

天鹅洲通江型长江故道“四大家鱼” 种群遗传结构研究

夏德全 杨 弘 吴婷婷 董在杰 简纪常 曹 莹

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

张燕生

(中国科学院发育生物学研究所, 北京 100080)

摘 要 利用淀粉胶电泳技术, 对天鹅洲通江型故道青鱼(*Mylopharyngodon piceus*) (60尾), 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*) (40尾), 鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*) (40尾), 鳙(*Aristichthys nobilis*) (40尾)的心、眼、脑、白肌、肝五种组织中LDH、MDH、G6PDH及EST四种同工酶进行分析, 并对这几种酶的一系列基因座位作了比较和定位, 以此分别计算青、草、鲢、鳙的种群遗传变异率, 为构建通江型长江故道“四大家鱼”种质资源生态库提供重要依据。

关键词 天鹅洲, 通江型故道, 四大家鱼, 种群遗传结构

青、草、鲢、鳙四大家鱼是我国重要的经济鱼类, 在淡水渔业特别是淡水养殖业中占有重要的地位, 长江是我国“四大家鱼”苗种和繁育群体的发源地之一, 又是重要的天然种质资源库。天鹅洲长江故道由于其特殊的地理位置, 成为建立长江四大家鱼种质资源天然生态库的最佳地区之一。

同工酶作为遗传的生化指标^[3,4], 已成为种群遗传结构、种质资源考察、原种种群间基因流动及生物多样性研究的重要手段^[1,2,5-8]。本研究利用同工酶电泳技术对天鹅洲通江型长江故道“四大家鱼”种群遗传结构进行了研究, 为“四大家鱼”种质资源天然生态库的建立提供了重要的依据, 这将更好地保护和利用“四大家鱼”种质资源。

材 料 和 方 法

(一) 实验鱼采集

将天鹅洲长江故道捕获的“四大家鱼”集中暂养于湖北省石首市老河口渔场, 然后在老河口渔场进行取样。青鱼60尾, 草鱼、鲢、鳙各40尾, 实验鱼均为一龄鱼。

(二) 取样

收稿日期: 1995-11-28。

活鱼解剖,分别取脑(B)、眼(E)、心(H)、肌(M)、肝(L)五种组织,浸入生理盐水中洗涤后,用锡纸包好并作标记,投入液氮中。运抵实验室后,转移至 -80°C 低温冰箱中保存,待用。

(三)制样

取出低温保存的组织块,按 $W(\text{克}):V(\text{毫升})=1:5$ 加匀浆液(0.1M 磷酸缓冲液 $\text{pH}7.0$),于冰浴中匀浆,然后转移至小离心管中,在 60°C 水中保温 $1-2$ 分钟,迅速置冰水中冷却,于 $13\,000-15\,000\text{rpm}$, 4°C 离心 30 分钟,吸出上清液直接点样。

(四)制胶

采用垂直板淀粉胶电泳,胶浓度均为 15% ,LDH和MDH选用 $\text{pH}8.5$ 的TC缓冲系统,G6PDH和EST选用 $\text{pH}8.0$ 的TC缓冲系统。淀粉购自美国Sigma公司及Electrostarch公司,制胶时按Sigma淀粉:Electro淀粉 $=1:1$ 混合使用。

(五)电泳

使用美国Ephortec电泳仪,在 4°C 冰箱中进行,时间约 $16-18$ 小时,电泳参数如下:

1.LDH和MDH 电压 280V (稳压),电流 $20-25\text{mA}$;

2.G6PDH和EST 电压 180V (稳压),电流 $15-20\text{mA}$ 。

(六)同工酶染色

参照Shaw等^[10]方法并略加修改。

结 果

(一)青鱼同工酶表型

1. 乳酸脱氢酶同工酶(LDH)

在检测的 60 尾青鱼样品中,脑、眼、心、肌Ldh-A、Ldh-B座位均为单态。肝脏Ldh-C座位也为单态。表型为八条带。38号鱼肝脏中,在A位点上呈现出似生理或病理因素所致的无规则条带(图1)。

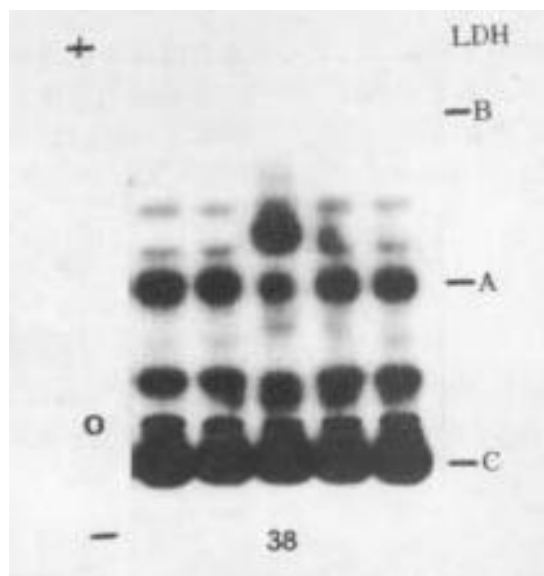


图1 青鱼肝脏中LDH电泳图

Fig.1 Electropherogram of LDH from the liver of black carp

2. 苹果酸脱氢酶(MDH)

60 尾样品中除 38 号样品外,其余脑、眼、心、肌、肝 Mdh - A、B、C、D 四个座位均为单态(图 2)。

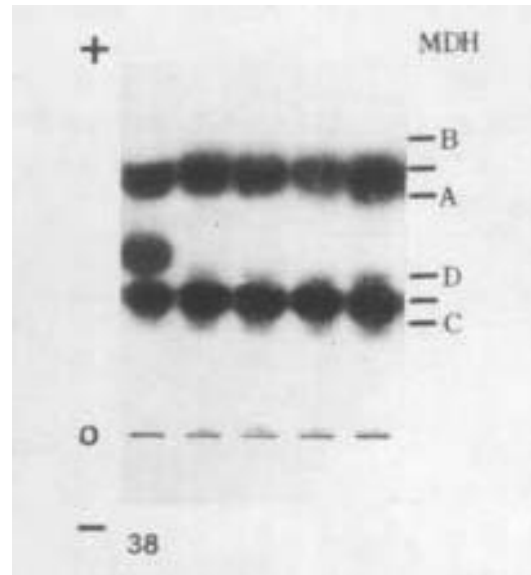


图 2 青鱼肝脏中 MDH 电泳图

Fig.2 Electropherogram of MDH from the liver of black carp

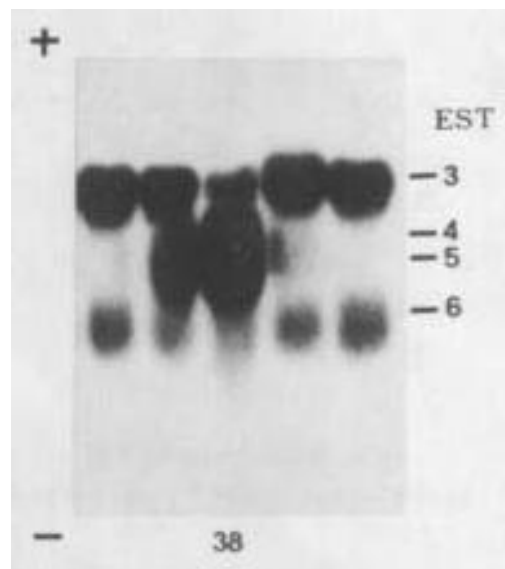


图 3 青鱼肝脏中 EST 电泳图

Fig.3 Electropherogram of EST from the liver of black carp

3.6 - 磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)

青鱼脑、眼、心、肌的 G6PDH 有一个基因座位,呈单态,未发现多态。肝中至少有二个基因座位,未发现多态。

4. 酯酶(EST)

60 个样品中除 38 号外, 各组织均为单态。肝组织呈单态, 二条酶带组成, 在电泳图上偶见 Est1、2 的痕量表达, 本文忽略不计(图 3)。

(二) 草鱼同工酶表型

1. 乳酸脱氢酶同工酶(LDH)

Ldh - A、B 座位在脑、眼、心、肌组织中为单态, 表型为五条酶带。除 33 号样品外, 其余 39 尾鱼中 Ldh - A、B、C 座位在肝脏中表型为七条酶带, 呈单态。33 号鱼肝脏中 A 座位的变化不象是等位基因的多态性所致(图 4)。

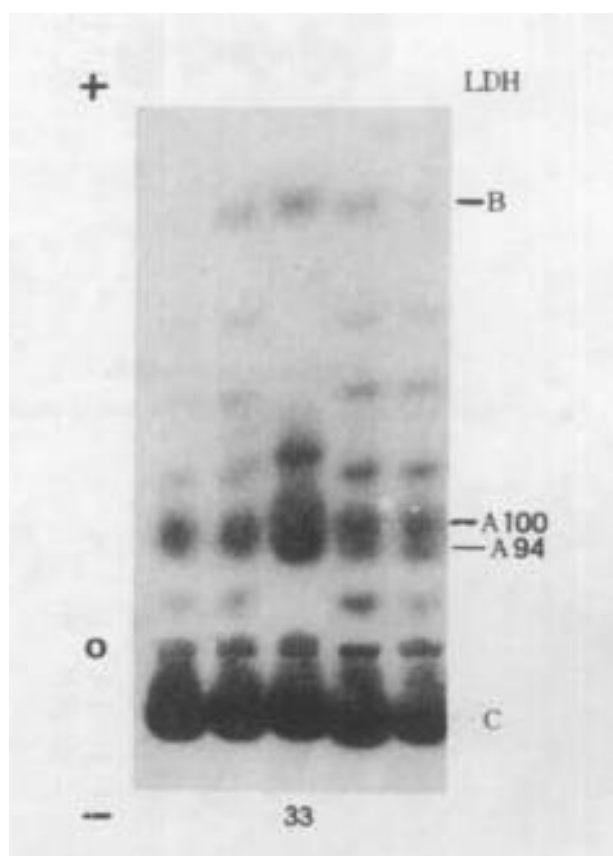


图 4 草鱼肝脏 LDH 电泳图

Fig. 4 Electropherogram of LDH from the liver of grass carp

2. 苹果酸脱氢酶(MDH)

除 33 号样品外, 其余 39 尾草鱼中 Mdh - A、B、C、D 基因座位在五种组织中均为单态, 表型呈五条酶带。图 5 为肝脏 MDH 电泳图。

3. 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)

存在二个 G6PDH 基因座位, 在脑中表型为一条酶带, 呈单态。在白肌中无活性; 在心、眼、肝中表型为二条酶带, 均为单态。

4. 酯酶(EST)

在 40 尾鱼的脑组织中,EST 的表现 Est4、5、6 三条酶带,均为单态。在心、眼、肝中为二条酶带,均呈单态。

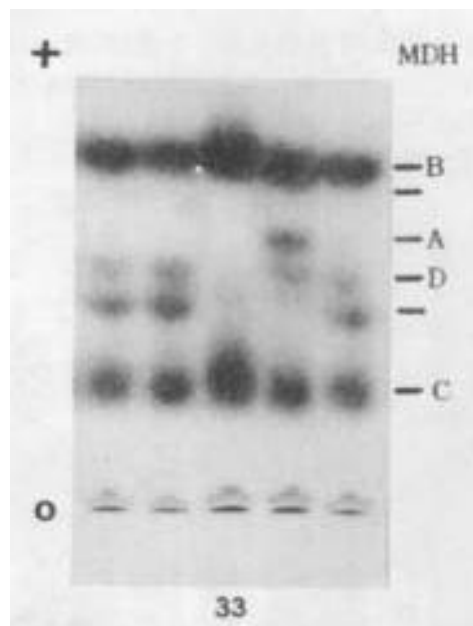


图 5 草鱼肝脏 MDH 电泳图

Fig.5 Electropherogram of MDH from the liver of grass carp

(三) 鲢同工酶表型

1. 乳酸脱氢酶同工酶(LDH)

40 个样品的 Ldh-A、B、C 座位均为单态,在心、脑、眼中,A 和 B 座位组成五条酶带。在肝脏中,A、B、C 座位的表型为八条酶带。

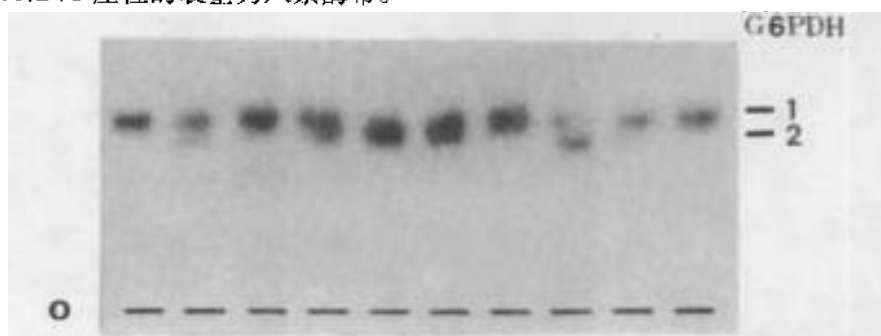


图 6 鲢心肌 G6PDH 电泳图

Fig.6 Electropherogram of G6PDH from the heart muscle of silver carp

2. 苹果酸脱氢酶(MDH)

鲢各组织中 MDH 四个座位均为单态,表型具有组织特异性,脑为六条酶带,眼和心肌为五条酶带,肌肉为四条酶带。

3. 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)

至少存在二个座位,在心肌中具有三种表型(见图 6)。在肝中为二条酶带,呈单态。在

脑和眼中为一条酶带, 单态。

4. 酯酶(EST)

鲢 EST 表型具有组织特异性, 脑中只有 EST-2 带; 肌肉中只有 EST-3 带; 眼和心肌中 EST-2、3 均存在; 肝中有 EST-1、2 带。各基因座位均为单态。

(四) 鳊同工酶表型

1. 乳酸脱氢酶同工酶(LDH)

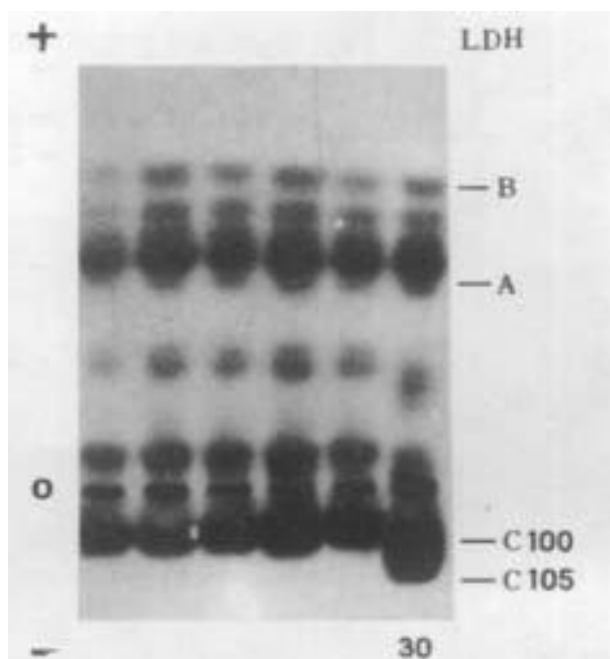


图7 鳊肝 LDH 同工酶电泳图

Fig.7 Electropherogram of LDH from the liver of bighead fish

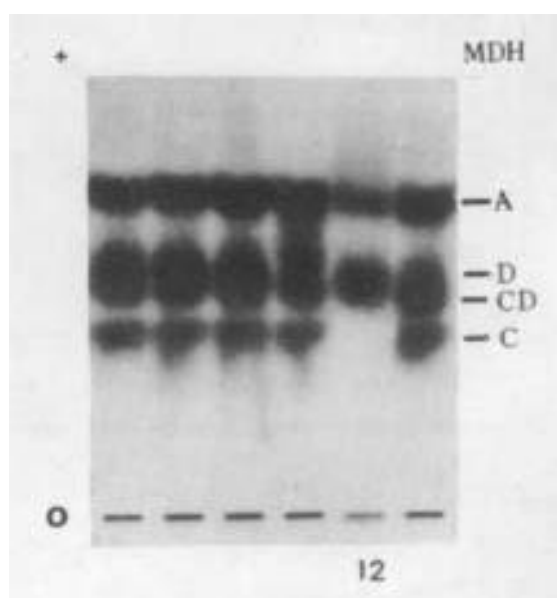


图8 鳊肝中 MDH 电泳图

Fig.8 Electropherogram of MDH from the liver of bighead fish

40 尾鱼的 Ldh - A、B 座位在心、眼、脑、肌均为单态,表型为五条酶带。在肝脏中,Ldh - A、B、C 的表型为八条酶带,30 号样品的 C 位点存在 1 个等位基因(见图 7),为 2 种表型。

2. 苹果酸脱氢酶(MDH)

Mdh - A、B、C、D 座位在鳃心、眼、脑中的表型为六条酶带,单态。在肝中的表型为 Mdh - 3、4、5、6(即:A2、D2、CD、C2、),Mdh - 1、2 呈痕量不计。12 号肝样品的 D2、C2 二条纯合子酶带缺失(见图 8),这表明肝脏中 Mdh 显示出 2 种表型。

3. 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)

在心、眼、脑、肌中表型为单一酶带,单态。肝脏中的表型为三条酶带,单态,一种表型。

4. 酯酶(EST)

40 尾鳊的各组织各基因座位未发现多态。

讨 论

从以上结果不难看出,天鹅洲通江型故道青、草、鲢、鳊四大家鱼种群均属遗传结构较为稳定的群体,这一检测结果与李思发^[1]在长江水系其它区段的取样检测结果有所不同,其原因:(1)该渔区特殊的自然地理环境构成封闭型自然群体,(2)多年来外植品系的馈乏及世代近亲繁殖,(3)采样点过于集中。从某种意义来讲,个体的特征不仅取决于它所携带的基因和由此产生的特定表型,同样也取决于发育及生活过程中的环境。换言之,环境对物种及群体所能提供选择机会的大小同样是重要的结构背景之一。

我们仅在鳊 30 号肝脏 LDH 样品中检测到一例变异等位基因 C - 105,草鱼 33 号肝脏 LDH 样品中检测到一例变异等位基因 A - 94(见表 1),鲢心肌 G6PDH 虽具有三种表型,尚难判断为变异等位基因产物。

表 1 草鱼、鳊 LDH 等位基因频率(X)及平均杂合度(H)

Table 1 The allelic frequencies (X) and the mean heterozygosities (H) of LDH from grass carp and bighead fish

草 鱼 Grass carp				鳊 Bighead fish			
座 位 Locus	等位基因 Allele		平均杂合度 Mean heterozygosity	座 位 Locus	等位基因 Allele		平均杂合度 Mean heterozygosity
Ldh - A	100 94	0.975 0.025	0.04875	Ldh - A	100	1.000	0.000
B	100	1.000	0.000	B	100	1.000	0.000
C	100	1.000	0.000	C	100 105	0.975 0.025	0.04875

综上所述,利用同工酶对天鹅洲通江型故道青、草、鲢、鳊种群遗传结构的研究,初步表明该地区“四大家鱼”基本上是纯的,能在此建立“四大家鱼”种质资源天然生态库。

致谢

本文在实验鱼采样和工作中曾得到了水科院长江所张兴忠先生、冯光化老师、上海水产大学周碧云和吕国庆老师、中科院发育所薛国雄先生以及淡水鱼类种质资源与生物技术国家重点实验室的同仁们的大力帮助,在此一并表示谢忱!

参 考 文 献

- [1] 李思发等, 1990。长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼种质资源研究, 上海科技出版社。
- [2] 仇潜如等, 1991。主要淡水养殖鱼类种质研究, 中国科技出版社。
- [3] 夏德全等, 1991。草鱼 LDH 同工酶 A₄ 性质研究。核农学报, 4(4): 225 - 229。
- [4] 薛国雄等, 1992。草鱼 LDH 同工酶比较酶学和免疫化学研究。水产学报, 16(4): 357 - 364。
- [5] 王可玲等, 1994。中国近海带鱼种群生化遗传结构及其鉴别的研究。海洋学报, 16(1): 93 - 104。
- [6] Andersson, L. et al., 1983. Protein loci in the Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.: electrophoretic expression and genetic variability patterns. J. Fish Biol., 23: 75 - 94.
- [7] Philipp, D. P. et al., 1979. Evolution of pattern of differential gene expression: a comparison of the temporal and spatial patterns of isozyme locus expression in two closely related fish species (Northern largemouth bass *Micropterus salmoides*, and smallmouth bass, *Micropterus dolomieu*) J. Exp. Zool., 210: 473 - 488.
- [8] Philipp, D. P. et al., 1981. Management implications for different genetic stocks of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in the United States. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38: 1715 - 1723.
- [9] Philipp, D. P. et al., 1983. A biochemical genetic evolution of the Northern and Florida subspecies of largemouth bass. Trans. Amer. Fish. Soc., 112: 1 - 20.
- [10] Shaw C.R. et al., 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes: a recipe. Biochem. Genet., 4(2): 279 - 320

STUDY ON THE POPULATION GENETIC STRUCTURES OF BLACK CARP, GRASS CARP, SILVER CARP AND BIGHEAD FISH IN TIAN - E - ZHOU OPEN OLD COURSE OF THE YANGTZE RIVER

Xia Dequan Yang Hong Wu Tingting Dong Zaijie

Jian Jichang Cao Ying

(Freshwater Fishery Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081)

Zhang Yansheng

(Institute of Developmental Biology, Academia Sinica, Beijing 100080)

ABSTRACT Through starch gel electrophoresis, four allozymes (LDH, MDH, G6PDH and EST) extracted respectively from five tissues (heart, eye, brain, white muscle and liver) of 60 black carp (*Mylopharyngodon piceus*), 40 grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), 40 silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and 40 bighead fish (*Aristichthys nobilis*) sampled from Tian - e - zhou open old course of the Yangtze River, were analyzed. The gene loci, for these enzymes were compared and determined. Moreover, genetic variations of the populations of black carp, grass carp, silver carp and bighead fish were figured out separately. These results built a solid foundation for setting up the ecological pools of germplasm resources of black carp, grass carp, silver carp and bighead fish in the open old course of the Yangtze River.

KEYWORDS Tian - e - zhou, Open old course of the Yangtze River, Black carp, grass carp, silver carp and bighead fish, Population genetic structure