

中国黄牛血液蛋白多态性与其遗传关系

邱 怀 武 彬 易建明 常智杰

(西北农业大学畜牧系)

摘 要

本研究采用淀粉凝胶电泳法和聚丙烯酰胺凝胶电泳法对我国七个黄牛品种四个多态蛋白位点进行了检测, 得出了Hb, Pa, T₁和Alp在各品种中的表现型频率和基因频率。通过标准遗传距离, 进行了模糊聚类分析。本文选取 $\lambda = 0.98$ 为界, 将七个黄牛品种按血液蛋白基因位点关系的远近分成四类: 秦川牛、晋南牛和南阳牛为一类, 郟县红牛和鲁西牛为一类, 复州牛和延边牛各自成一类。

关键词: 黄牛; 血液蛋白多态性; 标准遗传距离; 模糊聚类分析

目前, 血液蛋白多态性的研究已用于家畜遗传、品种和选择等多个方面。特别是在品种亲缘关系的研究中, 血液蛋白多态性能够直接从基因的差异来认识不同的品种^[3, 5-7]。但是, 这方面的研究在我国黄牛中还未曾进行。为了搞清我国几个良种黄牛品种之间的血缘关系, 认识我国良种黄牛血液蛋白多态性的特点, 我国对1985年前参加全国良种黄牛育种委员会的七个良种黄牛品种四个血液蛋白多态性进行了研究。

1 材料和方法

1.1 取样

本试验于1984年2~6月和1985年9~12月采取秦川牛(公8头、母37头)、南阳牛(公8头、母32头)、晋南牛(公6头、母26头)、延边牛(公6头、母74头)、复州牛(公7头、母58头)、鲁西牛(公5头、母43头)和郟县红牛(公7头、母33头)共350头成年健康牛的血液。试牛取自陕西省乾县秦川牛场、河南省南阳地区黄牛场、山西省运城地区黄牛场及种公牛站、吉林省延边种牛场和家畜冷冻精液站、辽宁省瓦房店市种牛场、山东菏泽地区鄄城黄牛繁殖场和河南省郟县红牛场。用采血针头在试牛左侧静脉上1/3处采取15ml血液, 其中约5ml血样放入装有抗凝剂(肝素)的小瓶内, 制备全血, 用于血红蛋白的分离, 其余约10ml血样装入试管中让自然分离血清。收样后冷冻运输。

1.2 方法

用淀粉凝胶电泳法^[1]测定血红蛋白(Hb)多态型, 用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳

本文于1986年12月15日收到。

法^[1]测定后白蛋白(Pa)、运铁蛋白(T_i)及碱性磷酸酶(Alp)的多态型。Hb和Alp按Jameason^[2,6,9]提供的电泳图谱相比较而定型,Pa以Gahn^[1,3]的电泳图谱为准。此外,采用根井正利^[10]提出的标准遗传距离D_{xy}表示品种间亲缘关系的远近,其计算公式为

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

式中, X_{ij} 和 Y_{ij} 分别表示品种X和品种Y中第*i*个位点上的第*j*个等位基因的频数, n 为所研究的位点数,这里 $n=4$, K_i 为第*i*个位点的等位基因数。

把标准遗传距离变成模糊相似关系($1-D_{xy}$),采用传递闭色模糊聚类方法^[12]对七个黄牛品种进行分类。

2 结果与分析

2.1 频率

由表1可见,七个黄牛品种的三种血液蛋白表现型频率, χ^2 检验结果均不显著($P<0.05$),说明Hb, Pa和T_i位点的基因处于Hardy-Weinberg平衡状态(Alp不作 χ^2 检验)。

2.1.1 Hb 从表1和表2可以看出,秦川牛的Hb^{AA}频率和晋南牛的很相似。延边牛的Hb^{AA}频率最高,为0.8228,同其它六个品种相差较大,而与Han^[3]报道的朝鲜牛(0.7963)很接近,这说明延边牛和朝鲜牛是同源关系。从基因频率上看,我国黄牛Hb^A基因频率都很高,而以秦川牛、晋南牛和郟县红牛的Hb^A频率比较接近。延边牛在Hb^A, Hb^B, Hb^C上和其它六个品种差距很大。在鲁西牛中,我们发现了Hb^Y基因。

据文献^[5]报道,大部分欧洲血统牛如荷兰牛、海福特牛、短角牛等品种只有Hb^A而没有Hb^B型变异,娟姗牛、西门塔尔、更赛等品种以及南欧、北非、亚洲的大多数牛都存在Hb^A和Hb^B。由此可见,我国七个黄牛品种与欧洲牛大不相同,表现出亚洲牛的特点。

值得注意的是,秦川牛和南阳牛在Hb^A, Hb^B和Hb^C上差别较大,南阳牛和其它几个品种亦有很大差异,这正体现了南阳牛的特点。但是,它在Hb^B上和郟县红牛一致,说明二者有一定的关系。这与在地理位置上郟县红牛距南阳牛很近有关。复州牛的Hb^B基因频率很高(0.2463),和其它几个品种差别较大。

2.1.2 Pa 我国七个黄牛品种Pa基因型一般表现为三种,即AA, BB和AB。但是,延边牛中具有AC基因型,鲁西牛中有XA和XB基因型,郟县红牛中有XA基因型。

从表2可以看出,我国七个黄牛品种Pa^A和Pa^B基因频率处于中等水平,以复州牛的Pa^A基因频率为最高(0.7891),南阳牛的Pa^B基因频率为最高(0.4750)。晋南牛和秦川牛的Pa^A和Pa^B基因频率很相近。

据文献^[5,6]报道,欧系牛的Pa^B频率较东亚牛种的高,如荷兰牛、娟姗牛、更赛牛、夏洛来牛、西门塔尔牛、海福特牛的Pa^B基因频率分别为0.83, 0.98, 0.99, 0.86, 0.75, 0.98;而日本黑牛、日本褐牛、朝鲜牛、台湾牛的Pa^B基因频率分别为0.52, 0.49, 0.47, 0.38。由此来看,我国黄牛Pa^B基因频率和亚洲牛的一致,只是复州牛稍稍偏低。

2.1.3 T_i 在基因型上,延边牛和其它六个品种有很大差异:T_i^{AA}, T_i^{AD¹}最高,分别为0.1184和0.3684,而T_i^{D¹D¹}却低(0.1447)。在基因频率上,延边牛的T_i^A基因频率最

表1 中国黄牛品种血液蛋白质基因型和频率

	秦川牛		晋南牛		南阳牛		延边牛		复州牛		鲁西牛		郟县红牛	
Hb ^{AA}	.675	(27)	.6897	(20)	.450	(18)	.8228	(65)	.5075	(34)	.6667	(32)	.725	(29)
Hb ^{BB}	0	(0)	.0345	(1)	0	(0)	0	(0)	.07463	(5)	0	(0)	0	(0)
Hb ^{CC}	0	(0)	0	(0)	.050	(2)	0	(0)	0	(0)	.02083	(1)	0	(0)
Hb ^{AB}	.20	(8)	.1397	(4)	.025	(1)	.1772	(14)	.3134	(21)	.1458	(7)	.075	(3)
Hb ^{AC}	.125	(5)	.069	(2)	.40	(16)	0	(0)	.07463	(5)	.125	(6)	.175	(7)
Hb ^{BC}	0	(0)	.069	(2)	.075	(3)	0	(0)	.02985	(2)	.02083	(1)	.025	(1)
Hb ^{AY}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.02083	(1)	0	(0)
Pa ^{AA}	.25	(10)	.267	(8)	.225	(9)	.3333	(23)	.6094	(39)	.5319	(25)	.4103	(16)
Pa ^{BB}	.15	(6)	.133	(4)	.175	(7)	.1449	(10)	.03125	(2)	.08511	(4)	.07692	(3)
Pa ^{AB}	.60	(24)	.60	(18)	.60	(24)	.4783	(33)	.3594	(23)	.2079	(14)	.4872	(19)
Pa ^{AC}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.04348	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Pa ^{XA}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.06383	(3)	.02564	(1)
Pa ^{XB}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.02128	(1)	0	(0)
Tf ^{AA}	.0465	(2)	0	(0)	0	(0)	.1184	(9)	.01563	(1)	0	(0)	0	(0)
Tf ^{D₁D₁}	.7256	(14)	.5862	(17)	.5366	(22)	.1447	(17)	.4219	(27)	.1818	(8)	.1538	(6)
Tf ^{D₂D₂}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.1591	(7)	.1026	(4)
Tf ^{EE}	.0698	(3)	0	(0)	.0488	(2)	.07895	(6)	.04688	(3)	.04546	(2)	.05128	(2)
Tf ^{AD₁}	.0698	(3)	.1379	(4)	.0979	(4)	.3684	(28)	.2031	(13)	.1136	(5)	.0762	(3)
Tf ^{AD₂}	0	(0)	0	(0)	0	(4)	0	(0)	.01563	(1)	.04546	(2)	0	(0)
Tf ^{AE}	.0698	(3)	.069	(2)	.0244	(1)	.03947	(3)	.1094	(7)	.04546	(2)	.07692	(3)
Tf ^{D₁D₂}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.2045	(9)	.1538	(6)
Tf ^{D₁E}	.3721	(16)	.1379	(4)	.2683	(11)	.1579	(12)	.1875	(12)	.06818	(3)	.1795	(7)
Tf ^{D₂E}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	.01316	(1)	0	(0)	.1364	(6)	.2051	(8)
Tf ^{AF}	.0465	(2)	.069	(2)	.244	(1)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
F ^o F ^o	.65	(26)	.6429	(18)	.675	(27)	.8493	(62)	.9686	(62)	.8511	(40)	.90	(36)
F ^A F ^{A*}	.35	(14)	.3571	(10)	.325	(13)	.1507	(11)	.03125	(2)	.1489	(7)	.10	(4)

注：括号内的数字为实际头数。

表2 中国七个黄牛品种血液蛋白质位点基因频率

	秦川牛	晋南牛	南阳牛	延边牛	复州牛	鲁西牛	郑县红牛
Hb ^A	.3375	.7931	.6625	.9114	.7015	.8125	.9500
Hb ^B	.1000	.1379	.0500	.0886	.2463	.08332	.0500
Hb ^C	.0625	.069	.2878	0	.05224	.09375	.1000
Hb ^Y	0	0	0	0	0	.01042	0
Pa ^A	.5500	.5667	.5250	.5942	.7891	.7128	.6667
Pa ^B	.4500	.4333	.4750	.3841	.2110	.2447	.3205
Pa ^C	0	0	0	.02174	0	0	0
Pa ^X	0	0	0	0	0	.04257	.0128
Tf ^A	.1396	.1380	.0732	.3223	.1797	.1023	.07692
Tf ^{D₁}	.5466	.7241	.7195	.40785	.6172	.3750	.3589
Tf ^{D₂}	0	0	0	.00658	.007815	.3525	.2821
Tf ^F	.0233	.0345	.0122	0	0	0	0
Tf ^E	.2907	.1035	.1951	.1842	.1953	.1705	.2821
F ^A	.1938	.1982	.1736	.07843	.0157	.0774	.05132
F ^b	.8062	.8062	.8264	.9216	.9843	.9226	.9487

高,为0.3223。秦川牛和晋南牛的Tf^A基因频率十分相近,但却在Tf^{D₁}, Tf^E上表现出了差别。这个差别也是秦川牛和晋南牛在四种血液蛋白型上表现的唯一较大的差别。

一般来说, Tf^{D₂}基因频率在我国七个黄牛品种中比较低。可是,令人感兴趣的是鲁西牛和郑县红牛的该基因频率与其它五个品种形成了明显的差别。这种差别,使其有别于其它黄牛品种。另外,在 Tf^F基因上,秦川牛、晋南牛、南阳牛与延边牛、复州牛、鲁西牛、郑县红牛形成了明显的对照,前三个品种都有Tf^F基因,而后四个品种却都没有 Tf^F基因。

据 Han^[3] 报道,朝鲜牛的 Tf^A, Tf^D 和 Tf^E基因频率分别为 0.293, 0.518, 0.189, 和我国延边牛的很相近。在 Tf^E基因上,我国七个黄牛品种都较高,特别是秦川牛和郑县红牛,分别为0.2907和0.2821。这和瘤牛的高 Tf^E基因频率(0.3114)较为一致,而与原牛(为0.05714)等^[7]的该基因频率相距很大。Baker^[7]认为, Tf^E基因与适应性有关。这种观点在秦川牛和晋南牛 Tf^E基因频率差异甚大方面似乎是正确的,但秦晋两地生态、气候的差异是否导致了 Tf^E基因频率的差异还不能定论。根据 Tf^E基因频率在欧洲牛中一般很低^[7],在瘤牛型品种中较高和在亚洲型品种中居中^[8,9]的事实,我们认为,我国七个黄牛品种在 Tf^E位点上反映了亚洲牛的特点,含有瘤牛血统。

2.14 Alp Alp 的A带是由显性基因 F^A控制的,对不表现A带的统定为 F⁰基因。一般而言, F^A基因频率较低,而 F⁰基因频率较高。但是,秦川牛、晋南牛和南阳牛的 F^A基

因频率却稍高,为0.1938, 0.1982和0.1736。这与延边牛、复州牛、鲁西牛和郑县红牛的差异很明显。后四个品种与文献〔5〕报道的台湾黄牛(0.047)、朝鲜牛(0.053)等的结果较为一致。我国七个黄牛品种 F^A 基因频率的差异(即前三品种与后四品种的显著之差)似乎是难以解释的,但我们认为,它们是血液蛋白质差异的一个方面。因此,我们仍选该位点作为品种差异的表现。

2.2 标准遗传距离与聚类

从上述结果可以看出,我国七个黄牛品种血液蛋白多态型的表现有异同,表现在某个位点上,某两个品种很相近,而在另一位点上,这两个品种又有差异。为了统一用一个指标来考虑品种之间的相似关系,我们采用根井正利〔10〕提出的标准遗传距离。计算结果如表3。

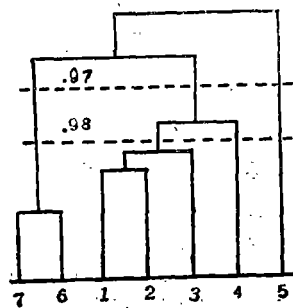
表3 标准遗传距离和模糊等价关系

品 种	秦川牛	晋南牛	南阳牛	延边牛	复州牛	鲁西牛	郑县红牛
秦川牛	0(1)	0.014954	0.028488	0.021826	0.046138	0.058605	0.040856
晋南牛	0.985046	0(1)	0.019214	0.040469	0.041109	0.074469	0.069416
南阳牛	0.980786	0.980786	0(1)	0.072035	0.061673	0.091897	0.078025
延边牛	0.978174	0.978174	0.978174	0(1)	0.041754	0.046485	0.03573
复州牛	0.958891	0.958891	0.958891	0.958891	0(1)	0.047809	0.050056
鲁西牛	0.96427	0.96427	0.96427	0.96427	0.958891	0(1)	6.271×10^{-8}
郑县红牛	0.96427	0.96427	0.96427	0.96127	0.958891	0.993729	0(1)

注: 对角以上为准标准遗传距离(D_{xy}), 以下为模糊等价关系。

由表3可见,鲁西牛和郑县红牛的标准遗传距离最小,秦川牛和晋南牛的距离亦很小。这说明,在血液蛋白质多态型上,鲁西牛和郑县红牛、秦川牛和晋南牛关系最为密切。为了更直观一些,我们把标准遗传距离 D 转化为相似系数 $1-D$,从而进行模糊等价关系的构造并进行聚类。所构造的模糊等价关系如表4下角部分所示,聚类结果如图1。

从图中可以看出,若以 $\lambda = 0.98$ 为界,可将我国七个黄牛品种划分为四类:郑县红牛和鲁西牛为一类,秦川牛、晋南牛和南阳牛为一类,延边牛和复州牛则各自为一类。若以 $\lambda = 0.97$ 为界,则可将我国七个黄牛品种划分为三类。对于 λ 的选定,可从具体的基因频率上来考虑。由于复州牛的 Hb^B , Pa^A , F^o 基因频率最高,而 Pa^B , F^A 基因频率最低,这和其它几个品种差异很大,故不管取 $\lambda = 0.97$ 还是 $\lambda = 0.98$,它都是单独形成一类。对于延边牛来说,不同的 λ 则会有不同的结果。如果取 $\lambda = 0.97$,则延边牛和秦川牛、晋南牛、南阳牛聚为一类。但是,延边牛的 Hb^A 基因频率和 T^A 基因频



七个黄牛品种遗传关系模糊聚类图

- 1—秦川牛; 2—晋南牛;
3—南阳牛; 4—延边牛;
5—复州牛; 6—鲁西牛;
7—郑县红牛;

率在几个黄牛品种中为最高,而在 $Pa^A, Pa^B, T_i^{D1}, T_i^r, F^A$ 等基因频率上,其正好处于秦川牛、晋南牛、南阳牛和郟县红牛、鲁西牛二类之间,且和二类的差异都较大,特别是它还独有 Pa^C 基因。因此,我们认为,延边牛应独自为一类,不应和秦川牛、晋南牛、南阳牛划为一类。所以,我们最后确定取 $\lambda = 0.98$,从而把我国七个黄牛品种分成四类。

3 讨 论

以上实验结果和分析表明,我国七个黄牛品种具有独特的基因构成。但是,在 T_i^A 上具有欧洲品种的特点,在 Hb^C, Tf^E 上具有亚洲品种的特点。

文献〔11〕指出,我国黄牛在家养之前,已渗进了瘤牛型原牛和欧洲原牛的血液。从体型外貌上看,我国七个黄牛品种中南阳牛似乎含有更多的瘤牛血液。本试验结果表明,南阳牛的 Hb^C 频率显著地高于其它六个黄牛品种而接近于瘤牛。这和外貌上的相似是一致的。

延边牛的基础群是朝鲜牛〔11〕,它是在约100年前(1869年)由朝鲜陆续不断地输入延边地区的,在其发展中和当地牛、蒙古牛、以及苏联的沿海州输入的一些乳用型牛之间,进行了不同程度的杂交。从以上血液型资料看,延边牛和朝鲜牛在很多方面十分相近,亦可说明二者关系的密切。

文献〔11〕指出,复州牛界于延边牛和中原牛之间,但上述聚类结果则表现为复州牛与其它六个黄牛的关系最远。这是由于复州牛较其它六个品种在 Hb^B, Pa^A 和 F^0 基因上的频率最高,而 Pa^B, F^A 基因频率最低,在其它的基因频率上亦不相同。

郟县红牛与鲁西牛在较近的水平上首先聚为一类,说明二者关系很近,特别是二者不同于我国其它五个黄牛品种的是,在 Pa^X, T_i^{D1}, T_i^{D2} 三个位点上,二者十分相近却显著地不同于其它五个黄牛品种。从地理位置上看,郟县红牛和南阳牛同在河南省,但郟县红牛并不相急于南阳牛,这说明郟县红牛的育成可能与鲁西牛影响关系很大。

秦川牛和晋南牛的亲缘关系亦很近,这一点,和历史以来秦晋两地的关系一直很紧密有关。这两个品种除了在 T_i^{D1} 上差异较大外,其它各位点基因频率十分相近。南阳牛虽然和秦晋二牛有显著的差异,如 Hb^B, Hb^C 和 T_i^A 等,但和其它几个品种比较起来,它还是与之较近的。这和地理上的远近关系很一致。

经 χ^2 检验,证明血液蛋白等位基因处于Hardy-Weinberg平衡状态。这说明,我国黄牛在各自的选择中,其血液蛋白等位基因并未受到影响。因此,可以认为,血液蛋白基因资料直接反映了品种间固有的遗传关系,而不太受选择和环境条件的影响。

4 结 论

4.1 本试验结果表明,控制我国七个黄牛血液蛋白遗传的多态基因是很丰富的。 Hb, Pa, T_i 和 Alp 位点分别由4,4,5,2个等位基因控制。

4.2 我们发现,鲁西牛具有 Hb^X 基因,延边牛具有 Pa^C 基因;鲁西牛和郟县红牛具有 Pa^X 基因,且 T_i^{D2} 的频率很高;秦川牛、晋南牛和南阳牛具有 T_i^r 基因。

4.3 从标准遗传距离上看,郟县红牛和鲁西牛最近,秦川牛、晋南牛和南阳牛亦很近,而延边牛和复州牛则与其相距较远,特别是复州牛,与其它几个品种关系最远。

4.4 我国七个黄牛品种在许多位点上都表现了亚洲牛的特点,特别是南阳牛,在 Hb^C 上

反映了瘤牛的特点，和体型外貌的特点是一致的。

4.5 根据四个血液蛋白多态型，可以将我国七个黄牛品种分成四类：郟县红牛和鲁西牛为一类，秦川牛、晋南牛和南阳牛为一类，延边牛和复州牛各自为一类。

参 考 文 献

- 1 莽克强等。聚丙烯酰胺凝胶电泳。科学出版社，1975
- 2 Johnsson I, Rendel J. 编者，浙江农业大学主译。遗传学与家畜育种。上海科学技术出版社，1982：119-130
- 3 Han K, Lee K M. Studies on albumin and postalbumin polymorphisms in Korean Cattle. *Korean J of Anim Sci* 1982, 24(6)：522-526
- 4 华家桎等。实用蛋白质化学技术。上海科学技术出版社，1982：74-81
- 5 佐佐木清纲主编，李世安译。家畜血液型及其应用。上海科技出版社，1982：130-144
- 6 Gahne B et al. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin in the blood plasma of cattle. *Anim Blood Grps Biochem Genet* 1977：127-137
- 7 Baker L.N, et al. Chemical classification of cattle 1. Breed Groups. *Anim Blood Grps Biochem Genet* 1980, 11：127-150
- 8 兰河鹰夫。家畜牛地域集团间Hb电泳遗传分化。京都大学灵长类研究所，1984
- 9 阿部恒夫。东亚Hb在来家畜Hb电泳研究。日畜会报。1968, 39(12)：523-535
- 10 (日)根井正利著，王家玉译。分子群体遗传学与进化论。农业出版社，1983：169-172
- 11 谢成侠。中国养牛羊史(附养鹿简史)。农业出版社，1985：5-8, 106-114
- 12 贺仲雄。模糊数学及其应用。天津科技出版社，1983：152-185
- 13 Gahn B. Genetic Variation of Phosphatase in Cattle Serum. *Nature* 1963, 199(20)：205-306

RELATIONSHIPS BETWEEN POLYMORPHISM AND ITS GENETICS IN CHINESE CATTLE

Qiu Huai Wu Bin Yi Janming Chang Zhijie

(Department of Animal Husbandry, Northwestern Agricultural University)

Abstract

The starch gel and polyacrylaide gel electrophoresis are adopted to determine the four loci of polyacrylaide in this paper, from which the phenotype and genetic frequencies of Hb, Pa, T_r and Alp in each cattle breed are obtained. The fuzzy cluster analysis is conducted through the standardized genetic distance. With $\lambda = 0.98$ selected as the border in the paper, the seven kinds of Chinese cattle breeds are divided into four groups based on the relationships of the distance of loci of polymorphism: i. e. Qinchuan, Jinnan and Nanyang cattle; Luxi and Jiaxian Red cattle; Fuzhou cattle; and Yanbian cattle.

key words: Yellow cattle; polymorphism; genetic distance; fuzzy cluster analysis