

猪银染核仁组成区遗传规律的研究

柳万生 路兴中[✓] 刘孝惇

(西北农业大学畜牧系, 陕西杨陵·712100)

摘要 采用群体分析法, 证明猪 Ag-NORs 的遗传方式属等显性。提出了细胞型频率与染色体型频率、平均细胞型频率与平均染色体型频率的概念及其估算方法。发现在随机交配群体中, 按 Ag-NORs 标记的(平均)细胞型频率与(平均)染色体型频率之间存在着类似于哈代-温伯格定律的关系, 平均染色体型频率有类似于基因频率的作用, 可用于群体间遗传相似性的分析。猪 Ag-NORs 的多态性主要是由于 8 Ag-NORs 平均染色体型频率的不同所致。

关键词 银染核仁组成区、遗传方式、猪 染色带

中图分类号 S828.2, Q959.842

核仁组成区(NOR)是染色体上 18S+28S rRNA 基因所在的位置, 银染核仁组成区(Ag-NORs)是用来研究 rRNA 基因活性的。Ag-NORs 具有很强的遗传性, 是该染色体的遗传特征^[1]。迄今的研究表明, 猪的 NOR 位于第 8 和第 10 号染色体的次缢痕区。猪的 Ag-NORs 具有广泛的多态性, 可作为一个细胞遗传学指标用于猪的起源、分类和杂交育种等项研究^[2,3]。本文是在作者试验研究的基础上, 对猪 Ag-NORs 的遗传规律以及用该指标进行猪的遗传组成分析作以探讨。

1 材料与方法

1.1 资料来源

所用资料包括测定和收集两部分。自测猪种有八眉猪、合作猪、黑河猪、关中黑猪、宁夏黑猪、巴克夏猪、杜洛克猪和长白猪等 8 个品种或类群。另外, 测定了 12 头长关和长巴 F₁ 杂种猪的 Ag-NORs。

收集的资料包括香猪、梅山猪、民猪、内江猪、约克夏猪等国内外的 29 个品种或类群的 Ag-NORs 的研究结果(见表 1)。

以上各猪种染色体的银染技术均以 Goodpasture 和 Bloom^[4] 的方法为基础。

1.2 分析方法

1.2.1 Ag-NORs 遗传方式的确定 根据自测资料, 采用群体分析法^[5], 考查 Ag-NORs 的遗传方式, 并检验是否符合哈代-温伯格定律。

1.2.2 群体的遗传组成分析 按所确定的 Ag-NORs 的遗传方式, 计算各品种或类群猪 10 号和 8 号染色体 Ag-NORs 位点的平均细胞型频率和平均染色体型频率。以平均染色体型频率为基础求得欧氏距离, 然后按最短距离法进行聚类分析。

文稿收到日期: 1991-07-10

* 高等学校博士点基金资助项目。

2 结果与分析

2.1 猪 Ag-NORs 的显示规律

猪的 Ag-NORs 被定位于第 8 和第 10 号染色体短臂的次缢痕区,但这两对染色体不是在所有细胞都表现银染阳性。实验结果表明,同一个体不同细胞的 Ag-NORs 数目变化范围在 1~4 个之间,不同品种单个细胞 Ag-NORs 数目的分布范围亦在 1~4 之间(表 1),表现出广泛的多态性⁽²²⁾; 10 号染色体 Ag-NORs 出现频率远高于 8 号染色体,若一个细胞有一个或两个 Ag-NORs,则必定位于 10 号染色体的一条或两条同源染色体上,只有当细胞的 Ag-NORs 数为 3 或 4 时,8 号染色体的一条或两条同源染色体才显示 Ag-NORs(图 1)。

表 1 国内外部分猪种 Ag-NORs 的分布

品种或类群	头数	观察 细胞数	Ag-NORs 均 数	Ag-NORs 数目分布率				引用文献 序 号
				1	2	3	4	
香 猪	11	533	3.96	0	0	3.60	96.40	(6)
柴 昌	11	215	3.87	0	1.80	9.80	88.40	(7)
内 江	5	50	3.78	0	0	22.00	78.00	(7)
柳 嘉	6	78	3.71	0	5.10	19.20	75.00	(7)
成 华	5	93	3.66	0	10.80	12.90	76.30	(7)
枫 泾	9	202	3.65	0	1.98	30.69	67.33	(8)
	12	100	3.77	/	/	/	/	(9)
	/	100	3.88	0	2.00	8.00	90.00	(10)
二 花 脸	12	403	3.68	0	2.73	26.05	71.22	(8)
嘉 兴 黑	6	142	3.61	0	2.11	34.51	63.38	(8)
	/	50	3.78	0	4.00	14.00	82.00	(11)
梅 山	7	201	3.50	0	5.97	38.30	55.72	(8)
姜 曲 海	8	397	3.23	0.25	15.62	45.09	39.04	(8)
	4	474	3.60	0	4.90	29.70	65.40	(12)
甘孜藏猪	4	172	3.10	0	23.84	47.09	29.07	(7)
合 作	5	309	3.01	0	22.33	46.93	30.74	(13)
八 眉	15	764	2.95	1.18	42.02	17.80	39.00	(2)
民 猪	4	524	3.30	0.40	13.70	41.60	44.30	(12)
	11	100	1.99	16.00	69.00	15.00	0	(14)
黑 河	11	917	2.21	14.61	62.16	18.54	4.69	(13)
北 京 黑	13	434	3.88	0	1.00	10.10	88.90	(6)
关 中 黑	12	495	3.33	0.61	4.44	56.36	38.59	(2)
宁 夏 黑	5	190	2.53	8.95	19.47	67.89	3.68	(13)
苏 白	14	1491	2.64	0	46.00	44.00	10.00	(15)
大 约 克	8	357	2.15	2.52	80.11	16.80	0.56	(8)
	4	64	2.05	0	95.30	4.70	0	(7)
巴 克 夏	4	86	3.30	0	12.80	44.20	43.0	(7)
	11	644	1.99	0.31	99.69	0	0	(2)
拉 康 白	4	50	2.18	0	82.00	18.00	0	(16)
杜 洛 克	4	200	2.05	0.50	94.50	4.50	0.50	(2)
长 白	10	100	2.41	/	/	/	/	(9)
	6	284	2.25	0.35	76.06	21.83	1.76	*
	3	442	2.03	0	97.30	2.30	0.40	(6)
	/	/	2.00	0	100.00	0	0	(10,17)
欧洲野猪	10	/	2.12	0	89.00	10.00	1.00	(18)

* 本次测定

由表 1 可见, 不同品种或类群猪 Ag-NORs 均数随地理位置的不同呈现规律性变化, 在我国由南向北, 在全球由东向西逐渐减小。

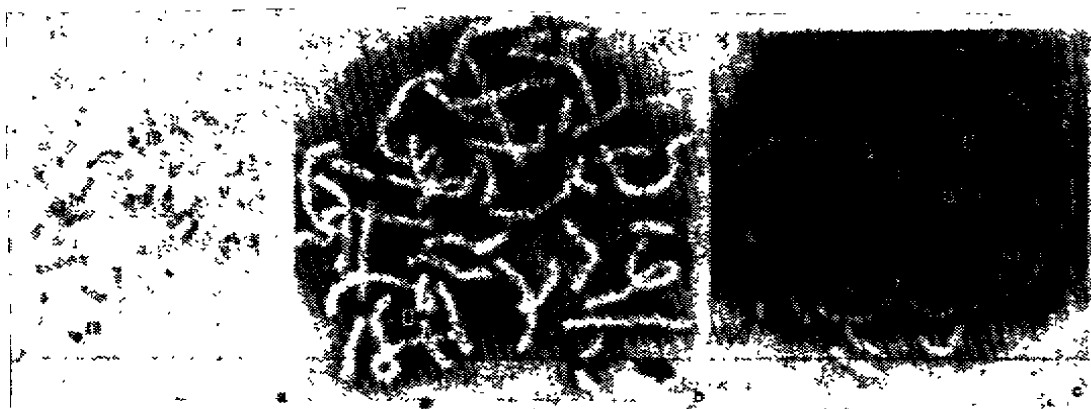


图 1 家猪染色体的 Ag-NORs 数目

a. 2 个 Ag-NORs; b. 3 个 Ag-NORs; c. 4 个 Ag-NORs

2.2 猪 Ag-NORs 的遗传规律

2.2.1 猪 Ag-NORs 的遗传方式 由表 2 可见, F_1 杂种猪 Ag-NORs 分布介于双亲之间, 长关和长巴的 Ag-NORs 均数为 2.78 和 2.08, 与其亲本均数 2.79 和 2.12 几乎完全相同(χ^2 检验相符), 说明猪 Ag-NORs 的遗传符合孟德尔遗传。

猪的 Ag-NORs 出现于 8 和 10 号染色体上, 因而, 可认为是由 8 和 10 号两个不同位点的基因来控制。因两位点 Ag-NORs 的纯合阳性、阴性及杂合体均可识别, 故初步确定其属等显性遗传。

表 2 F_1 杂种猪及其亲本 Ag-NORs 的分布

亲本或杂种	头数	观察细胞数	Ag-NORs 数目分布率(%)				均数
			1	2	3	4	
长白猪	6	284	0.35	76.06	21.83	1.76	2.25
关中黑猪	12	495	0.61	4.44	56.36	38.59	3.33
巴克夏猪	11	644	0.31	99.69	0	0	1.99
长关	8	352	0.28	36.08	48.86	14.77	2.78
长巴	4	168	4.17	83.93	11.31	0.60	2.08

2.2.2 (平均)细胞型频率与(平均)染色体型频率 象 Ag-NORs 这类由细胞遗传学方法标记的基因位点与群体遗传学和生化遗传学中研究的基因位点有所不同, 他是一个种群的染色体特征, 在细胞水平上有差异, 即同一个体并非只表现一种基因型, 而是有几种细胞型并存于一体。鉴于这种遗传特点, 作者提出用个体的细胞型频率和染色体型频率、种群的平均细胞型频率和平均染色体型频率对其进行分析。

所谓细胞型是指同种细胞由于某一染色体标记上的差异而划分成的几类细胞。细胞型频率指在一个细胞群体中各种细胞型间的比率。染色体型则是指由于某一些染色体标

记使得一对常染色体的两条同源染色体呈现不同的表现型,一个细胞群体中一种染色体型对另一种染色体型的相对比率即为染色体型频率。细胞型频率与染色体型频率可由个体的随机细胞样本来估计,他反映了个体的染色体特征。

平均细胞型频率是指在一个群体中各个体细胞型频率的平均值,平均染色体型频率相应为一个群体中各个体染色体型频率之均值。这两个指标反映了种群的染色体特征。可由总体中随机抽取的样本群来估计。具体方法:Ⅰ.按定义求出样本中各个体频率之均值;Ⅱ.先统计样本观察细胞总数,再求出各类型细胞所占比率及相应的染色体型频率。当每个个体所观察的细胞数相等时,两法的估计值完全相同,当观察的细胞数不等时,估计值有微小差异(表3)。

表3 杂种及其亲本两位点 Ag-NORs 的平均细胞型频率和平均染色体型频率

亲本或杂种	头数	观察细胞数	估计方法	平均细胞型频率						平均染色体型频率			
				10 ⁻ 10 ⁻	10 ⁻ 10 ⁺	8 ⁻ 8 ⁻	8 ⁻ 8 ⁺	8 ⁺ 8 ⁺	10 ⁻ 10 ⁺	8 ⁻ 8 ⁻	8 ⁻ 8 ⁺	8 ⁺ 8 ⁺	8 ⁺ 8 ⁺
长白	6	284	I	0	0.0034	0.9966	0.7989	0.1851	0.0160	0.0017	0.9983	0.8914	0.1086
					±0.0083	±0.0083	±0.2084	±0.1725	±0.0393	±0.0042	±0.0024	±0.1127	±0.1227
			II	0	0.0035	0.9965	0.7641	0.2183	0.0176	0.0018	0.9982	0.8733	0.1267
关中黑	12	495	I	0	0.0050	0.9950	0.0439	0.5987	0.3573	0.0025	0.9975	0.3433	0.6567
					±0.0173	±0.0173	±0.746	±0.4257	±0.4514	±0.0087	±0.0087	±0.2436	±0.2436
			II	0	0.0061	0.9939	0.0505	0.5636	0.3859	0.0031	0.9969	0.3320	0.6680
巴克夏	11	644	I	0	0.0038	0.9962	1	0	0	0.0019	0.9981	1	0
					±0.0085	±0.0085				±0.0043	±0.0043		
			II	0	0.0031	0.9969	1	0	0	0.0016	0.9984	1	0
长关	8	352	I	0	0.0026	0.9974	0.3136	0.5489	0.1375	0.0013	0.9987	0.5881	0.4119
					±0.0072	±0.0072	±0.3453	±0.2768	±0.1219	±0.0036	±0.0036	±0.2189	±0.2189
			II	0	0.0028	0.9972	0.3636	0.4886	0.1478	0.0014	0.9986	0.6079	0.3921
长巴	4	168	I	0	0.0445	0.9555	0.8947	0.1005	0.0042	0.0222	0.9778	0.9450	0.0550
					±0.0485	±0.0485	±0.1326	±0.1324	±0.0096	±0.0242	±0.0242	±0.0667	±0.0667
			II	0	0.0417	0.9583	0.8810	0.1130	0.0060	0.0209	0.9791	0.9375	0.0625

按照上述定义和方法,首先对表2中的41头猪,按 Ag-NORs 标记的细胞型频率和染色体型频率作了计算分析。发现除8头(占67%)关中黑猪和4头(占50%)长关猪的8号位点外,其余29个个体的8和10号两位点的细胞型频率与染色体型频率之间存在着类似于哈代-温伯格定律的相互关系。然后采用上述两种方法,计算了5个种群的平均细胞型和平均染色体型频率,结果见表3。除关中黑猪的8号位点外,其余种群两位点间的平均细胞型频率与平均染色体型频率之间亦存在着类似于哈代-温伯格定律的相互关系。8号位点不符合哈-温平衡的关中黑猪群与长白猪随机交配一代,其后代长关群即达平衡状态。由此证明,Ag-NORs 确属等显性遗传。

2.3 由 Ag-NORs 基因位点分析群体的遗传组成

2.3.1 两位点 Ag-NORs 的平均细胞型频率和平均染色体型频率 根据 Ag-NORs 的显示规律,采用前述第二种方法,估计了表1中各品种或类群猪两位点的平均细胞型频率,按等显性遗传推算出平均染色体型频率(表4)。由表4可见,10号位点 Ag-NORs 平均染色体型频率在各品种和类群间差异不大,而8号位点差异很大、

随地理位置的不同表现出明显的规律性, 即在我国由南向北、在全球由东向西 8 Ag-NOR_s 平均染色体型频率逐渐增大, 而 10 Ag-NOR_s⁺ 频率逐渐减小。这正是 Ag-NORs 均数随地理位置不同而发生变化的根源所在。

2.3.2 依平均染色体型频率分析群体间的遗传相似性 由表 4 的平均染色体型频率(取同品种多次测定之均值)求得各品种或类群间的欧氏距离。按最短距离法进行聚类分析, 结果见图 2。这与作者以前采用 Ag-NORs 分布率进行聚类分析所得结果基本一致。说明两位点的 Ag-NORs 基因与猪种的起源进化密切相关。

表 4 10 号和 8 号位点 Ag-NORs 的平均染色体型频率

品种或类群	平均染色体型频率				群体平衡性检验*
	10Ag-NOR ⁻	10Ag-NOR ⁺	8Ag-NOR ⁻	8Ag-NOR ⁺	
香 猪	0	1	0.018 0	0.982 0	Y
荣 昌	0	1	0.067 0	0.933 0	N
内 江	0	1	0.110 0	0.890 0	Y
柳 嘉	0	1	0.147 0	0.853 0	Y
成 华	0	1	0.172 5	0.827 5	N
枫 泾	0	1	0.173 3	0.826 7	Y
	0.030 0	0.970 0	0.085 0	0.915 0	Y
	0	1	0.060 0	0.940 0	N
二 花 脸	0	1	0.157 6	0.842 4	Y
嘉 兴 黑	0	1	0.193 7	0.806 3	Y
	0	1	0.110 0	0.890 0	Y
梅 山	0	1	0.251 2	0.748 8	Y
姜 曲 海	0.001 3	0.998 7	0.384 2	0.615 8	Y
	0	1	0.197 5	0.802 5	Y
甘孜藏猪	0	1	0.473 9	0.526 1	Y
合 作	0	1	0.458 0	0.542 0	Y
八 眉	0.006 0	0.994 0	0.521 0	0.479 0	N
民 猪	0.080 0	0.920 0	0.349 0	0.651 0	Y
	0.002 0	0.998 0	0.925 0	0.075 0	Y
黑 河	0.073 1	0.926 9	0.360 4	0.139 6	N
北 京 黑	0	1	0.060 5	0.939 5	Y
关 中 黑	0.003 0	0.997 0	0.332 0	0.668 0	N
宁 夏 黑	0.044 7	0.955 3	0.632 7	0.376 3	N
苏 白	0	1	0.680 0	0.320 0	Y
大 约 克	0.012 6	0.987 4	0.910 3	0.089 7	Y
	0	1	0.976 5	0.023 5	Y
巴 克 夏	0	1	0.349 0	0.651 0	Y
	0.001 5	0.998 5	1	0	Y
拉 康 白	0	1	0.910 0	0.090 0	Y
杜 洛 克	0.002 5	0.997 5	0.972 5	0.027 5	Y
长 白	0	1	0.795 0	0.205 0	Y
	0.001 8	0.998 2	0.873 3	0.126 7	Y
	0	1	0.984 5	0.015 5	Y
	0	1	1	0	Y
欧洲野猪	0	1	0.940 0	0.060 0	Y

* Y₈ 号位点平衡, N₈ 号位点不平衡, 10 号位点全部平衡。

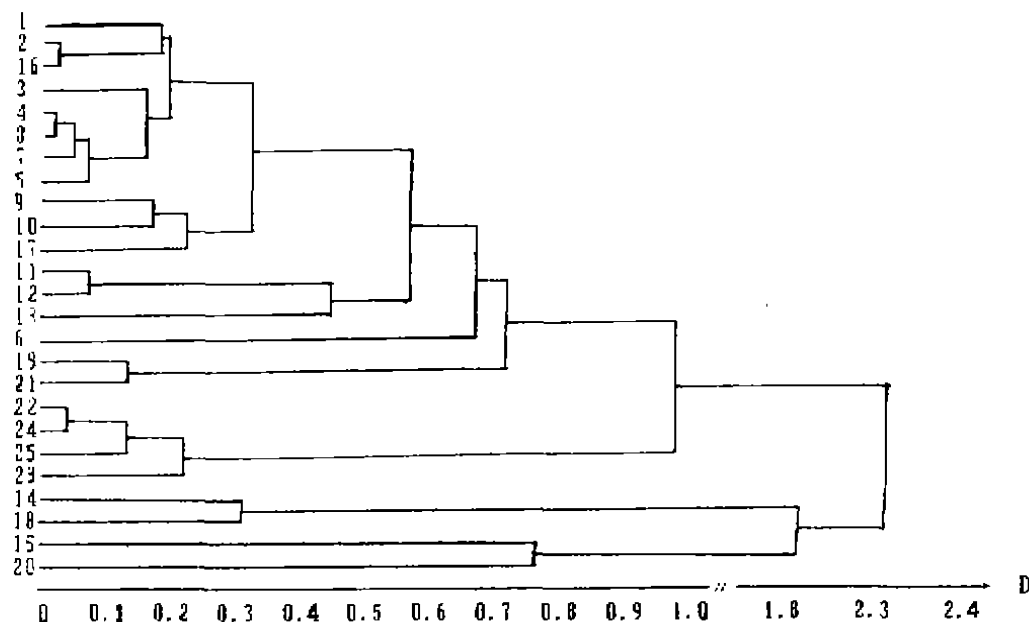


图2 25个品种(类群)猪的聚类结果

北京黑猪、关中黑猪等新培育品种,因所用亲本的不同,平均染色体型频率变化很大,但多介于双亲之间,反映出 Ag-NORs 与猪杂交育种关系密切。因收集的资料和其代表性有限,聚类结果虽不能完全体现猪的进化历史,但可看出,Ag-NORs 仍不失为一个重要的研究猪的起源进化、分类和杂交育种的细胞遗传学指标。

3 结 论

1) 通过对 F_1 杂种及其双亲品种 Ag-NORs 数目和分布的分析,证明猪的 Ag-NORs 符合孟德尔遗传。用群体分析法进而证明,8 和 10 号染色体两位点的 Ag-NORs 基因均属等显性遗传。

2) 根据细胞遗传学特点,我们提出在个体和群体两个层次上计算细胞型频率与染色体型频率、平均细胞型频率与平均染色体型频率。这些指标不仅适用于 Ag-NORs 基因位点的分析,而且适用于象 C 带大小之类的细胞遗传学标记的分析。

文中提出了两种估计群体平均细胞型和平均染色体型频率的方法,虽然两法的估计值基本一致,但因方法 I 为各个个体之均值,通过标准差的大小,可反映群体在某一位点上的一致程度,所以方法 I 优于方法 II。本文因收集的资料无个体记录,只好采用方法 II。

3) 对国内外 25 个猪种两位点 Ag-NORs 的分析表明:①个体的细胞型频率与染色体型频率之间、群体的平均细胞型频率与平均染色体型频率之间,均有类似于哈代-温

伯格定律的相互关系, 个体两项指标间符合哈-温定律的程度决定着群体的符合程度;
② 10 号位点 Ag-NORs 的平均染色体型频率在各猪种间差异很小, 而 8 号位点差异很大, 随地理位置的不同表现出明显的规律性。说明猪 Ag-NORs 的多态性主要由 8 号位点的平均染色体型频率不同所致。

4) 平均细胞型频率和平均染色体型频率与群体遗传学中的基因型频率和基因频率有类似功用, 平均染色体型频率可用于群体的遗传相似性分析。用 Ag-NORs 的平均染色体型频率进行聚类分析, 比作者先前依 Ag-NORs 分布率聚类⁽³⁾, 在理论上更有说服力, 而且通过平均染色体型频率可把细胞遗传与群体遗传、生化遗传有机的结合起来, 为细胞遗传学在家畜育种中的应用开辟了广阔的前景。

本文承蒙常洪教授审阅、指导, 谨此致谢。

参 考 文 献

- 1 Mikelsaar A V. Inheritance of Ag-stainability of nucleolus organizer regions. Investigation in seven families with trisomy 21. *Hum Genet*, 1975, 38: 183~188
- 2 柳万生、路兴中、刘孝悌等. 西北地区几个猪种银染核仁组织区(Ag-NORs)多态性的研究. 畜牧兽医学报, 1989, 20(3): 209~214
- 3 詹铁生、袁志发、柳万生. 银染核仁组织区(Ag-NORs)与家猪品种的起源进化. 畜牧兽医学报, 1989, 20(1): 1~6
- 4 Goodpasture C, Bloom S E. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma*, 1975, 53: 37~50
- 5 佐佐木清纲主编, 李世安译. 家畜的血液型及其应用. 上海: 科技出版社, 1982
- 6 程金根、解春亭. 香猪等五品种猪的C-带和银染带的分析和比较. 畜牧兽医学报, 1989, 20(3): 221~224
- 7 王子淑. 家猪品种间核仁组织区(NOR)的比较研究. 遗传, 1982, 4(6): 27~30
- 8 孙有平、夏祖灼. 太湖猪银染核仁组织区(Ag-NORs)的研究. 南京农业大学研究生毕业论文, 1988
- 9 何蕾蕾、陈幼春. 枫泾猪染色体分析. 中国农科院畜牧研究所研究生毕业论文, 1986
- 10 于汝梁、辛彩云、陈 琳等. 枫泾猪、丹麦长白猪核仁组织区(NOR)比较的初步研究. 中国农科院畜牧所, 1983 年科学研究年报, 1983, 200~201
- 11 葛云山、徐继初、徐士清. 中国一些地方猪种的遗传特性. 见: 作振英主编. 中国地方猪种种质特性. 浙江: 科学技术出版社, 1989, 303~321
- 12 王晓飞、王子淑、王喜中等. 家猪品种间染色体显带核型的比较研究. 遗传, 1989, 11(2): 16~19
- 13 王勇强、路兴中. 合作猪、黑河猪和宁夏黑猪的染色体研究. 西北农业大学硕士研究生学位论文, 1989
- 14 孙金海、祖国庸. 东北民猪的染色体组型及分带研究. 中国人民解放军兽医大学学报, 1985, 5(4): 305~313
- 15 Смефанов В Н. Полиморфизм ядрышкообразующих районов хромосом домашней свиньи. *Цитология* 1987, 25(2): 189~193
- 16 Lin C C, Biederman D M, Jamro H K et al. Porcine (*Sus Scrofa Domestica*) chromosome identification and suggested nomenclature. *Can. J. Genet. Cytol.*, 1980, 22: 103~116

- 17 Schwarzacher H B, Wachtler F. Nucleolus organizer regions and nucleoli. *Hum Genet*, 1983, 63: 89~99
- 18 Mayr B, Schweizer D, Geber G. NOR activity, heterochromatin differentiation, and the Robertsonian polymorphism in *Sus scrofa* L. *J Hered*, 1984, 75: 79~80

The Genetic Pattern of Silver Staining Nucleolus Organizer Region in Swine

Liu Wansheng Lu Xingzhong Liu Xiaodun

(Department of Animal Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The genetic pattern of Ag-NORs in swine was proved to be in codominance using the method of population analysis. The concepts of frequencies of cell-type, chromosome-type, average cell-type and average chromosome-type and their evaluation methods were suggested. It was found that there existed the Hardy-Weinberg law in the relationships among the frequencies of cell-type and chromosome-type, the average frequencies of cell type and chromosome-type marked with Ag-NORs under random mating. The function of the average frequency of chromosome-type was similar to that of the gene frequency which would be used to analyse the genetic similarity among populations. The polymorphisms of Ag-NORs in swine were mainly caused by the differences of frequency of 8 Ag-NORs chromosome-type.

Key words Ag-NORs, genetic pattern, swine