

江西省鲤生物遗传 多样性调查和 DNA 指纹分析*

张建森 孙小异 施永红 龚永生 王建新 朱 健

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

Roger W. Doyle

Zubaida basiao

(Dalhousie University, Halifax, Canada)(Southeast Asian Fisheries Development Center, Philippines)

摘 要 采集样本 10 种, 经生物学调查和 DNA 指纹分析鉴定为 6 个品种(品系), 其中 3 个样本是荷包红鲤, 另外的 5 个品种(品系)是兴国红鲤、玻璃红鲤、野鲤、建鲤和锦鲤。它们在形态、生态分布、染色体组型及 NORs、肉质肉量、电泳同工酶、PCR、对基因探针的反应等方面具有明显的多态性和差异。DNA 指纹分析还查明, 一种来源不清的鲤是荷包红鲤, 南昌的一种所谓兴国红鲤是一种混杂了的鲤。江西鲤较印度尼西亚和菲律宾的鲤遗传多样性丰富。亲本管理水平对后代基因—基因型稳定性有很大影响。

关键词 江西省, 鲤, 生物遗传多样性, DNA 指纹

1 前言

我国是一个生物多样性十分丰富的国家, 据研究, 我国生物多样性的丰富程度居世界上第 8 位^[1], 现有淡水鱼类 800 余种, 鲤科鱼类占 1/2 以上, 且品种十分丰富繁多。

水产养殖业的发展与养殖鱼类品种的开发和遗传改良有密切关系, 但养殖品种的开发和遗传改良, 又往往导致破坏生物的多样性, 给未来的渔业发展带来潜在的危害, 有的已明显造成遗传污染、品种混杂和物种的灭亡。张建森和 Dr. Roger W. Doyle 等提出了《经济遗传学》概念, 以社会、经济可持续发展作为出发点, 探索把遗传保护与遗传改良这两个既有联系又相互矛盾的两个方面, 相互协调互相促进的途径, 并付诸于实践^①。IDRC 资助的“水产养

收稿日期: 1996-11-12。

* 本文是 IDRC 资助的国际合作项目《水产养殖遗传多样性: 经济社会可持续发展和保护的研究》论文之一。感谢 IDRC 资助本项目的研究经费, 感谢江西省水产局、推广站及南昌、婺源、兴国、万安等水产部门领导的支持。

① 张建森、Roger W. Doyle 等, 1993。水产养殖遗传多样性: 经济、社会可持续发展和保护的研究。IDRC 资助国际合作研究项目计划书。

张建森、孙小异, 1997。建鲤推广 10 年的经验和体会。“全国池塘养殖学术研讨会”论文。

殖遗传多样性:经济社会可持续发展和保护的研究”,把加拿大的先进技术与发展中国家丰富的社会经济多样性和鱼类生物遗传多样性结合起来,是一项有益的开创性的工作。该项目包括加拿大、菲律宾、泰国、印尼和我国等成员,各自选择本国的重点省区进行研究。江西省共有鱼类 154 种,占我国淡水鱼类总数的 19.2%^[14]。本次野外调查查明江西共有鲤品种(品系)6 个,这在平原湖泊型地区是十分罕见的,而且极富特色,6 个品种鲤是荷包红鲤、兴国红鲤、玻璃红鲤、建鲤、鄱阳湖野鲤和锦鲤,其中荷包红鲤、兴国红鲤和玻璃红鲤为江西所特有,故本次调查选择了我国的江西省为研究的重点。

2 材料与方法

2.1 野外调查

采用发放调查表、问答卷,与渔民、管理人员、有关政府官员及消费者进行座谈;查阅有关档案资料,分析以往的调查研究报告;以及现场对随机取样的活鱼进行测量等。

2.2 DNA 指纹印样本的采集和分析

DNA 样本在现场调查时采集,每种样本不少于 30 个,共 420 个。所采得的样本放入纯酒精保存。采用加拿大国家海洋生物基因探针实验室研制的基因探针,用他们的设备和方法,即切片取 0.5mm 鳍片,经水洗、水浴、蛋白酶 K 失活、³²P 同位素(γ -ATP)标记、多聚酶链反应、丙烯酰胺凝胶电泳、干燥、X 光摄像、根据 M₁₃ 标记记录等位基因、电脑分析资料。

3 结果

3.1 生物遗传多样性的调查

3.1.1 形态的多样性 (1)体型:鄱阳湖野鲤,基本上与长江野鲤相同,因为鄱阳湖与长江相通,所以它们同属一种鱼,是江西几种鲤中最瘦长的一种。不过鄱阳湖区的饵料生物资源较长江要丰富的多,故鄱阳湖野鲤要比长江野鲤肥满一些。玻璃红鲤是从长江野鲤中挑选出来的,其体型与长江野鲤相似,基本是瘦长型的。锦鲤是从外地引进的品种,其体型也是长型的。兴国红鲤为长体型,而荷包红鲤的体型特别粗短,由于长期人工驯养,游动能力衰退,致使尾椎骨愈合,使体型变得很短,显得肚大背高,形似荷包。建鲤呈长体型,但较野鲤背高体厚。(2)体色:荷包红鲤、兴国红鲤和玻璃红鲤统称江西“三红”。荷包红鲤和兴国红鲤的体色相似,一般为桔红色和桔黄色,而玻璃红鲤在幼鱼阶段全身透明,内脏清晰可见,幼鱼和成鱼呈肉红色,眼球呈深紫红色。鄱阳湖野鲤呈青灰色,尾鳍尤其是下叶呈桔黄色。锦鲤的色彩多种多样,有红色、黑色、白色、蓝色、黄色,以及红白、黑白、兰白等等。建鲤呈青灰色,略淡,不同于野鲤和杂交鲤。

3.1.2 生态环境和分布的多样性 鄱阳湖野鲤主要生活在鄱阳湖及其周围的子湖、通湖的河流中,其产量占鄱阳湖捕捞产量的 1/3 以上,也是沿湖周围地区的池塘重要养殖对象之一。鄱阳湖是我国第一大淡水湖泊,它处于中亚热带北部,属湿润亚热带季风型气候,温暖湿润,四季分明。年平均气温 16.7-17.7℃,年平均降水量 1281-1635 毫米,年平均无霜期 210-276 天。鄱阳湖水系由赣、抚、信、饶、修五大河流汇集而成,水源充足、水质良好、水生生物丰富,十分适宜鱼类尤其是鲤的繁殖、生长。

荷包红鲤是江西省婺源县的特产。婺源县位于江西省的东北部,面积 2948 平方公里。

全境多山地和丘陵,到处峰峦起伏,沟壑纵横,森林密布。年平均气温 16.7℃,年降水量 1821 毫米,无霜期 251 天。

兴国红鲤产于江西南部的兴国县境内。兴国县面积 3214 平方公里。三面环山,大部为低山和丘陵。年平均气温 18.9℃,年平均降水量 1539 毫米,无霜期 284 天。

兴国红鲤是鲤自然种群中的一种遗传变异,是经过自然选择及长期人工选择产生的结果。据史料记载,兴国红鲤已有 1300 余年的历史。

玻璃红鲤并非原产于万安县。1963 年,万安县麻源农场渔工刘煊庭、罗竞奇等人,在长江采购的鱼苗经饲养到 16—26 厘米时,从中发现 4 尾透明的红鲤鱼,经逐年繁殖选育而成^{*}。万安县位于江西省西南部,面积 2046 平方公里。主要为丘陵山区,年平均气温为 18.6℃,年降水量 1400 毫米,无霜期 195 天。其生态环境似乎与玻璃红鲤的形成无直接关系。

锦鲤系从浙江引进,主要饲养在南昌市一带,供观赏。

建鲤是张建森、孙小异采用传统育种技术与现代生物工程技术相结合,人工创造的遗传性状稳定的新品种^[8,9]。

3.1.3 染色体组型及核仁组织者(NORs)的多样性 对荷包红鲤、兴国红鲤、玻璃红鲤和野鲤的核型研究结果,其二倍体染色体数和分组组成相同,都是 $2n=100$,其组型都是 m 染色体(A)=14 对,sm 染色体(B)=11 对,st 和 t 染色体(C)=25 对,在 C 组第 3 对染色体上,都有 1 对随体,但大小与形态有所不同。另外,对四种品系鲤的染色体标本进行银染色,核仁组织者区(Ag-NORs)被染成黑色,也具有不同的多态性^{**}。孙小异、张建森等^[5]对建鲤染色体组型的分析结果是 $2n=100$,A 组为 6 对,B 组为 20 对,C 组为 24 对。荷包红鲤 $2n=100$,除正常染色体外,尚有微小染色体,并在诱导多倍体试验中发现,这可能是荷包红鲤、建鲤及其杂种中容易产生多倍体的原因之一。

3.1.4 肉质肉量的差异 荷包红鲤和玻璃红鲤的蛋白质、脂肪含量高于兴国红鲤和野鲤。张建森等^[4]研究了建鲤及其它几种鲤的空壳率、含肉率。结果是建鲤、荷包红鲤、元江鲤、荷元鲤(杂交鲤)的空壳率分别为 79.8%、60.2%、76.3%、77.6%;含肉率分别为 75.7%、54.8%、71.2%、72.1%。陆茂英等^[10]研究了建鲤、荷包红鲤等的生化组成和营养价值。结果表明,建鲤与荷包红鲤、元江鲤相比,水分下降,脂肪、蛋白质有所增加;建鲤与荷包红鲤相比,鱼肉中氨基酸总量和人类必须的 8 种氨基酸总量均高,3 种呈味的甘氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸总量也较高,因而建鲤的肉质较上述鱼类味道鲜美。

3.1.5 电泳同工酶差异 曾有人对江西省几种鲤的不同组织(心、脑、眼、肌、肝)的乳酸脱氢酶(LDH)、酯酶(EST)、苹果酸脱氢酶(MDH)及葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)等同工酶及血清蛋白的特异性做过研究。袁剑青等^[12]采用聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,对建鲤、荷包红鲤及元江鲤的心、眼、脑、肌、肝五种组织的 LDH、EST、同工酶及血清蛋白的生化特性做了比较研究。结果建鲤肝脏 LDH 的基因表达和活性都大于荷包红鲤和元江鲤,这可能与建鲤活跃的生理代谢和较快的生长速度有关。在 EST 和 LDH-C 基因中的等位基因比荷包红鲤和元江鲤多态性程度高,这可明显提高群体的总适应性和遗传稳定性。血清蛋白

* 郭治之等,1984。万安玻璃红鲤鱼的培育。万安玻璃红鲤鱼培育研究论文汇编。

** 王蕊芳等,1984。万安玻璃红鲤与兴国红鲤、荷包红鲤、青鲤的染色体组型及核仁组织者(NORs)的比较研究。万安玻璃红鲤培育研究论文汇编。

中运铁蛋白位点等位基因多态性的加强,保证了建鲤在经常变更的生活条件下有较高的成活率和抗病能力,建鲤已成为具有独特遗传性状且稳定性较好的优良品种。

3.2 DNA 指纹分析

迄今为止,还没有人用 DNA 指纹印的方法对鲤不同品种的遗传差异进行研究。我们用 DNA 指纹印的方法,对中国江西、印尼、菲律宾等国的鲤不同品种进行了遗传分析比较,其结果如图 1-5。

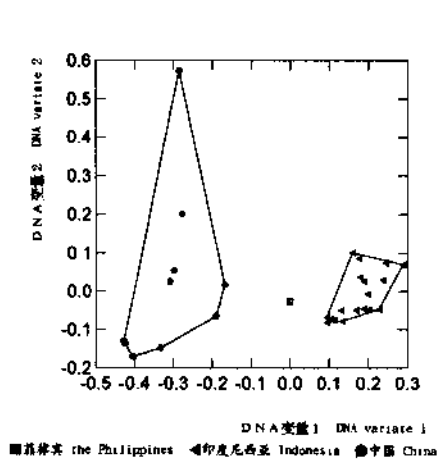


图 1 不同国家鲤的遗传基因频率分布的比较

Fig. 1 Comparison between gene frequency distribution of three countries

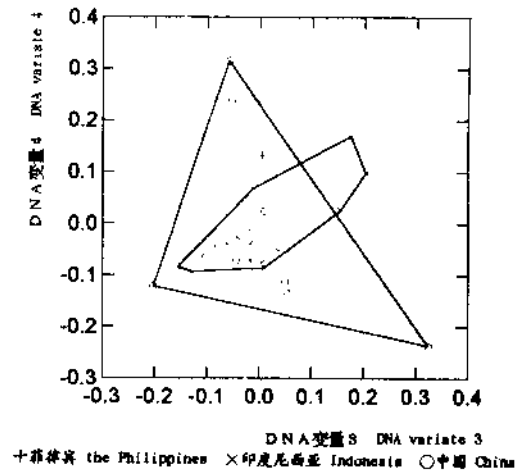


图 2 不同国家 DNA 变量分布

Fig. 2 DNA variate distribution of three countries

从图 1 看,江西鲤等位基因频率分布的范围最大,印尼较为集中,菲律宾最为集中。从图 2 看,我国鲤的 2 元 DNA 变量分布最广,印尼次之,居我国中间位置,而菲律宾集中在我国变量范围内很小的范围。两图表明我国鲤的生物遗传多样性最丰富,印尼次之,菲律宾最差。图 3 可见,我国较印尼鲤等位基因总数的分布广、数量多,也说明我国鲤较印尼的多样性丰富。从图 4 看,江西的兴国红鲤、荷包红鲤、万安玻璃红鲤、锦鲤、本地野鲤及建鲤有明显的遗传差异,只有几种荷包红鲤较集中,婺源两种荷包红鲤十分接近,差异很小,这是因为婺源荷包红鲤 2 是从婺源荷包红鲤 1 处(荷包红鲤原种场)来的。淡水渔业研究中心的荷包红鲤(Heb-F)虽最初也是来自于婺源(Heb-W₁),但在异地经过了较长时间的选育,所以较 Heb-W₁ 和 Heb-W₂ 有一定距离。来源不清的一种鲤(Ninfo)是渔民饲养的,据 DNA 指纹印分析是荷包红鲤。图 4 上的本地野鲤和兴国红鲤相重叠,这种所谓兴国红鲤经 DNA 指纹印分析是与本地野鲤混杂了的一种鲤,与兴国县的兴国红鲤完全不同。建鲤与荷包红鲤的遗传距离相对较近,与其它鲤均较远,具有明显的品种遗传特性。图 5 是在图 4 的基础上,加上了不同地理分布等因素,可以更清楚地看出它们之间的立体空间关系:几种江西主要的鲤差异最大,几种荷包红鲤最接近,本地野鲤和南昌的所谓兴国红鲤有一定空间距离,表明了它们可能来历不同。

从图 6 可以看出管理水平对品种群体的遗传稳定性有很大的影响。以婺源荷包红鲤为

例,婺源荷包红鲤原种场,由于设备条件、技术力量、资金等方面有一定优势,管理得较好。而婺源附近的个体鱼场,虽然亲鱼是由前者引进,但由于个体渔民管理的水平较差,在设备条件、技术、资金等方面都远不如前者,所以群体基因一基因型的稳定性远远不如前者。

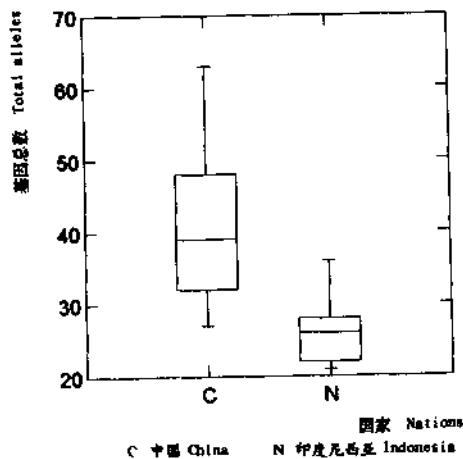


图3 中国和印尼鲤的等位基因总数分布比较
Fig. 3 Comparison between total alleles of carps in China and Indonesia

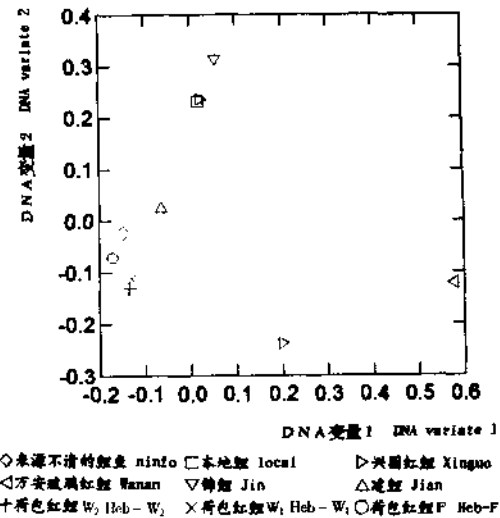


图4 江西不同鲤的DNA变量分布
Fig. 4 DNA variate distribution of different common carps in Jiangxi

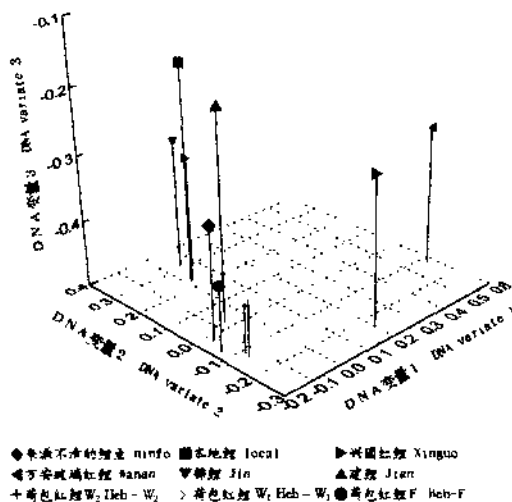


图5 江西不同鲤三元DNA变量分布比较
Fig. 5 Three-dimension DNA variate distribution of different carps in Jiangxi

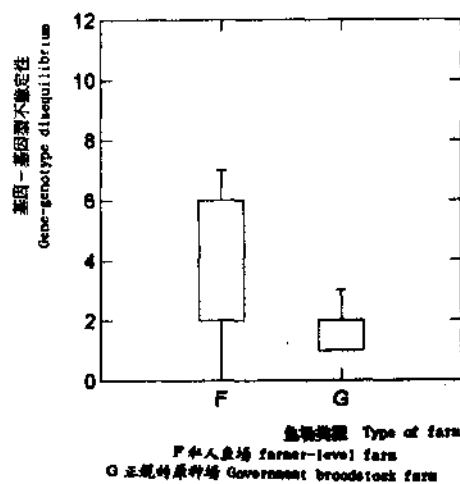


图6 江西不同管理鱼场鲤群体基因稳定性比较
Fig. 6 Gene-genotype disequilibrium of different type of farms in Jiangxi

4 小结与讨论

4.1 我国鲤具有丰富的生物遗传多样性 仅以江西省不完全调查,采样本10种,经分析鉴定为6个品种。它们之间在形态、生态分布、染色体组型及NORs、肉质肉量、电泳同工酶和

PCR、对基因探针的反应等方面表现出明显的多态性和差异。

4.2 根据 DNA 指纹分析 江西一种渔民说不清来源的鲤是荷包红鲤;南昌渔民饲养的一种所谓兴国红鲤是混杂了的鲤;在 6 种鲤中玻璃红鲤的等位基因总数最少,纯度最高,品种经济性状较差,这可能是高度近亲交配的结果;建鲤与荷包红鲤的遗传距离相对较近,与其它鲤均较远,具有明显的品种遗传特性。我国江西鲤与印尼、菲律宾鲤相比较,既表现出我国鲤的多样性十分丰富,同时也显示出不同国家之间的明显差异。在有关鲤的起源、发展等方面初步认为,菲律宾鲤可能来自中国,印尼鲤也受中国或东亚大陆的较大影响。

4.3 亲本管理水平对品种的种质有很大影响 以婺源荷包红鲤为例,原种场所繁育后代的基因—基因型稳定性,要比小型的个体鱼场好得多。个体鱼场除设备条件较差外,技术水平不高,缺乏亲本管理的知识以及亲本繁育群体过小等等,都是导致群体遗传稳定性不好或品种种质质量下降的原因。建鲤推广 10 年的经验也充分说明,凡是由我们亲自管理的亲本,品种的种质质量较好,而且逐步有所提高;凡是经营管理和技术水平不高,不善于遗传保护和遗传改良的都较差。因此,建议政府重视品种保种和遗传保护的研究,加强技术培训,以提高亲本管理水平,保证品种的种质质量。

4.4 生物遗传多样性与人类的生存和发展有密切关系 鲤是水产生物多样性极为丰富的代表,而我国鲤的生物多样性是众所周知的。据了解,我国中西部及北部地区,众多的鲤品种尚没有开发和研究,调查研究这些地区的鲤生物多样性,对这些地区的社区经济发展和改善人民生活质量有重要意义。在我国东部及经济相对较发达的地区,采取切实可行的遗传保护措施,恢复一些已经混杂了的,但具有悠久历史和传统文化背景的优秀品种的种质,也是十分有意义的工作。

参 考 文 献

- [1] 王献溥,1988.生物多样性的基本概念及其应用.生物学杂志,(5):1-4.
- [2] 邓宗觉,1981.江西婺源荷包红鲤体型形成及体色遗传的探讨.淡水渔业,(6):14-22.
- [3] 江西省水产学会,1982.江西婺源荷包红鲤提纯选优.淡水渔业,(1):29-31.
- [4] 孙小异等,1994.建鲤遗传特性的研究.水产学报,18,(3):205-213.
- [5] 孙小异等,1994.人工控制建鲤倍体性育种的研究.建鲤育种研究论文集,45-53.科学出版社.
- [6] 张建森等,1994.鱼类遗传育种研究的概况和展望.建鲤育种研究论文集,1-10.科学出版社.
- [7] 张建森等,1994.论鲤鱼杂交和品种选育.建鲤育种研究论文集,13-16.科学出版社.
- [8] 张建森等,1996.建鲤综合育种新技术.生物工程在农业上的应用,345-352.中国大百科全书出版社.
- [9] 张建森等,1996.生物技术在鱼类育种中的应用.生物工程在农业上的应用,367-374.中国大百科全书出版社.
- [10] 陆茂英等,1994.建鲤等几种鱼类生化组成的分析.建鲤育种研究论文集,85-88.科学出版社.
- [11] 郭治之,1983.荷包红鲤的生物学.江西大学学报,(4):19-36.
- [12] 袁剑青等,1994.建鲤同工酶及血清蛋白电泳的初步探讨.建鲤育种研究论文集,62-67.科学出版社.
- [13] 蒋一圭等,1964.荷包红鲤与野鲤的某些生物学特性的比较.水生生物学集刊,5(1):64-77.
- [14] 魏里珏等,1991.江西省水产纵览.中国农业科技出版社.
- [15] McNeely J. A., 1988. Economics and Biological Diversity. IUCN, Switzerland.
- [16] McNeely J. A., 1988. Conserving Biological Diversity A Decision-Maker's Guide. IUCN, bulletin, 20(4-6):6-7.
- [17] Wilson, E. O., 1988. The Current State of Biological Diversity. Biodiversity, 3-18. National Academy Press, Washington D. C.

COMMON CARP GENETIC BIO – DIVERSITY SURVEYS AND DNA FINGERPRINT ANALYSIS IN JIANGXI PROVINCE

Zhang Jiansen Sun Xiaoyi Shi Yonghong Gong Yongsheng Wang Jianxin Zhu Jian

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

Roger W. Doyle

(Dalhousie University, Halifax, Canada)

Zubaida Basiao

(Southeast Asian Fisheries Development Center, Philippines)

ABSTRACT During the surveys, ten kinds of common carp samples were collected. Biological investigation and DNA fingerprint analysis proved that three of them were Hebao red carp *Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis* and five were Xingguo red carp *Cyprinus carpio* var. *xingguonensis*, WanAn transparent red carp *Cyprinus carpio* var. *WanAnensis*, Jian carp *Cyprinus carpio* var. *jian*, wild common carp and Jin carp (Japanese Koi), respectively. They have conspicuous diversity and differences on morphology, ecological distribution, genome, NORs, meat quality, electrophoresis of iso-enzyme and PCR aspects. DNA fingerprint analysis furthermore identified one sample from unknown source was Hebao red carp and one Xingguo red carp so called in Nanchang was a promiscuous common carp. Surveys indicate that China has rich genetic biodiversity of common carp even in one province, compared with those in Indonesia and the Philippines and the management of parent fish of common carp has great impact on the stability of gene – genotype of their progenies.

KEY WORDS Jiangxi Province, Common carp, Genetic bio – diversity, DNA fingerprint