

# 黑白花奶牛 LDH同工酶的发育遗传学分析

许玉德 许 莉 (厦门大学生物学系)

**摘要** 黑白花奶牛血清 LDH同工酶以 B型酶占相对优势 (58.7%—92.0%), LDH总活力以及各同工酶的表现形式和 A B两亚基的表达程度随机体生理状态的改变和个体生长发育阶段的不同而有变动。它们的这种表达特征是 Idh a和 Idh b两基因实施调控的结果,与奶牛代谢过程中的能量需求相适应。

**关键词** 黑白花奶牛 LDH同工酶

本文对福建省黑白花奶牛血清乳酸脱氢酶 (LDH)同工酶的表达模式及其在不同生理状态 and 不同生长发育阶段的表型变化进行比较分析,旨在从酶学角度探讨 LDH同工酶与奶牛个体发育不同阶段的能量代谢的相关性质,为 Idh a和 Idh b两基因对 LDH同工酶的表达实施调控提供依据。

## 1 材料与方法

**实验动物** 黑白花奶牛由福建省龙岩市红炭山养牛场提供。所有供测的成年牛和各日龄犊牛均为随机取样且健康无疾。成年奶牛按泌乳与否分泌乳期和取止期 2组。

**血清制备** 供血牛经禁食 12小时后,按无菌操作程序从颈静脉抽取 5 ml血液,室温静置 2—3小时后,离心 3 500 r/min, 15 min,分离血清,置 4℃冰

箱保存。此项工作在采血现场完成。

**酶活力测定** 以乳酸为基质,加入 NAD,使乳酸向生成丙酮酸的方向进行。最后用 721分光光度计测定反应产物丙酮酸的量,再换算求出 LDH总活力。LDH比活力的测定以牛血清白蛋白为标准,用双缩脲法测定各牛血清的蛋白质含量,进而求得 LDH比活力。

**LDH同工酶分离** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对 LDH同工酶进行分离。

**定量扫描** 采用岛津 CS-930型双波长薄层扫描仪对 LDH同工酶进行 OD值扫描。

各同工酶的电泳迁移率按常规测算。

## 2 结果

### 2.1 LDH同工酶的表达模式

理后 1个月测定叶面积、叶绿素含量和光合强度,豆科牧草分别比对照增加 16.64%、13.05%和 13.88%,禾本科牧草分别比对照增加 13.01%、14.09%和 12.89%。并进行植株鲜重测定,浸种处理比对照平均增重 21.15%,喷施处理平均增重 15.66%。凡经 ABT6号生根粉处理的牧草,植株根深叶茂,提高光合效率,有利于干物质的积累,为增产增收创造了物质条件。

**3.2.3 增强抗旱和抗病能力。** 在长期干旱、水分胁迫条件下 (5至 6月间无雨 55天),未处理区的牧草,下部底叶枯黄,植株萎蔫;处理区的牧草,由于根系发达,发挥了蓄水保墒的功能,植株仍然正常生长。按株高测量,浸种处理比对照增高 13.65%—27.08%。田间病情测报统计,在沙打旺白粉病发病初期调查,未处理区发病率 46.59%,病情指数 7.8;而浸种处理发病率 7.54%,病情指数 1.9 冰草锈病盛发期调查,未处理区发病率 23.56%,病情指数

3.8而浸种处理发病率仅 4.8%,病情指数 0.9 据文献资料记载,ABT生根粉能提高牧草植株体内赤霉素和细胞分裂素的含量,增强抗病能力。

**3.2.4 改善牧草品质和适口性,提高牧草利用率。** 茎叶比测定结果,紫花苜蓿浸种处理茎叶比为 49:51,未处理为 53:47;冰草浸种处理茎叶比 59:41,未处理为 68:32,由于处理后叶量增加,改善了适口性。紫花苜蓿在初花期鲜草营养成分化验结果表明,蛋白质和赖氨酸含量,处理比对照增加 6.58%和 3.01%,改善了牧草品质,提高了牧草利用率。

### 参考文献

- 1 彭玉梅,崔鲜一,程渡,牧草 ABT生根粉新剂型筛选试验,ABT应用技术论文集 (第三集).中国林业出版社,1995
- 2 彭玉梅等,牧草施用 ABT6号改善牧草品质研究,ABT应用技术论文集 (第四集).中国林业出版社.
- 3 程渡,崔鲜一等,ABT生根粉在牧草上应用研究.内蒙古草业,1993,(2)

经 PAGE电泳分离,成年黑白花奶牛 LDH同工酶可分出 5条区带,从正极到负极依次为 LDH<sub>1</sub>, LDH<sub>2</sub>, LDH<sub>3</sub>, LDH<sub>4</sub>和 LDH<sub>5</sub>,各同工酶的区带分布及 A B型酶所占比例如表 1和图 1所示。

表 1 黑白花奶牛 LDH同工酶的电泳迁移率及百分含量

类别	LDH <sub>1</sub>	LDH <sub>2</sub>	LDH <sub>3</sub>	LDH <sub>4</sub>	LDH <sub>5</sub>	A型酶	B型酶
电泳迁移率	0.577±0.034	0.504±0.033	0.418±0.010	0.355±0.041	0.214±0.016	/	/
百分含量	33.3	28.3	20.6	10.5	7.3	29.9	70.1

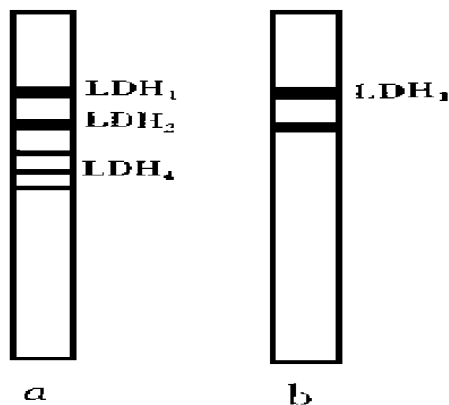


图 1 黑白花奶牛 LDH同工酶电泳模式图

a.成年牛; b.犊牛(20日龄)

上述图表表明,黑白花奶牛 LDH同工酶 5条区带的电泳迁移率基本一致,各同工酶的活性大小表现为 LDH<sub>1</sub>> LDH<sub>2</sub>> LDH<sub>3</sub>> LDH<sub>4</sub>> LDH<sub>5</sub>,B型酶占优势。

## 2.2 不同生长发育阶段中 LDH同工酶的表达

黑白花奶牛出生后随日龄的增长其 LDH同工酶的百分含量和 A B亚基所占比例如表 2

表 2 LDH同工酶在黑白花奶牛个体发育中的分布

日龄	10	20	30	40	50	60	成年
LDH <sub>1</sub>	59.3	68.1	54.9	41.7	37.6	30.5	26.4
LDH <sub>2</sub>	40.7	31.9	42.6	26.9	38.4	22.7	24.8
LDH <sub>3</sub>	0	0	2.5	15.4	18.5	21.6	19.5
LDH <sub>4</sub>	0	0	0	10.0	3.5	17.3	16.3
LDH <sub>5</sub>	0	0	0	6.0	2.0	7.9	13.0
A亚基	10.2	8.0	11.5	27.9	23.4	37.2	41.3
B亚基	89.8	92.0	88.5	72.1	76.6	62.8	58.7

表 2数据说明,黑白花奶牛 LDH同工酶在早期生长发育过程中一直以 B型酶占优势,尽管有一定幅度的波动。至于各同工酶的表达形式则有较大的变化;在出生后的头一个月内,LDH<sub>3</sub>,LDH<sub>4</sub>和

LDH<sub>5</sub>的活性几近为 0 随着日龄的增长,5条同工酶带分布逐渐趋同于成年牛。

## 2.3 不同生理状况下 LDH活性和 A B亚基比例

黑白花奶牛雌性个体在乳腺分泌期和静止期的 LDH总活力、比活力以及 A B亚基百分比如表 3

表 3 不同生理状态下黑白花奶牛 LDH的差异比较

类别	酶活力 (u/me)	比活力 (u/g)	A亚基 (%)	B亚基 (%)
乳腺分泌期	9.75	94	23.4	77.6
乳腺静止期	7.91	86	29.9	70.1

由表 3可见,黑白花奶牛血清 LDH总活力和比活力在不同生理状态下存在着差异。经“t”检验,泌乳期和静止期之间的总活力差异是显著的 ( $P < 0.05$ )而比活力则达不到显著差异的程度 ( $P > 0.05$ )。泌乳期 B亚基的含量高于静止期,但差异不显著。

## 3 讨论

黑白花奶牛在本实验条件下分离的 5条电泳区带的电泳迁移率极为稳定,各酶的相对百分含量为 LDH<sub>1</sub>> LDH<sub>2</sub>> LDH<sub>3</sub>> LDH<sub>4</sub>> LDH<sub>5</sub>,B亚基含量达 70.1%—92.0%,B型酶占较大优势。在 LDH同工酶中,LDH<sub>1</sub>由 4个 B亚基构成而 LDH<sub>5</sub>由 4个 A亚基构成。前者主要催化乳酸脱氢转变为丙酮酸,使大量乳酸在转变为丙酮酸后进一步经三羧酸循环途径产生机体所需的大量能量;而 LDH<sub>5</sub>的存在则可保障机体在缺氧情况下通过糖酵解途径获得能量补给。这种能量不同产生途径的兼容是多数哺乳类动物具有旺盛能量代谢特点的酶学依据之一,也是几乎所有高等哺乳类的 5种 LDH同工酶都表现得十分典型的主要原因。黑白花奶牛的 LDH同工酶酶谱特征符合多数哺乳类的共有特性。

黑白花奶牛在乳腺分泌期间(泌乳期)LDH总活力和比活力均呈上升趋势,这一事实提示,当机体

(下转第 13页)

表 5 辽宁绒山羊与本地山羊生理指标比较

性别	公		母	
	辽宁绒山羊 (12)	本地山羊 (18)	辽宁绒山羊 (12)	本地山羊 (18)
呼吸频率(次/分)	19.14±1.1	21.05±2.0	21.32±2.3	22.35±3.1
心率(次/分)	73.5±8.6	75.8±8.1	80.3±10.2	81.9±9.8
体温(℃)	39.23±0.2	39.37±0.3	39.14±0.3	39.09±0.2
瘤胃蠕动(次/5分)	5.4±1.1	5.6±1.3	5.1±1.2	5.07±1.2
红细胞数(百万/mm <sup>3</sup> )	16.37±0.7	16.28±1.1	16.12±1.3	16.20±1.4
白细胞数(千/mm <sup>3</sup> )	9.12±1.3	9.24±1.4	9.35±1.4	9.18±1.3
血红蛋白含量(g)	8.3±0.3	8.03±0.5	7.62±0.4	7.60±0.3
凝血时间(秒)	230.2±30.5	243.5±42.7	210.5±35.6	220.1±38.7

由表 5 可见,辽宁绒山羊的呼吸频率和心率较本地山羊略低,其主要原因是本地山羊比辽宁绒山羊机敏,抓羊时易奔跑所致,其他生理指标两者类似。

### 2.5 繁殖性能及羔羊成活情况

辽宁绒山羊引入后表现出明显的季节发情,发情时间大多在 9—11 月份,据对引入全部可繁母羊统计,发情受胎率为 100%,产羔率 119%,羔羊成活率 96%。辽宁绒山羊引入后的纯繁羊后代到 1 周岁便可发情配种受胎,发情受胎率为 100%,产羔率为 122%,羔羊成活率平均在 90% 以上。辽宁绒山羊引入后的繁殖性能比其原产地略有提高<sup>[2]</sup>,可能是引种后加强饲养管理的原因。

### 2.6 采食性能

通过对辽宁绒山羊和本地山羊同群放牧观察,二者具有相同的放牧采食性能,其特点是放牧游走性强,喜欢采食脆嫩枝叶及碱蓬,夏季牧草有露水时不愿采食,炎热时喜欢迎风吃草,吃饱后则卧地反刍。

### 2.7 抗病能力

辽宁绒山羊引入黑龙港地区后,与本地山羊一样均表现出较强的抗病能力,传染病及体内外寄生虫病感染发病率较低。对当地自然环境表现出很好的适应性。

### 3 小结与讨论

1) 辽宁绒山羊引入南皮县后,通过饲养观测,主要生理指标正常,抗病能力较强,生长发育正常,繁殖性能比原产地略高,产绒性能稳定,绒纤维品质符合绒纺工业的要求,表明辽宁绒山羊在黑龙港地区经过精心饲养管理完全可以自繁或用于改良本地羊。

2) 辽宁绒山羊的引种成功,将结束黑龙港流域无绒山羊的历史,对黑龙港地区养羊业发展,提高养羊业经济效益具有深远意义。

3) 辽宁绒山羊原产地饲料资源丰富,以豆科、禾本科、菊科牧草为主,还有多种灌木,植被覆盖度达 80% 以上<sup>[3]</sup>,而引入地饲草资源不及原产地,夏秋尚可满足需要,冬春季如完全依靠放牧则“入不敷出”,因此,必须加强冬春季的补饲,确保绒山羊生产性能的充分发挥。

### 参考文献

- 1 贾双进,高佩民,田永强等.辽宁绒山羊绒毛纤维理化性能的研究.中国养羊.1988,(4):31-32
- 2 赵有璋主编.中国山羊业的成就和进展.中国农业出版社,1995,3-4
- 3 姜玉杰,李永军,姜怀志等.辽宁绒山羊放牧饲料的研究.中国山羊学术研讨会论文.1994,(9)

(上接第 22 页)

代谢强度增大,能量需求增多的时候,不仅构成 LDH 同工酶的 2 种亚基的量的表达与分布发生变化,而且酶的生成总量也增加。这一变化是 LDH 同工酶对机体外部环境条件或内部代谢强度发生变化所表现出来的一种调节方式,也是黑白花奶牛 LDH 同工酶对机体能量代谢过程实施有效调控的具体例证。

在黑白花奶牛个体发育的不同阶段,各 LDH 同工酶的表现形式和 A、B 两亚基的表达程度也不相同。在其出生后的头一个月, B 亚基的百分含量高达 88.5%—92.0%, LDH<sub>1</sub> 和 LDH<sub>5</sub> 未见表达, LDH<sub>2</sub> 含量极微。随着个体的生长和机体活动强度的增加, LDH<sub>2</sub>、LDH<sub>4</sub> 和 LDH<sub>3</sub> 相继表达出来, B 亚基含量由 30 日龄的 88.5% 逐渐下降至 60 日龄的 58.7%。相反, A 亚基含量由 11.5% 上升至 41.3%, 这一结果可以看到,在黑白花奶牛的整个生长发育过程中, ldh a 和 ldh b 对 A、B 两亚基的表达实施着有效的调控并且通过 A、B 亚基生成量发挥其生理功能。虽然目前对 LDH 同工酶的基因调控知之甚微,但随着研究的不断深入,基因调节机体生命活动的证据必将愈来愈多。

### 参考文献

- 1 Kaplan N O et al. Sci. 1960, 131: 392-397
- 2 许玉德等.戈壁骆驼同工酶的遗传分析.厦门大学学报(自然版).1993,32(2):216-220