

成都麻羊遗传多态性研究^{*}

刘小林¹, 常洪², 任战军¹, 耿社民¹, Ken Nozawa³

(1 西北农林科技大学 畜牧兽医学院, 陕西 杨陵 712100; 2 扬州大学 畜牧兽医学院, 江苏 扬州 225009; 3 日本中京大学 教养部, 名古屋 446)

[摘要] 为了探索成都麻羊的品种特点和群体遗传结构, 应用随机抽样方法, 调查了四川省大邑县的42只成年成都麻羊, 用淀粉凝胶电泳法测定了33个血液蛋白座位, 并对其外形特征进行了检测。结果表明, 运铁蛋白(Tf)、亮氨酸胺酶(LAP)、碱性磷酸酶(Ap)、前白蛋白-3(Pa-3)、淀粉酶(Amy)和酯酶-D(Es-D)6个血液蛋白座位表现多态性, 多态位点比例为0.1818; 11个类别25种外型特征中8个类别有变异体。平均杂合度分析表明, 成都麻羊变异程度较小($\bar{H} = 0.0545$), 结合现场实际调查情况, 可以认为成都麻羊群体有效规模较小, 分布地域狭小, 急需保种。

[关键词] 成都麻羊; 血液蛋白多态性; 外型特征; 遗传检测

[中图分类号] S827.2 **[文献标识码]** A

[文章编号] 1000-2782(2002)02-0063-05

山羊遗传资源是家畜遗传资源的重要组成部分, 对山羊遗传资源的起源、系统地位、分布范围、生态特征、遗传特性进行系统的研究, 是保护、评价和利用山羊遗传资源的基础。日本学者对日本及东南亚国家的地方山羊血液蛋白多态性和其他遗传标记特征的群体分布特性进行了较为深入的研究^[1-3]。Antova^[4]对阿尔泰山地区山羊血液蛋白多态性进行了分析, Salerno^[5]对意大利南部山羊血液蛋白多态性进行了研究, Fesus等^[6]对匈牙利土种羊、德国改良羊、莎能山羊、努比亚山羊、斯洛伐克白山羊血液蛋白多态性进行了研究, Tunon^[7]对西班牙的14个山羊品种的14个血液蛋白座位进行了研究, 郭春华等^[8]对藏山羊的7个血液蛋白座位进行了检测, 张智英^[9]对河南部分山羊血液蛋白多态性进行了研究, 欧阳叙向等^[10]对5个地方山羊品种的8个血液蛋白座位进行了检测, 常洪等^[11]对中卫山羊进行了遗传检测, 刘小林等^[12]对内蒙古绒山羊33个血液蛋白多态性等进行了检测。成都麻羊主要分布在四川成都平原及其临近的丘陵地区, 是该地的地方山羊品种, 约有10万余只。本研究通过对成都麻羊血液蛋白多态性和外貌表型抽样遗传检测, 旨在揭示成都麻羊遗传结构和品种特性, 为保护和合理利用

山羊品种资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 抽样方法

采用随机抽样方法^[9], 在四川省大邑县悦来镇、丹凤乡、金星乡检测了42只成年成都麻羊的外形特征和毛色, 颈静脉采血, 肝素钠抗凝, 分离血浆和红细胞, 低温冷冻保存备用。

1.2 测定项目及方法

采用水平板式淀粉凝胶电泳法^[10], 检测了33个血液蛋白座位的多态性, 检测座位及其方法列于表1。

1.3 外型特征分析

观察有关角形、耳型、耳状、肉髯、被毛、额毛、鬃、乳头、性异常等12组共25种外型特征, 统计各类别的频率。

1.4 资料的统计分析

随机抽样频率和抽样误差估计公式分别为

$$P_s = n_i/N, V_{P_s} = [P_s(1 - P_s)]/[2(N - 1)]$$

式中, P_s 为样本中特定类别频率; V_{P_s} 为随机抽样的方差; n 是样本中特定类别的羊只数; N 是样本规模(样本群中羊只总数)。

可靠性估计(以估计值不偏离实际值0.5倍为

^{*} [收稿日期] 2001-05-09

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(38370507)

[作者简介] 刘小林(1961-), 男, 陕西城固人, 副教授, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖的教学和科研工作。

限)

群体内座位平均座位杂合度为

$$\lambda = 0.5P_s/\sqrt{V_{ps}}, \beta = \int \frac{2}{\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{x^2}{2}} d\lambda$$
$$\bar{H} = \frac{1}{R} \left[\sum_i (1 - \sum_k q_{ki}^2) \right]$$

精确性的最小估计(以可靠性达到 95.45%,即
 $\lambda = 2$ 时的相对偏差)

$$\eta = \lambda \cdot \sqrt{V_{ps}/P_s}$$

式中, r 为多态座位数; n 为第 k 个座位的等位基因
个数或表型数; q_{ki} 为第 k 个座位中第 i 个等位基因
或表型的频率, R 为检测位点数(包括单态位点和多
态位点 r 在内)。

表 1 山羊血液蛋白电泳检测座位				
Table 1 Blood protein loci electrophoretically examined in the goat				
中文名称 Chinese name	英文名称 English name	英文缩写 Abbreviation	参照标准 Reference standard	
血红蛋白 α链	Hemoglobin αchain	Hb-α	Chernoff and Pettit	(1964)
血红蛋白 αII 链	Hemoglobin duplicated αchain	Hb-αII	Chernoff and Pettit	(1964)
血红蛋白 β链	Hemoglobin βchain	Hb-β	Chernoff and Pettit	(1964)
白蛋白	Albumin	Alb	Watanabe et al	(1965)
运铁蛋白	Transferrin	Tf	Watanabe et al	(1965)
血液结合素	Haptoglobin	Hp	Ishimoto	(1972a)
α-球蛋白	Slow αmacroglobulin	α	Watanabe et al	(1965)
血浆非特异性酯酶	Esterase	Es	Gahne	(1966)
血浆铜兰蛋白	Ceruloplasmin	Cp	In'lah	(1964)
前白蛋白-1	Prealbumin-1	PA-1	Omoto et al	(1970)
前白蛋白-2	Prealbumin-2	PA-2	Omoto et al	(1970)
前白蛋白-3	Prealbumin-3	PA-3	Gahne	(1966)
碱性磷酸酶	Alkaline phosphatase	Alp	Watanabe	(1971)
淀粉酶	Amylase	Amy	Abe and Oishi	(1974)
酯酶-D	Esterase-D	Es-D	Hopkinson et al	(1973)
6 磷酸葡萄糖酸脱氢	6phosphogluconate dehydrogenase	6PGD	Ishimoto	(1972b)
磷酸己糖异构酶	Phosphohexose isomerase	PHI	Detter et al	(1968)
苹果酸脱氢酶	Malate dehydrogenase	MDH	Shotake and Nozawa	(1974)
乳酸脱氢酶A	Lactate dehydrogenase-A	LDH-A	Shotake	(1974)
乳酸脱氢酶B	Lactate dehydrogenase-B	LDH-B	Shotake	(1974)
NADH-心肌黄酶	NADH-diaphorase	Dia	Ishimoto	(1972b)
酸性磷酸酶	Acid phosphatase	AcP	Karp and Sutton	(1967)
四唑氧化酶	Tetrazolium oxidase	To	Baur and Schorr	(1969)
酯酶-1	Cell esterase-1	Ces-1	Shaw and Prasad	(1970)
酯酶-2	Cell esterase-2	Ces-2	Shaw and Prasad	(1970)
腺苷酸激酶	Adenylate kinase	AK	Bowman and Ronaghy	(1967)
过氧化氢酶	Catalase	Cat	Kelly et al	(1971)
肽酶	Peptidase-B	Pep-B	Lewis and Harris	(1967)
异柠檬酸脱氢酶	Isocitrate dehydrogenase	IDH	Ishimoto	(1972b)
乙二醛酶	Glyoxalase-I	Go-I	Parr et al	(1977)
谷草转氨酶	Glutamic oxaloacetate transaminase	GOT	Ueda et al	(1981)
磷酸葡萄糖变位酶	Phosphoglucomutase	PGM	Shotake et al	(1975)
葡萄糖 6 磷酸脱氢酶	Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6PD	Shaw and Prasad	(1970)

2 结果与讨论

2.1 血液蛋白多态性

本研究检测了 42 只成都麻羊的 33 个血液蛋白

座位,发现 6 个座位有多型,LAP 座位首次观察到
变异体,多型座位的基因频率见表 2。

表 2 成都麻羊血液蛋白多型座位检测结果

Table 2 The estimated value of gene frequencies of blood p rotein in Chengdu Grey Goat					
座位 Loci	等位基因 A llele	基因频率 Gene frequencies	方差 Variance	可靠性 Reliability	精确度 A ccuracy
Tf	Tf ^A	0.797 6	1.968 7 × 10 ⁻³	1.000 0	0.111 3
	Tf ^B	0.202 4	1.968 7 × 10 ⁻³	0.977 4	0.438 4
LAP	LAP ^A	0.773 8	2.134 6 × 10 ⁻³	1.000 0	0.119 4
	LAP ^B	0.226 2	2.134 6 × 10 ⁻³	0.985 6	0.408 5
A ₁ p	A ₁ p ^O	0.547 6	3.021 1 × 10 ⁻³	1.000 0	0.200 7
	A ₁ p ^F	0.452 4	3.021 1 × 10 ⁻³	1.000 0	0.243 0
PA-3	PA-3 ¹	0.750 0	2.286 6 × 10 ⁻³	1.000 0	0.127 5
	PA-3 ²	0.250 0	2.286 6 × 10 ⁻³	0.991 1	0.382 5
Amy	Amy ¹	0.976 2	2.833 4 × 10 ⁻⁴	1.000 0	0.034 5
	Amy ²	0.023 8	2.833 4 × 10 ⁻⁴	0.520 4	1.414 5
Es-D	Es-D ¹	0.881 0	1.278 5 × 10 ⁻³	1.000 0	0.081 2
	Es-D ²	0.119 0	1.278 5 × 10 ⁻³	0.903 9	0.600 9

注: 多态位点比例为 0.181 8, 平均座位杂合度为 0.054 5。
Note: The proportion of polymorphic loci is 0.181 8 The heterozygosity of average seat is 0.054 5

运铁蛋白(Tf)座位受一对共显性等位基因Tf^A和Tf^B控制,有3种基因型对应的3种表型(AA,AB,BB),Tf^A基因的频率(0.797 6)占优势,这与既有报道说明我国北方山羊Tf^A的频率占优势一致^[8]。据报道,东南亚多数山羊品种只有Tf^A和Tf^B2种基因,个别品种有Tf^C基因,但频率极低^[2]。有报道^[13]认为,挪威山羊Tf座位受6个复等位基因控制,前苏联安哥拉山羊Tf座位受5个复等位基因控制。

亮氨酸氨肽酶(LAP)座位,首批观察到AA条带后的慢带AB,未见到BB带。

碱性磷酸酶(A₁p)座位受一对有显隐性关系的等位基因控制,电泳表现为有带和无带2种表型。本研究发现,无带型频率(0.547 6)高于有带型(0.452 4),并且有带型之间仍有差异。据报道,几乎所有山羊品种均存在这2种变异类型,无带型频率占优势^[11]。

前白蛋白3(PA-3)座位受一对共显性等位基因PA-3¹和PA-3²(分别为快带基因和慢带基因)控制,有3种基因型对应的3种表型(1-1,1-2,2-2),该座位基因的频率变化较大,本研究PA-3¹的频率(0.75)明显高于PA-3²(0.25)。有关PA-3的报道主要见于我国学者对中国山羊品种和日本学者对东南亚及日本山羊品种的研究^[1~3,11,12]。

淀粉酶(Amy)座位受Amy¹,Amy²,Amy³3个复等位基因控制,有6种表型,本研究只检测到前两种等位基因,Amy¹的频率(0.976 2)占绝对优势,Amy²基因的频率较低(0.023 8)。

酯酶-D(Es-D)座位受一对共显性等位基因Es-

D¹和Es-D²(分别为快带基因和慢带基因)控制,有3种基因型对应的3种表型(1-1,1-2,2-2),Es-D¹的频率(0.881 0)高于Es-D²(0.119 0)。该座位两个等位基因的频率较为接近,各品种的报道不相一致。

据报道,血红蛋白(Hb)、白蛋白(A₁b)、铜兰蛋白(Cp)、肽酶-B(Pep-B)、过氧化氢酶(Cat)、乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)等在不同山羊群体中均表现不同程度的多型,是山羊品种遗传资源评价、品种起源与分化研究的基础。

血液蛋白座位基因频率统计结果表明,基因频率估计值的误差均较低,当相对偏差以0.5为限时,基因频率估计值的可靠性除稀有基因Amy²和频率较低的Es-D²外,其余均在95%以上,说明基因频率估计值是可信的。当可靠性达95.45%(即标准偏差以2为限)时,除稀有基因Amy²和频率较低的Es-D²的估计值精确性偏离程度较大外,其他各种基因频率估计值都不偏离实际值的0.5倍。

2.2 毛色遗传分析

毛色是识别个体、血液系统、品种归属的遗传标记,也是绒、毛、羔皮、裘皮用山羊的重要经济性状,毛色的变异是由少数基因座位控制的性状。成都麻羊毛色较为一致,具有野生型特征毛色,基础毛色为浅黄、褐、深红褐色,颜面、背线、腹底、四肢、肩侧有黑章,这种毛色被认为是山羊的原始毛色类型,国外统称Bezoar(wild type pattern,野生型)毛色。

2.3 外形特征的遗传分析

11类25种外形特征的表型频率及其估计误差、可靠性、精确度的统计结果见表3。

表 3 成都麻羊外形特征表型频率

Table 3 The estimated value of phenotypic frequencies of morphological features in Chengdu Grey Goat

类型 Sort	外形特征 Appearance features	表型频率 Phenotypic frequencies	方差 Variance	可靠性 Reliability	精确度 Accuracy
角 Horn	有角 Have horn	0.904 8	$1.050 5 \times 10^{-3}$	1.000 0	0.071 6
	无角 No horn	0.095 2	$1.050 5 \times 10^{-3}$	0.858 0	0.680 9
	刀状 Scimitar shaped	0.973 7	$3.372 0 \times 10^{-4}$	1.000 0	0.037 7
角型 Horns type	对旋 Heteronymously twisted	0.026 3	$3.372 0 \times 10^{-4}$	0.526 4	1.395 4
	顺旋 Homonymously twisted	0	0	1.000 0	0
	大回旋 Backward twisted	0	0	1.000 0	0
耳状 Ears shape	竖耳 Upright	1.000 0	0	1.000 0	0
	半垂耳 Semi-droop	0	0	1.000 0	0
	垂耳 Droop	0	0	1.000 0	0
耳形 Ears type	狭长 Narrow and long	1.000 0	0	1.000 0	0
	短宽 Wide and short	0	0	1.000 0	0
肉髯 Wattle	有肉髯 Have wattle	0.904 8	$1.050 5 \times 10^{-3}$	1.000 0	0.071 6
	无肉髯 No wattle	0.095 2	$1.050 5 \times 10^{-3}$	0.858 1	0.680 9
额毛 Forehead hair	有额毛 Have forehead hair	0.047 6	$5.528 6 \times 10^{-4}$	0.688 6	0.987 9
	无额毛 No forehead hair	0.952 4	$5.528 6 \times 10^{-4}$	1.000 0	0.049 4
髯 Whisker	有髯 Have whisker	0.857 1	$1.493 3 \times 10^{-5}$	1.000 0	0.090 2
	无髯 No whisker	0.142 9	$1.493 3 \times 10^{-5}$	0.935 5	0.540 8
髯型 Whisker size	大髯 Large whisker	0.055 6	$1.050 5 \times 10^{-3}$	0.728 1	0.910 2
	小髯 Small whisker	0.944 4	$1.050 5 \times 10^{-3}$	1.000 0	0.053 6
副乳头 Supernumerary teat	有副乳头 Have	0.047 6	$5.530 7 \times 10^{-4}$	0.688 5	0.988 1
	无副乳头 No	0.952 4	$5.530 7 \times 10^{-4}$	1.000 0	0.049 4
被毛 Hair coat	长被毛 Long hair	0.023 8	$2.834 5 \times 10^{-4}$	0.520 3	1.414 8
	短被毛 Short hair	0.976 2	$2.834 5 \times 10^{-4}$	1.000 0	0.034 4
性特征 Sex characteristics	性正常 Normal sex	1.000 0	0	1.000 0	0
	性异常 Sex deviation	0	0	1.000 0	0

由表 3 可知,在调查的 11 个类别中,成都麻羊在角、额毛、髯、髯型、肉髯、副乳头、被毛类型等 8 个类别的特征方面表现有变异体,以有角、刀状角、有肉髯、无额毛、有小髯、短被毛、无副乳头为主,其他特征的表现一致,均为竖耳、狭长耳、性正常。这些典型的外形特征明显地反映了成都麻羊的品种特点。除了长被毛和对旋角观察到的头数少外,其他外形特征的频率估计可靠性大、精确度高。

3 讨论与结论

3.1 成都麻羊品种资源特点及其遗传多样性保护

成都麻羊是我国长江流域著名的肉乳兼用地方山羊品种,对成都平原及其临近的丘陵地区生态环境有较强的适应性,毛色一致,外形特征的多样性丰富,血液蛋白多态性分析表明群体内平均杂合度较低,群体规模较小,目前的分布地域越来越狭小,其中心产区逐渐向原来的边缘产区移动。保护品种遗传多样性是目前的主要育种任务之一。今后应以本品种选育为主,保持成都麻羊繁殖力高、适应性强、遗传性稳定等优良特点,进一步提高肉、乳生产性能

和板皮品质,抓好羔羊肥育出栏。

3.2 成都麻羊血液蛋白多态性

成都麻羊在 6 个血液蛋白座位表现多型,首批观察到 LAP 座位的多型,在国际合作研究中得到认可。在多型座位中均发现了两个等位基因,与既有的报道一致。

3.3 山羊遗传检测中统计方法和抽样代表性

本研究根据成都麻羊群体规模小而分散的品种分布特点,采用随机抽样方法,对该品种进行抽样检测,以估计值不偏离实际值 0.5 倍的可靠性及可靠性达到 95% 45% 时的相对偏差,对基因频率及其方差进行了估计,结果表明,除 A_{my}^2 和 E_{sD}^2 外,其余座位各个基因频率估计的精确度高,可靠性均在 95% 以上。

从理论上讲,较多的基因座位是山羊基因组所有结构基因座的随机样本,在抽样个体数保持一定规模时,对一个品种基因组有较高的代表性和精确、可靠的估计。本研究检测的成都麻羊 33 个血液蛋白结构基因座,可以认为对品种有较高的代表性,各项估计值精确、可靠。

[参考文献]

- [1] Nozawa K, Sninjo A, Shotake T. Population genetics of farm animals II. Blood protein variations in the meat goats in Okinawa Islands of Japan[J]. Z Tierzuchtg Zuchtgsbiol, 1978, 95: 60- 77.
- [2] 胜又诚, 野泽谦 日本ザンネン种山羊における血液蛋白の遗传子构成[J]. 日本畜产学会报, 1981, 52: 553- 561.
- [3] 野泽谦, 并河鹰夫 フイリピン在来山羊の体型と形态学的遗传变异[J]. 在来家畜研究会报告, 1978, 8: 72- 76
- [4] Antova N Y. Blood protein polymorphism and its relationship with economic traits in goats in the high Altai mountain zone[J]. Biokhimicheskoe Obozrenie Obozrenie Obozrenie Obozrenie, 1977, 120: 109- 111.
- [5] Salerno A. Researches on protein polymorphism in a population of South Italy[A]. Proc Xth Eur Conf Animal Blood Grps Biochem Polymorph[C]. Warsaw: 1968 517- 520
- [6] Fesus L, Varknoyl J, A ts A. Biochemical polymorphism goats with special reference to the Hungarian native breed[J]. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 1983, 14(1): 1- 6
- [7] Tunon M J. Genetic relationships among 14 native Spanish breeds of goat [J]. Animal Genetics, 1988, 20(2): 205- 206
- [8] 郭春华, 冯蜀举, 邓 军, 等. 藏山羊血液蛋白多态性研究[J]. 西南民族学院学报(自然科学版), 1992, (3): 268- 273
- [9] 张智英. 河南省部分山羊品种血液蛋白多态性与亲缘关系的探讨[J]. 中国养羊, 1992, 3: 13- 16
- [10] 欧阳叙向, 尹镇华. 中国5个地方山羊品种血液蛋白多态性研究[A]. 第四次全国畜禽遗传标记研讨会论文集[C]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1993 33- 38
- [11] 常 洪, 刘小林, 耿社民. 中国家畜遗传资源研究[M]. 西安: 陕西人民教育出版社, 1998 88- 92
- [12] 刘小林, 常 洪, 任战军, 等. 阿拉善盟内蒙古绒山羊血液蛋白位点及外貌表型检测[J]. 西北农业学报, 1998, 7(2): 20- 24
- [13] Braend M, Toker EM, Clarke SW. Search for genetic variation in the blood of Norwegian dairy goats reveals a new polymorphism at the Hb β locus[J]. Animal Genetics, 1987, 18(1): 75- 79

Studies on genetic polymorphism of Chengdu Grey Goat

L IU Xiao-lin¹, CHANG Hong², REN Zhan-jun¹, GENG She-min¹, NOZAWA Ken³

(1 College of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Animal Husbandry and Veterinary College of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

3 Faculty of Liberal Arts, Chukyo University Nagoya 466, Japan)

Abstract: In order to clarify the variety characteristics and genetic structure of Chengdu Grey Goat, the genetic examination was carried out with 33 blood protein loci examined by starch gel electrophoresis and 11 appearance features by simple random sampling in Sichuan Province Dayi County. The gene frequencies of blood protein loci and the phenotypic frequencies of appearance feature were estimated. The results showed that polymorphism was found at six blood loci of Tf, Lap, Alp, PA-3, Amy and Es-D, the proportion of polymorphous loci (Ppoly) is 0.1818, and that variant was found at 7 appearance features. And the result of average heterozygosity ($\bar{H} = 0.0545$) analysis indicated that Chengdu Grey Goat had little variability and small effective size of population, and had faced the sense of urgency of breed preservation.

Key words: Chengdu Grey Goat; blood protein polymorphism; appearance feature; genetic examination