

## 黄姑鱼群体遗传结构的同工酶分析

韩志强<sup>1,2</sup> 高天翔<sup>1\*</sup> 韩 冰<sup>1</sup> 庄志猛<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003)

(<sup>2</sup>中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘要** 采用水平淀粉凝胶电泳技术对黄姑鱼青岛、舟山和厦门 3 个群体的遗传结构和遗传分化进行了研究。在 G3PDH、IDHP、LDH、MDH、PGDH、PGM、SDH 和 SOD 等 8 种酶中, 共检测到 11 个基因位点。3 个黄姑鱼群体在 G3PDH\* 和 PGM\* 位点上均呈多态, 其多态位点比例均为 0.2。3 个群体的平均杂合度观测值和预期值分别在 0.010 1~0.037 9 和 0.023 4~0.039 9 之间, 平均每个位点的有效等位基因数在 1.029 0~1.052 8 之间。3 个群体间遗传距离和遗传一致度分别为 0.000 4~0.000 8 和 0.999 2~0.999 6。研究表明, 3 个黄姑鱼群体之间无明显的遗传分化。

**关键词** 黄姑鱼 同工酶 遗传变异

**中图分类号** Q55 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)03-0044-05

## Genetic structures of *Nibea albiglora* as revealed by isozyme analysis

HAN Zhi-qi<sup>1,2</sup> GAO Tian-xiang<sup>1\*</sup> HAN Bing<sup>1</sup> ZHUANG Zhi-meng<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(<sup>2</sup>Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** Horizontal starch gel electrophoresis was used to investigate the genetic structure and differentiation of the three populations (Qingdao, Zhoushan and Xiamen) of *Nibea albiglora*. Eleven putative loci were revealed by eight enzymes (G3PDH, IDHP, LDH, MDH, PGDH, PGM, SDH and SOD). The percentage of polymorphic loci for each population was 0.2. The mean observed and expected heterozygosity ranged from 0.010 1 to 0.037 9 and from 0.023 4 to 0.039 9, respectively. The average number of efficient allele for each locus varied from 1.029 0 to 1.052 8. The genetic distances among populations were from 0.000 4 to 0.000 8, and the genetic similarities were from 0.999 2 to 0.999 6. The results showed that there was no significant genetic differentiation among the three populations of *N. albiglora*.

**KEY WORDS** *Nibea albiglora* Isozyme Genetic variation

黄姑鱼 *Nibea albiglora* Richardson 属石首鱼科 Sciaenidae、黄姑鱼属 *Nibea*, 为近海暖温性中下层经济鱼类(朱元鼎等 1963)。黄姑鱼营养丰富, 是我国传统渔业的主要捕捞对象。过度捕捞引起其自然资源的逐步

国家自然科学基金(30471329)、国家重点基础研究发展计划项目(2005CB422306)和国家高新技术发展计划项目(2006AA09Z418)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

收稿日期: 2008-01-24; 接受日期: 2008-04-07

作者简介: 韩志强 (1981-), 男, 博士研究生, 主要从事种群遗传学研究。E-mail: d6339124@yahoo.com.cn, Tel: (0532)82032063

枯竭,资源量逐年减少。有关黄姑鱼的研究报道较少,主要集中在胚胎、仔幼鱼发育和人工育苗等方面(雷霖霖等 1981、1992;陈超等 1989;孙忠等 2005)。遗传变异是有机体适应环境变化的必要条件,加拿大、日本和挪威等国及有关国际组织自20世纪80年代初就致力于研究渔业生物的群体遗传结构,并倡导渔业资源开发和管理应被赋予遗传多样性保护的内涵(FAO/UNEP 1981; Ryman *et al.* 1987)。群体遗传学对于渔业管理的意义还在于它能以一种与群体进化相关的方式定义群体概念。因此,对于黄姑鱼资源的保护和种群的管理,认识其遗传结构是十分必要的。在黄姑鱼群体遗传学方面, Menezes 等(1990)利用同工酶技术对日本沿海群体的遗传结构进行了研究,韩志强等(2006)利用 AFLP 技术对黄姑鱼青岛和厦门群体的遗传多样性进行了分析,但目前尚缺乏对我国沿海黄姑鱼群体遗传结构进行同工酶分析的研究报道。

同工酶电泳技术是一种共显性遗传标记,已被广泛用于生物群体的遗传分化、种群及种质遗传鉴定。近年来,我国福建和浙江等沿海地区开展了黄姑鱼人工育苗和网箱养殖(蔡厚才等 2000)。因此,现在有必要弄清我国沿海野生黄姑鱼群体的遗传多样性和种质资源状况,从而促进黄姑鱼的资源保护和人工养殖的可持续发展。本研究采用水平淀粉凝胶电泳技术,对我国黄海、东海的黄姑鱼群体进行等位基因酶遗传变异的研究,揭示我国沿海黄姑鱼遗传多样性的现状,为我国黄姑鱼苗种繁育及其遗传育种提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验所采用的黄姑鱼样品分别于2004年6月和2005年9月在青岛(45尾)、舟山(36尾)和厦门(36尾)海域采得,共计117尾。青岛、舟山和厦门3群体的平均体长和体重分别为 $25.2 \pm 7.8$ cm、 $28.7 \pm 10.2$ cm和 $26.3 \pm 8.3$ cm,  $239.1 \pm 81.2$ g、 $264.2 \pm 56.7$ g和 $248.1 \pm 89.7$ g。全部样本冷冻运回实验室后,取肌肉和肝脏置于 $-75^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱保存备用。

### 1.2 方法

参照日本水产资源保护协会(Japan Fisheries Resource Conservation Association 1989)推荐的方法进行水平淀粉凝胶电泳和染色。制备凝胶的水解马铃薯淀粉和所用的生化药品均购自美国Sigma公司。实验所用电泳仪及电泳槽购自北京六一仪器厂(型号为DYY-III 35和DYY-III 2)。实验共检测了8种酶(表1),使用TC-7.0电泳缓冲系统,凝胶浓度为11.8%,凝胶体积为 $170\text{mm} \times 145\text{mm} \times 10\text{mm}$ 。电泳在恒温( $4^{\circ}\text{C}$ )、恒流( $40 \sim 50\text{mA}$ )条件下进行。电泳约6~7h后,将凝胶水平切片,立

即移入染色盒染色。酶谱清晰后,用7%冰醋酸中止反应,用蒸馏水清洗后拍照保存。多态位点比例、平均位点有效等位基因数、预期杂合度及观察杂合度参照日本水产资源保护协会和王中仁(1996)方法计算, Hardy-Weinberg 遗传偏离指数  $d = (H_o - H_e) / H_e$ ,  $H_o$  为多态座位的观测杂合度,  $H_e$  为多态座位的预期杂

表1 黄姑鱼同工酶实验所分析酶的名称、简称和编号

Table 1 Names, abbreviations and E. C. numbers of enzymes used in this study

名称 Name	简称 Abbreviations	编号 E. C. number	选用组织 Tissue used
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 Glycerol-3-phosphalate dehydrogenase	G3PDH	1. 1. 1. 8	肌肉 Muscle
异柠檬酸脱氢酶 Isocitrate dehydrogenase	IDHP	1. 1. 1. 42	肌肉 Muscle
山梨醇脱氢酶 Sorbitol dehydrogenase	SDH	1. 1. 1. 14	肌肉 Muscle
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	MDH	1. 1. 1. 37	肌肉 Muscle
6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 Ghosphogluconate dehydrogenase	PGDH	1. 1. 1. 44	肌肉 Muscle
磷酸葡萄糖变位酶 Phosphoglucomutase	PGM	5. 4. 2. 2	肌肉 Muscle
乳酸脱氢酶 Lactate dehydrogenase	LDH	1. 1. 1. 27	肝脏 Liver
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	SOD	1. 15. 1. 1	肝脏 Liver

合度。群体间遗传分化程度通过基因分化系数  $G_s$  衡量,  $G_s$  为总群体平均杂合度 ( $h_s$ ) 和各群体内平均杂合度 ( $h_t$ ) 的函数, 即  $G_s = 1 - h_s/h_t$ 。两群体遗传相似度和遗传距离计算参照 Nei(1975) 方法, 采用 MEGA3.0 软件构建 UPGMA 系统树。

## 2 结果

电泳图谱如图 1 所示, 在分析的 8 种酶 (G3PDH、IDHP、SDH、MDH、PGDH、PGM、LDH 和 SOD) 中, 共检测到 11 个位点, 以  $P_{0.99}$  为标准, 其中 G3PDH\* 和 PGM\* 两个位点在青岛、舟山和厦门 3 个群体中均为多态, 而其他位点均为单态 (表 2)。

青岛、舟山和厦门 3 个群体的多态位点比例均为 0.2, 平均观测杂合度和预期杂合度分别在 0.010 1~0.037 9 和 0.023 4~0.039 9 之间, 平均每个位点的有效等位基因数在 1.029 0~1.052 8 之间 (表 3)。在 G3PDH\* 位点, 3 个群体的遗传偏离指数均大于零, 但经 Fisher 检验差异不显著, 表明在该位点上等位基因频率分布不显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 但在 PGM\* 位点上, 经 Fisher 检验, 遗传偏离指数显著大于或小于零, 表明在该位点上 3 个群体的等位基因频率显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 在青岛和厦门群体中遗传偏离指数小于零, 说明在这两个群体中杂合子缺失, 但在舟山群体中遗传偏离指数大于零, 说明舟山群体杂合子过剩 (表 3)。作者利用基因分化系数  $G_s$  估算了黄姑鱼群体的遗传变异分布情况, 黄姑鱼 3 群体的基因分化系数  $G_s$  为 0.084, 表明群体间的变异占总体变异的 8.4%, 91.6% 的遗传变异来源于群体内。

利用 Nei 公式计算了群体间的遗传距离, 群体间的遗传相似度和遗传距离见表 4。3 个群体间的遗传距离在 0.000 4~0.000 8 之间, UPGMA 聚类树表明舟山和厦门群体间遗传关系较近 (图 2), 两群体同青岛群体遗传距离较大, 但 3 个群体间无显著遗传分化。

## 3 讨论

同工酶电泳作为群体遗传学的一个经典研究方法, 其共显性遗传的特点, 可以有效地检测群体遗传结构, 度量种群的遗传变异, 已被广泛应用于鱼类群体遗传多样性分析和种质资源保护研究中。多态位点比例和平均杂合度是能够有效反映鱼类种群遗传变异及其种质资源状况的两个重要参数。本研究中, 8 种同工酶在 3 个群体中共检测到 11 个基因位点, 黄姑鱼 3 群体的多态位点比例均为 0.2, 比较 3 群体间的观测杂合度和预期杂合度, 发现厦门群体遗传多样性最高, 舟山群体

表 2 3 个群体的等位基因频率

Table 2 The allele frequency of the three populations

位点 Locus	等位基因 Allele	基因频率 Frequency		
		青岛 QD	舟山 ZS	厦门 XM
G3PDH*	*a	0.977 7	0.984 4	0.916 7
	*b	0.022 3	0.015 6	0.083 3
IDHP*	*a	1.00	1.00	1.00
LDH*	*a	1.00	1.00	1.00
MDH-1*	*a	1.00	1.00	1.00
MDH-2*	*a	1.00	1.00	1.00
MDH-3*	*a	1.00	1.00	1.00
MDH-4*	*a	1.00	1.00	1.00
PGDH*	*a	1.00	1.00	1.00
	*a	0.122 2	0.125 0	0.138 9
	*b	0.877 8	0.859 4	0.833 3
	*c	0	0.015 6	0.013 9
PGM*	*d	0	0	0.013 9
	*a	1.00	1.00	1.00
SOD*	*a	1.00	1.00	1.00
SDH*	*a	1.00	1.00	1.00
P		0.2	0.2	0.2
$H_o$		0.010 1	0.028 4	0.037 9
$H_e$		0.023 4	0.025 1	0.039 9
$A_e$		1.029 0	1.032 4	1.052 8

表 3 3 个群体的 Hardy-weinberg 遗传偏离指数

Table 3 The genetic deviation index of the three populations

位点 Locus	群体 Populations		
	青岛 QD	舟山 ZS	厦门 XM
G3PDH*	0.02	0.02	0.09
PGM*	-0.69	0.15	-0.13

表 4 3 个群体的遗传距离和遗传一致度

Table 4 Nei's genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) among three populations

	青岛 QD	舟山 ZS	厦门 XM
青岛 QD	—	0.999 3	0.999 2
舟山 ZS	0.000 7	—	0.999 6
厦门 XM	0.000 8	0.000 4	—

其次,青岛群体最低。同西北太平洋区域已知的海水鱼类同工酶数据比较发现,黄姑鱼多态位点比例低于同科的白姑鱼群体(0.261~0.565)(Menezes *et al.* 1990),但高于大黄鱼官井洋养殖群体(0.067)和象山港养殖群体(0.111)(王军等 2001),低于真鲷(0.450)(王伟继等 2000)、花鲈(0.375~0.500)(Gao *et al.* 2004)、黄鲛(0.5)(姬广磊等 2007)、褐牙鲂(0.241~0.310)(尤锋等 2001)、石鲈(0.286)(刘曼红等 2005)和半滑舌鲷(0.250~0.313)(庄志猛等 2006)等种类。平均观测杂合度是度量遗传变异的最简单、最直接和最富信息的方法,由于它与测定样品的大小的关系不太大,因而优于多态位点比例(Philipp 1981)。脊椎动物平均杂合度一般在0.03~0.08(Kirpichnikov 1981),在我国沿海常见海水鱼类中,白姑鱼为0.041~0.051(Menezes *et al.* 1990),大黄鱼为0.012~0.016(王军等 2003),花鲈为0.0283~0.0484(Gao *et al.* 2004),真鲷为0.141(王伟继等 2000),带鱼为0.042~0.103(王可玲等 1994),梭鱼为0.064(杨锐等 2002)。综上所述,我国沿海黄姑鱼的群体遗传多样性处于较低的水平。Menezes等(1990)对日本沿海黄姑鱼群体进行同工酶分析,得出多态位点比例和观测杂合度分别在0.304~0.348和0.029~0.054之间,与之相比,我国沿海黄姑鱼群体遗传多样性偏低,这可能由于我国沿海黄姑鱼群体遭受过度捕捞,部分稀有等位基因丧失,导致群体遗传多样性低于日本沿海群体。

遗传变异有一定的大小和分布格局,种内遗传变异可以分为群体内和群体间的变异,保持这两种变异可以最大限度地降低地理群体的灭绝几率,维持物种的稳定。本文利用  $G_s$  分析了黄姑鱼遗传多样性的群体内和群体间的分布格局。结果显示,黄姑鱼的遗传变异主要存在于群体内个体间,群体间无明显的遗传分化,说明群体间存在频繁的基因交流。遗传距离和遗传一致度也定量地反应了群体间的遗传变异关系,黄姑鱼3个地理群体间的遗传距离在0.0004~0.0008之间,这也证明群体间无明显的遗传分化,同样支持3群体间存在明显的基因交流,3个地理种群没有形成自己独立的遗传结构。本研究结论同黄姑鱼群体的 AFLP 分析结果基本一致。韩志强等(2005)利用 AFLP 技术对东海和黄海黄姑鱼遗传变异进行了研究,发现黄姑鱼的遗传变异主要存在于群体内个体间,黄海和东海两群体间无显著的遗传差异。生态学资料把黄姑鱼分为黄、渤海和东海两个地理群,黄、渤海的黄姑鱼季节性洄游明显,越冬场在济州岛附近的海域,3月鱼群向西北洄游,4月份一部分鱼群到达青岛海域;东海黄姑鱼的洄游不甚明显,仅做深水区和浅水区之间的往返移动(《中国渔业资源调查和区划》编辑委员会 1988)。黄姑鱼群体遗传分化较弱的原因可能是不同地理群体受海流(如黑潮、朝鲜暖流、对马暖流和中国近海沿岸流)影响造成的。

同工酶的生化遗传分析实际上只是分析比较不同基因型的产物,而不是遗传密码基因本身,且编码蛋白质的基因仅占生物体整个基因组的很少部分,而非结构基因则无能为力。因此,同工酶技术在一定程度上低估了群体的遗传变异水平,有必要运用其他分子手段如线粒体 DNA 序列分析、微卫星标记等对黄姑鱼群体遗传变异进行深入的研究。

## 参 考 文 献

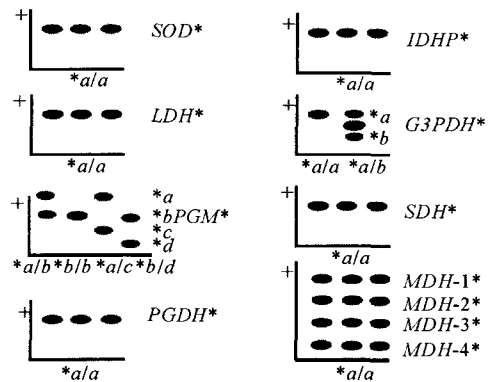


图1 黄姑鱼8种同工酶电泳模式

Fig. 1 Electrophoresis pattern of eight enzymes

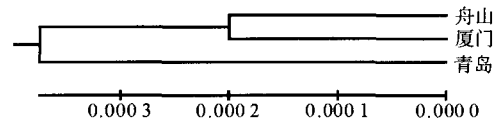


图2 根据同工酶数据,构建的黄姑鱼3个群体的UPGMA系统树

Fig. 2 UPGMA dendrogram of the three populations of *N. albiflora* based on isozyme data

- 王中仁编著. 1998. 植物等位酶分析. 北京: 科学出版社, 10~11
- 王 军, 全成干, 苏永全, 丁少雄, 张 纹. 2001. 官井洋野生与养殖大黄鱼同工酶的研究. 海洋科学, 25(6): 39~41
- 王伟继, 孔 杰, 庄志猛, 孟宪红. 2000. 真鲷野生群体和人工繁殖群体的同工酶差异. 生物多样性, 8(4): 391~396
- 王可玲, 张培军, 刘兰英, 徐 成, 王建飞. 1994. 中国近海带鱼生化遗传结构及其鉴别的研究. 海洋学报, 16(1): 93~104
- 尤 锋, 王可玲, 相建海, 徐 成. 2001. 山东近海褐牙鲆自然与养殖群体生化遗传结构及其遗传变异的比较分析. 海洋与湖沼, 32(5): 512~518
- 孙 忠, 余方平, 程国宝. 2005. 舟山近海黄姑鱼室内全人工育苗技术研究. 浙江海洋学院学报, 24(1): 27~47
- 朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖. 1963. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述. 上海: 上海科学技术出版社, 50~51
- 刘曼红, 高天翔, 于常红, 陈四清, 庄志猛. 2005. 山东近海石鲈的同工酶分析. 海洋水产研究, 26(1): 41~48
- 庄志猛, 韩志强, 马爱军, 柳学周, 陈省平, 高天翔. 2006. 黄、渤海半滑舌鳎种群遗传结构的同工酶分析. 海洋水产研究, 27(2): 10~16
- 杨 锐, 庄志猛, 喻子牛, 戴继勋, 邓景耀. 2002. 梭鱼养殖群体与自然群体等位基因酶的遗传变异. 海洋水产研究, 23(3): 15~19
- 陈 超, 徐延康, 雷霖霖. 1989. 黄姑鱼人工育苗初步研究. 水产科学, 8(1): 7~11
- 姬广磊, 高天翔, 柳本 卓. 2007. 黄海和日本海黄鲛鳎的形态和同工酶差异. 海洋水产研究, 28(3): 73~79
- 韩志强, 高天翔, 王志勇, 庄志猛, 苏天凤. 2006. 黄姑鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析. 水产学报, 30(5): 640~646
- 蔡厚才, 林岩璇, 陈传再. 2000. 南麓海区黄姑鱼网箱养殖技术研究. 浙江海洋学院学报, 20(1): 66~69
- 雷霖霖, 樊宁臣, 郑澄伟. 1981. 黄姑鱼 *Nibea albi flora* Richardson 胚胎及仔、稚鱼形态特征的初步研究. 海洋水产研究, 4(2): 77~84
- 雷霖霖, 陈 超, 徐延康, 史耀琨, 袁耀光. 1992. 黄姑鱼工厂化育苗技术研究. 海洋科学, 11(6): 5~10
- FAO/UNEP. 1981. Conservation of Genetic Resources of Fish: Problems and recommendation. In: Report of the Expert Consultation on the Genetic Resources of Fish, 9~13
- Gao, T. X., Lou, D., Liu, J. X., Zhang, Y. P., and Yokogawa, K. 2004. Genetic variance among sea bass stock. Acta Hydrobiologica Sinica, 28(1): 69~73
- Japan Fisheries Resource Conservation Association. 1989. Population differentiation of marine organism by isozyme analysis. Report on the Genetic Assessment Project. Japan Fisheries Resource Conservation Association, Tokyo, 28~209
- Kirpichnikov, V. S. 1981. Genetic Base of Fish Selection. Berlin: Spring-Verlag, 143~200
- Menezes, M. R., Taniguchi, N., and Scki, S. 1990. Degree of intraspecific genetic divergence and variability in three sciaenid species. Japanese Journal of Ichthyology, 37(1): 39~48
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia Univ. Press, New York, 128~134
- Philipp, D. P. 1981. Management implications for different genetic stocks of large mouth bass (*Micropterus salmoides*) in the United States. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 38(1): 1 715~1 723
- Ryman, N., and Utter, F. 1987. Population Genetics and Fisheries Management. Seattle: University of Washington Press, 141~159