

徐闻黄牛和海南黄牛血液蛋白的遗传多样性

杨关福¹ 张细权¹ 李加琪¹ 聂 龙² 王 文²

(1 华南农业大学动物科学系, 广州, 510642; 2 中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放实验室)

摘要 采用淀粉凝胶电泳技术和组织化学染色方法, 研究徐闻黄牛、海南黄牛和荷斯坦牛血液蛋白的遗传多样性。在分析的 36 种血液蛋白(酶)共计 40 个遗传座位中, 徐闻黄牛和海南黄牛有相同的 13 个多态座位, 荷斯坦牛有 11 个多态座位。徐闻黄牛和海南黄牛的多态座位百分比均为 $P=0.325$, 徐闻黄牛的杂合度 $H=0.141$, 海南黄牛的杂合度 $H=0.132$; 荷斯坦牛的多态座位百分比 $P=0.275$, 杂合度 $H=0.099$, 研究结果表明这 3 个品种的遗传多样性相当丰富, 多态座位百分比和杂合度随着品种选育程度的提高而降低。研究结果为把徐闻黄牛和海南黄牛合称为雷琼黄牛的观点提供了佐证。

关键词 徐闻黄牛; 海南黄牛; 血液蛋白; 遗传多样性

中图分类号 S823.8

中国黄牛品种多、数量大、分布广, 是世界牛属遗传资源宝库的重要组成部分。研究中国黄牛的起源和分类及其保存和利用, 科学上和经济上的价值都很大。徐闻黄牛和海南黄牛由于产地独特的生态地理环境和个体独特的体型外貌, 是有代表性的中国黄牛南方品种, 是研究中国黄牛起源、演化和分类不可缺少的材料。

国内学者曾从血液蛋白多态性、Y 染色体形态、体态和毛色特征、体尺测量、中外历史记载和文物考证等方面, 对中国黄牛的主要品种进行聚类研究(陈幼春等, 1990; 杨关福等, 1990; 李加琪等, 1990)。近来又从 mtDNA 多态性、等位酶分析等方面在分子水平上进行了更深入的研究(兰宏等, 1993; 聂龙等, 1995)。本文采用淀粉凝胶电泳技术和组织化学染色方法, 研究徐闻黄牛和海南黄牛 36 种血液蛋白共计 40 个遗传座位的遗传多样性, 旨在对这两个黄牛品种的遗传结构有更全面的了解。并为进一步对中国黄牛进行系统研究积累更丰富的资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

徐闻黄牛 15 个血液样本采自广东省雷州市客路屠宰场, 海南黄牛 17 个血液样本采自海南省琼山市道美村农户, 作为对照的荷斯坦牛 24 个血液样本采自华南农业大学奶牛场。采血时用肝素抗凝, 血液样本在室温下离心, 吸出上层血浆, 下层红细胞用生理盐水洗涤两次后, 加入少量蒸馏水制成红细胞溶血液。血浆和红细胞溶血液置于 -30°C 冰箱中保存备用。

1995-07-25 收稿

1.2 电泳分析

采用水平式淀粉凝胶电泳法,进行 36 种血液蛋白(酶)共计 40 个遗传座位的电泳分析(表 1)。淀粉凝胶浓度为 12%,电泳缓冲系统及其参数如下: I .Tris - Citrate(pH7.0),35 ~

表 1 徐闻黄牛、海南黄牛和荷斯坦牛血液蛋白多态座位百分比和杂合度

座 位	IUPCIUB No.	组织 ⁽¹⁾	缓冲系统	杂合度(h)		
				徐闻黄牛	海南黄牛	荷斯坦牛
1 酸性磷酸酶(ACP)	EC3.1. 3.2	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
2 乙醇脱氢酶(ADH)	EC1.1.1.1	R	III	0.000 0	0.000 0	0.000 0
3 腺苷激酶(AK)	EC2.7.4.3	R	III	0.000 0	0.000 0	0.000 0
4 碱性磷酸酶(AKP)	EC3.1.3.1	S	IV	0.488 0	0.430 8	0.414 2
5 血浆白蛋白(ALB)	—	S	IV	0.231 1	0.430 8	0.000 0
6 醛缩酶(ALD)	EC4.1.2.13	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
7 淀粉酶-1(AMY-1) ⁽²⁾	EC3.2.1.1	S	IX	0.644 5	0.555 4	0.578 0
8 淀粉酶-2(AMY-2) ⁽²⁾	EC3.2.1.1	S	IX	0.000 0	0.000 0	0.000 0
9 碳酸酐酶(CAR)	EC4.2.1.1	R	VIII	0.500 0	0.327 0	0.000 0
10 过氧化氢酶(CAT)	EC1.11.1.6	R	VIII	0.000 0	0.000 0	0.000 0
11 铜蓝蛋白(CP)	—	S	VII	0.320 0	0.261 3	0.535 6
12 酯酶-1(ES-1)	EC3.1.1.1	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
13 酯酶-2(ES-2)	EC3.1.1.1	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
14 酯酶-3(ES-3)	EC3.1.1.1	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
15 酯酶(ES)	EC3.1.1.1	S	VI	0.000 0	0.000 0	0.000 0
16 酯酶-D(ES-D)	EC3.1.1.1	R	I	0.375 0	0.472 3	0.329 8
17 葡萄糖-6- 磷酸脱氢酶(G6PD)	EC1.1.1.49	R	III	0.000 0	0.000 0	0.000 0
18 谷草转氨酶(GOT)	EC2.6.1.1	R	II	0.000 0	0.000 0	0.000 0
19 血红蛋白 α(HB-α)	—	R	V	0.000 0	0.000 0	0.000 0
20 血红蛋白 β(HB-β)	—	R	V	0.480 0	0.359 9	0.152 7
21 结合珠蛋白(HAP)	—	R+S	IV	0.336 8	0.498 3	0.079 9
22 己糖激酶(HK)	EC2.7.1.1	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
23 异柠檬酸脱氢酶(IDH)	EC1.1.1.42	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
24 亮氨酸氨基肽酶(LAP)	EC3.4.11.1	S	VII	0.000 0	0.000 0	0.000 0
25 乳酸脱氢酶-1(LDH-1)	EC1.1.1.27	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
26 乳酸脱氢酶-2(LDH-2)	EC1.1.1.27	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
27 苹果酸脱氢酶(MDH)	EC1.1.1.37	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
28 苹果酸酶(ME)	EC1.1.1.40	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
29 甲基香羟豆素磷酸化酶(MUP)	—	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
30 核苷磷酸化酶(NP)	EC2.4.2.1	R	III	0.464 9	0.474 7	0.159 0
31 肽酶-A(PEP-A)	EC3.4.13.11	R	II	0.000 0	0.000 0	0.000 0
32 肽酶-B(PEP-B)	EC3.4.13.11	R	II	0.500 0	0.492 2	0.500 0
33 6- 磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6PGD)	EC1.1.1.43	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
34 磷酸葡萄糖变位酶(PGM)	EC2.7.5.1	R	II	0.405 2	0.415 2	0.218 8
35 磷酸己糖异构酶(PHI)	EC5.3.1.9	R	X	0.000 0	0.000 0	0.000 0
36 血浆后白蛋白(PA)	—	S	IV	0.420 0	0.451 2	0.499 1
37 过氧化物酶(PER)	EC1.11.1.7	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
38 过氧化物歧化酶(SOD)	EC1.15.1.1	R	I	0.000 0	0.000 0	0.000 0
39 转铁蛋白(TF)	—	S	IV	0.486 7	0.110 7	0.502 7
40 血浆慢 α ₂ 球蛋白(Pα ₂)	—	S	IV	0.000 0	0.000 0	0.000 0
多态座位百分比(P)				0.320 0	0.325 0	0.275
平均杂合度(H)				0.141 0	0.132 0	0.099

(1)R 红细胞溶血液, S 血浆; (2)这两个遗传座位用聚丙烯酰胺水平电泳法测定

40 mA, 3 ~ 4 h; II. Tris - Malate - EDTA (pH 8.0), 50 ~ 80 mA, 16 h; III. Tris - Borate - EDTA (pH 8.0), 250 V, 3 h; IV. Borate - NaOH (pH 7.8), 60 ~ 80 mA, 4 h; V. HCOOH - NaOH (pH 3.8), 50 mA, 50 mA, 4.5 h; VI. LiOH - Borate (pH 8.0), 60 mA, 5.5 h; VII. Citrate - Tris - LiOH - Borate (pH 8.0), 10 mA, 18 h; VIII. Tris - Borate - EDTA (pH 8.6), 60 mA, 5 h; IX. Borate - NaOH (pH 8.0), 20 ~ 30 mA, 4 h; X. Tris - Citrate (pH 8.0), 150 V, 16 ~ 17 h. 组织化学染色方法参照前人报导 (Nozawa et al, 1991; Pasteur et al, 1990)。

1.3 数据处理

根据电泳结果判断基因型, 统计多态座位数目求出多态座位百分比 (P); 计算基因频率和平均杂合度 (H)。

$$H = \sum_{i=1}^r h_i / r$$

r 为所检测的座位数目, h 为某一座位的遗传多样性指数。

$$h = 1 - \sum_{i=1}^k q_i^2$$

q_i 为某一座位的第 i 个等位基因的频率, k 为该座位的等位基因数目。

2 结果

在分析的 36 种血液蛋白 (酶) 共计 40 个遗传座位中, 徐闻黄牛和海南黄牛有相同的 13 个多态座位, 荷斯坦牛有 11 个多态座位, 其余为单态座位。徐闻黄牛和海南黄牛的多态座位百分比均为 $P=0.325$, 徐闻黄牛的杂合度 $H=0.141$, 海南黄牛的杂合度 $H=0.132$; 荷斯坦牛的多态座位百分比 $P=0.275$, 杂合度 $H=0.099$ (表 1)。

3 讨论

多态座位百分比 (P) 和平均杂合度 (H) 是反映群体遗传结构的两个重要参数。在大熊猫血液蛋白的 40 个遗传座位中, $P=0.025$, $H=0.008$ (宿兵等, 1994); 在滇金丝猴血液蛋白的 52 个遗传座位中, $P=0.019$, $H=0.005$ (Su et al, 1995); 在独龙牛血液蛋白的 44 个遗传座位中, $P=0.068$, $H=0.026$ (聂龙等, 1995)。这些濒危或稀有的动物由于经受过瓶颈效应的打击, 群体数量小、遗传交流少、近交程度高, 从这两个参数可反映出其遗传多样性相当贫乏。而本研究中的家养动物群体数量大、遗传交流多、近交程度低。同样可从这两个参数反映出其遗传多样性相当丰富。由于至今未见国内有关家养动物血液蛋白几十个遗传座位电泳分析的报导, 家养动物品种间的遗传多样性有待以后进行讨论。

近年国内学者利用血液蛋白多态性对中国黄牛进行聚类研究, 积累了可贵的资料, 但仅选用少数几个多态座位。有学者认为, 对于杂合度和遗传距离的计算, 所检测的座位数目远比样本数目重要。座位数目越多 (>30), 其可靠程度越高 (Gorman et al, 1979), 本研究分析 40 个座位的遗传多样性, 能更真实地反映群体的遗传结构。我们将积累更多中国黄牛主要品种的资料, 对中国黄牛的起源和分类进行系统的研究。

本研究中, 选育程度高的荷斯坦牛的多态座位百分比和平均杂合度都小于选育程度低的徐闻黄牛和海南黄牛, 说明随着选育程度的提高, 多态座位百分比和平均杂合度都会有所降低, 徐闻黄牛和海南黄牛的多态座位百分比相同, 从一个侧面说明这两个群体遗传结构的

相似性。徐闻黄牛和海南黄牛的杂合度稍有差异,可能是取样误差所致,因为徐闻黄牛血液样本采自屠宰场,牛来自雷州市各地乃至邻近县市,而海南黄牛血液样本在一个乡村中采集,来源较为单一。

徐闻黄牛和海南黄牛分别产于雷州半岛和海南岛。雷州半岛原与海南岛相连,于第四纪发生断层,形成琼州海峡后两地分开。有学者认为,两地黄牛往来频密,具有相似的生物学特征和品种特性,可合称为雷琼黄牛(《广东省家畜家禽品种志》编辑委员会等,1987)。徐闻黄牛和海南黄牛有共同的毛色特征,血液蛋白多态座位基因频率分布有共同的特点,遗传距离很小(杨关福等,1990;李加琪等,1990),本研究又发现两者的多态座位百分比相同,平均杂合度相似,这些研究结果都为把徐闻黄牛和海南黄牛合称为雷琼黄牛的觀點提供了佐证。

参 考 文 献

- 《广东省家畜家禽品种志》编辑委员会,广东省畜牧局. 1987. 广东省家畜家禽品种志. 广州: 广东科技出版社, 63 ~ 68
- 兰 宏,熊习昆,林世英,等. 1993. 云南黄牛和大额牛的 mtDNA 多态性研究. 遗传学报, 20(5): 419 ~ 425
- 陈幼春,王毓英,常 洪,等. 1990. 中国黄牛的分类. 见: 中国农业科学院畜牧研究所编. 中国黄牛生态种特征及其利用方向. 北京: 农业出版社, 3 ~ 13
- 李加琪,杨关福,吴显华,等. 1990. 华南黄牛血液蛋白多态性及其在中国黄牛中的地位. 见: 中国农业科学院畜牧研究所编. 中国黄牛生态种特征及其利用方向. 北京: 农业出版社, 106 ~ 113
- 杨关福,李加琪,吴显华,等. 1990. 华南黄牛血红蛋白和血清白蛋白的基因频率分布. 见: 中国农业科学院畜牧研究所编. 中国黄牛生态种特征及其利用方向. 北京: 农业出版社, 102 ~ 105
- 聂 龙,施立明,和向东,等. 1995. 独龙牛遗传多样性及其种群结构的等位酶分析. 遗传学报, 22(3): 185 ~ 191
- 宿 兵,施立明,何兴昕,等. 1994. 大熊猫遗传多样性的蛋白电泳研究. 科学通报, 39(8): 742 ~ 754
- Gorman G C, Renzi J. 1979. Genetic and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: Effects of sample size. Copeia, 2: 242 ~ 249
- Nozawa K, Shotake T, Minezawa M, et al. 1991. Population genetics of Japanese monkeys: III. Ancestry and differentiation of local populations. Primates, 32(4): 411 ~ 435
- Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F, et al. 1990. Practical isozyme genetics. New York: Haslted press, 83 ~ 150
- Su B, Shi L M. 1995. Genetic diversity in snub-nosed monkey based on protein electrophoresis. Conservation Biology, 9(4): 947 ~ 951

GENETIC DIVERSITY IN XUWEN AND HAINAN YELLOW CATTLE BASED ON BLOOD PROTEIN ELECTROPHORESIS

Yang Guanfu¹ Zhang Xiquan¹ Li Jiaqi¹ Nie Long² Wang Wen²

(1 Dept. of Animal Science, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642;

2 Lab. of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)

Abstract

Genetic diversity in Xuwen and Hainan yellow cattle and Holstein cows based on protein polymorphisms was studied with starch electrophoresis in this experiment. Among 40 gene loci of 36 blood proteins(enzymes), the same thirteen polymorphic loci in both Xuwen and Hainan yellow cattle and eleven polymorphic loci in Holstein were found. The percentages of polymorphic loci in Xuwen and Hainan yellow cattle both were 0.325, average heterozygosity was 0.141 in Xuwen yellow cattle and 0.132 in Hainan yellow cattle, and the percentage of polymorphic loci and the average heterozygosity in Holstein were 0.275 and 0.099 respectively. The results showed that genetic diversity was rich in Xuwen, Hainan yellow cattle and Holstein cows and that both percentages of polymorphic loci and average heterozygosity decreased as the cattle were being bred. The results also supported the conclusion that Xuwen and Hainan yellow cattle should be one breed named Leiqiong yellow cattle.

Key words Xuwen yellow cattle; Hainan yellow cattle; blood protein; genetic diversity