

水牛血清乳酸脱氢酶同工酶与产奶量的关系

A Study on the Relation between the Serum LDH Isozymes and the Milk Output in Buffalo Cows

栾桂龙 韦莉莉 蒋艳明
Luan Guilong Wei Lili Jiang Yanming

(广西农业大学实验中心 南宁市秀灵路 13 号 530005)

(Research Centre, Guangxi Agricultural Univ., 13 Xiuling Road, Nanning, Guangxi, 530005)

摘要 用聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳和光密度扫描法,对摩拉(Murrah)、尼里(Nili-Ravi)及三品系杂交[Ni♂×(Mu♂×Nanning♀)♀]三种母奶牛血清LDH同工酶谱型、活力及其与产奶量的关系进行了定量测定和分析。再次确证其同工酶谱型特点是LDH₁>LDH₂>LDH₃>LDH₄>LDH₅和LDH₆的发现。其相对总活力为尼里>摩拉>三品杂。种间LDH₁和LDH₂的相对百分含量与产奶量呈正相关趋势,LDH₃与之正相反,LDH₄和LDH₅是尼里<摩拉<三品杂。种内其相对总活力和相对百分含量在LDH₁的三种牛、LDH₂的尼里和三品杂、LDH₅的摩拉等均与产奶量呈正相关趋势,而在LDH₂的摩拉、LDH₃、LDH₄、LDH₅的尼里和三品杂等则与之正相反。

关键词 水牛 血清乳酸脱氢酶 同工酶谱型 产奶量

Abstract The electrophorographs, the activity of serum LDH isozymes and the relation between the milk output and the enzymic activity of serum LDH isozymes in three breeds of buffalo cows, Murrah, Nili-Ravi and a Hybrid (Hy) [Ni♂×(Mu♂×Nanning♀)♀], were quantitatively measured and analyzed. The electrophorographs were further demonstrated to be LDH₁>LDH₂>LDH₃>LDH₄>LDH₅. A new band of LDH₆ was discovered. The relative total activity is Ni>Mu>Hy. The relative percentages of both LDH₁ and LDH₂ were positively correlated to the milk output, and the opposite was true for LDH₃, LDH₄ and LDH₅ are Ni<Mu<Hy. The relative total activity and relative percentages of LDH₁ in the three breeds, of LDH₂ in Ni and Hy and of LDH₅ in Mu were correlated to the milk output, and the opposite was true for LDH₂ in Mu and LDH₃, LDH₄ and LDH₅ in Ni and Hy.

Key words buffalo, serum lactate dehydrogenase (LDH), electrophorograph of isozyme, milk output

1989年和1995年作者曾对水牛血清乳酸脱氢酶(EC1.1.1.27 Lactate Dehydrogenase, LDH)同工酶的谱型以及该酶活力与产奶量的关系进行过初步的研究^[1,2],本文试图将产奶量的划分期更接近于实际并采用同工酶相对总活力,对该酶同工酶活力与产奶量的关系进行更深入地探讨以期通过测定血清乳酸脱氢酶来进行选种和产奶量预测。

1 材料和方法

由中国农业科学院水牛研究所提供产犊两胎(含两胎)以上的水牛。产奶量采用离测定酶最近一个泌乳期的日均产量(kg/d),其高、低由相对比较而定。随机挑选摩拉24头(高、低产奶量组各半)、尼里和三品杂各25头(高、低产奶量组分别为13、12头)。颈静脉采血,分离血清(3000 r/min, 15 min),置4℃冰箱备用。

LDH同工酶分离,采用改进的聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳法。凝胶总浓度、凝胶缓冲液、电极缓冲液

1996-03-18 收稿,1996-05-23 修回。

按文献 [3], 凝胶柱的制备 (作浓缩胶)、电泳、染色与显色按文献 [4], LDH 同工酶谱型以文献 [5] 为依据, 电泳后以迁移速度快慢, 分别确定为 LDH₁~LDH₅。LDH 同工酶的相对总活力、活力相对百分含量, 采用日本岛津 CS-930 双波长薄层色谱扫描仪 (波长 550 nm), 扫描求出。

实验重复 3 次。时间 1995 年 6 月~7 月。

2 结果与讨论

2.1 血清 LDH 同工酶相对总活力与 3 种水牛产奶量的关系

由表 1 和图 1 可知, 3 种水牛血清 LDH 同工酶相对总活力为尼里 (257074) > 摩拉 (247008) > 三品杂 (237209) ($P > 0.05$), 对于尼里来说与产奶量呈正相关趋势, 此结果与文献 [2] 报道的总活力与产奶量呈正相关趋势的结果一致。各种水牛高、低产奶量组比较, 均为高产奶量组 < 低产奶量组 ($P > 0.05$), 与产奶量呈负相关趋势, 此结果在摩拉与文献 [2] 报道的其总活力与产奶量呈负相关趋势的结果一致, 而在尼里和三品杂则与其相异, 这可能是测

定方法和产奶量计算方法不同所致。本文所用光密度扫描测定相对总活力, 是在分辨率最高、谱带最清晰的聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳后, 测定相对百分含量的

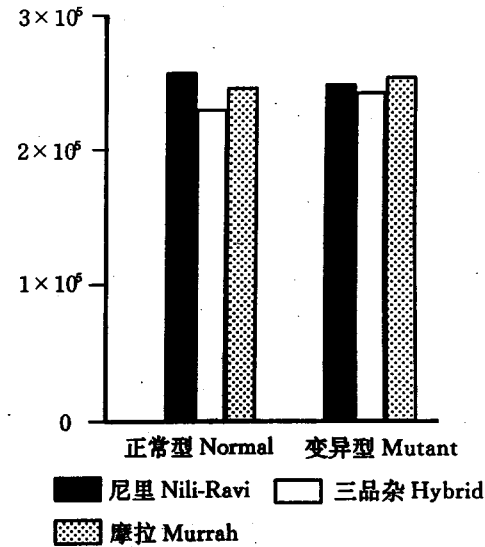


图 1 3 种水牛血清 LDH 同工酶相对总活力比较

Fig. 1 Comparison of serum LDH isoenzymes amongst three varieties of buffalo

表 1 不同品种水牛产奶量、血清 LDH 同工酶相对总活力及活力的相对百分含量

Table 1 Milk output, relative total activity and relative percentage of serum LDH isoenzymes in different buffalo cows

品种 Breed	头数 (头) No. milk buffaloes	产奶量 Milk yield (kg/d)	相对总活力 Total relative $\bar{x} \pm s$	相对百分含量 Relative percentage $\bar{x} \pm s$ (%)				
				LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
尼里 Nili-Ravi (Ni)	25 (总 Total)	7.6550	257074 ± 19674 (7.65)	50.38 ± 1.62 (3.22)	38.36 ± 6.76 (17.63)	7.00 ± 1.27 (18.15)	2.58 ± 0.50 (19.44)	1.34 ± 0.25 (18.98)
	13 (高产 High yield)	7.9250	256585 ± 27266 (10.63)	51.27 ± 0.70 (1.37)	41.10 ± 7.22 (17.56)	5.87 ± 1.10 (18.72)	0.73 ± 0.15 (20.00)	0.70 ± 0.13 (19.21)
	12 (低产 Low yield)	7.2501	257808 ± 7724 (3.00)	49.05 ± 1.91 (3.89)	34.25 ± 4.74 (13.83)	8.70 ± 0.71 (8.13)	5.35 ± 0.84 (15.62)	2.30 ± 0.40 (17.23)
三品杂 Ni ♂ × (Mu ♀) × Nanning ♀	25 (总 Total)	6.3660	237209 ± 31832 (13.42)	47.50 ± 5.29 (11.14)	35.38 ± 5.70 (16.11)	12.48 ± 2.33 (18.11)	3.14 ± 0.63 (19.94)	1.98 ± 0.39 (19.78)
	13 (高产 High yield)	8.3142	215309 ± 19914 (9.25)	49.33 ± 4.80 (9.74)	35.50 ± 6.74 (18.98)	11.64 ± 2.25 (19.31)	2.16 ± 0.42 (19.37)	1.53 ± 0.31 (19.96)
	12 (低产 Low yield)	4.3828	259110 ± 26159 (10.10)	44.66 ± 4.32 (9.68)	34.52 ± 4.91 (14.22)	13.62 ± 2.14 (15.72)	4.08 ± 0.77 (18.88)	2.40 ± 0.39 (16.23)
摩拉 Murrah (Mu)	24 (总 Total)	5.5089	247008 ± 23276 (9.42)	46.08 ± 5.09 (11.04)	34.81 ± 4.00 (11.77)	13.69 ± 1.66 (12.14)	3.11 ± 0.47 (15.05)	1.93 ± 0.38 (19.67)
	12 (高产 High yield)	7.3552	236021 ± 20510 (8.69)	49.15 ± 4.63 (9.42)	33.53 ± 3.85 (11.49)	11.48 ± 1.58 (13.78)	3.05 ± 0.49 (16.16)	2.30 ± 0.45 (19.71)
	12 (低产 Low yield)	3.6627	257995 ± 22838 (8.85)	43.00 ± 3.70 (8.62)	36.10 ± 4.46 (12.36)	15.90 ± 2.10 (13.19)	3.18 ± 0.54 (16.92)	1.55 ± 0.30 (19.39)

括号内数字为 C. V 值 Values in brackets are C. V.

同时得到的，此结果要比文献 [2] 再另外单独用紫外分光光度法测定的总活力，精密、需仪器设备少、省事、经济、简单方便，加之本文的产奶量比文献 [2] 所用的全期日均产更切实际，故本文的这一结果比文献 [2] 的有关结果更优。以上结果可为选种和种内选育优良个体提供参考。

2.2 3 种水牛血清 LDH 同工酶正常谱型及其活力的相对百分含量与产奶量的关系

结果如图 2，将表 1 相对百分含量作图 3。由以上图表看出，3 种水牛血清 LDH 同工酶正常谱型的基本特点与文献 [1, 2, 3, 6] 完全一致，即 $LDH_1 > LDH_2 > LDH_3 > LDH_4 > LDH_5$ ，而与文献 [1, 2] 相比，没有发现 $LDH_2 > LDH_1$ 、 $LDH_3 > LDH_2$ 、 $LDH_4 > LDH_3$ 、 $LDH_5 > LDH_4$ 的个体，说明其规律性更明显，

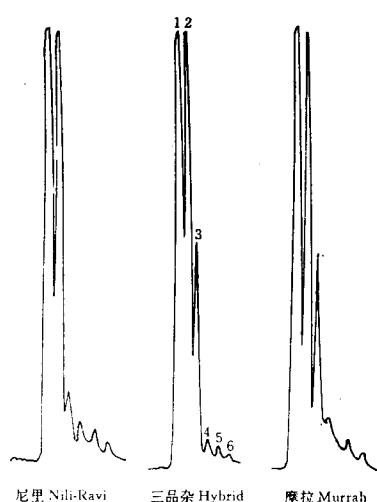


图 2 水牛血清 LDH 同工酶扫描曲线

Fig. 2 Scanning curves of serum LDH isoenzymes in different buffalo varieties

表 2 不同品种水牛血清 LDH 同工酶变异型酶谱相对总活力及活力的相对百分含量

Table 2 Relative total activity and relative percentage of activity of serum LDH mutant isoenzymes in different buffalo cows

品种 Breed	头数 (头) No. milk buffaloes	相对总活力 Total relative $\bar{x} \pm s$	酶活力的相对百分含量 Relative percentage of activity $\bar{x} \pm s$ (%)					
			LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅	LDH ₆
尼里 Nili-Ravi	15	248833±4968 (2.00)	51.20±1.13 (2.21)	36.95±0.92 (2.49)	7.30±1.27 (17.44)	2.25±0.07 (3.14)	1.45±0.30 (20.40)	0.90±0.17 (19.43)
三品杂 Hybrid	10	245791±35862 (14.59)	44.48±5.03 (11.31)	32.65±3.74 (11.45)	14.33±2.74 (19.10)	4.55±0.91 (20.02)	2.78±0.47 (16.98)	1.20±0.24 (20.14)
摩拉 Murrah	16	253751±23161 (9.13)	45.05±5.49 (12.18)	32.88±2.23 (6.78)	15.33±2.48 (16.21)	3.75±0.66 (17.59)	2.48±0.47 (19.09)	0.87±0.16 (18.26)

括号内数字为 C. V. 值 Values in brackets are C. V.

这可能是由于文献 [1] 没有用浓缩胶而文献 [2] 和本文用了浓缩胶，亦可能是个体差异所致。

LDH 同工酶活力相对百分含量，在各品种间与产奶量的关系：LDH₁ 为尼里 (50.38) > 三品杂 (47.50) > 摩拉 (46.08) ($P > 0.05$)、LDH₂ 亦为尼里 (38.36) > 三品杂 (35.38) > 摩拉 (34.81) ($P > 0.05$)，即与产奶量呈正相关趋势，前者与文献 [6] 黑白花黄奶牛产奶量与 LDH₁ 的相对百分含量呈正相关 ($P < 0.05$) 的结果一致，但其不显著的原因可能与牛的品种、胎次、产奶量计算方法、产奶性能和个体差异等因素不同有关。而其中胎次 (文献 [6] 是三、四胎的黑白花黄奶牛，本文此两胎的牛头数达不到统计要求)、产奶量计算方法 (文献 [6] 是用 305 d 日均产，水牛的标准产奶天数还未统一，本文所用前已述及) 和产奶性能 (黑白花黄奶牛的产奶性能远优于水牛) 三个因素可能显得更主要。并在三品杂与摩拉之间表现出杂种优势，这与文献 [7] 鱼的 LDH 总活力表现出杂种优势的结果有相似之处。LDH₃ 为尼里 (7.00) < 三品杂 (12.84) < 摩拉 (13.69) ($P > 0.05$)，即与产奶量呈负相关趋势，在三品杂与尼里间表现出杂种优势，亦与文献 [7] 有相似之处。LDH₄ 及 LDH₅ 均为尼里 < 摩拉 < 三品杂 ($P > 0.05$)，即对尼里来说与产奶量呈负相关趋势，而对三品杂与摩拉来说与产奶量呈正相关趋势，并表现出完全的杂种优势，后者也与文献 [7] 相似。本文采用的泌乳期更近实际，其结果与文献 [2] 相比更优也更具规律性。

2.3 各品种内高、低产奶量组的水牛血清 LDH 同工酶正常谱型及其活力相对百分含量与产奶量的关系

由表 1 看出，各品种内高、低产奶量组水牛血清 LDH 同工酶正常谱型的基本特点与各品种的完全一致，亦与文献 [1, 2] 的相应内容的特点完全一致，

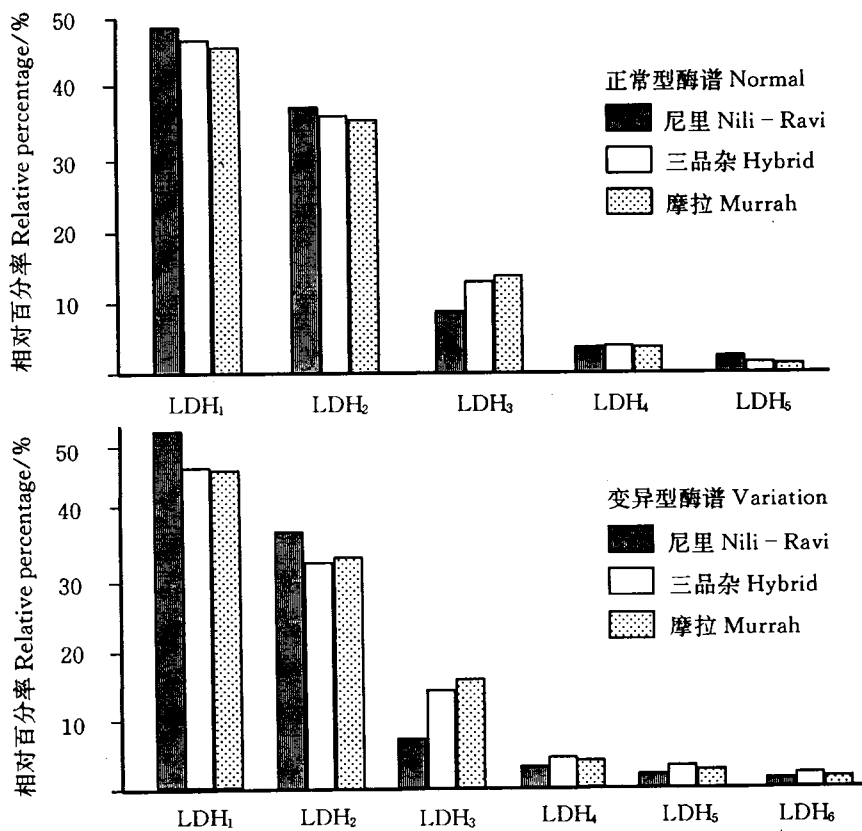


图3 3种水牛血清LDH同工酶活力相对百分含量比较

Fig. 3 Comparison of the relative percentage of serum LDH isoenzymes amongst three varieties of buffalo

并未出现 $LDH_5 > LDH_4$ 的个体。

各种水牛同工酶活力相对百分含量, 在高、低产奶量组之间比较: LDH_1 三种牛均为高产奶量组 $>$ 低产奶量组 ($P > 0.05$), 即与产奶量呈正相关趋势, 结果与文献[6] LDH_1 活力的相对百分含量与黑白花黄奶牛产奶量呈正相关 ($P < 0.05$) 的结果一致, 其不显著的原因亦与品种间相同。 LDH_2 在尼里和三品杂为高产奶量 $>$ 低产奶量组 ($P > 0.05$), 即与产奶量呈正相关趋势, 在摩拉为高产奶量组 $<$ 低产奶量组 ($P > 0.05$), 与产奶量呈负相关趋势, 且表现出杂种优势。 LDH_3 及 LDH_4 三种水牛均为高产奶量组 $<$ 低产奶量组 ($P > 0.05$), 即与产奶量呈负相关趋势。 LDH_5 在尼里和三品杂为高产奶量组 $<$ 低产奶量组 ($P > 0.05$), 即与产奶量呈负相关趋势, 在摩拉为高产奶量组 $>$ 低产奶量组 ($P > 0.05$), 即与产奶量呈正相关趋势。本文这一结果优于文献[2]的原因亦可能与其泌乳期的采用更近实际有关。以上结果亦可为种内选育优良产奶个体提供参考。

2.4 LDH_6 及 LDH 同工酶变异型酶谱的确定

变异型酶谱的扫描曲线见图4, 其相对总活力及酶活力的相对百分含量见表2、图1及图3, 从这些

图表中可知, 其相对总活力和相对百分含量与正常型的相差无几, 其酶谱型的基本特点与正常型酶谱一致, 即 $LDH_1 > LDH_2 > LDH_3 > LDH_4 > LDH_5 > LDH_6$, 与文献[1, 2]相比, 本文没有出现 $LDH_6 > LDH_5$ 的个体。变异型个体的比例: 尼里 (60%, 15头)、三品杂 (40%, 10头)、摩拉 (67%, 16头), 与文献[1, 2]的差异可能是个体不同所致; 而本文和文献[2]与文献[1]的差异, 除有可能是个体差异外, 还可能与前二者使用了浓缩胶而使分辨率提高和清晰度增加的结果。文献[6]是采用的琼脂糖凝胶板状电泳法, 其分辨率和清晰度均不及文献[1, 2, 3]和本文所采用的聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳法, 故前者未发现 LDH_6 和变异型酶谱, 文献[2]和本文采用了浓缩胶, 使分辨率和清晰度进一步提高,

故在三种水牛中发现变异型个体的比例有所增加; 加

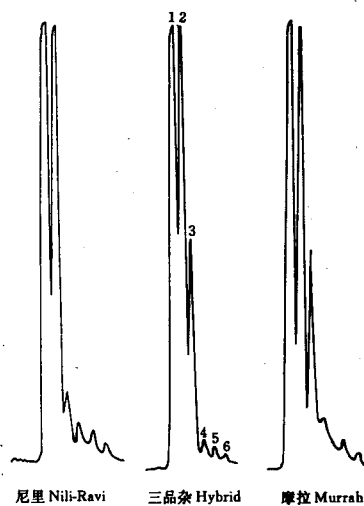


图4 水牛血清LDH同工酶变异型扫描曲线
Fig. 4 Scanning curves of serum LDH mutant isoenzymes of different varieties of buffalo

(下转第50页 Continue on page 50)