

华南黄牛血液蛋白多态性及其应用研究

李加琪 杨关福 吴显华 张细权 丘 陵

(畜牧系)

摘要 本试验采用淀粉凝胶、醋酸纤维薄膜和聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定了海南牛、雷州牛和隆林牛的血红蛋白、血清白蛋白、血液碱性磷酸酶,血清转铁蛋白、血清后转铁蛋白和血清后白蛋白等6个多态位点的基因型和基因频率。为分析华南黄牛在中国黄牛中的地位,利用有关资料,计算了我国10种黄牛间的遗传距离;用类平均法对我国的主要黄牛品种进行聚类分析,绘出10个品种的树状聚类图;用主分量分析方法绘出各品种的三维空间分布图。结果表明,华南黄牛明显与北方及中原黄牛不同,华南地区黄牛是华南地区固有的品种,由当地驯化而来,形成过程渗入其他黄牛血液的结果。

关键词 黄牛;血液蛋白多态性;标准遗传距离;聚类分析;主分量分析

蛋白质检测技术的日益发展和数理统计分析方法的不断创新,开拓了应用血液蛋白多态性研究家畜品种资源的遗传组成,探讨品种的形成和相互关系的新途径。在国外,这个领域的研究已积累了丰富的资料,如 Namidawa 等^[1]应用系统聚类分析东南亚牛,朝鲜牛及日本牛的关系;又用主分量分析研究东亚牛与东南亚牛的关系。近年来,我国开展了黄牛血液蛋白多态性的研究工作,但华南地区黄牛作为我国黄牛的一个重要组成部分,迄今仍未有系统研究其血液蛋白多态性的报道。因此,我们用电泳法测定了海南牛,雷州牛和隆林牛6个血液蛋白多态性位点的基因型及基因频率,结合邱怀等报道的资料进行系统聚类分析和主分量分析。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的海南牛来自海南省海口市,琼山县、澄迈县和昌江县;雷州牛来自广东省、徐闻县、海康县;隆林牛来自广西壮族自治区来宾县黔江示范牧场。每头供试牛自颈静脉采血10 ml,常规方法制备血清和血红蛋白液。

1.2 电泳分析

用醋酸纤维薄膜电泳测定血红蛋白,淀粉凝胶电泳测定白蛋白,垂直聚丙烯酰胺凝胶电泳测定碱性磷酸酶,水平聚丙烯酰胺浓度梯度电泳测定转铁蛋白,后转铁蛋白和后白蛋白。

1.3 数据分析

1.3.1 标准遗传距离的计算 采用根并正利的标准遗传距离(D_{NJ})公式计算各品种间的遗传距离^[2]。公式如下:

1991-04-10 收稿

$$D_{xy} = -\ln \left[\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n X_{ij} Y_{ij}}{\sqrt{(\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n X_{ij}^2) (\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2)}} \right]$$

这里 X_{ij} 和 Y_{ij} 分别表示品种 X 和 Y 第 i 个位点上的第 j 个等位基因的频率; n 为所采用的位点数, 在此有血红蛋白, 后白蛋白, 转铁蛋白和碱性磷酸酶共4个位点, k 为第 i 个位点的等位基因数。

1.3.2 类平均法系统聚类分析 采用高之仁介绍的方法^[1], 通过遗传距离对10个品种黄牛按类平均法进行聚类, 绘树状聚类图, 如图1。

1.3.3 主分量分析 采用唐守正介绍的方法对10个品种在三维空间进行标位^[5], 如图2。

2 结果与分析

2.1 基因型频率与基因频率

6个多态位点的基因型与基因频率分别见表1和表2。由表可见, 3种黄牛的6个位点基因型和基因频率相差不大, 海南牛和雷州牛更为相似。从生态类型看, 这3种黄牛都属热带亚热带黄牛, 主要分布于广东、广西和海南, 地理位置上相距不远, 生态环境也很相似, 形成了生态遗传特征相似的黄牛群体。

表1的卡方检验显示, 除雷州牛的 Tf 位点和隆林牛的 Ptf 位点外, 其余均符合哈代——温伯定律, 说明就血液蛋白型位点来说, 3个品种的供试群体是一个随机交配的群体, 人为因素并未影响血液蛋白型基因频率分布, 因而能反映家畜品种的内在遗传特征。

由表2可知, 3种华南黄牛的血红蛋白位点都有 Hb^A、Hb^B、Hb^C 基因, 其中海南牛和雷州牛中 Hb 基因频率分布很相似, 反映出这两种黄牛的密切关系; 值得注意的是这3种黄牛的 Hb^C 频率都很高, 与东南亚国家本地牛相似, 也与邱怀等^[4]测定的7种黄牛的结果相似, 此外, 张才骏^[6]在关于牛 Hb 多态性的综述中谈及, 大部分欧洲血统牛只有 Hb^A; 瘤牛血统牛, 亚洲和非洲等地牛则一般有 Hb^A 和 Hb^B, 这说明华南黄牛与欧洲牛不同, 具有亚洲牛的特点。

血清白蛋白位点上, 3种黄牛的 BB 型频率最高, AB 型次之, 海南牛出现 BC 型和 CC 型, 雷州牛出现 BD 型。从基因频率上看 Aib^B 频率都在0.9以上, 佐佐木清纲指出^[7], 亚洲牛, 瘤牛及有瘤牛血统牛的 Aib^B 频率高, 欧洲牛的 Aib^A 频率高。本结果与此相仿; 但在海南牛和雷州牛中分别出现 Aib^C 和 Aib^D 基因, 这可能是由于湛江地区, 海南岛曾引进辛地红牛对当地黄牛作过杂交改良, 因而渗入了辛地红牛血液的结果, 据 Singh 等^[10]报道辛地红牛是有 Aib^C 和 Aib^D 基因的。

碱性磷酸酶与众多的研究一样, 出现有由 F^A 和 F^O 基因控制的 FA 表型和 FO 表型, FA 有着色较深的 A 带, FO 则没有, FA 对 FO 为完全显性。

血清转铁蛋白位点的等位基因颇多, 表型极其复杂, 3种黄牛都各自有自己的特色, 从基因频率上看, Tf^F 的频率都很高, 海南牛中还有 Tf^G 基因, 这与我国其他黄牛的区别很明显, 曾有报告说^[7], 瘤牛中有 Tf^F 和 Tf^G, 这说明华南黄牛与瘤牛有一定的亲缘关系。

后白蛋白位点上, 3种黄牛都有由 Pa^A 和 Pa^B 控制的 AA, AB, BB 表型, 许多研究表明, 西门塔尔牛及欧洲牛的 Pa^B 较高, 而亚洲牛, 特别是受瘤牛影响大的品种, Pa^B 较低, 本研究的结果表明华南黄牛受瘤牛影响。

血清后转铁蛋白-1位点上出现有由 Ptf^A 和 Ptf^B 控制的 AA, AB, 和 BB 型, 海南牛中

还有 BC 型的个体, Gahne 等^[8]对欧洲几个品种牛的研究指出该位点没有发现变异型, 可见华南黄牛与欧洲牛有区别。

表1 基因型频率表

位 点	基因型	雷州牛		隆林牛		海南牛	
		数 量	频 率	数 量	频 率	数 量	频 率
Hb	AA	49	0.485	54	0.546	74	0.369
	AB	10	0.099	10	0.100	12	0.059
	AC	26	0.257	27	0.274	80	0.402
	BC	3	0.030	5	0.050	8	0.042
	CC	13	0.129	3	0.030	26	0.128
A1b	BC	0	0.000	0	0.000	3	0.016
	CC	0	0.000	0	0.000	2	0.011
	AB	5	0.048	16	0.160	11	0.060
	BB	99	0.943	84	0.840	169	0.913
	BD	1	0.009	0	0.000	0	0.000
Akp	FA	17	0.162	19	0.190	24	0.120
	FO	88	0.838	81	0.810	176	0.880
Tf	AA	9	0.088	1	0.005	0	0.000
	AD1	0	0.000	0	0.000	1	0.009
	AD2	1	0.009	2	0.020	0	0.000
	AE	1	0.009	0	0.000	0	0.000
	AF	2	0.018	11	0.110	7	0.044
	D1D1	1	0.009	0	0.000	0	0.000
	D1D2	1	0.009	1	0.010	0	0.000
	D2D2	6	0.058	2	0.020	0	0.000
	D2E	0	0.000	0	0.000	1	0.009
	D2F	0	0.000	0	0.000	7	0.044
	EE	10	0.089	7	0.070	9	0.061
	EF	2	0.019	13	0.130	38	0.254
	FF	70	0.680	66	0.660	34	0.561
	BF	0	0.000	0	0.000	1	0.009
Pa	AA	27	0.284	35	0.350	32	0.222
	AB	37	0.390	40	0.400	82	0.570
	BB	31	0.326	25	0.250	29	0.208
Ptf	AA	38	0.400	46	0.460	40	0.285
	BB	29	0.305	29	0.290	24	0.171
	BC	0	0.000	0	0.000	1	0.008
	AB	28	0.295	25	0.250	76	0.536

2.2 标准遗传距离

各品种间遗传距离见表3,海南牛与雷州牛间的遗传距离最小,其次是隆林牛与雷州牛,华南黄牛与其余中国黄牛的遗传距离较大,说明它们之间的遗传组成有较大的差异。

2.3 聚类分析

类平均法聚类如图1,首先海南牛和雷州牛聚为一类,再与隆林牛聚为一类;最后才与我国其他黄牛聚为一大类,可见华南黄牛是有其独自特征和遗传组成的。主分量分析对我国黄牛品种在三维空间的标位结果如图2,图中也清楚地说明了这一点。

3 讨论

聚类分析的结果表明,华南黄牛与我国其他黄牛品种一样,虽然都有亚洲牛的特点,但又有各自的特征,华南黄牛与我国北方及中原地区黄牛有不同之处,单独聚为一类,从基因频率上看与秦川牛,晋南牛和南阳牛这一类黄牛的亲缘关系较近。还可以从基因频率分布上看出,华南地区黄牛在品种形成过程中受瘤牛的影响很大,这与体型外貌的相似及历史资料记载是相吻合的。

表2 基因频率表

位点	基因	频率		
		雷州牛	隆林牛	海南牛
Hb	A	0.663	0.732	0.600
	B	0.065	0.076	0.050
	C	0.272	0.192	0.350
Alb	A	0.024	0.080	0.030
	B	0.971	0.920	0.951
	C	0.000	0.000	0.019
	D	0.005	0.000	0.000
Tf	A	0.107	0.075	0.026
	D1	0.013	0.005	0.005
	D2	0.068	0.045	0.026
	E	0.112	0.085	0.193
	F	0.700	0.790	0.741
	B	0.000	0.000	0.009
Pa	A	0.479	0.550	0.507
	B	0.521	0.450	0.493
Ptf	A	0.548	0.585	0.553
	B	0.452	0.415	0.443
	C	0.000	0.000	0.004
Akp	F ⁺	0.085	0.100	0.062
	F ^o	0.915	0.900	0.938

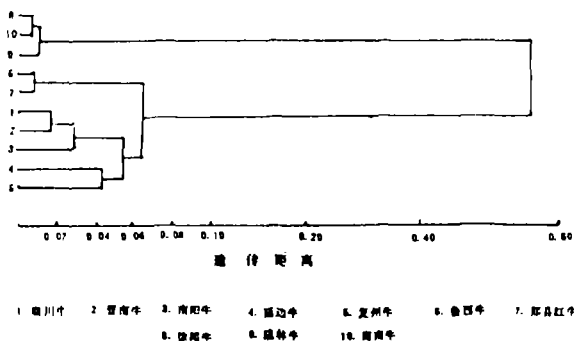


图1 类平均法系统聚类图

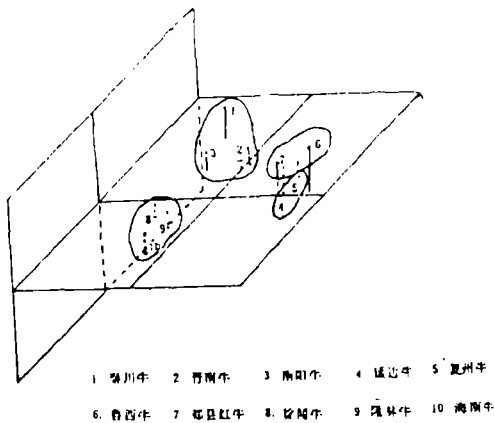


图2 三维空间分布图

表3 遗传距离

品种	秦川牛	晋南牛	南阳牛	延边牛	复州牛	鲁西牛	郑县红牛	徐闻牛	隆林牛	海南牛
秦川牛	0									
晋南牛	0.015 0	0								
南阳牛	0.028 5	0.019 2	0							
延边牛	0.021 8	0.040 5	0.072 0	0						
复州牛	0.046 1	0.041 1	0.061 7	0.041 8	0					
鲁西牛	0.058 6	0.074 5	0.091 9	0.046 5	0.047 8	0				
郑县红牛	0.040 9	0.069 4	0.078 0	0.035 7	0.050 0	0.006 3	0			
徐闻牛	0.414 1	0.534 5	0.418 7	0.545 5	0.700 2	0.575 4	0.525 0	0		
隆林牛	0.392 0	0.519 8	0.107 5	0.513 2	0.648 5	0.538 2	0.488 2	0.006 1	0	
海南牛	0.472 1	0.600 2	0.105 7	0.631 8	0.768 5	0.645 6	0.590 0	0.006 0	0.134	0

海南牛与雷州牛在基因型和基因频率上，特别是在Hb位点的相似性说明它们之间关系之密切。另据历史学考证^[1]，雷州半岛，海南岛历史上相连，于第四纪断层发生后，才陷落成琼州海峡，两地分开，但两地黄牛常有往来，表3所示，这两种黄牛的遗传距离也非常小，不同的聚类分析同样表明，这两种黄牛最为相似，因此，血液蛋白多态性方面的资料为许多学者将海南牛和雷州牛统称为雷琼牛提供了佐证。

参 考 文 献

1 《广东省家畜家禽品种志》编辑委员会、广东省畜牧局、广东省家畜家禽品种志. 广州：广东科技出版社，1988. 199~206

2 根井正利. 分子群体遗传学与进化论. 北京：农业出版社，1988. 169~203

3 高之仁. 数量遗传学. 成都：四川大学出版社，1986. 236~313

4 邱怀等. 中国黄牛血液蛋白多态性与其遗传关系. 西北农业大学学报，1987，15（4）：1~7

5 唐守正. 多元统计分析方法. 北京：中国林业出版社，1984. 20~60

6 张才骏. 牛血红蛋白多态性（综述）、青海畜牧兽医杂志，1984，2：30~33

7 佐佐木清纲. 家畜血液型及其应用. 上海：上海科技出版社，1982. 109~130

8 Gahne B, et al. Horizontal polyacrylamide gradient gel eletrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post -transferrin, post -albumin in the blood plasma of cattle. Anim. Blood Grps. Biochem, Genet. 1976, 8: 127~137

9 Namikawa T, et al. Genetical aspects of domestication and phylogeny in the cattle. 日畜会报，1980，18: 133~141

10 Singh H, et al. Genetic studies on albumin polymorphism in the blood of Indian cattle. Indian J, Anim. Sci. 1980 (b), 50 (3): 224~233

A STUDY ON THE BLOOD PROTEIN POLYMORPHISM OF YELLOW CATTLE
IN SOUTH CHINA AND ITS APPLICATION

Li Jiaqi Yang Guanfu Wu Xianhua Zhang Xiquan Qiu Ling

(Department of Animal Husbandry)

Abstract The starch gel, cellulose acetate membrane and polyacrylamide gel electrophoresis were adopted to determine the six blood protein polymorphism loci of Hainan, Leizhou and Longlin yellow cattle reported in this paper, from which the phenotypes and gene frequencies of Hb, Alb, Pa, Tf, Ptf and Akp in each breed were obtained. Standard genetic distances between three breeds and other yellow cattle in our country were calculated. The three dimensional space distributions were drawn by principal coordinate analysis (PCA). The results showed that the yellow cattle in South China was different from that in North and Central China. In addition, the authors believed that the yellow cattle in South China originated from native *Bos primigenius* and *Bos indicus* with infiltration from some other yellow cattle breed blood.

key words Yellow cattle; Blood protein polymorphism; Standard genetic distance; Cluster analysis; Principal coordinate analysis (PCA)