

长江中游鲢鱼天然种群的生化遗传结构及变异^①

吴力钊 王祖熊

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

采用淀粉或聚丙烯酰胺凝胶电泳方法分析长江中游鲢鱼天然种群 11 种同工酶约 31 个基因座位的遗传变异性。在可用于种群遗传结构分析的 27 个座位中, 有 4 个座位(*Ldh-C*, *Idhp-A*, *Est-1-2*)具有多态性。该种群的多态座位比例为 14.8%, 平均杂合度为 0.0451。比较结果表明, 鲢鱼天然种群的多态座位比例与人工繁殖种群相似。我们认为, 鱼类人工繁殖种群遗传变异性的降低在很大程度上取决于人工繁殖过程中的某些不合理因素, 人为地避免或限制这些因素将有利于保持鱼类人工繁殖种群的遗传变异性。

关键词 鲢鱼, 天然种群, 同工酶座位, 遗传变异性, 电泳

鲢鱼为我国著名的四大家鱼之一, 在淡水养殖业及淡水捕捞业中一直占有重要的经济地位。然而, 由于对其遗传性能缺乏足够的了解, 以致鲢鱼的选育种工作一直收效不大, 对于人工繁殖种群中出现的经济性性状衰退现象也缺乏行之有效的防治措施。近几十年来, 兴建水利工程、围湖造田、过度捕捞以及缺乏科学管理使我国许多淡水鱼类天然资源处于严重的衰退之中, 其基因库也同时受到严重威胁。近年来, 我们在从事鲢鱼同工酶发育遗传学研究的基础上, 分析了长江中游鲢鱼天然种群的生化遗传结构及变异特点, 以为为鲢鱼的选育种工作提供生化指标, 并为合理开发和利用鲢鱼天然资源以及建立和保护鱼类种质资源库及基因库提供理论依据。

1 材料与方法

实验鱼均为 2 龄, 系 1987 年从长江中游武汉江段捕捞的江苗在武汉池塘中饲养而成。采用丙烯酰胺凝胶电泳法分析 EST, 其他酶类均采用淀粉胶电泳法分析(表 1)。样品制备及淀粉胶电泳条件均按曾报道的方法^[1]进行。同工酶命名基本采用 Shaklee 等所推荐的方法。采用以下两个参数评估种群遗传结构:

多态座位比例(P) = 多态座位数 / n

^① 本文属农业部资助的七五攻关项目。华南农业大学曹永长协助收集材料鱼, 谨此致谢。

1996 年 7 月 6 日修回。

平均杂合度(H)= $\sum(1-\sum X_i^2)/n$
X_i——第i个等位基因的基因频率
n——所测座位总数

表 1 所分析酶类、缓冲系统、有效样本大小及来源
Tab.1 Analyzed enzymes, buffer systems, tissues and effective sample size of silver carp

酶类 Enzymes	基因座位 Loci	单或多态 ¹⁾ M or P	缓冲系统 ²⁾ Buffer systems	酶结构 ³⁾ Structure	有效样本大小及来源 ⁴⁾ Effective sample size and tissues
LDH	-A, -B	M	TC	T	B(30), M(12), L(61)
	-C	P			L(61)
MDH	-A, -B, -C, -D	M	TC	D	B(32), H(11)
ADH	-A, -B	M	TC	D	L(52)
SORD	-A, -B	M	TC	D	L(49)
LDHP	-A, -B	M	TC	D	L(67), B(37)
	-C	P			M(23), B(37)
G3PDH	-A, -B	M	TC	D	M(56)
SOD	-A, -B, -C, -D	M	EBT	D	L(66)
MEP	-A, -B, -C	M	TC	D or T	M(52)
EST	-1, -2	P	TG	M or D	L(66)
	-3, -4	M			
G6PDH	-A, -B?	P	TC /TVB	D	L(24)
GPI	-A, -B?	P	GBT	D	L(32)

注: 1) M-单态(Monomorphic); P-多态(Polymorphic); 2) T-三羟甲基氨基甲烷(Tris); C-柠檬酸盐(Citrate); E-乙二胺四乙酸(EDTA); B-硼酸盐(Borate); G-甘氨酸(Glycine); V-乙二胺四乙酸钠盐(Versene); 3) T-四聚体(Tetramer); D-二聚体(Dimer); M-单聚体(Monomer); 4) B-脑(Brain); M-肌(Muscle); L-肝(Liver); H-心(Heart).

2 结果

2.1 同工酶的遗传控制及其基因表达的一般模式

- 2.1.1 乳酸脱氢酶——LDH(EC 1.1.1.27) 由3个座位编码。Ldh-A和-B座位均为单态, Ldh-C座位具有多态性。该座位上有3个等位A基因(C¹⁰⁰, C⁷⁸, C¹¹), 共检测到6种表型。图1显示出其中的4种。
- 2.1.2 苹果酸脱氢酶——MDH(EC 1.1.1.37) 4个MDH座位均为单态。有些个体在上清液型MDH(sMDH)与线粒体型MDH(mMDH)之间还有3—4条小带, 初步考虑为sMDH与mMDH的杂合带。
- 2.1.3 醇脱氢酶——ADH(EC 1.1.1.1)和山梨醇脱氢酶——SORD(EC 1.1.1.14) 肝脏的ADH和SORD均由2个座位编码, 表型均为3条带, 未发现多态。

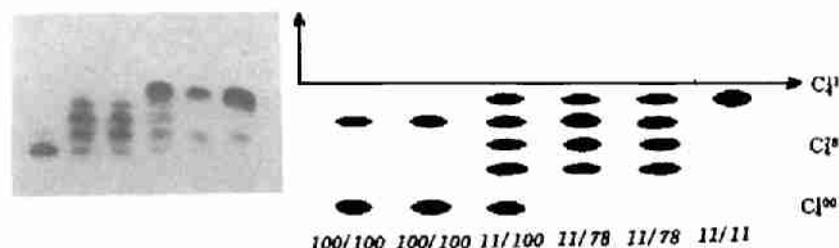


图1 鲢鱼肝脏 *Ldh-C* 座位的多态性表型

Fig.1 Polymorphic phenotypes of *Ldh-C* locus in the liver tissues of silver carps

2.1.4 异柠檬酸脱氢酶——IDHP (EC 1.1.1.42) 脑中的3个IDHP座位及肌肉中的 *Idhp-C* 座位均为单态。肝脏的 *Idhp-A* 座位为多态。该座位上有两个等位基因 (A_1^{100} , A_1^{11})。共检测到了3种表型。图2显示出其中的2种。

2.1.5 3-磷酸甘油脱氢酶——G3PDH (EC 1.1.1.8) 肌肉的两个G3PDH座位均为单态, 表型为3条带(图3)。

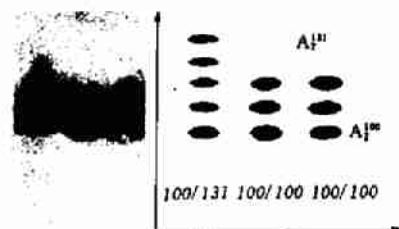


图2 鲢鱼肝脏 *Ldhp-A* 座位的多态性表型

Fig.2 Polymorphic phenotypes of *Ldhp-A* locus in the liver tissues of silver carps

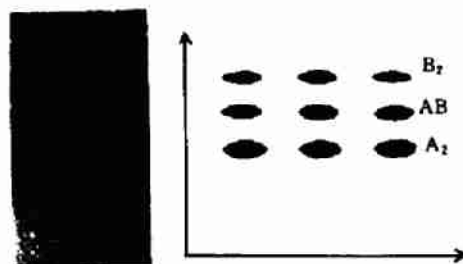


图3 鲢鱼肌肉的G3PDH电泳图谱

Fig.3 Electrophoretogram of G3PDH isozymes expressed in the muscle tissues of silver carps

2.1.6 超氧化物歧化酶——SOD (EC 1.15.1.1) 当电泳时间延长时, 鲢鱼肝脏的SOD电泳图谱可明显分为两个区域, 可能分别代表了上清液型(sSOD)和线粒体型(mSOD)。二者均由两个座位编码, 未发现多态。迁移慢的SOD染色活性较低。

2.1.7 苹果酸酶——MEP (EC 1.1.1.40) 与MDH一样, 鱼类的MEP也分上清液型(sMEP)和线粒体型(mMEP)。鲢鱼肌肉的MEP电泳图谱明显有两个区域, 可能分别代表了sMEP和mMEP。迁移快的区域由1个座位编码, 迁移慢的区域由2个座位编码。3个MEP座位均为单态(图4)。

2.1.8 酯酶——EST (EC 3.1.1.—) 肝脏EST至少由4个座位编码。其中 *Est-1* 和 *Est-2* 座位具有多态性。 *Est-1* 座位编码的酶带染色活性较低, 故未作统计分析。 *Est-2* 座位有2个等位基因 (2^{100} , 2^{101})。共检测到3种表型(图5)。

2.2 χ^2 检验及种群遗传结构

鲢鱼肝脏 *Ldh-C*, *Ldhp-A* 和 *Est-2* 座位的基因型分布、等位基因频率及 χ^2 检验结果见表2。

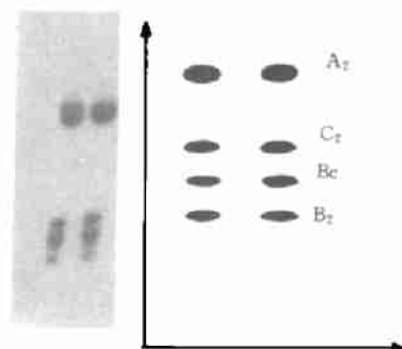


图4 鲢鱼肌肉的 MEP 电泳图谱

Fig.4 Electrophoretogram of MEP isozymes expressed in the muscle tissues of silver carps

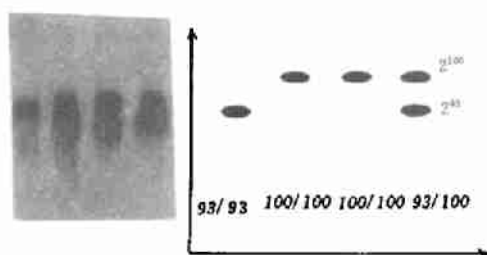
图5 鲢鱼肝脏的 *Est-2* 座位的多态性表型

Fig.5 Polymorphic phenotypes of *Est-2* locus in the liver tissues of silver carps

表2 鲢鱼肝脏多态座位的基因型分布、等位基因频率及 χ^2 检验

Tab.2 Genotypic distributions, allelic frequencies and chi-square tests at 3 polymorphic loci in the liver tissues of silver carps

座位 Loci	基因型 Genotypes	观察值 Observed number	χ^2	P	等位基因频率 Allelic frequencies
<i>Ldh-C</i>	100 / 100	20	5.7874	0.10 — 0.20	C^{100} : 0.52
	78 / 78	6			C^{78} : 0.24
	11 / 11	3			C^{11} : 0.24
	78 / 100	9			
	11 / 100	14			
	11 / 78	9			
<i>Ldhp-A</i>	100 / 100	64	15.6669	0.01	A^{100} : 0.97
	100 / 131	2			A^{131} : 0.03
	131 / 131	1			
<i>Est-2</i>	100 / 100	19	0.9692	0.30 — 0.50	2^{100} : 0.51
	93 / 100	29			2^{93} : 0.49
	93 / 93	18			

χ^2 检验结果表明, *Ldh-C* 和 *Est-2* 座位的基因型频率与 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律相符 ($P > 0.05$), 而 *Ldhp-A* 座位的基因型频率与预期值有明显差异 ($P < 0.01$)。这很可能与 *Ldhp-A*¹³¹ 的基因频率过低有关。

统计结果表明, 鲢鱼天然种群多态座位比例为 14.8%。这一统计数据尚未包括基因座位数目尚未确定的 6-磷酸葡萄糖脱氢酶——G6PDH (EC 1.1.1.49) 和磷酸葡萄糖异构酶——GPI (EC 5.3.1.9)。鲢鱼肝脏的这两种酶各至少有 1 个多态座位, 但由于电泳分离效果欠佳, 故未进行数据分析的。显然, 如果加上这两种酶的数据, 鲢鱼天然种群

多态座位比例会更高些。根据上述计算, 长江中游鲢鱼种群的平均杂合度为 0.0451。

3 讨论

近二十年来, 鱼类天然种群的生化遗传结构及其遗传变异性分析一直是一个非常活跃的研究领域。早期研究主要采用能反映核 DNA 水平的同工酶基因座位作为遗传标记。所采用的参数主要有两个: 多态座位比例及平均杂合度。近年来, 采用能反映细胞质 DNA 水平的线粒体 DNA(mtDNA) 作为遗传标记的报道也越来越多^[2,3]。鱼类种群的遗传变异性分析对于探讨鱼类种间及种群间的遗传差异、种群间的基因流动、物种间及种群间进化地位的确立以及人类活动对鱼类基因库的影响等问题均具有重要的参考价值。业已证明, 人工繁殖对鱼类的基因库及遗传变异性常会带来一些不利的影响, 主要包括等位基因频率的改变^[4]、遗传变异性的降低^[5,6]以及特有等位基因(主要是稀有等位基因的丧失^[7])。我们的研究结果也表明, 草鱼和鳊鱼^[8]天然种群的遗传变异性明显高于人工繁殖种群。Gross 和 King 认为, founder 效应(Founder effect)或遗传漂变以及人工选择是导致鱼类人工繁殖种群遗传变异性降低的主要因素。然而, 有些鱼类人工繁殖种群遗传变异性并不低于天然种群。比较结果表明, 鲢鱼人工繁殖种群的遗传变异性^[4]与天然种群(本研究结果)相似。上述两方面的结果表明, 人工繁殖对鱼类基因库的影响具有明显的物种差异。我们认为, 鱼类人工繁殖种群遗传变异性的降低很可能主要取决于人工繁殖过程中的一些人为的不合理因素(如繁殖亲鱼数量太少、近亲繁殖、定向选择及缺乏科学等)。

从遗传学角度来讲, 一个物种保持足够的遗传变异性是适应不同生境、生存和进化的首要保证。鱼类遗传变异性的降低可导致其适应能力降低、有害隐性基因增加及经济性状衰退, 最终导致物种退化。可以预见, 保持鱼类天然种群及人工繁殖种群的遗传变异性不仅有利于保护其遗传资源, 对保护其天然资源也会起重要作用。目前, 鱼类遗传资源的保护在国外已是一个非常活跃的研究领域。然而, 这一议题在我国尚未引起足够的重视。尽管人工繁殖对鱼类基因库难免造成一些不利影响, 但是, 在人工繁殖过程中如能综合采用一些科学的管理手段和措施, 避免或减少一些人为的不合理因素, 无疑可使这些不利影响降到最低限度。这类措施至少包括: ① 繁殖用亲鱼的有效种群大小(Effective sample size)必须足够大, 包括选择大量的亲鱼、维持亲鱼相等的雌雄比例、保证不同亲鱼留下的子代大致相等以及避免种群数量骤减等。有效种群较大既可保证繁殖种群具有足够的基因库容量, 减少 founder 效应, 又可有效减少因近交或遗传漂变所导致的遗传变异性的降低。从短期来讲, 亲鱼的最小种群大小为 50 尾。但从长远的遗传健康考虑, 亲鱼的种群大小应不低于 500 尾。一般来说, 只要条件许可, 亲鱼种群越大越好; ② 亲鱼的选择最好以其天然种群的遗传结构分析及其他遗传分析结果为依据。许多鱼类的遗传变异性在种群间具有明显的差异。因此, 同种鱼不同的天然种群可能具有不同的基因库容量。一般来说, 最好从遗传变异性较大的天然种群中选择亲鱼; ③ 定期用天然种群更换或补充繁殖用亲鱼以增加有效种群大小和扩大基因库容量。曾有人估计, 每两代或三代补充 10% 的野生物种群作为亲鱼是足够的; ④ 尽量减少或避免定向选择和近亲繁殖。尽管有些定向选择对某一性状可能是有利的, 但对物种

的整个遗传资源及天然资源却是有害的。因此, 这类选择也应尽量避免。

参 考 文 献

- [1] 吴力钊, 王祖熊. 草鱼同工酶发育遗传学研究. I. 不同组织器官的同工酶分析. 遗传学报, 1987, **14**(4): 287—286.
- [2] Palve T K, Lehtvaslaiho H, plva E T. Identification of anadromous and hon-anadromous salmon stocks in finland by mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture*, 1989, **81**(3/4): 237—244.
- [3] Wilson G M, Thomas W K, Beckenbach A T. Intra- and inter-specific mitochondrial DNA sequence divergence in *Salmo*: rainbow, steelhead, and cutthroat trouts. *Can. J. Zool.*, 1985 **63**(9): 2088—2094.
- [4] Taniguchi N, Seki S, Inada Y. Genic variability and differentiation of amphidromous, landlocked, and hatchery populations of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1983, **49**(11): 1655—1663.
- [5] Taniguchi N, Sumantadinata K, Iyama S. Genetic change in the first and second generations of hatchery stock of black seabream. *Aquaculture*, 1983 **35**(4): 309—320.
- [6] Vuorinen J. Reduction of genetic variability in a hatchery stock of brown trout *Salmo trutta* L.. *J. Fish Biol.*, 1984, **24**(3): 339—348.
- [7] Gross T F, King J. Genetic effects of hatchery rearing in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 1983, **33**(1).
- [8] 吴力钊, 王祖熊. 长江下游鳊鱼天然种群的生化遗传变异. 水生生物学报, 1991, **15**(1): 94—96.

BIOCHEMICAL GENETIC STRUCTURE AND VARIATION IN A NATURAL POPULATION OF SILVER CARP FROM THE MIDDLE REACHES OF THE YANGTZE RIVER

Wu Lizhao and Wang Zuxiong

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract

Using starch and polyacrylamide gel electrophoresis, we analyzed the Oariants of 11 isozymes encoded by 31 presumptive loci in a natural silver carp population from the middle reaches of the Yangtze River. Among the 27 loci usable for genetic population analysis, four (*Ldh-C*, *Idhp-A*, *Est-1*, *-2*) were polymorphic. The mean propotion of polymorphic loci and the average heterozygosity per locus in the mentioned population were 14.8% and 0.0451, respectively. Comparative result showed that silver carp hatchery and natural populations had a similar mean proportion of polymorphic loci. It was proposed that the reduction of genetic variability in fish hatchery populations was resulted from some unreasonable factors in propagation process to a great extent and avoiding or minimizing these factors intentionally would be useful for maximzing the genetic variability in hatchery populations of cultural fish species.

Key words Natural population, Silver carp, Isozymic loci, Genetic variability, Electrophoresis.