迪庆藏猪的遗传多样性研究*

李相运¹ 任战军² 常 洪³

1(西北农林科技大学西农校区干旱半干旱研究中心 , 陕西杨陵 712100)

2(西北农林科技大学西农校区动物科技学院 , 陕西杨陵 712100)

3(扬州大学农学院 , 江苏扬州 225009)

摘 要 采用水平板淀粉凝胶电泳法检测了 52 头迪庆藏猪的 13 个血液蛋白座位的多态性 ,并计算各座位等位基因的频率及其估计误差以及基因频率估计值的精确度和可靠性。结果发现 ,迪庆藏猪在 Tf、Cp、Am、Hp、6PGD、CEs、Ca 共 7 个座位表现出多态性 ,并分别受控于 3、2、5、5、2、2、3 个常染色体等位基因。其余 6 个座位(Pa、EsD、PHI、PGM、G6PD、MDH)未检测出多态性。

关键词 迪庆藏猪 血液蛋白座位 遗传多样性

Genetic diversity of Diqing_Tibetan Pig of Yunnan/LI Xiang_Yun¹ , REN Zhan_Jun² , CHANG Hong³

Abstract In the present study , analysis of 13 blood protein loci obtained from 52 Diqing_Tibetan pigs was carried out by means of horizontal starch gel electrophoresis. Polymorphism was found in seven loci , i. e. the Transferrin (Tf) , Ceruloplasmin (Cp) , Amylase(Am) , Hemopexin(Hp) , 6_Phosphogluconate dehydrogenase(6PGD) , Cell esterase(CEs) and Carbonic anhydrase(Ca) , which consisted of 3 , 2 , 5 , 5 , 2 , 2 and 3 alleles , respectively. A new variant was discovered at Ca locus. The allele frequencies at each locus were calculated and their precision degree and confidence were also estimated simultaneously. The other six loci , namely Prealbumin(Pa) , Esterase_D(EsD) , Phosphohexose isomerase(PHI) , Glucose_6_phosphate dehydrogenase(G6PD) , Phosphoglucumutase(PGM) and Malate dehydrogenase(MDH) , were monomorphic. This paper revealed the rich blood protein polymorphisms in Diqing_Tibetan pig and indicated that the method was practicable on population phylogenesis studies.

Key words Diqing_Tibetan pig , blood protein loci , genetic diversity

Author 's address 1 Research Center in Arid and Semiarid Areas , Northwest Sci_Tech University of Agriculture and Forestry , Shaanxi 712100

2 College of Animal Science and Technology , Northwest Sci_Tech University of Agriculture and Forestry , Shaanxi 712100

3 Agricultural College , Yangzhou University , Yangzhou 225009

我国猪种遗传资源十分丰富 ,许多独具特色的地方品种被用来改良欧美猪种肉质低劣、繁殖力不强的缺陷。然而 ,由于在大规模的“ 杂交改良 ”中缺乏相应的保护措施 ,我国地方猪品种资源遭到了空前的破坏 ,许多品种已失去育种潜力 ,有一些品种已经灭绝或濒临灭绝。保护现存品种已成为影响 21 世纪肉类生产的战略性选择。

迪庆藏猪(该品种于 1978 年由云南省农业大学和云南省畜牧兽医研究所联合定名 ,1983 年作为地方优良品种被录入《 云南省家畜家禽品种志 》)以耐寒、耐粗饲、抗逆性强、瘦肉多、肉质好、鬃毛粗长著称 ,是我国特有的猪品种之一。据《 迪庆藏族自治州畜牧志 》记载 ,1990 年该猪存栏 29 万头 ,但多年来的广泛杂交使该品种的群体规模急剧缩小 ,目前仅在云南省迪庆州

德钦县的偏远村庄有少量分布。本研究旨在为迪庆藏猪的科学保护和开发提供一些基础性资料。

1 材料与方法

1.1 材料

用随机抽样法于 1999 年 6 月 28 日~7 月 20 日在云南省迪庆州德钦县佛山乡纳古村、巴美村及其毗邻的西藏自治区芒康县木许乡阿东村共采集 52 头猪的血样。具体操作方法是 3~4 名助手将猪仰卧固定,用长 6 cm 左右的输血针头(带针管)在猪的前腔静脉抽取新鲜血液 10 mL 左右,注入装有抗凝剂的试管内并用冰盒带回实验室。先用离心机分离出血浆,然后再用生理盐水将剩余的血细胞洗涤 3 次,弃去上清液,将分离出的血浆和血细胞分别装入小瓶,标上序号,置低温冰箱中备用。

1.2 方法

在前人以及作者的研究基础上(常洪,1998;李相运,常洪,2000;聂龙,施立明,1995),从 40 多个可检测的血液蛋白座位中选取多态性相对丰富的 13 个座位,包括前白蛋白(Prealbumin, Pa)、运铁蛋白(Transferrin, Tf)、血液结合素(Hemopexin, Hp)、铜蓝蛋白(Ceruloplasmin, Cp)、淀粉酶(Amylase, Am)、红细胞酯酶(Cell esterase, CEs)、碳酸酯酶(Carbonic anhydrase, Ca)、酯酶 D(Esterase_D, EsD)、6_磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6_Phosphogluconate dehydrogenase, 6PGD)、磷酸己糖异构酶(Phosphohexose isomerase, PHI)、葡萄糖_6_磷酸脱氢酶(Glucose_6_phosphate dehydrogenase, G6PD)、磷酸葡萄糖变位酶(Phosphoglucumutase, PGM)、苹果酸脱氢酶(Malate dehydrogenase, MDH)。采用水平板淀粉凝胶电泳法对其进行分析。具体电泳和染色方法见常洪(1998)。

1.3 资料的统计处理(常洪等,1989)

1.3.1 基因频率 P 及其估计误差 V_p :

$$P = \frac{\text{该基因在样本中的总个数}}{2n}; \quad V_p = \frac{P(1-P)(N-n)}{2(n-1)N}$$

式中 n 为样本容量, N 为总体规模。

1.3.2 基因频率估计值的精确度 η (以相对偏差 η 表示) :

$$\lambda = \frac{|\hat{P} - P|}{\sqrt{V_p}}; \quad \eta = \frac{|\hat{P} - P|}{P} = \frac{\lambda \sqrt{V_p}}{P}$$

式中 λ 为标准偏差, $\hat{P}$ 为 P 的估计值。本研究可靠性要求按 0.9545 给定,即 $\lambda = 2$ 。

1.3.3 基因频率估计值的可靠性 β (相对偏差 η 以 0.5 为限) :

$$\beta = \int_0^\lambda \frac{2}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{\lambda^2}{2}} d\lambda; \quad \lambda = \frac{P}{2\sqrt{V_p}}$$

2 结果与分析

在所检测的 13 个座位中, Tf、Cp、Am、Hp、6PGD、CEs、Ca 共 7 个座位表现出多态性且分别由 3、2、5、5、2、2、3 个等位基因支配, Tf^B 、 Cp^B 、 Am^B 、 Hp^3 、 $6PGD^A$ 、 CEs^B 、 Ca^B 分别为各座位的优势基因,其频率估计值的可靠性都为 1,个别稀有基因如 Hp^4 、 Hp^5 、 CEs^A 、 Ca^A 频率估计值的可靠性低。其余 6 个座位(Pa、EsD、PHI、PGM、G6PD 和 MDH)均是单态的,各多态座位等位基因的频率、估计误差、精确度和可靠性见表 1。

表 1 迪庆藏猪血液蛋白座位基因频率的抽样估计
Table 1 Gene frequencies and other estimators at polymorphic blood protein loci of Diqing_Tibetan pig population

座位 Locus	等位基因 Allele	基因频率 P Gene frequency P	估计误差 V_p Variance V_p	精确度 η Precision η	可靠性 β Reliability β
Tf	Tf^A	0.0481	4.49×10^{-4}	0.8815	0.7434
	Tf^B	0.7885	1.63×10^{-3}	0.1025	1
	Tf^C	0.1634	1.34×10^{-3}	0.4480	0.9744
Cp	Cp^A	0.2211	1.69×10^{-3}	0.3718	0.9929
	Cp^B	0.7789	1.69×10^{-3}	0.1055	1
Am	Am^A	0.1442	1.21×10^{-3}	0.4827	0.9617
	Am^B	0.5962	2.36×10^{-3}	0.1630	1
	Am^C	0.0481	4.49×10^{-4}	0.8815	0.7434
	Am^X	0.1154	1.00×10^{-3}	0.5483	0.9321
	Am^Y	0.0961	8.52×10^{-4}	0.6073	0.9001
Hp	Hp^1	0.0481	4.49×10^{-4}	0.8815	0.7434
	Hp^2	0.2211	1.69×10^{-3}	0.3781	0.9929
	Hp^3	0.7019	2.05×10^{-3}	0.1291	1
	Hp^4	0.0192	1.85×10^{-4}	1.4154	0.5198
	Hp^5	0.0097	9.42×10^{-5}	2.0009	0.3829
6PGD	$6PGD^A$	0.8365	1.34×10^{-3}	0.0875	1
	$6PGD^B$	0.1635	1.34×10^{-3}	0.4480	0.9744
CEs	CEs^A	0.0192	1.85×10^{-4}	1.4154	0.5198
	CEs^B	0.9808	1.85×10^{-4}	0.0277	1
Ca	Ca^A	0.0288	2.74×10^{-4}	1.1480	0.6143
	Ca^B	0.9135	7.75×10^{-4}	0.0609	1
	Ca^C	0.0577	5.33×10^{-4}	0.8003	0.7883

3 讨论

蛋白质是基因的表达产物 ,蛋白质遗传标记可作为整个基因组的随机样本 ,可以比较客观地测量和比较生物群体内及群体间的遗传变异大小 ,这明显优于以往的形态标记和染色体标记(张细权等 ,1997)。但受现有电泳和染色方法所限 ,该技术所检测的座位数量不可能很多。显然 ,一批蛋白质多态座位的变异不能代表整个基因组的变异 ,并且有一些“ 隐藏 ”的变异可能无法通过电泳技术检测出来(实际上有人认为只有 1/4 的氨基酸取代可被检测) ,故该技术可能会低估遗传变异的水平(张细权等 ,1997)。

目前 ,在猪的研究中已经发现了 28 个血液蛋白多态座位和 90 个等位基因(李相运 ,常洪 , 2000) ,而在本研究所涉及的 13 个血液蛋白座位中 ,迪庆藏猪在 7 个座位表现出多态性 ,其中

在 Am 和 Hp 座位各发现了 5 个等位基因,同其他 29 个欧亚猪品种(群体)相比(李相运,常洪,2000),迪庆藏猪的血液蛋白多态性较为丰富,仅次于林芝藏猪,这可能与其较低的选育程度、复杂多变的生存环境以及与众不同的起源等原因有关。而聂龙等(1995)在对云南藏猪 42 个血液蛋白座位多态性的研究中,仅发现 4 个多态座位(Tf、Hp、EsD、6PGD),且每个座位只发现 2 个等位基因,这主要是因为其样本量(仅 2 头)太少所致。另外,本研究并没有发现 EsD 座位的多态性,说明其多态性较为罕见,这与大多数同类报道一致。作者曾首次在林芝藏猪中发现 Ca 座位的多态性(李相运,常洪,2000),这次在迪庆藏猪中再次发现,并且还发现了一个新的变异体,经多次重复实验,结果稳定,其泳动速度比 B 带稍慢,暂命名为 C 带,相应的控制基因为 Ca^C 。CEs 座位据报道以 CEs^A 为优势基因,但在迪庆藏猪和林芝藏猪中却以 CEs^B 为优势基因(常洪,1998)。 Cp^A 基因在以前的同类研究中极少被发现,其频率相当低,但在迪庆藏猪它的频率为 0.2211,估计值可靠性为 0.9929,显然并非稀有基因。没有发现 Cp^C 和 Cp^X 。Ca、CEs 和 Cp 座位的多态性从一个侧面反映了迪庆藏猪和林芝藏猪之间的密切关系以及二者的独特特性。Hp 座位以 Hp^3 和 Hp^2 为优势基因,6PGD 座位以 $6PGD^A$ 为优势基因,这些都与同类报道相符合。在 Am 座位以前发现过的 5 个等位基因在本研究全部被发现, Am^A 和 Am^B 频率较高,在 Tf 座位的 Tf^B 频率较高, Tf^A 和 Tf^C 频率较低,这些都是亚洲猪的明显特点(Tanaka et al., 1983),而欧洲和非洲土种猪普遍缺乏 Tf^C 和 Am^A 基因(陶钧,邹峰,1992)。黄海根和邹峰等的研究也表明:中国猪具有亚洲猪的典型特点,在 Am 和 Tf 座位分别以 Am^B 和 Tf^B 为优势基因(黄海根,邹峰,1988;陶钧,邹峰,1992),本研究也证实了这一点。

4 结论

4.1 迪庆藏猪在 Tf、Cp、Am、Hp、6PGD、CEs 和 Ca 共 7 个座位表现多态性,并分别由 3、2、5、5、2、2、3 个等位基因支配。其中 Ca^C 基因为首次发现。

4.2 血液蛋白多态性是研究动物群体遗传特性行之有效的方法,它为评价、保护和开发利用珍稀种质资源提供了科学方法。

致谢:在采样过程中承蒙云南省中甸县畜牧局赵迪生以及德钦县兽医站都吉、吾堆等同志大力协助,谨致谢意。

参 考 文 献

- 常洪,1998. 中国家畜遗传资源研究. 西安:陕西人民教育出版社,187~210
- 常洪,耿社民,武彬,1989. 中国黄牛品种基因频率抽样估计效率的研究. 西北农业大学学报,17(3):30~36
- 黄海根,邹峰,1988. 华东南地区部分家猪地方种群的亲缘关系及其起源分化初探. 江西农业大学学报,10(4):31~35
- 李相运,常洪,2000. 林芝猪血液蛋白多型性研究. 西北农业学报,9(1):24~28
- 聂龙,施立明,1995. 西南地区地方品种猪血液蛋白遗传多样性研究. 生物多样性,3(1):1~7
- 陶钧,邹峰,1992. 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,23(1):13~21
- 张细权,李加琪,杨关福(编著),1997. 动物遗传标记. 北京:中国农业大学出版社,133~147
- Tanaka K, Oishi T, Kurosawa Y, Suzuki S, 1983. Genetic relationship among several pig populations in East Asia analysed by blood groups and serum protein polymorphism. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 14(3):191~200

(责任编辑:时意专)