

海洋生物基因库的研究与利用*

THE RESEARCH AND UTILIZATION OF THE GENE POOL FOR MARINE ORGANISMS

张国范¹ 张福绥²

(1 大连水产学院 116024)

(2 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

基因库(Gene pool)是一个群体所有个体的基因型的集合。基因库的研究是经济海洋生物种质资源研究的重要内容,是基因资源开发利用的基础。早期的基因库研究主要依靠少数几个表型性状来阐述群体基因及基因型的分布频率及其变化规律,其方法仍然是孟德尔式的,因而对基因(型)频率的变化所得到的结论往往是间接的、仅凭少数几个性状推论的结果。由于那些中性基因或没有变异的基因无法取样,因而无法确定基因库内的所有等位基因及其型式,也就难以评价基因库的结构和功能。我们知道在群体基因库中变异的基因越多,其进化活力越大,适应环境改变的能力越强。分子生物学绕开了孟德尔式的分析方法,避开了经典遗传学无力完成种间杂交实验的传统限制,使我们不但可以在群体间、也可以在种间进行基因库的比较,从而使我们可以在分子水平更精确地研究基因库的结构和功能。

进行蛋白质(酶)、氨基酸和 DNA 核苷酸的序列分析,对于了解基因库的结构有非常重要的意义,但由于即使是分析氨基酸顺序也需要大量的纯蛋白,这是很难满足的条件,而对于 DNA 序列分析,即使是仅分析很少一部分的结构基因,其工作量也是非常巨大的。近年来发展起来的限制性内切酶酶切长度多态性(RFLP)技术对于揭示基因库的结构也是非常有用的。RFLP 是利用植物或动物基因的碱基序列差异,经限制性内切酶酶解后产生长度不等的 DNA 片断,这种差异可以在电泳图谱上筛选并显示出来,并且也按孟德尔遗传定律分离。其优点是 DNA 的酶解长度的差别是天然变异,无需人工突变,可利用的数目取之不尽;其次这是在 DNA 水平上研究 2 传变异,不受基因调控及环境的影响,因此,没有上位显性基因效应,是共显性的,易于选择。目前 RFLP 技术已相当成熟,关键在于有成套的理想材料。利用非整倍体材料的剂量效应可将标记定位于染色体,这样就可以得到遗传物理图谱。如能与育种材料的某些遗传

表型性状的遗传规律相联系,则又能将这些表型性状基因定位于某染色体的标记的位置上。目前这项技术在一些经济植物控制产量、抗逆性、成熟期等多基因的数量性状的基因定位方面已取得重要进展^[1],但在海洋生物这方面的研究还刚刚起步。由于细胞核基因和细胞质基因在控制性状时,既互相区别,又彼此协同,因此细胞质基因也是基因库的组成部分。研究细胞质基因,如线粒体 DNA(mtDNA)的 RFLP,对整个基因库的研究也是很有意义的。目前在海洋经济动物 mtDNA 的 RFLP 研究方面已取得重要进展^[5,6],但尚未见到有关其与外部表型性状相关性的研究报道。

到目前为止,海洋生物基因库研究的探针仍然大多是等位基因酶(Allozyme)。编码在结构基因 DNA 核苷酸顺序中的遗传信息,被翻译成氨基酸的顺序以组成一条多肽,我们可以选择事先不知道在群体中是否是可变的一系列等位基因酶做研究,对于变异来说,这一系列等位基因酶就代表该生物体内所有结构基因的无偏倚样本。假如发现个体中有一种酶是不变化的,也就意味着为这种蛋白质编码的基因也是不变的,假如该种酶是可变的,那么它的基因也就是可变的,并可以度量变异的大小,即决定这种酶的基因有多少种变异的型式及多少频率,使我们从数量上更精确地了解该基因库的结构,并为进而了解其功能奠定了基础。

以电泳为手段,以等位基因酶为探针研究海洋生物基因库的结构始于本世纪 70 年代。海洋生物各大类群中,贝类基因库的研究较为出色。到目前为止,研究过和种类已近百种,分析了大量的等位基因位点,发现了大量的等位基因和基因型,其数量远远超出人们的预料。作者通过分析中国近海重要的经济双壳类软体动物带

* 国家自然科学基金资助项目,编号为 39170611。

收稿日期 1994 年 9 月 9 日

孔扇贝 *Chlamys farreri* 的 23 个等位基因位点发现,所研究的 5 个自然分布的群体的基因库差异基本上是群体间的水平。相比之下,海洋岛群体与其他群体间的基因流较弱,其基因库相对较为独立。在所分析的位点中除 Mdh-1 外,其余皆为多态位点 ($P \leq 0.99$),每个位点至少有两个等位基因,在某些群体某些位点的等位基因的数目可达 7~8 个,但观察到的相应的基因型则没有理论上可以达到的数量。此外,还发现栉孔扇贝各群体在所分析的位点大都处于不平衡状态,这说明其基因库仍然处于进化之中。

海洋生物基因库的利用大体可分为两种形式:(1)当前基因库不加修饰的利用,即直接利用野生原型,目前世界各国海洋生物基因库的利用大多为这种形式;(2)基因库经过修饰后再利用,其修饰方式主要包括基因工程、染色体工程、细胞工程、杂交及选择育种等。这其中的一些技术已应用于经济海洋生物基因库的改造。

近几年来有不少关于自然群体基因库等位基因杂合度(Heterozygosity)与生长相关的报道^[10]。Garton^[8]证明 *Mulinia lateralis* 杂合子以相对较低水平的代谢消耗来维持相对较高的代谢效率,在缺氧胁迫条件下,杂合子可以降低基础代谢的能量消耗以保证正常的生理状态。由于在能量代谢方面的高效率,使杂合子在生长、抗逆性及潜在繁殖能力等方面都较纯合子具有优势。作者在研究中国近海栉孔扇贝杂合度与生长的关系时也发现在一定条件下这种正相关性是存在的。

杂合度与生长的相关性说明,我们可以杂合度作为群体生长势(生产性能)的遗传标记。通过适当提高具较高杂合度的个体在群体中的比例或适当提高个体杂合度的办法来提高具较大经济价值但其生长较慢的种类,如皱纹盘鲍等的养殖或增殖群体的生产性能。根据 Singh 等^[11]的估计,如果把美洲牡蛎杂合度提高到 Hardy-Weinberg 平衡值 ($D = 0$) 时,其体重可望增加近 4 倍。

然而,否定的结果也有报道。在某些种类,如 *Mercenaria mercenaria* 则不具这种相关性^[3],在同一种类也有不同结果的报道^[4,7]。这种结论相悖的主要原因之一是取样群体的繁殖结构不同,如果繁殖交配是随机的,其结论就可能是肯定的,如果是非随机的,则可能是否定的。由此可见,杂合度与生长的正相关性仅限于随机交配群体。然而,即使是在随机交配群体也并不是杂合度越高其生长越快。在栉孔扇贝杂合度超过 0.3 后,其与生长的关系就处于不定向状态,谓之对生长的“空出超”。

在一定条件下可以用杂合度作为基因库与生长关系的遗传标记,以对基因资源进行更有效的开发,但某

些单个位点或等位基因的研究可能也有实际应用意义。Zouros 等^[13]提出某些目前所研究的位点可能与其他对数量性状有影响的位点连锁。如果这些连锁的基因位于同一条染色体上,其重组的频率就会降低,因而就具有较强的标记作用。连锁基因与生长的关系很大程度上是一种间接的关系,标记基因的连锁基因可能与调控能量代谢有关。因此,对调控葡萄糖和蛋白质代谢的位点系统的研究可能更有直接意义。

目前对单个位点及等位基因与数量性状相关性研究得最多的位点是 Lap,这是一个与蛋白质降解的较后阶段有关的位点。Lap^{98/98},Lap^{98/98},Lap^{98/98}基因型的贻贝 *Mytilus edulis* 氨排泄率为 8.79 ($\mu\text{m/g} \cdot \text{h}$)^[9]。而在具等位基因 Lap⁹⁴ 的个体为 28.07 ($\mu\text{m/g} \cdot \text{h}$),由此可见,具 Lap⁹⁴ 等位基因的个体细胞蛋白质储备的周转率快于没有该等位基因的个体,因而其细胞能量储备的损失率增加,这不但影响大量需要能量的生理学过程,也会影响其成活率。因此,可以用 Lap⁹⁴ 的存在与否作为遗传标记来指导贻贝基因库的研究和开发。

为了海洋经济动植物基因库的开发,应进一步加强基因库等位基因杂合度与生长等定量性状关系的研究,同时也应加强与生长有关的等位基因(位点)系统的寻找及行为规律的研究,以作为稳定的遗传标记。其寻找方向应选择调控葡萄糖及蛋白质代谢的位点或等位基因方面。鉴于杂合度与生长的关系已初步有了结论,故应加强其应用研究。在目前所研究的近百种贝类中,杂合子缺失现象是非常普遍的, D 值平均为 -0.106 ± 0.099 ^[2],就是说提高杂合度进而提高群体生产性能的空间还是较大的。提高杂合度的方法除杂交外,三倍体也可以提高个体杂合度。如在美洲牡蛎的第一极体三倍体杂合度增加了 12%,而其生长速度也相应地提高了 12%^[12],这即为杂合度与生长的正相关性提供了进一步的证据,同时也为我们如何提高养殖群体杂合度指出了方向。目前三倍体技术在海洋经济贝类已趋成熟,在某些种类已应用于生产,为海洋经济动物增养殖的进一步发展带来了一股新的推动力。

由于分子生物学的发展及应用于种质基因库的研究,使海洋生物基因资源的研究和开发上了一个新的台阶,并使基因库的研究向更深层次的发展成为可能。但由于这方面的研究起步晚及海洋生物本身的特点等原因,基因库的研究和可控制的系统开发利用尚处于初期阶段。虽然在蛋白质(酶)水平的研究已积累了不少有价值的资料,但在 DNA 水平的研究还较少,而对某些经济种定量性状在 DNA 水平的能够稳定遗传的并容易识别和操作的标记系统的研究尚为空白。因此,这是今后一

段时间内海洋生物遗传学家们应努力攻克的课题。

参考文献

- [1] 莽克强,1991.生物工程未来十年.未来十年的生物科学.上海科学技术出版社,51~59.
- [2] 张国范、张福绥,1993.海洋科学 5:17~21.
- [3] 张国范、张福绥,1993.海洋科学 6:18~21.
- [4] Ademkewica, L. *et al.*, 1984. *Malacologia* 25: 523-533.
- [5] Beaumont, A. R. *et al.*, 1983. *Marine Biology Letter* 4: 151-161.

- [6] Brown, B. L. *et al.*, 1991. *Marine Biology* 110: 343-352.
- [7] Edwards, C. A. *et al.*, 1987. *Marine Biology* 94: 547-565.
- [8] Gaffney, P. M. *et al.*, 1984. *Aquaculture* 42: 289-292.
- [9] Garton, D. W., 1984. *Genetics* 108: 445-455.
- [10] Koehn, R. K., 1991. *Aquaculture* 94: 125-145.
- [11] Koehn, R. K. *et al.*, 1984. *Marine Biology* 82: 1-7.
- [12] Singh, S. M. *et al.*, 1981. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 23: 119-130.
- [13] Stanley, J. G. *et al.*, 1984. *Aquaculture* 33: 147-155.
- [14] Zouros, E. *et al.*, 1980. *Evolution* 34: 356-367.