

犬毛色、毛色基因型及性别与导盲犬培训成功率的相关性研究*

俞剑熊 张雅丽 周子娟 赵明媛 韩芳 王福金 王爱国 王靖宇

(大连医科大学实验动物中心,大连 116044)

摘要:目的 探究拉布拉多犬与金毛猎犬的毛色、毛色基因型及性别对导盲犬培训成功率的影响。方法 采用PCR/测序方法对45只拉布拉多犬和16只金毛猎犬的毛色基因MC1R(c. C916T)、TYRP1(c. C991T)位点进行多态性检测,并对基因型加以分型,探讨犬毛色及毛色基因型与导盲犬培训成功率的相关性。另外对中国导盲犬大连培训基地犬只的性别进行统计分析,探讨犬性别与导盲犬培训成功率的关系。结果 金毛猎犬共检测16只(14雄2雌),毛色表型均为金黄色,毛色基因型均为eeBB基因型;拉布拉多犬共检测45只(23雌22雄),毛色表型为黄色(23只)与黑色(22只),毛色基因型分别为eeBB、eeBb、EEBb、EeBB、EeBb。通过 χ^2 检验的关联度分析,拉布拉多犬与金毛猎犬的毛色及毛色基因型与导盲犬培训成功率无显著相关性($P > 0.05$),另外,拉布拉多犬与金毛猎犬的性别与导盲犬成功率也无显著相关性($P > 0.05$)。结论 拉布拉多犬和金毛猎犬的毛色、毛色基因型及性别与导盲犬成功率没有显著相关性,不能作为预测导盲犬培训成功率的有效指标。

关键词:拉布拉多犬;金毛猎犬;毛色基因型;导盲犬培训成功率

中图分类号: Q38 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2014)06-0032-04

导盲犬的低培训成功率(30%—40%)是导盲犬培训成本高(15万元/只)的主要原因^[1]。因此,寻找预测待训犬培训成功率的有效方法是目前亟需解决的问题。目前,国内外的研究主要通过行为学测试来筛选待训犬,以提高导盲犬培训成功率^[2,3]。但行为学测试须依据犬不同成长阶段的行为特点,应用不同的测试方法和标准来判断犬的行为,操作繁琐。另外,行为学测试中犬的行为受多种因素影响,如寄养家庭环境、训练方法、判定标准等^[4],不能十分客观地对犬进行早期预测。而遗传学指标具有稳定、客观、操作简便等优点,是早期筛选待训犬和种犬的良好方法。但目前,尚有待建立有效的遗传指标。有研究表明,犬毛色对导盲犬培训成功率存在显著影响^[5]。但至今还没有从遗传学角度探讨毛色基因型与导盲犬培训成功率之间关系的报道。因此,本研究通过已建立的犬毛色基因型检测方法^[6],对中国导盲犬大连培训基地的拉布拉多犬及金毛猎犬的毛色及毛色基因型进行检测、分析,探

究犬毛色及毛色基因型与导盲犬培训成功率的关系。另外,还分析了犬性别与导盲犬培训成功率的关系,以期探寻有效的遗传学指标,对待训犬的培训前景进行有效的早期预测。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:用于毛色基因型鉴定的犬只为:拉布拉多犬45只,金毛猎犬16只;用于性别分析的犬只为:拉布拉多犬61只,金毛猎犬32只。犬只及相关信息均由中国导盲犬大连培训基地提供。

1.1.2 主要试剂与仪器:真空采血管,购于江苏康健医疗用品有限公司(许可证号:苏食药监械生产许2001-0330号);Blood Extraction Kit试剂盒,购于宝生物(大连)生物技术有限公司;琼脂糖凝胶回收试剂盒,购于北京天根生化科技有限公司。主要仪器包括PCR仪(美国Thermo公司);电泳仪(北京百晶生物技术有限公司);Gel DocTM EZ 成像仪(Bio

收稿日期:2014-11-19

* 基金项目:国家自然科学基金(No. 31272392)

作者简介:俞剑熊(1989-),男,硕士。研究方向:动物遗传学,E-mail: yujianxiongzy@163.com

通信作者:王靖宇 E-mail: wangjingyus@163.com;王爱国, E-mail: wangaiquottl@hotmail.com

RAD 公司)等。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取:犬前肢静脉采血 5 mL,装于含 EDTA 抗凝剂的真空采血管中。采用 Blood Extraction Kit 试剂盒提取血细胞中的基因组 DNA。

1.2.2 特异性 DNA 片段获取

PCR 引物: MC1R (上游: CTGCAACTCCATCA TTGACC;下游:CTGCCAGCACCTGGCCTC, 123 bp)、TYRP1 (上游: ACCAATGGTGCAACGTCTTCCT-GA ACCG;下游: GCCTTCCACTGTGTTTCGGAAACT G, 120bp)^[7]。

PCR 反应条件:预变性 94℃ 5 min;PCR 循环: MC1R:94℃ 30 s (TYRP1:94℃ 1 min), 64℃ 30 s (TYRP1:60℃ 1 min), 72℃ 30 s (TYRP1:72℃ 1 min),循环 40 次;72℃ 延伸 7 min^[8]。凝胶成像系统显影。

1.2.3 毛色基因型检测及分析:采用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收、纯化 PCR 产物,然后直接测序。测序数据由宝生物(大连)生物技术有限公司提供。通过对 MC1R 和 TYRP1 基因的 SNP 位点鉴定,分析犬毛色基因的突变类型及其纯合或杂合状态,确定犬的毛色基因型。

1.3 统计方法

采用软件 SPSS13.0 进行处理,应用 χ^2 检验对毛色、毛色基因型及性别与导盲犬培训成功率的关系进行关联度分析, $P < 0.05$ 为显著相关。

2 结果

2.1 犬毛色与导盲犬培训成功率的关系

实验所用犬只均由中国导盲犬大连培训基地提供。金毛猎犬共 16 只,均为金黄色,无法与导盲犬培训成功率进行相关性分析。拉布拉多犬共 45 只,其中黄色犬 23 只,黑色犬 22 只; χ^2 检验关联度分析结果表明,拉布拉多犬毛色与导盲犬培训成功率之间无显著相关性($P = 0.458$)(见表 1)。

表 1 犬毛色与培训成功率的关系

Table 1 The relationship between coat color and the success rate of dog training

品种	数量/只	黄色		黑色		P 值
		成功	失败	成功	失败	
拉布拉多犬	45	10	13	12	10	0.458
金毛猎犬	16	14	2	/	/	/

2.2 犬毛色基因多态性分析

依据已建立的 PCR/测序方法,对犬只毛色的决定性基因 MC1R(c.916)和 TYRP1(c.991)的 SNP 位点进行检测并分型。MC1R 基因 c.916 位点检测到纯合 C、纯合 T 和 C/T 杂合三种类型。出现纯合 C 的样本为 EE 基因型,出现纯合 T 碱基的样本为 ee 基因型,出现 C/T 杂合碱基样本为 Ee 基因型。TYRP1 基因 c.991 位点检测到纯合 C、C/T 杂合两种类型。出现纯合 C 的样本为 BB 基因型,出现 C/T 杂合的样本为 Bb 基因型。但未检测到 TYRP1 基因的纯合 T 样本,即未检测到 bb 基因型样本(见图 1)。

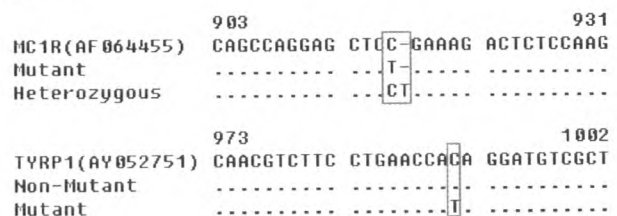


图 1 MC1R/TYRP1 测定序列比对

注:框内为突变位点;Heterozygous;杂合突变类型;Mutant;突变类型。

Fig. 1 MC1R/TYRP1 sequence alignment

Note: Box showed the mutation loci; Heterozygous; Heterozygous mutation type; Mutant: Mutation type.

依据上述建立的毛色基因型鉴定方法,犬只的测序结果统计如下:拉布拉多犬 MC1R 基因存在 EE、Ee、ee 三种基因型, TYRP1 基因存在 BB、Bb 两种基因型;金毛猎犬 MC1R 基因仅存在 Ee 一种基因型, TYRP1 基因仅存在 BB 一种基因型(见表 2)。

表 2 犬毛色基因多态性

Table 2 The polymorphisms of coat color gene

犬种	数量/只	MC1R			TYRP1		
		EE	Ee	ee	BB	Bb	bb
拉布拉多犬	45	3	19	23	33	12	0
金毛猎犬	16	0	0	16	16	0	0

2.3 犬毛色基因型与导盲犬培训成功率的相关性

由于金毛猎犬仅存在一种基因型,因此,无法统计其毛色基因型与导盲犬培训成功率的相关性。拉布拉多犬存在多种基因型(表 3)。 χ^2 检验关联度分析结果表明,黄色两种基因型与导盲犬培训成功率之间无显著相关性($P = 0.845$);黑色三种基因型与导盲犬培训成功率之间无显著相关性($P = 0.314$);五种基因型与导盲犬培训成功率之间均无显著相关性($P = 0.592$)。因此,拉布拉多犬毛色基因型与导盲犬培训成功率之间无显著相关性。

表 3 拉布拉多犬毛色基因型统计

Table 3 The statistics of Labrador coat color genotype

毛色	基因型	数量/只	成功犬/只	淘汰犬/只	P 值
黄色	eeBb	4	2	2	0.845
	eeBB	19	8	11	
	EeBB	14	9	5	
黑色	EeBb	4	1	3	0.314
	EEBb	3	1	2	

2.4 犬性别与导盲犬培训成功率的关系

通过对中国导盲犬大连培训基地 2011 年以来毕业和淘汰的犬只进行统计,拉布拉多犬共 61 只(31 雌 30 雄),金毛猎犬共 32 只(6 雌 26 雄)。 χ^2 检验关联度分析结果表明,拉布拉多犬的性别与导盲犬培训成功率之间无显著相关性($P=0.934$),金毛猎犬的性别与导盲犬培训成功率之间也无显著相关性($P=0.568$),见表 4。

表 4 犬性别与培训成功率的关系

Table 4 The relationship between gender and the success rate of dog training

品种	数量/只	雌性/只		雄性/只		P 值
		成功	失败	成功	失败	
拉布拉多犬	61	9	22	9	21	0.934
金毛猎犬	32	4	2	14	12	0.568

3 讨论

目前,仅 Lara 等人报道了毛色对导盲犬培训成功率具有显著影响的研究结果^[5,9]。而在本研究中,我们对中国导盲犬大连培训基地拉布拉多犬的毛色及毛色基因型的分析结果表明:拉布拉多犬毛色及毛色基因型与导盲犬培训成功率并无显著相关性。这些数据对 Lara 等人的研究结论提出了质疑。可见,毛色对导盲犬培训成功率的影响作用需要更多不同研究人员的证实。另外,金毛猎犬毛色(金黄色)及毛色基因型(eeBB)单一,无法对导盲犬的培训成功率进行预测。

Godard 等人的研究发现,雌性拉布拉多犬比雄性具有较高的培训成功率^[10]。Lara 等人的研究结果表明雌性拉布拉多犬有较高的培训成功率,而雌性金毛猎犬的培训成功率最低^[9]。但我们对中国

导盲犬大连培训基地的拉布拉多犬和金毛猎犬的性别统计结果表明,犬的性别与导盲犬培训成功率并无显著相关性。

综上所述,中国导盲犬大连培训基地的拉布拉多犬与金毛猎犬毛色、毛色基因型及性别与导盲犬培训成功率不存在显著相关性。我们的结果与已有的研究结果不同,可能是不同导盲犬基地的犬遗传背景、培训与鉴定体系等存在差异的原因所致。但可以明确的是,犬的毛色、毛色基因型及性别不能作为中国导盲犬大连培训基地预测导盲犬培训成功率的有效指标。

参考文献

- [1] 王福金,王爱国,王亮,等. 偏侧性测试在预测成功导盲犬中的应用[J]. 实验动物科学, 2012, 29(3): 57—60, 63.
- [2] Goddard M E, Beilharz R G. Early prediction of adult behavior in potential guide dogs[J]. Appl Anim Behav Sci, 1986, 15(3): 247—260.
- [3] Murphy J A. Assessment of the temperament of potential guide dogs[J]. Anthrozoos, 1995, 8(4): 224—228.
- [4] 王爱国,王福金,王亮,等. 气质测试在导盲犬培育中的应用[J]. 畜牧与兽医, 2012, 44(2): 45—47.
- [5] Lara S B, Batt M S, Baguley J A, et al. Factors associated with success in guide dog training[J]. J Vet Behav, 2008, 3(4): 143—151.
- [6] 俞剑熊,张雅丽,周子娟,等. 拉布拉多犬与金毛猎犬毛色基因 MC1R (R306ter) 与 TYRP1 (Q331ter) SNP 位点的检测[J]. 实验动物科学, 2014, 31(3): 37—41.
- [7] Schmutz S M, Melekhovets Y. Coat color DNA testing in dogs: Theory meets practice[J]. Molecular and Cellular Probes, 2012, 26(6): 238—242.
- [8] Schmutz S M, Berryere T G, Goldfinch A D. TYRP1 and MC1R genotypes and their effects on coat color in dogs[J]. Mamm Genome, 2002, 13(7): 380—387.
- [9] Batt L, BAgSc (Hons), Batt M, et al. The effects of structured sessions for juvenile training and socialization on guide dog success and puppy-raiser participation[J]. Journal of Veterinary Behavior, 2008, 3(5): 199—206.
- [10] Goddard M E, Beilharz R G. Genetic and environmental-factors affecting the suitability of dogs as guide dogs for the blind[J]. Theor. Appl. Genet. 1982, 62(2): 97—102.

Investigation of the Correlation of Coat Color, Genotypes of Coat Color and Sex with the Training Success Rate of Guide Dogs

YU Jian-xiong, ZHANG Ya-li, ZHOU Zi-juan, ZHAO Ming-yuan, HAN Fang,
WANG Fu-jin, WANG Ai-guo, WANG Jing-yu

(Laboratory Animal Center, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of coat color, genotypes of coat color and sex of Labrador retriever and Golden retriever on the training success rate of guide dogs. **Method** In order to analysis the correlation of the coat color or the genotypes of coat color with the training success rate of guide dogs, the polymorphism loci of coat color gene MC1R (c. C916T) and TYRP1 (c. C991T) were detected by using PCR/sequencing method, and then the genotypes were decided, for 45 Labrador retriever and 16 Golden retriever. In addition, the correlation between the sex and the training success rate of guide dogs was also analyzed by exploring the Guide dogs in China (Dalian) Guide dog training center. **Result** The genotype of 16 (14 male, 2 female) Golden retrievers (coat color: all gold) was all eeBB. The genotypes of 45 (22male, 23 female) Labrador retrievers (coat color: 23yellow, 22black) were eeBB, eeBb, EEBb, EeBB, EeBb, respectively. The results of chi-square correlation degree analysis showed that the coat color, and the genotypes of coat color, of Labrador retriever and Golden retriever had no significant correlation with the training success rate of guide dogs ($P > 0.05$). In addition, the sex of Labrador retriever and Golden retriever also had no significant correlation with the training success rate of guide dogs ($P > 0.05$). **Conclusion** The coat color, genotypes of coat color and sex have no significant correlation with the training success rate of guide dogs, and can not be used as the effective index to predict the training success rate of guide dogs.

Key words: Labrador retriever; Golden retriever; genotype of coat color; training success rate of guide dogs

(上接第 28 页)

tissue mass into the liver parenchyma via percutaneous transhepatic approach under DSA and CT guidance. **Method** Forty New Zealand rabbits were divided into A and B groups randomly with 20 rabbits each. The VX2 tumor tissue mass was implanted into rabbits liver guided through percutaneous transhepatic route guided by DSA and CT in group A and through epigastrium incision method in group B. On the second and third weeks after implantation, MR examination was performed and the rabbits were sacrificed to observe the tumor in situ and ectopia. **Result** In group A, the success rate of the liver VX2 tumor model was 90% with mean operation time of (17.3 ± 5.2) min and there was no episode of ascites and death with the exception of ectopia implantation in one case. In group B, successful establishment rate was 85% with average operation time as long as (17.3 ± 5.2) min and ascites and death were observed in three and two cases respectively. The difference of operation time between two groups was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The method of liver VX2 tumor implantation guided by DSA and CT via percutaneous transhepatic approach is simple with higher success rate and shorter operation time for making liver carcinoma model of rabbits.

Key words: VX2 liver cancer; animal model; DSA; CT; tumor model