

鸡 F₂ 群体 13 号染色体微卫星标记与 生长性状的关系及 QTL 定位

张艳芳^{1,2}, 康相涛^{1,2}, 孙桂荣^{1,2}, 韩瑞丽^{1,2}, 田亚东^{1,2}, 亢娟娟^{1,2}

(1 河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002; 2 河南省家禽种质资源创新工程研究中心, 河南 郑州 450002)

[摘要] 【目的】鉴定鸡 13 号染色体上影响鸡生长性状的数量性状位点(QTL)。【方法】以固始鸡、安卡鸡资源群为基础, 在鸡 13 号染色体已报道的 QTL 范围内选取 4 个微卫星标记, 采用方差分析方法, 对测量的 F₂ 代共 849 个个体的 32 种生长性状(0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 周龄体质量, 0, 4, 8, 12 周龄胫长, 4, 8, 12 周龄胫围、胸深、胸宽、胸骨长、胸角、体斜长、骨盆宽等)与 4 个标记进行相关性分析, 对显著影响生长性状的微卫星标记进行不同基因型间各性状最小二乘均值的多重比较; 并基于最小二乘区间定位法进行基因组扫描, 对生长性状进行 QTL 初步定位。【结果】在 F₂ 群体中检测到的 4 个微卫星标记平均基因杂合度为 0.707, 平均多态信息含量为 0.653; 方差分析显示, 各个标记与不同生长性状存在不同程度的相关; 定位结果显示, 在 13 号染色体上共检测到 6 个影响生长性状的 QTL, 其中 3 个 QTL 的影响达极显著水平($P < 0.01$)。【结论】将影响 4 周龄体斜长、胸骨长, 8 周龄体斜长, 6 周龄体质量的 QTL 均定位在 13 号染色体的 52 cM 处; 而影响 0 周龄胫长、12 周龄胸宽的 QTL 则分别定位于 26 和 9 cM 处。

[关键词] 鸡 F₂ 群体; 微卫星; 生长性状; 相关分析; QTL

[中图分类号] Q78; S831.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)10-0051-07

Identification of QTL on chromosome 13 for growth traits in F₂ resource population of chickens

ZHANG Yan-fang^{1,2}, KANG Xiang-tao^{1,2}, SUN Gui-rong^{1,2}, HAN Rui-li^{1,2},
TIAN Ya-dong^{1,2}, KANG Juan-juan^{1,2}

(1 College of Livestock Husbandry and Veterinary Engineering, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;

2 Henan Research Center of Breeding Resources for Poultry, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: 【Objective】The study was to detect quantitative trait loci (QTL) for growth traits on chromosome 13 of chicken. 【Method】Four microsatellite markers on chromosome 13 selected from poultry genome were used to study the genetic diversity in 849 F₂ individuals based on a chicken resource population from a cross of Gushi chicken representing a slow-growing Chinese native breed and Anka (A) broilers representing a fast-growing broiler. Thirty-two growth traits at different weeks in this study were measured in the F₂ population, which included body weight (BW) and body size index containing shank length (SL), shank circle (SC), chest depth (CD), chest width (CW), breast bone length (BBL) and body slanting length (BSL) at different ages. The multi comparison was applied between traits and the genotypes of microsatellite which significantly affected growth traits. Then genome scan was performed to locate the QTL for growth trait by an interval mapping based least-squares linear regression. 【Result】Average heterozygosity, and average polymorphism information content were 0.707 and 0.653, respectively. Six QTL on

* [收稿日期] 2010-01-29

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2008BADB2B07-5); 国家公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-039); 国家蛋鸡产业技术体系项目; 国家农业科技成果转化资金项目(2009D00103); 河南省杰出人才创新基金项目(074200510009)

[作者简介] 张艳芳(1984—), 女, 河南三门峡人, 在读硕士, 主要从事家禽分子遗传研究。E-mail: yf.zhang2007@163.com

[通信作者] 康相涛(1962—), 男, 河南南阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事家禽育种与营养学研究。E-mail: xtkang2001@263.net

growth traits were detected on chromosome 13, three of them were at the 1% genome-wide significant level. 【Conclusion】 The QTL on BSL4, BBL4, BSL8, BW6 were located at the same location 52 cM, and the QTL related to SL0, CW12 were detected at 26, 9 cM respectively.

Key words: chicken F_2 resource population; microsatellite; growth trait; correlation analysis; QTL

生长性状随个体发育过程呈现动态变化。其中体质量是衡量生长发育程度及群体均匀度的重要指标,早期体质量还是肉禽育种的主要目标。虽然体尺测量在大群鸡生产中已很少进行,但体尺指标对研究品种特征,进行品种调查,仍有一定的意义。

我国鸡地方品种资源丰富,但与国外商业品种相比生产性能不佳,良种问题已成为限制高效养鸡生产的瓶颈,而生长性状对于鸡的生产和育种具有重要意义。据报道,鸡的小染色体(GGA11-39)与大染色体(GGA1-10)在遗传特征上存在很大差异^[1-2]。目前,大约有 53 个与生长、肉质、屠宰、产蛋、行为等性状相关的数量性状位点(QTL)在鸡 13 号微小染色体上。其中体质量 QTL 主要定位区域集中在 0 和 34^[3]、22^[4]、68^[5]、51 cM^[6]。在 13 号微小染色体上基本未见与体尺指标(胫长、胫围、胸深、胸宽、胸骨长、胸角、体斜长、骨盆宽等)相关的 QTL。由于生长性状为数量性状,受微效多基因系统控制,在生长发育中呈动态变化,其遗传进展缓慢^[7-8]。因此,标记辅助选择是提高鸡生长性状遗传进展的有效途径,但前提是要找到与该性状紧密连锁的标记或控制该性状的 QTL。微卫星因其有数量多、分布广、多态性丰富等方面的优点,而在畜禽经济性状定位中得以广泛应用^[9-10]。

固始鸡为我国著名的地方鸡品种,相对于其优良的肉蛋品质,其体型中等、生长发育较慢;而安卡鸡为以色列快大型肉鸡,二者遗传背景和表型不同。本研究利用固始鸡与安卡鸡组建的资源群体,在 13 号染色体选取 4 个微卫星标记,采用方差分析法分析 4 个标记与鸡部分生长性状间的连锁关系,以期找出与这些性状连锁的微卫星标记,并进行 QTL 定位,为标记辅助选择育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

固始鸡与安卡鸡资源群按 F_2 设计方案组建,共建立正、反交 7 个家系。其中安卡鸡 4 只作父本,固始鸡 36 只作母本为正交系,共 4 个系;固始鸡 2 只作父本,安卡鸡 12 只作母本为反交系,共 3 个系(包括 1 个半同胞家系),P 代将公鸡、母鸡按 1:6 比例

配组。 F_1 代留种的原则为:P 代组成的家系中每个家系的 F_1 后代中选留 1 只公鸡,保证 F_1 代个体在各个位点杂合; F_1 代母鸡平均分配在其他家系中,要求与所配公鸡、母鸡之间没有亲缘关系,将公鸡、母鸡按 1:9 比例交配产生 F_2 代。

固始鸡与安卡鸡 F_2 资源群体饲养管理条件一致,实行全程笼养,自由采食,自由饮水。并按《家禽生产性能名称术语和度量统计方法》(NY/T 823-2004),测定 F_2 代个体 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 周龄体质量, 0, 4, 8, 12 周龄胫长, 4, 8, 12 周龄胫围、胸深、胸宽、龙骨长、胸角、体斜长、骨盆宽等共计 32 种生长性状。将所有固始鸡与安卡鸡 F_2 代资源群饲养至 12 周龄时,翅静脉采血,EDTA 抗凝, -40℃ 冰箱中保存备用,之后屠宰(共 849 只)。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 取 -40℃ 冰箱中贮存的鸡血样,采用经典酚氯仿异戊醇法^[11]提取其基因组 DNA,琼脂糖凝胶电泳检测后溶于适量 TE (pH 8.0)中, 4℃ 保存备用。

1.2.2 微卫星标记和 PCR 扩增反应条件 微卫星标记从已发表 3 个参考家系的遗传图谱中选取(<http://poultry.mph.msu.edu>),在第 13 条染色体上按照国际通用准则每隔 15~20 cM^[12]选取 1 个,共选取 4 个微卫星标记(表 1),选取范围在鸡 13 号染色体已报道的生长性状 QTL 范围内(<http://www.animalgenome.org/QTLdb/chicken.html>)。

PCR 反应体系为 10 μ L, DNA 模板 1 μ L, 上、下游引物各 0.25 μ L (10 pmol/ μ L), $2\times$ Taq PCR StarMix 5 μ L, ddH₂O 3.5 μ L。采用降落 PCR 程序扩增优化每个微卫星的测定条件。优化后的降落 PCR 反应条件为:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 65℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 3 个循环; 94℃ 变性 1 min, 60℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 3 个循环; 94℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 3 个循环; 94℃ 变性 1 min, 50℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 10 min。扩增产物用 80 g/L 变性聚丙烯酰胺凝胶^[11]于 200 V 下电泳 3~4 h, 将 pBR322/*Msp* I Marker 作为标准 DNA 对照, 银染^[13]显色拍照。利用 Bandscan 软

件泳道线校正,根据基因片段电泳迁移率的大小,判断读基因型。

表 1 4 个微卫星标记的引物信息

Table 1 Information of 4 microsatellite markers			
微卫星标记 SSR	上游引物(5'→3') Forward primer	下游引物(3'→5') Reverse primer	位置/cM Position
MCW0213	CTGTTCACTTTAAGGACATGG	GACAAGTCAACAAC TTGCCAG	22
MCW0197	GTGCTGCTGGGTTTAACCTA	CTCACACGCGCACATACTTA	39
MCW0110	CATCTGTGTTACTGTCACAG	TCAGAGCAGTACGCCGTGGT	59
MCW0104	TAGCACAAC TCAAGCTGTGAG	AGACTTGACAGCTGTGACC	74

1.3 数据的统计分析

1.3.1 群体等位基因频率、基因杂合度和多态信息含量的计算 用 cervus 2.0 软件统计群体各座位的等位基因组成,计算各微卫星位点分别在群体中的等位基因频率、杂合度(*H*)、多态信息含量(*PIC*)等指标。

1.3.2 表型数据处理与关联分析 根据试验个体微卫星标记基因型和测定的生长性状表型值资料,用 SAS 统计软件中的非均衡数据的方差分析(GLM),采用最小二乘法对鸡的表型性状与遗传标记进行关联分析;确定显著影响生长性状的微卫星标记,进而对显著影响生长性状的微卫星标记进行不同基因型间各性状最小二乘均值的多重比较。

1.3.3 QTL 定位分析 运用 QTL Express 进行在线分析([http://qtl. cap. ed. ac. uk/](http://qtl.cap.ed.ac.uk/)),找出与 QTL 相连锁的标记,进行 QTL 检测和效应估计。

在 QTL 定位研究中使用的模型如下:

$$Y = \mu + sex + family + covariate + C_a a C_d d + e.$$

式中:*Y* 为性状的表型值; μ 为性状的最小二乘均

值;*sex*、*family* 均为影响性状的固定效应,分别为性别效应和家系效应; *covariate* 为影响性状的校正变量,生长性状以批次作为校正变量; *a*、*d* 分别为加性、显性效应; *C_a*、*C_d* 分别为加性、显性效应系数; *e* 为残差效应。

用在线软件 QTL Express 得到单 QTL 检测模型,检测结果包括检测目标性状 QTL 位置 (cM)、QTL 的 *F* 检验值即 *F* 值、相应的似然比和 LOD 值,以及由完整模型(Full)得到的均方值、加性效应和显性效应值(*a* 值和 *d* 值)及它们的标准误,显示 QTL 所在图谱位置曲线图,给出显著水平 ($P < 0.05$) 和极显著水平 ($P < 0.01$) 的 *F* 检验阈值。

2 结果与分析

2.1 鸡 F₂ 群体各生长性状的统计分析

遗传变异系数已除去环境所造成的变异,能较客观地反映后代群体内某些性状遗传变异的程度。鸡 F₂ 群体生长性状各表型数据的统计结果见表 2。

表 2 鸡 F₂ 群体生长性状各表型数据的统计结果

Table 2 Results of phenotypes data for growth trait of chicken F ₂ resource population							
性状 Trait	周龄 Age	样本数 Sample size	最小值 Min	最大值 Max	平均值 Mean	标准误 SE	变异系数/% CV
胫长/cm Shank length	0	843	2.26	3.00	2.58	0.00	4.24
	4	784	3.00	7.25	5.50	0.03	14.65
	8	779	5.60	10.30	7.93	0.03	10.92
	12	812	7.30	12.20	9.39	0.03	8.85
胫围/cm Shank circle	4	780	2.00	3.50	2.69	0.01	7.49
	8	767	2.90	4.40	3.42	0.01	7.80
	12	806	3.00	4.90	3.84	0.01	8.11
胸深/cm Chest depth	4	783	3.00	7.00	4.85	0.02	13.10
	8	783	4.00	10.00	6.54	0.03	13.66
	12	835	5.00	10.00	7.88	0.03	9.72
胸宽/cm Chest width	4	783	2.80	6.00	4.09	0.02	11.59
	8	783	4.00	9.00	5.68	0.02	10.31
	12	835	4.50	10.00	6.33	0.02	10.54
胸骨长/cm Breast bone length	4	783	4.40	7.80	6.21	0.02	8.29
	8	783	5.50	11.10	8.92	0.03	8.14
	12	835	7.80	13.20	11.00	0.03	7.27
胸角/(°) Chest angle	4	783	60.00	90.00	74.17	0.13	5.01
	8	783	8.30	90.00	76.44	0.16	5.86
	12	835	70.00	92.00	79.00	0.14	5.16

续表 2 Continued table 2

性状 Trait	周龄 Age	样本数 Sample size	最小值 Min	最大值 Max	平均值 Mean	标准误 SE	变异系数/% CV
体斜长/cm Breast slanting length	4	783	7.50	13.50	11.39	0.03	6.98
	8	783	10.10	19.60	16.23	0.04	7.28
	12	835	14.00	23.50	19.78	0.04	6.28
骨盆宽/cm Pelvis width	4	783	4.00	6.50	5.16	0.02	9.15
	8	783	5.00	8.50	6.87	0.02	9.83
	12	835	5.50	11.50	8.66	0.03	9.73
体质量/g Body weight	0	843	22.8	39.0	30.59	0.10	9.23
	2	781	41.6	185.5	122.18	0.67	15.23
	4	785	156	464.0	321.35	1.72	15.02
	6	813	274	915.0	566.10	3.81	19.18
	8	784	451.5	1 285.0	816.26	5.15	17.68
	10	817	447	1 691.0	1 113.30	6.39	16.42
	12	830	471	2 102.0	1 351.90	7.73	16.46

由表 2 可知,鸡 F₂ 群体各生长性状变异系数差异较大,为 4.24%~19.18%。0~12 周龄体质量变异系数为 9.23%~19.18%,在 6 周龄时体质量变异系数最高,达 19.18%;体尺指标中,0~12 周龄鸡的胫长变异系数为 4.24%~14.65%,而 4 周龄鸡的胫长变异系数最大,为 14.65%;4~12 周龄鸡的胫围、胸深、胸宽、胸骨长、胸角、体斜长、骨盆宽变异系数分别为 7.49%~8.11%,9.72%~13.66%,10.31%~11.59%,7.27%~8.29%,5.01%~5.86%,6.28%~7.28%,9.15%~9.83%。F₂ 代群体中各性状的变异系数均较大,大部分都超过

10%,表明 F₂ 代各生长性状在表型上产生了较好的分离效果;同时说明这些性状可能是主效基因存在的多基因控制的数量性状,反映出该群体可很好地用于相关指标遗传标记的研究。

2.2 各微卫星标记的杂合度、多态信息含量、等位基因数及其频率

表 3 显示,4 个微卫星标记在 F₂ 群体中检测到的平均基因杂合度为 0.707,多态信息含量为 0.626~0.706,平均 0.653,均属高度多态。其中 MCW0197 的等位基因数最多,有 6 个;MCW0110、MCW0104 的等位基因数均最少,有 4 个。

表 3 4 个微卫星标记的杂合度、多态信息含量和等位基因数及其频率

位点 Locus	杂合度 <i>H</i>	多态信息 含量 <i>PIC</i>	等位基因 Allele					
			A	B	C	D	E	F
MCW0213	0.689	0.637	0.095 9	0.084 6	0.434 8	0.065 2	0.319 5	
MCW0197	0.747	0.706	0.194 8	0.036 8	0.352 7	0.276 4	0.109 8	0.029 5
MCW0110	0.702	0.642	0.326 9	0.286 1	0.325 6	0.061 4		
MCW0104	0.690	0.626	0.301 0	0.359 2	0.297 9	0.041 9		
平均值 Mean	0.707	0.653						

2.3 4 个微卫星标记与各生长性状的相关分析

由表 4 可知,MCW0213 与 4 周龄胫围、胸骨长、体斜长、体质量显著或极显著相关($P<0.05$ 或 0.01),说明 MCW0213 可能是与鸡第 4 周龄生长性状相关的标记;与 0,2,6 周龄体质量极显著相关($P<0.01$),进一步表明 MCW0213 可能是与鸡早期体质量相关的位点。

MCW0197 与 0,8 周龄胫长,12 周龄胸宽,8,10 周龄体质量显著相关($P<0.05$),与 12 周龄胸深、胸骨长、体质量极显著相关($P<0.01$)。相对于 MCW0213 与鸡早期体质量相关而言,MCW0197 与 8,10,12 周龄体质量显著或极显著相关($P<0.05$ 或 0.01),提示该标记可能是与鸡后期生长发育相

关的位点。

MCW0110 与 0 周龄胫长极显著相关($P<0.01$),与 0 周龄体质量显著相关($P<0.05$)。

除了 12 周龄胸深、胸宽、胸骨长,4 周龄体斜长外,MCW0104 与其他生长性状显著或极显著相关($P<0.05$ 或 0.01),说明 MCW0104 可能是一个影响鸡全期体质量的位点,在其附近可能有影响鸡体质量的 1 个或几个基因。

2.4 与生长性状显著关联标记基因型的多重比较

对显著影响生长性状的微卫星标记 MCW0197、MCW0104 进行不同基因型间各性状最小二乘均值的多重比较,结果见表 5 和表 6。

表 4 4 个微卫星标记与部分生长性状差异的方差分析(*F* 值)

Table 4 Analysis of variance between growth traits and the 4 microsatellite loci(*F* value)

生长性状 Growth trait	MCW0213	MCW0197	MCW0110	MCW0104
0 周龄胫长 SL0	2.49	2.64 *	6.01 * *	4.14 * *
8 周龄胫长 SL8	0.79	2.36 *	1.10	4.15 * *
4 周龄胫围 SC4	4.32 * *	1.84	0.69	8.79 * *
8 周龄胫围 SC4	1.66	2.90 *	0.48	7.45 * *
12 周龄胫围 SC12	1.34	1.15	0.63	4.83 * *
8 周龄胸深 BD8	1.19	1.09	0.77	3.68 *
12 周龄胸深 BD12	0.41	3.35 * *	0.16	0.24
8 周龄胸宽 CW8	0.82	1.82	0.26	2.83 *
12 周龄胸宽 CW12	1.27	2.97 *	1.34	3.83
4 周龄胸骨长 BBL4	2.69 *	0.68	0.48	2.78 *
8 周龄胸骨长 BBL8	0.74	1.59	0.71	4.48 * *
12 周龄胸骨长 BBL12	1.03	3.09 * *	0.90	1.38
4 周龄体斜长 BSL4	4.86 * *	1.12	1.12	2.33
8 周龄体斜长 BSL8	0.73	1.08	0.24	4.59 * *
0 周龄体质量 BW0	5.99 * *	1.56	2.54 *	6.88 * *
2 周龄体质量 BW2	15.24 * *	1.35	1.04	3.13 *
4 周龄体质量 BW4	9.06 * *	1.71	1.27	4.93 * *
6 周龄体质量 BW6	3.86 * *	1.96	0.55	5.37 * *
8 周龄体质量 BW8	2.55	20.94 *	0.79	6.15 * *
10 周龄体质量 BW10	2.37	2.94 *	0.43	4.10 * *
12 周龄体质量 BW12	2.46	3.33 * *	1.10	4.04 * *

注: * 表示极显著相关($P<0.01$), * 表示显著相关($P<0.05$)。

Note: * * means highly significant correlations($P<0.01$), * means significant correlations ($P<0.05$).

表 5 鸡 F₂ 群体 MCW0197 微卫星位点不同基因型生长性状的多重比较

Table 5 Multi comparison for growth traits in MCW0197 in F₂ resource population

标记 Locus	基因型 Genotype	0 周龄胫长/cm SL0	8 周龄胫围/cm SC8	体质量/g Body weight		
				8 周 8 week	10 周 10 week	12 周 12 week
MCW0197	CE	2.61 a (68)	3.39 ab (91)	794.21 ab (94)	1 081.90 bc (97)	1 317.28 bc (99)
	AB	2.60 ab (165)	3.46 a (151)	825.81 a (54)	1 121.10 ab (55)	1 363.94 ab (55)
	AD	2.58 b (99)	3.43 a (52)	840.33 a (154)	1 155.94 a (158)	1 407.08 a (163)
	CC	2.57 b (54)	3.30 b (272)	757.82 b (280)	1 052.77 c (287)	1 274.11 c (293)
	DE	2.57 b (57)	3.43 a (60)	835.99 a (60)	1 127.78 ab (69)	1 368.73 ab (69)
	CD	2.56 b (292)	3.40 ab (50)	811.66 a (51)	1 107.16 abc (52)	1 337.60 abc (53)

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$);括号中的数据为样本数。表 6 同。

Note:The same column with different individual superscripts mean significant difference($P<0.05$). The data in the bracket is sample size.

The same as table 6.

表 6 鸡 F₂ 群体 MCW0104 微卫星位点不同基因型生长性状的多重比较

Table 6 Multi comparison for growth traits in MCW0104 in F₂ resource population

标记 Locus	基因型 Genotype	体质量/g Body weight				
		0 周 0 week	2 周 2 week	4 周 4 week	6 周 6 week	8 周 8 week
MCW0104	AA	31.46 a (40)	126.03 a (38)	317.18 ab (201)	567.14 a (214)	799.59 b (205)
	AB	31.18 a (215)	124.56 a (206)	331.18 a (446)	584.71 a (38)	850.85 a (439)
	BC	30.27 b (469)	121.35 ab (442)	319.62 ab (36)	563.65 a (458)	808.61 ab (38)
	CD	30.26 b (63)	117.51 b (55)	306.72 b (59)	526.73 b (57)	779.08 b (59)
MCW0104		体质量/g Body weight		8 周龄胸宽/cm CW at 8 week	胫围/cm Shank width	
		10 周 10 week	12 周 12 week		8 周 8 week	12 周 12 week
	AA	1 085.55 b (212)	1 323.83 ab (213)	5.67 ab (205)	3.32 b (201)	3.69 b (205)
	AB	1 146.04 a (462)	1 388.27 a (469)	5.74 a (38)	3.48 a (426)	3.89 a (456)
	BC	1 106.93 ab (39)	1 344.42 ab (40)	5.68 ab (437)	3.41 ab (58)	3.84 a (61)
	CD	1 068.57 b (59)	1 291.13 b (62)	5.50 b (59)	3.34 b (38)	3.82 a (39)

由表 5、表 6 可以看出,各个标记不同基因型对 QTL 的作用大小不同。MCW0197 标记的 CE 基因型 0 周龄胫长与 AD、CC、DE、CD 基因型间差异显著;CC 基因型 8 周龄胫围,8,10,12 周龄体质量与 AB、AD、DE 基因型差异显著。MCW0104 标记的 AB 基因型 0 周龄体质量与 BC、CD 基因型差异显著;CD 基因型 2 周龄体质量与 AA、AB 基因型差异显著;CD 基因型 4,12 周龄体质量,8 周龄胸宽、胫围与 AB 基因型差异显著。

表 7 不同生长性状在 13 号染色体上的定位结果

Table 7 Results of QTL mapping for growth traits on chromosome 13

性状 Trait	位置/cM Location	F 值 F value	加性效应 ADD	显性效应 DOM	置信区间/cM CI	解释表型变异/% Variation
0 周龄胫长 SL0	26	6.56 *	0.010±0.009	0.054±0.016	3.0~37.0	3.33
4 周龄体斜长 BSL4	52	7.48 **	-0.086±0.053	-0.339±0.107	2.0~52.0	5.12
4 周龄胸骨长 BBL4	52	9.02 **	-0.050±0.035	-0.262±0.071	25.0~52.0	0.30
8 周龄体斜长 BSL8	52	5.42 *	-0.107±0.078	-0.499±0.156	0~52.0	0.81
12 周龄胸宽 CW12	9	6.89 **	-0.037±0.046	0.288±0.079	0~37.0	4.03
6 周龄体质量 BW6	52	4.73 *	-3.519±7.352	-42.992±14.752	0~52.0	5.30

注: * 表示影响达基因组 5% 显著水平; ** 表示影响达基因组 1% 显著水平。

Note: * F value indicated 5% genome-wide level significant level; ** F value indicated 1% genome-wide level significant level.

3 讨 论

3.1 资源群体的试验设计与表型分析

本试验采用远交群体 F₂ 设计,亲本为以色列安卡鸡和中国地方品种固始鸡,两者性状间的差异较大。根据 QTL 定位的基本原理,亲本间遗传标记的等位基因不同并且完全纯合,且数量性状表型高度分化的两个品种(系),为设计资源群体最理想的亲本^[14]。因此,可以利用安卡鸡和固始鸡作为亲本建立资源群。从本研究所测定 F₂ 群体的 32 个生长性状统计的结果来看,不同性状在个体间存在不同程度的差异,说明该 F₂ 资源群体有较好的分离情况,可以进一步进行 QTL 定位。

3.2 遗传杂合度及多态信息含量

遗传杂合度通常认为是度量群体遗传变异的最适参数^[15],多态信息含量是衡量基因片段多态性的较好指标^[16]。从遗传检测的结果来看,本研究中的资源群体杂合度与多态信息含量均大于 0.5,说明本试验中的微卫星标记表现出了较高的杂合度和多态性,在资源群体中应用这些微卫星标记有可能检测到所研究性状的 QTL。

3.3 生长性状与各微卫星标记的相关性分析

方差分析法是通过一个遗传标记座位,利用方差分析比较不同标记基因型数量性状均值的差异,以确定它们是否存在连锁,从而确定 QTL 的大致

2.5 生长性状在 13 号染色体上的定位结果

表 7 显示,在 13 号染色体上检测到了 6 个影响生长性状的 QTL,其中影响 4 周龄体斜长、胸骨长,12 周龄胸宽的 QTL 达 1% 显著水平,并分别定位在 52,52.9 cM 处,与 8 周龄体斜长、6 周龄体质量相关的 QTL 也定位在 52 cM 处。各 QTL 所解释的表型变异为 0.30%~5.30%。本研究还在 26 cM 处检测到了影响 0 周龄胫长的 QTL。

位置。在进行 QTL 定位研究时,该方法因具有较高的检测效率,常用于寻找与性状连锁标记的初步筛选^[17]。体尺指标是鸡育种中衡量生长发育体型状态的重要指标。本研究结果表明,4 个微卫星标记与不同生长性状存在不同程度的相关($P<0.05$ 或 0.01)。个别标记与同一周龄的不同性状显著相关,如 MCW0213 与 4 周龄胫围、胸骨长、体斜长、体质量显著或极显著相关,MCW0197 与 12 周龄胸深、胸骨长、体质量极显著相关,因此这些标记可能是影响同一时期生长性状的标记;有些标记与不同周龄的同一性状显著相关,如 MCW0104 与 0,2,4,6,8,10 和 12 周龄体质量显著或极显著相关,说明 MCW0104 可能是一个影响鸡全期体质量的位点。还存在多个标记同时与一个性状相关,说明这些基因座间存在着多因一效现象,这些性状可能由一个以上的 QTL 控制。本研究未发现与骨盆宽、胸角相关的标记,国内外也未见有相关报道,可能在 13 号染色体上不存在影响骨盆宽和胸角的位点,也可能由于试验标记数目较少,存在一定误差,应进一步增加标记密度或者在其他群体中进行验证。

根据方差分析结果,本研究对标记与生长性状显著相关的 MCW0197、MCW0104 各基因型间的性状最小二乘均数进行多重比较,以判断变异来源,结果表明,MCW0197 标记的 CE 基因型对 0 周龄胫长影响显著;CC 基因型对 8 周龄胫围,8,10 和 12 周

龄体质量影响显著。大量研究结果表明,胫长与体质量呈正相关,体质量越大,胫长越长,而影响胫长、体质量的微卫星标记不同,则可以通过标记辅助选择来实现获得矮小型的品种而不影响体质量。MCW0104 标记的 AB 基因型 0 周龄体质量与 BC、CD 基因型差异显著;CD 基因型 2 周龄体质量与 AA、AB 基因型差异显著;CD 基因型 4 和 12 周龄体质量与 AB 基因型差异显著;并且 AB 基因型对应的各个性状平均值均高于其他基因型(0,2 周龄体质量除外)。说明标记座位与各性状间可能存在连锁关系,在这些标记附近存在 1 个或几个影响这些性状的数量性状位点。在生产实践中,这些标记有可能成为标记辅助选择或早期育种的分子标记。

3.4 QTL 定位结果的分析

目前,关于体质量 QTL 的定位结果表明,在 13 号染色体上关于体质量定位的报道相对于其他性状多,国内外许多学者在不同资源群关于体质量的定位结果也存在差异。13 号染色体体质量主要定位区域集中在 0^[3],34^[3],22^[4],68^[5],51 cM^[6]。本研究将影响 6 周龄体质量性状的 QTL 定位于 52 cM 处。在众多研究中,Zhou 等^[3]在 broiler-Fayoumi cross 的 13 号染色体 58,1,0 cM 处分别检测到影响 2,4,6 周龄体质量的 QTL;而在 broiler-Leghorn cross 的 13 号染色体未检测到影响体质量的 QTL。杜志强^[6]在 13 号染色体 46 cM 处发现了影响 6 周龄体质量的 QTL。以上研究结果不同,可能是由于标记和 QTL 在不同群体中的存在状态不同,因而不同资源群体的定位结果也不尽相同;也可能是由于群体不同,在某个群体中定位的 QTL 在其他群体中可能已经固定,不再产生分离,无法检测到它的重组。因此,在后续研究中应以地方特色鸡种组建资源群,检测更多的 QTL,为鉴定控制一些重要经济性状的功能基因和紧密连锁的分子标记提供平台,以改良本土鸡群的生产水平。

本研究在固始鸡、安卡鸡资源群 13 号染色体上定位了影响不同周龄胫长、胸骨长、体斜长、胸宽的 QTL,其中将影响 4,8 周龄体斜长的 QTL 均定位在 52 cM 处。而目前为止,在 13 号染色体上基本未见与体尺指标(胫长、胫围、胸深、胸宽、胸骨长、胸角、体斜长、骨盆宽等)相关的定位。在鸡的 QTL db 数据库中,仅 2005 年法国 Sauvanet J P 报道,将影响胫骨长的 QTL 定位于 13 号染色体的 33 cM 处;2005 年,美国 Purdue 大学的 Schreiweis 把影响胫宽的 QTL 定位在 47~50 cM 处^[18]。

一般而言,体质量与体尺指标中的胸骨长、体斜长、胫长、胸宽、胸深等均存在一定程度的相关,通过对体质量和体型的共同选择,可使两方面性状得到有利协调的改良。通过对鸡生长性状 QTL 的定位分析,进一步认识鸡生长性状的分子遗传基础,揭示数量性状遗传的内在本质,有利于在后续研究中通过比较基因组学和生物信息学克隆分析数量性状新功能基因,并进一步将标记运用于辅助选择育种策略及鸡的育种实践中。

[参考文献]

- [1] McQueen H A, Fantes J, Cross S H, et al. CpG islands of chicken are concentrated on microchromosomes [J]. *Nat Genet*, 1996, 12(3): 321-324.
- [2] Smith J, Bruley C K, Paten I R. Differences in gene density on the chicken micro chromosomes and micro chromosomes; a tool for gene discovery in vertebrate genomes [J]. *Animal Genet*, 2000, 31(2): 96-103.
- [3] Zhou J, Deeb N, Ashwell C M, et al. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken I: Growth and average daily gain [J]. *Poultry Sci*, 2006, 85(10): 1700-1711.
- [4] Atzmon G, Blum S, Feldman M. QTLs detected in a multigenerational resource chicken population [J]. *The Journal of Heredity*, 2008, 99(5): 528-538.
- [5] Jacobson L, Park H B, Walberg P, et al. Many QTLs with minor additive effects are associated with a large difference in growth between two selection lines in chickens [J]. *Genet Res*, 2005, 86(2): 115-125.
- [6] 杜志强. 通过基因组扫描定位鸡的重要性状基因座 [D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
Du Z Q. Mapping quantitative trait loci (QTLs) via genome scanning in chicken [D]. Beijing: China Agriculture University, 2003. (in Chinese)
- [7] Spelman R J, Bovenbuis H. Moving from QTL experimental results to the utilization of QTL in breeding programs [J]. *Animal Genetics*, 1998, 29: 77-84.
- [8] Marklund L, Nystrom P, Stern S, et al. Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4 [J]. *Heredity*, 1999, 82: 134-141.
- [9] Goldstein D B, Linares A R, Cavalla-Sforza L L, et al. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci [J]. *Genetics*, 1995, 139: 463-472.
- [10] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [J]. *Genetics*, 1996, 144: 389-399.