



高等学校规划教材 | 畜牧兽医类

动物遗传育种学 实验教程

主编 • 王玲 罗宗刚

DONGWU YICHUAN YUZHONGXUE

SHIYAN JIAOCHENG



西南师范大学出版社
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位



高等学校规划教材 | 畜牧兽医类

动物遗传育种学 实验教程

主编·王玲 罗宗刚

副主编·李亮 向钊 蒋立

DONGWU

YICHUAN YUZHONGXUE SHIYAN JIAOCHENG



西南师范大学出版社
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

图书在版编目(CIP)数据

动物遗传育种学实验教程 / 王玲, 罗宗刚主编. —
重庆: 西南师范大学出版社, 2015.5
ISBN 978-7-5621-7357-1

I. ①动… II. ①王… ②罗… III. ①动物—遗传育种—实验—教材 IV. ①Q953-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第050973号

动物遗传育种学实验教程

DONGWU YICHUAN YUZHONGXUE SHIYAN JIAOCHENG

主 编 王 玲 罗宗刚

副主编 李 亮 向 钊 蒋 立

责任编辑: 杜珍辉 刘 凯

特约编辑: 杨炜蓉

封面设计:  魏显锋 熊艳红

出版发行: 西南师范大学出版社

地址: 重庆市北碚区天生路1号

邮编: 400715

市场营销部电话: 023-68868624

<http://www.xscbs.com>

经 销: 新华书店

印 刷: 重庆川外印务有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

印 张: 8.5

字 数: 190千字

版 次: 2015年10月 第1版

印 次: 2015年10月 第1次印刷

书 号: ISBN 978-7-5621-7357-1

定 价: 20.00元

衷心感谢被收入本书的图文资料的原作者,由于条件限制,暂时无法和部分原作者取得联系。恳请这些原作者与我们联系,以便付酬并奉送样书。

若有印装质量问题,请联系出版社调换。

版权所有 翻印必究

高等学校规划教材·畜牧兽医类

总编委会 / ZONG BIAN WEI HUI

总主编:王永才 刘娟

编委(排名不分先后):

刘娟	黄庆洲	伍莉	朱兆荣
罗献梅	甘玲	谢和芳	刘安芳
兰云贤	曾兵	杨远新	黄琳凯
陈超	王鲜忠	帅学宏	黎德斌
段彪	伍莲	陈红伟	左福元
蒲德伦	朱海生	王玲	罗宗刚

编委会 / BIAN WEI HUI

主 编:王 玲 (西南大学)

罗宗刚 (西南大学)

副主编:李 亮 (四川农业大学)

向 钊 (西南大学)

蒋 立 (西南科技大学)

参 编:(排名不分先后)

周 沛 (西南大学)

王维林 (西南大学)

张 谊 (西昌学院)

付树滨 (西南大学)

周 萍 (西南大学)

胡 煜 (西南大学)

前 言

动物遗传育种学是高等农业院校动物科学专业的一门重要专业基础课,实验课程是动物遗传育种学的重要组成部分,是学生掌握动物遗传育种基本原理、基本方法和基本技能的重要环节,也是培养和提高学生实践动手能力、创新能力和独立科研能力的重要途径。本实验教材是在总结编者多年教学实践经验的基础上,广泛吸取其他院校动物遗传学和家畜育种学实验教学的宝贵经验,并参阅有关文献资料编写而成。

根据动物遗传育种学的教学内容和要求,本教材主要分成两部分:第一部分动物遗传学实验,包括了十九个实验,涵盖了经典遗传学、细胞遗传学、分子遗传学、数量遗传学与群体遗传学领域;第二部分家畜育种学实验,包括了十八个实验,既有验证性实验,也有设计性实验和综合性实验,各学校可根据教学内容和实验条件的实际情况选择完成书中的实验项目。由于实验课程中主要以鹌鹑作为实验材料,因此,在附录中列出了鹌鹑的饲养管理技术,以方便读者对该方面知识的了解与掌握。

由于时间仓促,加之编者水平有限,书中错误和疏漏之处在所难免,恳请专家、读者批评指正。

编 者

2014年11月

目 录

第一部分 动物遗传学实验

第一章 经典遗传学实验

实验一	果蝇的饲养及性状观察	1
实验二	果蝇的单因子杂交实验	5
实验三	果蝇的双因子杂交实验	8
实验四	果蝇的三点测交实验	11
实验五	果蝇唾液腺染色体的制备和观察	14

第二章 细胞遗传学实验

实验六	细胞分裂过程的染色体制片与观察	16
实验七	哺乳动物外周血淋巴细胞培养与染色体制备	19
实验八	哺乳动物染色体G显带染色技术	21
实验九	鹌鹑骨髓细胞染色体标本制作	23
实验十	鹌鹑染色体的核型分析	25

第三章 群体与数量遗传学实验

实验十一	家禽的伴性遗传	27
实验十二	群体遗传平衡分析及基因频率的估算	30
实验十三	重复力的估算	33
实验十四	遗传力的估算	36
实验十五	遗传相关的估算	39

第四章 分子遗传学实验

实验十六	动物组织基因组DNA的提取	43
实验十七	琼脂糖凝胶电泳检测DNA	45
实验十八	动物组织总RNA的提取及鉴定	47
实验十九	聚合酶链式反应(PCR)	50

第二部分 家畜育种学实验

实验一	畜禽品种的分类与识别	53
实验二	家畜部位的识别与体尺测量	59
实验三	家畜体质外形的观察	64
实验四	家畜家禽的摄影	68
实验五	畜禽生产性能测定	72
实验六	畜禽生长发育的计算与生长曲线的绘制	76
实验七	系谱的编制	80
实验八	系谱审查与后裔测验	85
实验九	选择指数的制订与计算	89
实验十	个体育种值的估计	92
实验十一	畜禽选配计划的制订	95
实验十二	亲缘程度的评定	98
实验十三	亲缘系数和畜群近交程度的估算	101
实验十四	群体有效含量的计算	105
实验十五	杂种优势的估测	108
实验十六	畜禽杂交组合试验的设计与实施	110
实验十七	畜禽新品系培育方案的设计	112
实验十八	畜禽杂交育种方案的制订	114
附录一	χ^2 值表	117
附录二	鹌鹑的饲养管理技术	118
参考文献		126

第一部分 动物遗传学实验

第一章 经典遗传学实验

实验一 果蝇的饲养及性状观察

一、实验目的

- (1)了解果蝇的生活史及其各个阶段的形态特征。
- (2)掌握果蝇的性别鉴定方法。
- (3)掌握果蝇的饲养管理方法和技术。
- (4)加深理解果蝇作为模式生物对于遗传学研究的意义。

二、实验原理

1. 基本知识

果蝇为昆虫纲、双翅目、果蝇属,属完全变态昆虫,常见于果园和水果摊上熟透和腐烂的水果上,与家蝇是不同的种。果蝇是遗传学研究的好材料,通常作为遗传学实验材料的是黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*, $2n=2x=8$)。果蝇作为遗传学实验材料有许多优点:培养简便,生活周期短,繁殖率高;染色体数目少,突变性状多(达400个以上),且多数为形态突变,便于通过性状遗传杂交实验及杂交后代的观察和分类统计来验证遗传学的基本规律;唾液腺染色体制作容易,横纹清晰,适宜进行细胞学观察和研究。

美国《科学》杂志2000年3月24日报道:果蝇基因组的测序工作已经结束,并确定了果蝇细胞中包含约13 600个基因。在对果蝇与人类基因的比较中发现,三分之二引发人类疾病的基因(包括与脑疾病、神经分化以及癌症有关的基因)在果蝇基因组中存在着相似基因。

2. 果蝇的生活史及其形态变化

果蝇生活史包括卵、幼虫、蛹和成虫四个连续的发育阶段,属完全变态发育。羽化后的雌蝇一般在12 h后才有交配能力,2 d后开始产卵,卵白色,长椭圆形,长约0.5 mm,背面前端有两条触丝,便于附着在食物或瓶壁上。幼虫从卵中孵出后,经两次蜕皮而发育成三龄幼虫,长4~5 mm,肉眼观察可见一端稍尖且有一黑点(口器)的为头部,稍后有一对半透明的唾液腺,每条唾液腺前有一唾液管向前延伸,然后汇合成一条导管通向消化道,消化道前端的上方有一神经节,通过体壁可见一对生殖腺位于身体后半部的上方两侧,精巢较大,外观为

一个明显的斑点,卵巢较小。三龄幼虫从培养基中爬出附在瓶壁上化蛹,蛹呈梭形,起初颜色淡黄、柔软,以后逐渐硬化变为深褐色,这表明蛹将要羽化了。蛹羽化为成虫,刚从蛹壳里羽化而出的成虫虫体较长,翅未展开,体表也未完全几丁质化,呈乳白色半透明状,虫体体色逐渐加深,虫体变粗短而呈椭圆形,双翅伸展。

果蝇一个生活周期所需时间因饲养温度和营养条件而异,生活周期的长短与温度的关系如表 1.1 所示。营养条件适宜,果蝇在 20℃~25℃条件下生活力较高,从卵到成虫约 10 d,在 25℃时成虫约存活 15 d。温度过高或过低都会使其生活力降低、不育甚至死亡。一对雌雄果蝇能产生几百个后代。果蝇一般培养在恒温箱内,盛夏时要注意降温。

表 1.1 果蝇生活周期与温度的关系

温度 生活周期	10℃	15℃	20℃	25℃
卵→幼虫			8 d	5 d
幼虫→成虫	57 d	20 d	7 d	4 d

三、实验仪器与材料

1. 实验材料

收集的野生型果蝇,培养的突变型果蝇:白眼(w)、残翅(vg)、黑檀体(e)。

2. 实验器具

解剖镜、放大镜、镊子、麻醉瓶、白瓷板或白纸板、生化培养箱、毛笔及常用工具。

3. 实验药品

乙醚、丙酸、琼脂、蔗糖、香蕉等。

四、实验方法

(一)自然界果蝇的收集

用果皮吸引法收集果蝇。

(二)果蝇的性状观察

1. 果蝇成虫的性别鉴别

果蝇性别在幼虫期较难区别,成虫期区别明显,用肉眼或放大镜均可鉴别,性梳是鉴别雌雄果蝇的最可靠指标,雌雄果蝇成虫的主要区别见表 1.2。

表 1.2 果蝇成虫雌雄个体的主要特征

形态特征	雌 蝇(♀)	雄 蝇(♂)
体 形	较大	较小
腹部末端	稍尖,无黑斑	钝圆,有黑斑
背部条纹	7条(可见5条)	5条(可见3条,最后一条宽且延伸至腹面,呈明显黑斑)
腹片数	6片	4片
性梳	无	有,位于前肢附节上
外生殖器	外观简单,低倍镜下明显看到阴道板和肛上板	外观复杂,低倍镜下明显看到生殖弧、肛上板及阴茎(刚孵出的幼蝇更清楚)

2. 果蝇常见的性状突变及实验中常用的一些突变类型

成虫的形态特征:野生型果蝇为红眼、灰身、长翅、直刚毛。突变型果蝇与野生型果蝇有

明显区别。常用于杂交实验的突变性状有白眼、乌身(又叫黑檀体,其新生蝇略浅)、黑体(体色比黑檀体深)、黄体(体色黄,细毛与鬃毛为棕色并有黄色尖端,翅毛及脉为黄色)、残翅(翅显著退化,部分残存,不能飞)、小翅(翅比野生型短小,只比腹部略长)、焦刚毛(刚毛卷曲如烧焦状)等(见表1.3)。

表 1.3 果蝇中常见的一些突变类型

突变类型	基因符号	表型	基因定位
野生型	+	红眼、长翅、灰身、直刚毛	
白眼	w	复眼白色	X ^{1.5}
棒眼	B	复眼棒状、小眼数少	X ^{57.0}
残翅	vg	翅退化、不能飞	II R ^{67.0}
小翅	m	翅小,比腹部略长	X ^{36.1}
焦刚毛	sn	刚毛卷曲	X ^{21.0}
黑檀体	e	体乌木色、黑亮	III R ^{70.7}
黄体	y	体呈浅黄色	X ^{0.0}

3. 果蝇的麻醉处理

在果蝇的性状观察、性别鉴定以及杂交亲本接种等操作中,应先将果蝇麻醉,使其保持安静状态。麻醉方法如下:

(1)准备一只与培养瓶口径相同的空瓶作为麻醉瓶,并配以脱脂棉塞。

(2)去掉培养瓶棉塞,立即与麻醉瓶口相对,培养瓶在上,一手稳住两瓶,另一手轻轻震拍培养瓶,使果蝇落入麻醉瓶中。

(3)滴数滴乙醚于麻醉瓶棉塞内,迅速将两瓶塞住,约30 s,麻醉瓶内的果蝇即处于麻醉状态。

注意:不能麻醉过度。若蝇翅呈45°角翘起,表明麻醉过度,不能复苏而死亡。

将麻醉后的果蝇放在白瓷板或白纸板上,用毛笔刷移动检查,根据需要用肉眼、放大镜或解剖镜观察。不再使用的果蝇务必倒入死蝇盛留器中及时处死,防止品系间混杂。

注意:乙醚是神经麻醉剂,果蝇的麻醉操作应在有通风装置的实验室中进行。

(三)果蝇的饲养

1. 培养基的配制

果蝇以酵母菌为食,常采用发酵培养基繁殖的酵母菌来饲养果蝇。培养基常用玉米粉、米粉或香蕉配制,其配方见表1.4。

表 1.4 果蝇培养基的几种配方

成分	玉米粉培养基	米粉培养基	香蕉培养基
水(mL)	150	100	50
琼脂(g)	1.5	2	1.6
蔗糖(g)	13	10	—
香蕉浆(g)	—	—	50
玉米粉(g)	17	—	—
米粉(g)	—	16	—
酵母粉(g)	1.4	1.4	1.4
丙酸(mL)	1	1	0.5~1



香蕉培养基的配制:将熟透的香蕉捣碎,制成香蕉浆(约50 g),把1.6 g琼脂加到50 mL水中煮沸,再拌入香蕉浆,煮沸,待稍冷后加入酵母粉1.4 g、丙酸0.5~1 mL,充分调匀后分装于培养瓶中。

注意:分装前将饲养瓶、棉塞、吸水纸及其他用具和器皿高压蒸汽灭菌(121 ℃, 15 min)。分装时若瓶口较小,用大漏斗将培养基倒入,勿使培养基粘附在瓶壁上。若无干酵母粉,可于饲料分装后滴几滴酵母液于培养基表面,待培养基冷却后,用酒精棉球或吸水纸将瓶壁上的水汽擦净,塞上棉塞。

2. 原种培养

不同品种的果蝇应分别繁育。原种培养应先查亲本纯度,再将轻度麻醉的果蝇用毛笔刷刷入倾斜的新培养瓶瓶壁上,待其苏醒后再将培养瓶直立,以免果蝇粘附在培养基上不能动弹而死亡。原种置于25 ℃恒温箱中培养,因培养基中酵母发酵产热,温度稍有上升,恒温箱温度可稍低于25 ℃。每2~4周换一次培养基,同时检查原种是否混杂。培养瓶上一定要贴标签,标明性状及移入日期。

(四)果蝇的生活史及其形态观察

对于收集到的野生果蝇,进行简单的灭菌处理后饲养,并在饲养过程中进行生活史及其形态的观察。

五、作业与思考

1. 果蝇的生活史分为几个阶段? 对你所观察到的果蝇的形态及生活史进行描述分析。
2. 果蝇与家蝇有哪些区别? 能否用家蝇作为遗传学实验材料?

实验二 果蝇的单因子杂交实验

一、实验目的

- (1) 学习果蝇的测交方法。
- (2) 学习并掌握果蝇杂交技术和杂交结果的统计处理方法。
- (3) 验证遗传的基本定律——孟德尔分离定律, 加深对此定律的理解。

二、实验原理

单因子杂交是指一对等位基因间的杂交。根据孟德尔的颗粒遗传学理论, 基因是一个独立的结构与功能单位, 一对杂合状态的等位基因(如 $A-a$), 在遗传上保持相对的独立性, 在减数分裂形成配子时, 等位基因 A 与 a 随同源染色体的分离而分配到不同的配子中。理论上配子(含有基因 A)与配子(含有基因 a)的分离比是 $1:1$, 因此杂合体自交的后代基因型分离比 $AA:Aa:aa$ 为 $1:2:1$, 如果等位基因 A 对 a 是完全显性, 则 F_2 的表型分离比为 $3:1$, 如图 2.1。

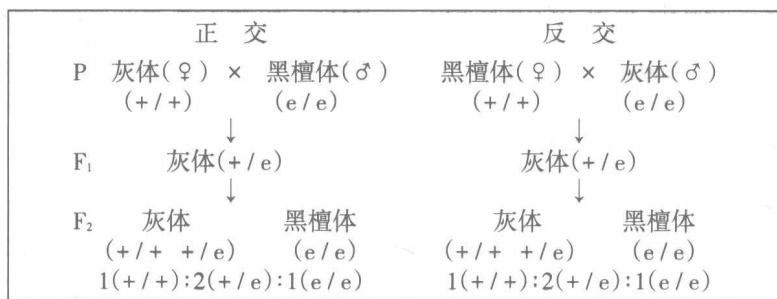


图 2.1 果蝇单因子杂交——分离定律示意图

三、实验仪器与材料

1. 实验材料

黑腹果蝇: 野生型灰体果蝇($+/+$)、突变型黑檀体果蝇(e/e)。其中, 果蝇的灰体基因对黑檀体基因是完全显性。

2. 实验器具

显微镜、放大镜、镊子、麻醉瓶、白瓷板、恒温培养箱、培养瓶、毛笔、滤纸、标签、培养皿等器具。

3. 实验药品

乙醚、75%乙醇、玉米粉、琼脂、白砂糖、酵母粉、丙酸等。

四、实验方法

1. 选择处女蝇

放出并杀死培养瓶中的全部成蝇, 收集羽化后未超过 8 小时的果蝇, 雌、雄分开培养, 此时的雌蝇即为处女蝇, 可提前 2~3 d 收集。

2. 杂交

一组做正交、一组做反交,正反交各1瓶。麻醉、选取果蝇,每瓶放5对,确保杂交瓶中每只果蝇完全苏醒,没有死蝇。贴好标签,于25℃恒温箱中培养。

3. 移走亲本

7 d后,待 F_1 幼虫出现后即可移出亲本。

4. 观察 F_1

再过4~5 d, F_1 成蝇出现,连续观察2~3 d,或集中观察记录 F_1 表型,主要是体色的形态观察。

5. F_1 互交与测交

选取正交、反交各5对 F_1 果蝇,分别转入一新培养瓶中,进行兄妹交配繁殖(此时不需处女蝇),贴好标签,于25℃恒温培养箱中培养;另再选 F_1 代的处女蝇与突变性亲本的雄蝇(黑檀体)各3~5只,移入另一个新培养瓶中,进行测交实验。

6. 移去亲本

7 d后,待 F_2 幼虫出现后即可移出并处死 F_1 亲本果蝇。

7. 观察 F_2

再过5 d, F_2 成蝇出现,观察 F_2 的体色后将其处死,连续观察统计7~8 d。

注意:统计过的果蝇一定要处死,处死的方法是放入酒精瓶中淹死。

8. 数据处理及统计分析

(1)观察并统计正、反交 F_1 果蝇的表型及个体数,填入表2.1,比较正、反交结果,分析基因间的显、隐性关系。

表2.1 杂交 F_1 果蝇的表型统计

观察结果 统计日期	灰体(♀)×黑檀体(♂)		黑檀体(♀)×灰体(♂)	
	灰体	黑檀体	灰体	黑檀体

(2)观察并统计正、反交 F_2 果蝇的表型及个体数,填入表2.2,计算不同表型个体数的比例,比较正、反交实验结果。

表2.2 杂交 F_2 果蝇的表型统计

观察结果 统计日期	灰体(♀)×黑檀体(♂)		黑檀体(♀)×灰体(♂)	
	灰体	黑檀体	灰体	黑檀体

(3)根据实验结果,对该实验 F_2 的统计结果做 χ^2 检验,填入表2.3。

表 2.3 对 F_2 果蝇的统计结果做 χ^2 检验

	野生型 (正、反交合并)	突变型 (正、反交合并)	总计
实际观察数(O)			
预期数(E)			
偏差($O-E$)			
$(O-E)^2/E$			

自由度 = $n-1$, $\chi^2 = (O-E)^2/E$

计算期望值,查 χ^2 表,结果进行差异显著水平检验,确定假说的有效性。

五、作业与思考

1. 对实验现象及结果进行描述分析。
2. 为了保证实验结果的准确性,在统计 F_2 黑檀体果蝇数据时应该注意哪些方面的问题?
3. 杂交实验中为什么亲本雌蝇要选用处女蝇?怎样才能保证所选雌蝇为处女蝇?在进行杂交和 F_1 雌雄交配一段时间后为什么要移走杂交亲本?

实验三 果蝇的双因子杂交实验

一、实验目的

- (1)了解果蝇双因子杂交实验的原理和方法。
- (2)验证并加深理解两对非等位基因间的自由组合现象和遗传规律。

二、实验原理

果蝇的灰体(E)与黑檀体(e)为一对相对性状,位于染色体ⅢR^{70.7}上,而长翅(Vg)与残翅(vg)为另一对相对性状,位于染色体ⅡR^{67.0}上。这两对基因是没有连锁关系的,是位于不同染色体上的非等位基因。

双因子杂交是指位于不同染色体上的两对非等位基因间的杂交,是在一对等位基因杂交的基础上进行的。根据孟德尔的颗粒遗传学理论,自由组合定律的实质是基因的分离是独立的,而在配子中非等位基因的自由组合产生四种比例相同的配子。如控制两对相对性状的两对非等位基因不是位于同一染色体上,同时都具有完全显、隐性关系,则在杂种二代会出现四种表型,比例为9:3:3:1,如图3.1。



图3.1 果蝇双因子杂交——自由组合定律示意图

三、实验仪器与材料

- 实验材料
黑腹果蝇品系:野生型灰体长翅果蝇(EEVgVg),突变型黑檀体残翅果蝇(eevgvg)。

2. 实验器具

显微镜、放大镜、镊子、麻醉瓶、白瓷板、恒温培养箱、培养瓶、毛笔、滤纸、标签、培养皿等器具。

3. 实验药品

乙醚、75%乙醇、玉米粉、琼脂、白砂糖、酵母粉、丙酸等。

四、实验方法

1. 选择处女蝇

放出并杀死培养瓶中的全部成蝇,收集羽化未超过8 h的果蝇,雌、雄分开培养,此时的雌蝇即为处女蝇。可提前2~3 d收集。

2. 杂交

一组做正交、一组做反交,正反交各1瓶。麻醉、选取果蝇,每瓶放5对,确保杂交瓶中每只果蝇完全苏醒,没有死蝇。贴好标签,于25℃恒温箱中培养。

注意:也可只做反交[黑檀体残翅 $eevgvg(\text{♀}) \times$ 灰体长翅 $EEVgVg(\text{♂})$],因残翅果蝇不能飞,只能爬行,用作母本比较好。

3. 移走亲本

7 d后,待 F_1 幼虫出现后即可移走亲本。

4. 观察 F_1

再过4~5 d, F_1 成蝇出现,连续观察2~3 d,或集中观察记录 F_1 表型,主要是身体颜色、翅膀的形态观察。

5. F_1 互交

选取正交、反交各5对 F_1 果蝇,分别转入一新培养瓶中(不需处女蝇),贴好标签,于25℃恒温培养箱中培养。

6. 移去亲本

7 d后,待 F_2 幼虫出现后即可移出并处死 F_1 亲本果蝇。

7. 观察 F_2

再过5 d, F_2 成蝇出现,观察 F_2 的身体颜色、翅膀形态后将其处死,连续观察统计7~8 d。

注意:统计过的果蝇一定要处死,方法是放入酒精瓶中淹死。

8. 数据处理及统计分析

(1)观察并统计正、反交 F_1 果蝇的表型及个体数,填入表3.1,比较正、反交结果,分析基因间的显、隐性关系。

表3.1 双因子杂交 F_1 表型统计

统计日期 观察结果	灰体长翅(♀)×黑檀体残翅(♂)				黑檀体残翅(♀)×灰体长翅(♂)			
	灰体长翅	灰体残翅	黑檀体长翅	黑檀体残翅	灰体长翅	灰体残翅	黑檀体长翅	黑檀体残翅

(2)观察并统计正、反交 F_2 果蝇的表型及个体数,填入表3.2,计算不同表型个体数的比例,比较正、反交实验结果。

表3.2 双因子杂交 F_2 表型统计

统计日期 观察结果	灰体长翅(♀)×黑檀体残翅(♂)				黑檀体残翅(♀)×灰体长翅(♂)			
	灰体长翅	灰体残翅	黑檀体长翅	黑檀体残翅	灰体长翅	灰体残翅	黑檀体长翅	黑檀体残翅

(3)根据实验结果,对该实验 F_2 的统计结果做 χ^2 检验,填入表3.3。