

猪几个血清蛋白质位点的等位基因频率 在选育中的变化趋势

陶 钧^{①②} 胡维新^① 罗志勇^①

(① 中南大学湘雅医学院分子生物学研究中心 长沙 410078;

② 长沙理工大学生物与轻工系 长沙 410077)

摘要: 采用淀粉凝胶电泳测定了杜洛克猪的转铁蛋白(Tf)、前白蛋白(Pa)、血液结合素(Hpx)、铜兰蛋白(Cp)和淀粉酶(Am)多态性,统计和计算了表现型数和等位基因频率,并同1968年测得的基因频率进行了比较,揭示了杜洛克猪几个血清蛋白质位点的等位基因频率在长期选育中的变化趋势,即随着人们有目的地进行选育,这些血清蛋白质位点的等位基因数减少,基因频率向某个等位基因集中,形成优势等位基因。目前的优势等位基因是 Tf^B 、 Pa^A 、 Hpx^3 、 Cp^B 、 Am^B 。此外,将杜洛克猪的基因频率同湖南部分地方猪进行了比较,计算了它们的平均杂合度、遗传相似系数和遗传距离系数,并做了聚类分析。

关键词: 猪; 血清蛋白质; 基因频率; 等位基因; 变化趋势

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)02-38-05

Varied Tendency of Allele Frequency of Several Serum Protein Loci in Pigs during Stock Selection

TAO Jun^{①②} HU Wei-Xin^① LUO Zhi-Yong^①

(① Molecular Biology Research Center, Central South University Xiangya Medical School, Changsha 410078;

② Biology and Light Industry Department, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410077, China)

Abstract: The polymorphism of Tf, Pa, Hpx, Cp, Am, of Duroc pigs was investigated using the method of horizontal starch gel electrophoresis. The number of the phenotypes and allele frequencies were calculated and compared with the allele frequencies determined in 1968. The varied tendency of the allele frequencies of the serum protein loci during stock selection was revealed. The number of alleles of serum protein loci was decreased, and the allele frequencies concentrated on an allele to form the superior allele. The present superior alleles are Tf^B , Pa^A , Hpx^3 , Cp^B and Am^B . Moreover, the gene frequency of Duroc pigs was compared with that of a Hunan native pig species. Their average heterozygosity, genetic similarity coefficient and standard genetic distance were calculated, and cluster analysis was performed.

Key words: Pig; Serum protein; Gene frequency; Allele; Varied tendency

科学工作者就猪品种间血清蛋白质系统的基因频率差异及其作用进行了大量研究,但猪品种在长期选育过程中的基因频率变化趋势及其意义的研究尚未见报道。杜洛克猪是原产于美国东北部的一个脂肪型品种^[1]。经过长期人

工选育,已成为生长速度快、瘦肉率高、饲料报

第一作者介绍 陶钧,男,副教授,博士研究生;主要研究方向:生化遗传; E-mail: tao_shiren@hotmail.com。

收稿日期:2003-08-10,修回日期:2004-01-10

酬高、遍布世界各地的著名瘦肉型品种。在长期选育提高过程中,其血清蛋白质位点各等位基因频率发生了什么变化,基因频率变化与生产性能提高有何关系,等位基因频率增减对猪品种选育提高有何指导意义?本文以杜洛克猪5个血清蛋白质位点为研究内容,探讨了此问题。

1 材料与方法

1.1 血样采集 从湖南衡阳新民农场引进培育的杜洛克纯种猪中随机采血36头份。视猪的大小,每头猪由耳静脉或前腔静脉采血2 ml,自然凝血,现场离心分离血清,用毛细玻璃管分装,用冰瓶带回实验室,置冰箱冰冻室保存至电泳测定。

1.2 蛋白质多态性测定 采用陶钧改进的一次淀粉凝胶电泳同时测定猪6种血清蛋白质多态性的方法^[2],测定各个血清样本的转铁蛋白(Tf)、血液结合素(Hpx)、前白蛋白(Pa)、铜兰蛋白(Cp)和淀粉酶(Am)等5种蛋白质的多态型。

1.3 蛋白质多态性定型 转铁蛋白多态表现型参照国外经同位素铁标记的图谱并根据蛋白质相对迁移率进行判定^[3]。其它4种蛋白质或酶的多态表现型参照国际上经比较试验和家系资料验证的图谱并根据蛋白质或酶的相对迁移率进行判定^[4,5]。

1.4 杜洛克猪 20世纪60年代的5种血清蛋白质位点的基因频率资料来自美国衣阿华州立大学Baker^[1]关于杜洛克和汉普夏猪血清蛋白质的变异一文。桃源猪、沙子岭猪和宁乡猪的基因频率资料来自陶钧^[7]关于湖南地方猪种群亲缘关系的生化遗传学研究一文。

1.5 数据处理

(1)平均杂合度(\bar{H})采用Nei^[8]介绍的公式和方法计算,其公式为:

$$\bar{H} = \sum_{k=1}^r hk/r$$

其中 r 为位点数, hk 为第 k 个位点的杂合度估计值,即 $hk = 1 - \sum X_i^2$,其中 X_i 是第 i 个等位基因频率。

(2)遗传相似系数(I)采用熊全沫^[9]介绍的公式和方法计算,其公式为:

$$I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x \cdot J_y}}, \text{其中 } J_{xy} = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^n X_i \cdot Y_j,$$

$$J_x = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^n X_i^2, J_y = \frac{1}{r} \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^n Y_j^2$$

其中 r 为位点数, n 为等位基因数, X_i 、 Y_j 分别为 X 、 Y 品种第 i 个等位基因频率。

(3)标准遗传距离(D)采用Nei^[8]介绍的公式和方法计算,其公式为:

$$D_{xy} = -\ln \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x \cdot J_y}}$$

其中 $\frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x \cdot J_y}}$ 为遗传相似系数(I)。

(4)聚类分析采用熊全沫^[9]介绍的类平均聚类法。从遗传矩阵中找出最小值 $\text{Min}[D_{ij}] = D_{pq}$,表示 p 、 q 亲缘关系最近,将 p 、 q 合并成为一个新的类 p/q , p 和 q 与其它类的遗传距离系数相加再除以2获得平均值组成新的矩阵,如此重复下去,直到合并成为一个类为止。

2 结果与分析

杜洛克猪的Tf、Hpx、Pa、Cp和Am等5个血清蛋白质位点的表现型电泳测定结果见图1~4。血液结合素(图1)在凝胶上呈兰色条纹——过氧化物酶活性带,各等位基因表现型的电泳带都分布在一共有带的前方。淀粉酶(图2)具有水解淀粉的活性,由于淀粉被水解,在凝胶上呈现透明带。铜兰蛋白(图3)具有氧化酶活性,能将对苯二胺氧化成红色化合物,因此在凝胶上呈现三条红色带。前白蛋白和转铁蛋白(图4):前白蛋白每个等位基因表现为一条带,而转铁蛋白每个等位基因表现为3条带,因此纯合子为3条带,杂合子为5~6条带。根据电泳测定结果直接记数得到各表现型分布见表1。

由于所测定的5个位点都是等显性的,可由表现型直接推断基因型,即基因型等于表现型;根据任何一个等位基因频率等于它的纯合体基因型频率加上由它组成的杂合体基因型频

率的一半,计算出各等位基因频率分布见表 2。

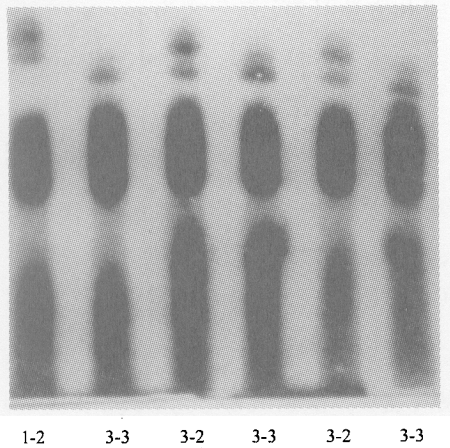


图 1 血液结合素型电泳图

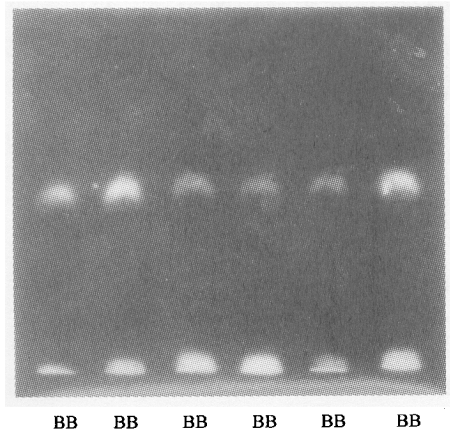


图 2 淀粉酶型电泳图

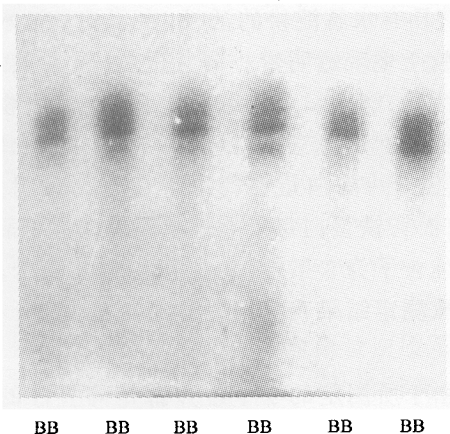


图 3 铜兰蛋白型电泳图

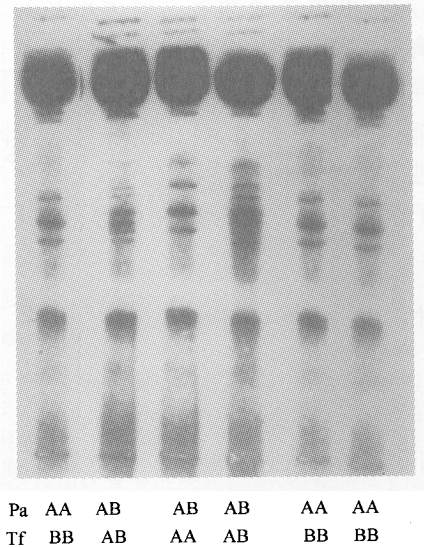


图 4 Pa、Tf 型电泳图

表 1 杜洛克猪 5 个血清蛋白质位点的表现型分布

	Tf	Cp	Pa	Am	Hpx
表现型与个数	AA 1 AB 2 BB 33	BB 36	AA 25 AB 8 BB 3	BB 36	3-3 10 3-3F 12 3-2 9 3F-3F 2 3F-2 2 2-2 1
合计	36	36	36	36	36

表 2 杜洛克猪 5 个血清蛋白质位点的等位基因频率分布

	Tf	Cp	Pa	Am	Hpx
等位基因频率	Tf ^A 0.05 Tf ^B 0.95	Cp ^B 1	Pa ^A 0.805 Pa ^B 0.195	Am ^B 1	Hpx ³ 0.567 Hpx ^{3F} 0.25 Hpx ² 0.183

2002 年测得的杜洛克猪 5 个血清蛋白质位点的等位基因频率同 1968 年测得的以及同湖南地方猪的基因频率比较见表 3。

根据基因频率,应用上述公式计算得各猪种的平均杂合度见表 4。

到 2002 年杜洛克猪的平均杂合度比 1968 年明显减少,这是由于经过 30 多年的人工选择后,一些等位基因被淘汰,基因频率向优势等位基因集中的结果。

根据各品种基因频率计算得到各品种间遗

传相似系数和遗传距离系数见表 5。

表 3 几个猪品种 5 个血液蛋白质位点的等位基因频率比较

		2002 年杜洛克猪	1968 年杜洛克猪	2002 年与 1968 年比较	宁乡猪	桃源猪	沙子岭猪
Tf	A	0.05	0.24	减少	0	0.049	0
	B	0.95	0.76	增加	0.884	0.664	0.571
	C	0	0	0	0.116	0.287	0.429
Hpx	3	0.567	0.25	增加	0.295	0.271	0.25
	3F	0.25	0.34	减少	0	0	0.018
	2	0.183	0.14	增加	0.366	0.328	0.42
	1	0	0.26	减少	0.285	0.385	0.223
	1F	0	0.01	减少	0.044	0.008	0.072
	0	0	0	0	0	0.008	0.018
Cp	B	1	1	不变	1	0.893	1
	C	0	0	0	0	0.107	0
Pa	A	0.805	0.52	增加	0.920	0.894	0.866
	B	0.195	0.48	减少	0.080	0.106	0.134
Am	A	0	0	0	0.277	0.328	0.223
	B	1	1	不变	0.669	0.656	0.661
	C	0	0	0	0.054	0	0.098
	X	0	0	0	0	0.016	0.018

X 为新发现的、未正式命名的等位基因

表 4 几个猪品种的平均杂合度

	2002 年杜洛克	1968 年杜洛克	宁乡猪	桃园猪	沙子岭猪
平均杂合度	0.198 5	0.319 6	0.304 1	0.397 5	0.386 2

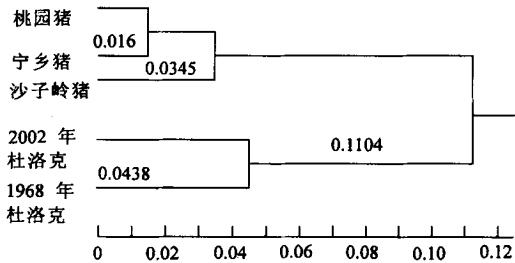
表 5 几个猪品种之间的遗传相似系数和标准遗传距离

	2002 年杜洛克	1968 年杜洛克	宁乡猪	桃园猪	沙子岭猪
杜洛克(2002 年)		0.957 1	0.937 3	0.902 8	0.898 1
杜洛克(1968 年)	0.043 8		0.897 7	0.882 1	0.874 1
宁乡猪	0.064 7	0.107 9		0.983 4	0.951 3
桃园猪	0.102 2	0.125 4	0.016		0.981
沙子岭猪	0.107 4	0.134 5	0.049 9	0.019 2	

上三角为遗传相似系数,下三角为遗传距离系数

由表 5 可见,杜洛克猪从 1968 ~ 2002 年,经过 30 多年的人工选择,其遗传距离由 0 增加到 0.043 8。这说明人工选育明显影响猪的遗传距离系数。外来杜洛克猪与湖南地方猪的遗传距离系数较大,说明亲缘关系较远;而湖南地方猪之间的遗传距离都较小,说明亲缘关系较近。

根据遗传距离系数,采用类平均聚类法绘制的树状图见图 5。尽管杜洛克猪与湖南地方猪之间的遗传距离系数有所缩小,但仍然存在很大差别,它们在较远水平上才聚类。这说明杜洛克猪引入湖南后,还没有掺入湖南地方猪



淀粉酶(Am)位点没有变化以外,转铁蛋白(Tf)、血液结合素(Hpx)和前白蛋白(Pa)系统各个等位基因频率都发生了较大的变化,在转铁蛋白系统,等位基因 B 的频率明显增加,等位基因 A 的频率明显减少。在血液结合素系统,等位基因 3 的频率明显增加,等位基因 2 的频率略有增加,其它等位基因频率都减少,有的甚至被淘汰。在前白蛋白系统,等位基因 A 的频率增加,等位基因 B 的频率减少。由于基因频率向某个等位基因集中,这就形成了优势等位基因。杜洛克猪五个蛋白质位点的优势等位基因分别是 Tf^B 、 Hpx^3 、 Cp^B 、 Pa^A 、 Am^B 。湖南三个地方猪品种的第一优势等位基因与杜洛克猪基本相同(由于湖南地方猪在 Hpx 位点还没有形成明显的优势等位基因,两者略有差异),但在 Tf、Am 位点具有明显不同于杜洛克猪的第二优势等位基因,它们分别是 Tf^C Am^A 。此外,宁乡猪、桃源猪和沙子岭猪同杜洛克猪相比,现存的等位基因数更加丰富,等位基因频率分布更分散,在桃源猪尤其如此。

3 讨论

本研究采用的蛋白质电泳分离方法与 Baker 所采用的方法基本相同,都是经过改进的一次电泳同时测定 5 种蛋白质多态性的淀粉凝胶电泳法,蛋白质定型是参照国际通用图谱进行的。另外,从聚类分析和等位基因频率比较来看,杜洛克猪还没有混入湖南地方猪的血统。因此,实验结果具有可比性。

人们根据自己的需要,不断对杜洛克猪进行选育提高,使杜洛克猪由原来的脂肪型变成了现在的瘦肉型(瘦肉率达 68%),是生长快(日增重达 900 g 以上,150 d 龄体重达 90 kg)、饲料报酬高(料肉比为 2.4:1)^[8]的新品种(数据来自中国种猪信息网),其血清蛋白质系统的基因频率也发生了相应变化,一些等位基因频率逐渐减少甚至被淘汰,个别等位基因频率大大增加。这种有目的的选择是针对上述优良性能的,对血清蛋白质系统的等位基因来说,则是完全随机的。然而,每一个蛋白质系统都有一个

等位基因的频率大大提高,占绝对优势。由此可知,这些被保留的、且频率占绝对优势的等位基因(Tf^B 、 Hpx^3 、 Cp^B 、 Pa^A 、 Am^B)可能与人们期望的优良性状有密切的联系。因此,也许可以将它们作为遗传标记之一用于猪的选育,特别是中国地方猪的选育。这样,也许能提高地方猪品种选育的针对性,减少盲目性,增强有效性;对加快培养中国自己的优良瘦肉型猪品种具有重要意义。

杜洛克猪的第二优势等位基因与湖南地方猪完全不同(第一优势等位基因相同),如杜洛克猪的 Tf^A 频率高, Am^A 为 0,而湖南地方猪的 Tf^C 频率高, Am^A 频率很高。这可能与欧美国家选育目标(生长速度快、瘦肉率高、饲料报酬高)不同于中国过去的目标(生长速度快、繁殖性能好、脂肪型、耐粗饲)有关。

经过长期有目的人工选育后,猪的等位基因数和等位基因频率都会发生较大变化。因此,不同目的选育过的猪品种或群体之间的遗传距离也会发生变化,在对它们进行遗传分化研究时,应当加以注意。

参考文献

- [1] Baker L N. Serum protein variation in duroc and Hampshire pigs. *Vox Sang*, 1968, 15: 154 ~ 158.
- [2] 陶钧. 一次淀粉凝胶电泳同时测定猪 6 种血清蛋白质多态性的简便方法. *生物化学与生物物理进展*, 1990, 17 (6): 485 ~ 487.
- [3] 大石孝雄. 豚の血液型と蛋白质多型の研究と应用. 畜产の研究, 1980, 34(10): 93 ~ 96.
- [4] 陶钧, 邹峰. 湖南地方猪种群亲缘关系的生化遗传学研究. *畜牧兽医学报*, 1992, 23(1): 13 ~ 20.
- [5] Michael H. Serum protein polymorphisms in Swine. 1969, 49 ~ 51.
- [6] Jaroslav S. New genetic variants of transferrins and haptoglobins in pigs. *Nature*, 1966, 210: 1 274 ~ 1 275.
- [7] 山西农业大学等主编. 养猪学. 北京: 农业出版社, 1982, 39.
- [8] Nei M, et al. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 1974, 76: 379 ~ 390.
- [9] 熊全洙. 同工酶电泳数据的分析及其在种群遗传上的应用. *遗传*, 1986, 8(1): 1 ~ 5.