性高、信息量大, 一个指纹探针通常可检测到基因组中 10~30 多个标记位点的遗传变异, 因此很快用于畜禽育种的遗传标记研究。例如, Georges 等 (1990)⁽²⁾ 用 5 个 DNA 指纹探针对比利时 Blue Cattle 牛家系分析, 发现探针 FED 产生的 DNA 指纹图中的一条图带与牛的肌肉肥大基因密切相关。Plotsky 等 (1993)⁽³⁾ 用探针 33.6 和 R18.1 进行了肉鸡半同胞家系的 DNA 指纹分析, 发现其中有一条特异性指纹图带(S6.6)与腹脂率呈显著的负相关。一般认为, 鸡的 36 周蛋重受遗传因素影响较大⁽⁸⁾。本研究试图通过对受试蛋鸡进行 DNA 指纹分析, 找到某条或某些图带与 36 周蛋重存在相关性, 为下一步的相关性分析和克隆控制蛋重座位的相关基因打好基础, 进而

^①北京市科委资助的课题。

将这一结果用于育种生产。

1 材 料 和 方 法

1.1 实验材料

本实验所用的 125 只 F_2 代鸡个体的亲本来自纯系北京白鸡。亲本公鸡 8 只, 其中 4 只公鸡据同胞测定的平均蛋重较大, 另 4 只的平均蛋重较小; 亲本母鸡 19 只, 其中 9 只母鸡的平均蛋重较大, 另 10 只的平均蛋重较小。用蛋重较大的亲本公鸡(4 只)与蛋重较小的亲本母鸡(10 只)及用蛋重较小的亲本公鸡(4 只)与蛋重较大的亲本母鸡(9 只)分别随机交配获得 F_1 代。随机选择 F_1 代个体交配即获得本实验所用的 F_2 代鸡个体。

1.2 实验和统计分析方法

从鸡的血液提取基因组 DNA^[4], 然后进行 *Hae*III 酶切、电泳及 Southern 转移^[5]。采用随机引物法标记人源 33.6 探针^[6], 标记探针的放射性比活度为 2.0×10^9 cpm/ μ g。转移膜在 60℃ 下预杂交 1.5 小时, 杂交 14 小时, 均在 0.5 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.2)、1 mol/L EDTA (pH8.0)、7% SDS 中进行, 探针浓度为 2.75×10^6 cpm/ml。洗膜在 60℃ 水浴中用 $2 \times$ SSC、0.1% SDS 洗两次各 20 分钟。

按照蛋重由小到大排列将 125 只鸡分成 12 组, 每组 10 或 11 个个体的 DNA 样品等量混合, 制成混合 DNA 样品(8 μ g), DNA 完全酶切后用探针 33.6 进行 Southern 杂交以获得 12 个混合 DNA 样品的 DNA 指纹图, 再从中找出带的深浅和有无呈现规律性变化的图带。将 125 只鸡仍按蛋重由小到大顺序排列, 全部个体用于 DNA 指纹分析, 以找出每组中究竟有多少个体拥有该条与蛋重有关的图带。

对每组个体的平均蛋重与某条图带在该组中出现的频率进行相关分析, 计算出相关系数($r = \frac{SP_{xy}}{\sqrt{SS_x SS_y}}$), 并进行显著性检验。式中, SS_x 是 x 变量(图带出现频率)的离均差平方和, SS_y 是 y 变量(蛋重)的离均差平方和, SP_{xy} 是两变量的离均差平方和。

2 结 果 与 讨 论

2.1 混合 DNA 样品的 DNA 指纹图

观察 125 只鸡的 12 个组混合 DNA 样品的 DNA 指纹图, 可见其中 D6.2 和 D6.3 图带在各组中呈现规律性分布, 即随着各组蛋重的增加, 这两条带的深浅越来越淡, 以至蛋重较大的若干组基本上见不到这两条带(图略), 由此推测这两条带的有无可能与蛋重性状相关。

2.2 鸡个体的 DNA 指纹图

从混合 DNA 样品的 DNA 指纹图中能较容易地找出某条图带是否与蛋重有关, 但其中哪些个体拥有该图带必须将每个个体进行 DNA 指纹分析才能知道。为了便于找出每个个体拥有相关图带, 电泳时将 125 只鸡按蛋重由小到大排列进行 DNA 指纹分析, 图 1 是其中 25 只鸡的 DNA 指纹图, 这 25 只鸡蛋重从左向右排列依次为 59.6 克到 62.3 克。由图 1 可见, 个体 2、3、5、8、10、11、12、14、16、19 和 22 有 D6.2 条带, 个体 1、2、3、5、10、18 和 19 有 D6.3 条带, 相应的其它个体则没有。

2.3 图带频率与平均蛋重的相关分析

表 1 列出了每组分别拥有图带 D6.2 和 D6.3 的个体数及蛋重平均值。对平均蛋重与图带出现频率的百分数进行简单线性相关分析, 结果表明, 图带 D6.2 和 D6.3 出现频率与平均蛋重的相关系数分别为 -0.80 和 -0.81, 经 t 值显著性检验表明其差异均极显著($P=0.005$), 从而初步说明在所检测的鸡群体中, 蛋重性状与其有否图带 D6.2 和 D6.3 呈显著负相关。

采用混合 DNA 样品进行 DNA 指纹分析, 能够比较方便地观察到其中是否存在着色深度呈现规律性变化的条带, 这样的条带可以被认为是和某种生产性状(如蛋重)有相关性。在相同条件下(相同的探针, 相同的杂交

条件) 分析该条带在所有个体中的分布, 然后找出该条带在每组个体中的出现频率与生产性状之间的相关关系。这一方法不仅节省时间, 而且提高了寻找相关条带的准确性。Plotsky 等(1990)⁽⁷⁾ 采用混合 DNA 样品方法, 进行了 DNA 指纹图带与腹脂率或腹脂含量的相关分析, 结果发现其中的 P6.1 条带与腹脂率或腹脂含量呈高度负相关(-0.93)。

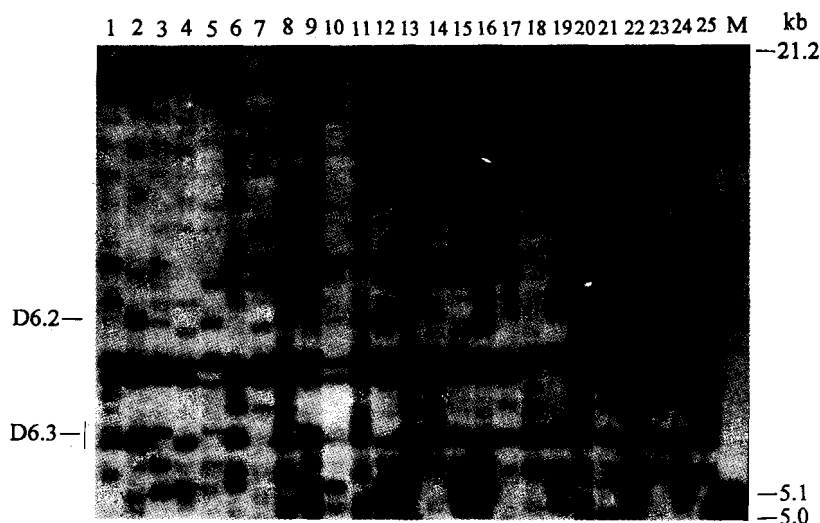


图 1 鸡个体的 DNA 指纹图

1~25. 鸡个体编号, 蛋重渐增; M. λ DNA / EcoRI+HindIII.

表 1 每组鸡的平均蛋重及拥有图带 D6.2 和 D6.3 的个体数

| 组 号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 个体数 | 11 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 |
| 平均蛋重(g) | 51.3 | 54.7 | 56.4 | 58.0 | 60.1 | 60.8 | 62.2 | 63.2 | 64.4 | 65.5 | 67.4 | 72.1 |
| S. E | 3.05 | 0.72 | 0.48 | 0.54 | 0.29 | 0.25 | 0.35 | 0.32 | 0.30 | 0.46 | 1.03 | 2.21 |
| 有图带 D6.2 个体数 | 7 | 6 | 9 | 6 | 5 | 5 | 3 | 4 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 图带出现频率(%) | 63.6 | 54.5 | 81.8 | 60 | 50 | 50 | 30 | 40 | 20 | 30 | 27.3 | 27.3 |
| 有图带 D6.3 个体数 | 8 | 7 | 6 | 7 | 5 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 3 | 2 |
| 图带出现频率(%) | 72.7 | 63.6 | 54.5 | 70 | 50 | 20 | 20 | 20 | 10 | 10 | 27.3 | 18.2 |

参 考 文 献

- 1 Jeffreys A J, Wilson V, Thein S L. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*, 1985, 314: 67~73
- 2 Georges M, Lathrop M, Hilbert P *et al.* On the use of DNA fingerprints for linkage studies in cattle. *Genomics*, 1990, 6: 461~474
- 3 Plotsky Y, Cahaner A, Haberfeld A *et al.* DNA fingerprint bands applied to linkage analysis with quantitative trait loci in chicken. *Animal Genetics*, 1993, 24: 105~110
- 4 Wetton J H, Carter R E, Parkin D T *et al.* Demographic study of a wild house sparrow population by DNA fingerprinting. *Nature*, 1987, 327: 147~149
- 5 Meng A. Simplified downward alkaline transfer of DNA. *Biotechniques*, 1994, 17: 72~73
- 6 Feiberg A P, Vogelstein B. A technique for radiolabelling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Analytical Biochemistry*, 1983, 132: 6~13
- 7 Plotsky Y, Cahaner A, Haberfeld A *et al.* Analysis of genetic association between DNA fingerprint bands and quantitative traits using DNA mixes. In: *Proceedings of the 4th world congress on genetics applied to livestock production (XIV)*. 1990, pp. 133~136, Edinburgh, 23~27
- 8 杨 宁主编. 现代养鸡生产. 北京: 北京出版社, 1994, 45

1997-04-10 收稿, 1997-06-19 修回.