

西镇黄牛遗传检测的研究

耿社民 常 洪 武 彬

(畜牧系)

陈幼春 曹红鹤 王毓英

(中国农业科学院畜牧所)

摘 要

应用中心产区系统随机整群抽样方法,以2个系统、5个群体($n=154$)的6个血液蛋白位点、8个毛色位点和8项外形特征,对西镇牛进行了遗传检测。结果表明,应用此种方法估测的群体基因频率和表型频率可靠性和精确度均较高。根据西镇牛的遗传检测结果和形成因素,初步推断西镇牛含有我国南方黄牛与中原黄牛的血统,属一个典型的中间类型,亦是我国山区黄牛品种资源中一个宝贵的基因库。

关键词: 系统随机整群抽样; 血液蛋白多态性; 毛色; 外形特征; 遗传检测; 基因频率; 表型频率

世界性的家畜品种资源的危机已引起了人们的高度关注^[1]。联合国粮农组织环境开发署在80年代初先后两次召开世界性家畜遗传资源专题研讨会,并提出“在全球范围内:①建立家畜遗传资源数据库;②研究开发和保存家畜遗传资源的方法;③开展家畜遗传资源的鉴定与登记”^[2]。随后世界各大洲相继设立了家畜遗传资源保存的机构,许多经济发达的国家已建立了家畜遗传资源基因库,并完成了本国固有地方品种的遗传检测工作,我国在1987年也建立了畜禽品种资源数据库^[1,3]。就黄牛品种而言,进入该数据的就达46个^[3]。随着畜牧业生产的商品化,部分黄牛生产方向的改变已成为必然趋势,怎样做好我国固有黄牛资源的保存与开发利用,已成为目前极为紧迫的任务,而黄牛品种的系统遗传检测则是其中不可缺少的一个重要环节。本研究通过对西镇牛血液蛋白多态性、毛色和外形特征进行系统的遗传检测,一方面为西镇牛的保种和选育开发提供可靠的遗传学资料,另一方面为进行全国黄牛品种的系统分类提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

根据常洪等人论证,“在群体规模较大时,以中心产区系统随机整群抽样的方法,可以用较小的样本取得比较精确、可靠的基因频率估计值^[1]。我们于西镇牛的中心产

• 本文于1988年12月14日收到。

本研究属国家“七五”期间科技攻关课题“中国黄牛品种分类研究”中一部分。

区2个系统(指西乡县和镇巴县)中的5个群体,取得154头西镇牛毛色、外形特征的材料以及进行血液蛋白多态性分析的血样,作为西镇牛遗传检测的代表性资料。

1.2 材料的分析处理

应用聚丙烯酰胺凝胶和淀粉凝胶电泳^[5,6]测定血液蛋白位点中血红蛋白(Hb)、白蛋白(Alb)、后白蛋白(Pa)、运铁蛋白(Tf)、后运铁蛋白(Ptf-I)和碱性磷酸酶(Akp)的多态性及其各种基因频率。

对测定的血液蛋白位点的各种基因频率和毛色、外形特征的表型频率,用系统随机整群抽样基因频率的估计方法进行估测,并分析估计的误差、可靠性、精确度和标准离散度。

计算公式

①系统随机整群抽样基因(表型)频率的估计:

$$P(st \cdot c) = \sum_{h=1}^d \frac{N_h}{N} \cdot P_{h \cdot c}$$

式中: N ——抽样所在群体的总规模; N_h ——第 h 系统的总规模;
 $P_{h \cdot c}$ ——随机整群抽样的基因(或表型)频率的估计值。

②抽样误差的估计:

$$V(pst \cdot c) = \sum_{h=1}^d \left(\frac{N_h}{N} \right)^2 \cdot V(ph \cdot c)$$

式中: $V(ph \cdot c)$ ——随机整群抽样的方差估计值;

$$V(ph \cdot c) = \frac{1-f}{k} \sum \left(\frac{\bar{n}_u}{n_u} \right)^2 \cdot \frac{(Pu - Pc)}{k-1},$$

f ——系统内抽样率; k ——系统内抽样群数;
 $\bar{n}_u$ ——第 u 群的抽样头数; $\bar{n}_u$ ——系统内平均群抽样头数;
 Pu ——第 u 群的基因频率; Pc ——第 c 系统的基因频率。

③可靠性的估计($\eta = 0.05$)

$$\beta_{st \cdot c} = \int_0^\lambda \frac{2}{\sqrt{2 \cdot \pi}} e^{-\frac{\lambda^2}{2}} \cdot d\lambda \quad \text{式中: } \lambda \text{——标准偏差。}$$

④精确度的估计($\lambda = 2$):

$$\eta = \lambda \cdot \sqrt{V(pst \cdot c)} / P(st \cdot c) \quad \text{式中: } \eta \text{——相对偏差。}$$

⑤标准离散度的估计:

$$\theta = (k \times V(pst \cdot c))^{\frac{1}{2}} / P(st \cdot c) \quad \text{式中: } k \text{——抽样总群数。}$$

2 结果与分析

2.1 血液蛋白多态性

西镇牛 6 个血液蛋白位点的遗传检测结果表明(见表1):

(1) 象其他黄牛品种^[6,7]一样, 西镇牛在 6 个血液蛋白位点上都表现出了多态性。其中 Tf 位点是由 6 个复等位基因决定的 21 种表现型; Hb, Pa 和 Ptf-I 位点都是由 3 个复等位基因决定的 6 种表现型; 而 ALb 和 Akp 位点则是由一对等显性基因决定, 前者为 3 种表现型, 后者因目前还尚未有区分显性纯合子与杂合子的可靠方法^[7], 故只能见到 2 种表现型。

(2) 各位点其等位基因的频率是不一致的, 估计的误差都在 8% 以下, 个别的在万分之一以下。当相对偏差以 0.05 为限时, 基因频率估计的可靠性, 除两种基因频率在 0.9288

表1 西镇牛血液蛋白位点遗传检测结果

位点	系 统 数	抽 样 群 数	测 定 头 数	基 因 型 数 目	等 位 基 因	P (st·c)	V (pst·c)	β st·c	η	θ
AKP	2	5	148	2	F ^A	0.168	2.17×10^{-3}	0.9288	0.5542	0.7299
					F ^O	0.8319	2.17×10^{-3}	1.000	0.1119	0.551
Hb	2	5	141	6	Hb ^A	0.746	1.06×10^{-3}	1.000	0.0873	0.0953
					Hb ^B	0.083	1.74×10^{-4}	1.000	0.3178	0.5708
					Hb ^C	0.173	3.36×10^{-4}	1.000	0.2119	0.334
ALb	2	5	139	3	ALb ^A	0.432	1.46×10^{-4}	1.000	0.0559	0.0625
					ALb ^B	0.567	1.46×10^{-4}	1.000	0.0426	0.0477
Pa	2	5	130	6	Pa ^A	0.62	4.35×10^{-4}	1.000	0.0673	0.1185
					Pa ^B	0.331	2.48×10^{-4}	1.000	0.0951	0.1576
					Pa ^C	0.049	1.54×10^{-4}	0.9516	0.5065	0.8957
Tf	2	5	146	21	Tf ^A	0.137	2.24×10^{-4}	1.000	0.2185	0.323
					Tf ^B	0.024	4.99×10^{-5}	0.9111	0.5887	1.02
					Tf ^{D₁}	0.05	9.85×10^{-5}	0.988	0.397	0.707
					Tf ^{D₂}	0.12	2.78×10^{-4}	1.000	0.139	0.437
					Tf ^E	0.244	1.06×10^{-3}	1.000	0.277	0.284
					Tf ^F	0.438	1.60×10^{-3}	1.000	0.183	0.211
Ptf-I	2	5	131	6	Ptf-I ^A	0.365	9.99×10^{-4}	1.000	0.173	0.275
					Ptf-I ^B	0.373	7.15×10^{-3}	0.9726	0.227	0.678
					Ptf-I ^C	0.262	2.07×10^{-3}	0.996	0.347	0.442

• AKP位点为表型频率

和0.9111外,其余的都在0.95以上,这说明估计的基因频率是可信的。

(3) 当标准离差以2为限时(亦即基因频率估计值的可靠性在95.54%以上),所有位点估计的各等位基因频率估计值都不偏离实际频率的0.6倍。

(4) 标准离散度,除Akp位点的 F^A 型和Tf位点的 Tf^B 基因外,其余等位基因频率的离散度都在0.9之下。

(5) 采用系统随机整群抽样方法,以本次研究的规模足以在上述各位点对品种基因频率作出可靠的估计。

2.2 毛色遗传表型频率的估测

通过西镇牛8个毛色位点的遗传学分析结果得知(见表2):西镇牛毛色较为混杂,从B位点看,非黑色牛(bb)占97%,黑色(B-)仅占3%。进一步从稀释基因位点D上分析,D-占46.8%,dd占54.2%。这两个位点的分析表明,西镇牛毛色为红、黄、黑三类。同时群体中2.2%的个体在腹下、乳房等部位有白斑(IN-);39.4%的个体有黑背线或黑稿纹(brbr);34.6%的个体有焦毛(ww);52.15%的个体在鼻镜或眼睑有黑斑(Ps-);26.3%的个体在胁及四肢内侧发生淡化。由此推测:西镇牛毛色的混杂可能与

表2 西镇牛毛色遗传检测结果

位点	系 统 数	抽 样 群 数	检 测 头 数	表 型 特 征	P (st · c)	V (Pst · c)	$\beta_{sr} \cdot c$	η	θ
B	2	5	154	B-	0.03	2.64×10^{-4}	0.644	1.083	0.766
				bb	0.97	2.64×10^{-4}	1.00	0.034	0.024
D	2	5	154	D-	0.468	0.0125	0.963	0.478	0.703
				dd	0.542	0.0125	0.985	0.413	0.607
IN	2	5	154	IN-	0.022	1.05×10^{-4}	0.717	0.932	1.459
				inln	0.978	1.05×10^{-4}	1.00	0.021	0.033
Br	2	5	154	Br-	0.606	0.01002	0.9974	0.33	0.479
				brbr	0.394	0.01002	0.9512	0.508	0.737
W	2	5	154	W-	0.654	1.59×10^{-3}	1.00	0.122	0.214
				ww	0.346	1.59×10^{-3}	1.00	0.23	0.404
Ps	2	5	154	Ps-	0.5215	1.46×10^{-3}	1.00	0.1465	0.248
				psps	0.4785	1.46×10^{-3}	1.00	0.1597	0.27
Bs	2	5	154	Bs-	0.7704	4.48×10^{-3}	1.00	0.174	0.25
				bsbs	0.2296	4.48×10^{-3}	0.914	0.583	0.839
胁及四肢	2	5	154	淡化	0.263	0.0113	0.785	0.808	1.211
内侧淡化				无淡化	0.737	0.0113	1.00	0.288	0.432

注: B-, 黑色, bb, 红色, D-, 黑色或红色, dd, 黄色, IN-, 白斑, inin, 无白斑, Br-, 无背线或黑稿纹, brbr, 有背线或黑稿纹, W-, 无焦毛, ww, 有焦毛, Ps-, 有黑斑, psps, 无黑斑, Bs-, 无小黑点, bsbs, 有黑点。

形成史及当地生态环境密切相关。上述各位点表型频率估计的误差都在1.25%之下,其可靠性除位点B的B-型;位点IN的IN-型;位点Bs的bsbs型和胁及四肢内侧淡化位点上的淡化频率小于0.95外,其余都在0.95以上。表型频率估计的精确度在不偏离实际频率的0.23倍以下之可靠性都在95.54%以上。

2.3 外形特征表型频率的估测

在西镇牛外形特征8个项目中,除耳呈垂直、无额毛频率为1.0外,其他的外形特征分析结果(见表3)是:西镇牛90%表现大肩峰和小肩峰;耳稍多呈圆型(占82%);体躯多短宽(96.6%);98.3%的牛表现大胸垂和小胸垂;脐垂只在公畜明显;头型呈现为长窄与短宽二种类型(各占54.1%和45.9%)。这些明显的外形特征说明了西镇牛的形成以南方黄牛为主,且混杂有中原黄牛的血统。进一步分析估测结果:估计误差都在8%之下,有5种表型类型估计的可靠性在95%之下,其余都在95%以上;表型频率估计的精确度都在不偏离实际频率的0.17倍之下可靠性达95.54%以上。

表3 西镇牛外形特征遗传检测结果

类别	系统数	抽样群数	检测头数	表型类数	外形特征	$P(st \cdot c)$	$V(pst \cdot c)$	$\beta st \cdot c$	η	θ
肩峰	2	5	154	3	大肩峰	0.31996	1.04×10^{-3}	1.000	0.2016	0.3599
					小肩峰	0.57612	7.8×10^{-3}	1.000	0.2962	0.5061
					无肩峰	0.10392	3.06×10^{-3}	0.652	1.065	0.845
耳型	2	5	154	2	圆耳	0.8202	7.1×10^{-4}	1.000	0.065	0.1163
					尖耳	0.1798	7.1×10^{-4}	1.000	0.2964	0.5303
体躯	2	5	154	2	长窄	0.034	5.49×10^{-4}	0.532	1.382	1.899
					短宽	0.966	5.49×10^{-4}	1.000	0.0487	0.067
头型	2	5	154	2	长窄	0.541	2.54×10^{-3}	1.000	0.186	0.091
					短宽	0.459	2.54×10^{-3}	1.000	0.22	0.1073
胸垂	2	5	154	3	大胸垂	0.476	4.95×10^{-3}	1.000	0.296	0.427
					小胸垂	0.507	4.75×10^{-3}	1.000	0.272	0.388
					无胸垂	0.017	1.7×10^{-4}	0.483	1.543	2.73
脐垂	2	5	154	3	大脐垂	0.097	1.1×10^{-3}	0.857	0.648	0.939
					小脐垂	0.216	6.83×10^{-3}	0.809	0.765	1.053
					无脐垂	0.687	2.48×10^{-3}	1.000	0.145	0.201

3 讨 论

3.1 对系统随机整群抽样方法的评价

据常洪等人研究指出:“在不能完全随机化的条件下,中心产区系统随机整群抽样是中国黄牛遗传检测的最佳抽样方法”^[4]通过对西镇牛遗传检测验证,该方法具有精确度高、误差小等优点,而且也大大减少人力及财力的浪费。同样将此种方法应用于秦

川牛和平利牛的遗传检测,亦取得了类似的结论。

3.2 西镇牛的形成剖析

众所周知,家畜品种的形成与人类部族的迁徙和相互交流有着密切关系。据《汉中府志》云,汉中“老民十之二三,余均新民,两湖最多,川民亦多。”^[8]西乡《县志》记载:“清朝嘉庆8年起,县城南河岸清明古会非常盛大,四达百货云集,骡马牛羊尤盛。”^[9]道光14年,于县城南河岸铸成铁牛一座,可见西镇牛的形成史远在100年以前。再从西镇牛产区位置看:北距秦岭,南达巴山山脉,在自然地理位置上形成了一个半封闭式独特生态类型。结合本次遗传检测结果,西镇牛在血液蛋白多态性、毛色及外形特征上与中原黄牛和南方黄牛表现出明显的差异(将另文专述)。纵观上述各种因素,不难推测西镇牛乃是南方黄牛与中原黄牛相混血而形成的一个中间品种。

3.3 对应用血液蛋白多态性、毛色及外形特征进行黄牛遗传检测的评价

国外应用血液蛋白多态性进行牛的遗传检测已有30多年^[7]。这不仅是由于该位点基因的突变率极低,更重要的是长期以来没有受到人工或自然选择的影响。例如,爱尔兰牛、盖洛威和英国高地牛,三者在毛色、生产方向外形特征上差异极大,但在四种运铁蛋白位点上的基因频率基本一致。据分析,这三个品种是由同一品种经过长期选择分化形成的^[10]。因而,应用血液蛋白多态性作为我国黄牛品种遗传资源的检测手段将是可靠的。

毛色和外形特征容易经选择而发生变化。自Ibsen(1930)首次揭示毛色的遗传规律后^[11],外形特征的遗传规律也被陆续阐明^[10]。当这一理论应用于实践时,黄牛的毛色和外形特征由以往盲目的选择变为有目的的选择,即由多样化向单一化方向选择。目前在国内外,黄牛品种的毛色、外形特征虽然有差异,但在同一品种内这些差异则变得很小,如秦川牛的毛色及外形特征。如果我们将黄牛的毛色及外形特征作为遗传检测中的一种辅助手段,将会有特殊的意义。

4 结 论

4.1 西镇牛6个血液蛋白位点都表现出了多态型,少则2种表现型,多则21种表现型。各位等位基因的数目亦不相同。各位点上基因频率是:AKP位点 $F^0 > F^A$; Hb位点 $Hb^A > Hb^C > Hb^B$; ALb位点 $ALb^B > ALb^A$; Pa位点 $Pa^A > Pa^B > Pa^C$; Tf位点 $Tf^F > Tf^E > Tf^A > Tf^{D2} > Tf^{D1} > Tf^B$; P_{tf-1}位点 $P_{tf-1}^B > P_{tf-1}^A > P_{tf-1}^C$ 。

4.2 西镇牛毛色混杂,在红黄毛色的基础上,皮肤黑斑、焦毛、黑背纹或黑稿纹,胁及四肢内侧淡化在群体中占有相当大的比例,这与该品种的形成史有密切相关。

4.3 西镇牛外形特征表现为:体型中等;耳垂直;无额毛;大多数牛有肩峰和胸垂;耳稍多圆型;体躯短宽;脐垂在公畜表现明显;头型为长窄与短宽二大类型。

4.4 本研究采用的抽样方法估计的各种频率,实践证明,可靠性、精确度较高,建议在全国黄牛遗传检测中推广应用。

4.5 根据西镇牛的形成史,产区生态环境及本次遗传检测结果,推测西镇牛乃是我国南方黄牛与中原黄牛相混血而形成的一个中间类型。

参 考 文 献

- 1 徐继初译. 农业科技译丛, 1985 (4), 6-8
- 2 郑丕留. 中国良种黄牛, 1985 (1), 3-7
- 3 冯维琪等. 畜牧兽医学报, 1988 (3), 171-173
- 4 常洪等. 西北农业大学学报, 1989 (3), 30-37
- 5 王毓英等. 中国农业科学院畜牧所科研年报. 1985
- 6 武彬. 中国黄牛, 1986 (1), 34-39
- 7 佐佐木清纲. 家畜血液型及其应用. 东京株式会社, 养贤堂发行, 1971
- 8 罗汉平. 中国良种黄牛, 1982 (4), 66-68
- 9 杨大伟. 中国黄牛, 1988 (3), 46-49
- 10 陈幼春. 中国黄牛, 1987 (2), 63-65
- 11 常洪等. 黄牛育种. 中国环境出版社, 1988: 29-23

STUDIES ON GENETIC INVESTIGATION IN XIZHEN YELLOW CATTLE

Geng shemin Chang Hong Wu Bin
(Northwestern Agricultural University)

Chen Youchun Cao Honghe Wang Yuying
(Institute of Animal Science, Chinese Agricultural Academy)

Abstract

The genetic investigation was carried out on herds ($n = 154$) from 2 system of Xizhen Yellow Cattle for 6 polymorphic blood protein and 8 coat colour locus and for 6 characters refelecting their exterior features by the stratified random cluster sampling in central area of distribution. The results obtained show that the precision and reliability of estimate driven by using this method for genetic and phenotype frequencies were much higher than those from others. According to genetic investigation and phylogency of breed, it was infered preliminarily that Xizhen Yellow Cattle is a medium-typa one between the South China Cattle and the Central China Cattle, lineage of which is contained by descents of both from south and central. As a result of these studies it was established that Xizhen Yellow Cattle is a valuable gene pool of the cattle genetic resource of the Mountain regions in China.

Key wrods: stratified random cluste sampling, polymorphism of blood protein, coat colour, external physical characteristics, genetic investigation, gene frequencies, phenotypic freeqnencies