

黄、东海精致真刺水蚤种群遗传结构研究

谭树华, 曹文清, 林元烧, 李少菁, 郭东晖

(厦门大学 海洋学系, 亚热带海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用等位酶技术分析了黄海中部、东海陆架区3个站位的精致真刺水蚤(*Euchaeta concinna*)的苹果酸脱氢酶(MDH)、苹果酸酶(ME)和山梨醇脱氢酶(SDH)3个酶4个多态位点。生化遗传结构和遗传分化分析表明,3个站位样品的MDH基因型差异明显,不同站位间精致真刺水蚤平均遗传距离(D)为0.0768,平均遗传相似性(I)为0.9259。黄海南部(E3站位)和东海陆架区(E7站位)的精致真刺水蚤之间的 D 为0.0791;黄海中部(E2站位)与南部(E3站位)之间的 D 为0.0671。由此推论栖息于黄海和东海的精致真刺水蚤种群之间存在一定程度的遗传分化。

关键词: 精致真刺水蚤(*Euchaeta concinna*); 等位酶; 地理种群; 黄海; 东海

中图分类号: Q311; Q178.53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2004)04-0029-05

精致真刺水蚤(*Euchaeta concinna*)是高温高盐的大洋暖水性广布种,具有较宽的适温适盐范围,广泛分布于东海黑潮暖流区、台湾海峡和南海外海的广大水域,数量较多,太平洋和印度洋热带海区皆有分布,并常渗入外海水与沿岸水的交汇区^[1],亦为南黄海、东海的浮游桡足类常见种。迄今,仅有其分布和形态研究资料,对其生物学和种群遗传的研究未见报道。作者以等位酶技术对其群体遗传结构及其遗传分化进行研究,为海洋浮游动物的种群分化机制和分布模式提供基础资料,也为东黄海生态系统动力学研究提供生化水平的遗传数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和处理

精致真刺水蚤是“东方红2号”科学考察船于2000年10~11月的秋季航次中采集,在黄、东海水域用浮游生物大型网水平拖取获得。采集站位位置及CTD资料如图1和表1所示。海上现场分离种类、挑选健康成熟个体,重蒸水洗后,置于液氮中保存运回实验室。而后转移至-80℃环境中保存,备用(2~3个月时间内分析完)。单只置于15 μL提取研磨液[Tris-HCl (0.05 mol/L, pH 8.0)]中研磨,将匀浆液转移至4℃备用。

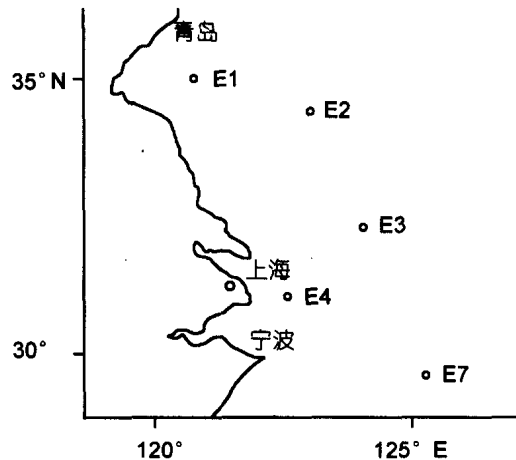


图1 黄、东海采样站位

Fig. 1 Sampling location in the Yellow Sea and East China Sea

收稿日期: 2002-09-18; 收回日期: 2003-01-10

基金项目: 国家自然科学基金基础研究重大课题资助项目(G1999043708)

作者简介: 谭树华(1972-), 男, 湖南湘潭人, 博士生, 研究方向: 水产动物遗传育种与生物技术, E-mail: ttna@163.net; 林元烧, 通信联系人, E-mail: yslin@xmu.edu.cn

表1 采集站位及CTD参数

Tab. 1 Collected sites and CTD parameters

站位	经度	纬度	水深 (m)	表层水温 (°C)	表层盐度	底层水温 (°C)	底层盐度
E1	121°01'00"	125° 04'87"	37.8	20.36	31.77	20.38	31.77
E2	123° 06'00"	34° 30'00"	71.8	20.12	31.51	9.53	32.85
E3	124° 00'00"	32° 30'00"	41.2	21.61	2.45	21.64	32.43
E4	122° 30'00"	31° 00'00"	22.3	21.83	27.98	22.82	29.09
E7	125° 04'87"	29° 24'84"	87.0	23.20	33.46	19.65	34.51

1.2 电泳

作者采用垂直板不连续聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳技术, 浓缩胶和分离胶的浓度分别为4%和7%, 电极缓冲液为Tris-Gly系统, 对不同海区的精致真刺水蚤的苹果酸脱氢酶(MDH)(EC1.1.1.37)、苹果酸酶(ME)(EC1.1.1.40)、山梨醇脱氢酶(SDH)(EC1.1.1.14)进行电泳, 其中ME存在2个位点Me-1和Me-2, 共4个位点Mdh, Me-1, Me-2和Sdh. 对该4位点进行遗传分析. 染色液按吴鹤龄^[2]的配方进行配制。

1.3 数据的分析与处理

多态座位的杂合度 (H): 期望杂合度 (H_e), 实际杂合度 (H_o)

$$H_e = \sum (1 - \sum q_{ij}^2) / n,$$

H_o = 观察到的杂合个体数 / 观察的个体总数,

n : 所测位点总数, q_{ij} : 第 i 位点上 j 等位基因纯合基因型的频率。

Hardy-Weinberg 遗传偏离指数 (d):

$$d = (H_o - H_e) / H_e,$$

群体间遗传变异的评价: 采用 Nei 氏^[3]的标准。

遗传相似度 (I):

$$I = \frac{\sum x_i y_i}{\sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2}}$$

遗传距离 (D):

$$D = -\ln I$$

x_i 为 x 种群第 i 个等位基因的频率, y_i 为 Y 种群第 i 个等位基因的频率。

2 结果与分析

2.1 等位酶表达的酶谱分析

2.1.1 苹果酸酶

共检测到2个位点: 近阳极 Me-1 和近阴极的 Me-2, Me-1 有2个等位基因编码, 有 aa, ab 两种基因型, 未发现 bb 型个体。Me-2 也有2等位基因编码, aa, ab, bb 型均可见 (图2a)。

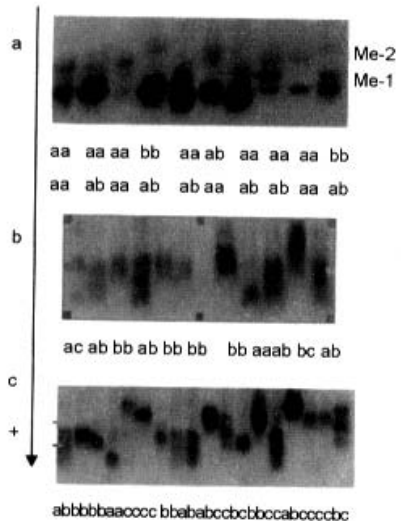


图2 同工酶电泳图谱
Fig.2 Diagram of isozyme electrophoresis
a. Me; b. Sdh; c. Mdh

2.1.2 山梨醇脱氢酶

有一个位点, 由3个等位基因编码, 共检测到5种基因型, 即纯合体 aa, bb 和杂合体 ab, bc 和 ac, 没有纯合体 cc 类型 (图 2b)。该酶在 E2 站位的动物中以 aa, bb 基因型为主, 分别占 25%, 50%, 而 E7 站位的以杂合体 ab, bc 和 ac 居多, aa 和 bb 型分别占 21.00% 和 26.23%。

2.1.3 苹果酸脱氢酶

苹果酸脱氢酶: 检测到一个位点, 有3个基因座位编码, 在 E2, E7 站位获得的动物共有6种基因型: 纯合体 aa, bb, cc 和3种杂合体 ab, bc 和 ac (图 2c)。但 E3 站位的仅检测到 aa, ab, bb, bc 4种基因型, 以 ab 型占总数的 63.64%。E2, E7 的 ab 基因型分别占总数的 19.05% 和 20.00%。

2.2 生化遗传分析

为对各种群进行比较, 将各站位精致真刺水蚤计算出等位基因频率 (表 2), 进行遗传分析 (其中 Me-2 以表达酶带的个体计算), 并对各酶位点进行 χ^2 拟合度检验 (表 2)。以常见等位基因频率小于或等于 0.95 的标准, Sdh, Mdh, Me-1 和 Me-2 座位均为多态位点。

各站位酶位点基因型频率分布检测除 E3 站位 Me-2 位点 $P < 0.01$ 外, 均与 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律相符 ($P > 0.05$)。基因型频率与预期值无显著差异 (表 3)。

各站位 D 及 I 计算结果如表 4、表 5 和表 6 所示。

图 3 系各站位精致真刺水蚤遗传相似性的聚类图。

表 2 基因座位的等位基因频率

Tab.2 The allele frequencies of all polymorphic loci

基因座位	等位基因	等位基因频率		
		E2	E3	E7
Mdh	n	21	22	28
	a	0.142 9	0.340 9	0.232 1
	b	0.523 8	0.636 4	0.517 9
	c	0.333 3	0.022 7	0.250 0
Me-1	n	32	23	20
	a	0.843 8	0.913 0	0.775 0
	b	0.156 2	0.087 0	0.225 0
	c	-	-	-
Me-2	n	30	17	17
	a	0.666 7	0.470 6	0.611 1
	b	0.333 3	0.529 4	0.388 9
	c	-	-	-
Sdh	n	16	-	21
	a	0.656 3	-	0.421 1
	b	0.312 5	-	0.421 1
	c	0.031 3	-	0.157 8

注: n 为样本数; - 表示缺少样品。

表 3 基因座位的 χ^2 拟合度检验 ($P < 0.05$ 时差异显著)

Tab.3 Contingency χ^2 analysis with significance level (P) at polymorphic loci on *Euchaeta concinna*

基因座位	χ^2			P		
	E2	E3	E7	E2	E3	E7
Mdh	0.719 0	0.144 0	0.189 3	0.50~0.95	0.50~0.95	0.50~0.95
Me-1	3.420 5	3.646 6	0.113 2	0.05~0.10	0.05~0.10	0.50~0.75
Sdh	2.621 4	-	0.183 2	0.10~0.50	-	0.50~0.95
Me-2	0.722 4	28.908 2	0.283 7	0.25~0.50	<0.01	0.50~0.75

3 讨论

等位酶作为一种生化水平的遗传标记, 自 20 世纪 70 年代以来, 即已广泛应用于鱼、虾、贝类的遗传结构研究^[4, 5], 该技术应用于浮游动物的种群遗传结构和遗传分化研究稍晚, Burton 等^[6, 7]以同工酶

电泳技术分析了加州沿岸中部猛水蚤属 (*Tigriopus californicus*) 的种群遗传结构和遗传分化。随后 Bucklin 等^[8]以 4 个酶 6 个位点对美国大西洋沿岸夏唇角水蚤 (*Labidocera aestiva*) 的遗传分化进行了研究。Kann 等同时以 4 个酶 5 个位点多态性以及采用

mtDNA 的 CYB 和 16S rRNA 基因的 RFLP 技术分析了缅甸湾桡足类 (*Calanus finmarahicus*) 的种群遗传结构, 等位酶分析结果表明缅甸湾这种桡足类遗传相似性 $I > 0.97$, 与 mtDNA 结果基本一致^[9]。已有的研究结果均表明等位酶对小个体、形态标记少的浮游动物种群遗传结构和遗传分化研究是一个合适的遗传标记, 在浮游动物是高度变异的^[18]。因此该研究采用等位酶技术对精致真刺水蚤进行种群遗传结构与分化的研究。

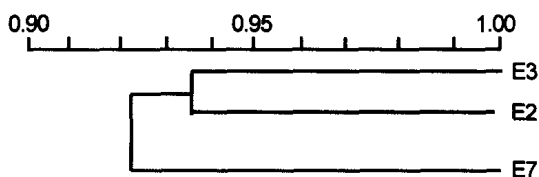


图3 精致真刺水蚤遗传相似性不加权对儿平均聚类UPGMA

Fig. 3 The dendrograms of cluster analysis of genetic identity of *Euchaeta concinna*

表4 基因座位的实际杂合度、期望杂合度、遗传偏离指数及遗传距离

Tab.4 H_o, H_e, d and D values at polymorphic loci of *Euchaeta concinna*

基因座位	H_o			H_e			D			平均 d 值		
	E2	E3	E7	E2	E3	E7	E2	E3	E7	E2	E3	E7
Mdh	0.285 7	0.636 4	0.600 0	0.544 1	0.478 3	0.615 4	-0.474 9	0.330 5	-0.025 0			
Me-1	0.312 5	0.173 9	0.500 0	0.263 6	0.158 9	0.348 7	0.185 5	-0.094 4	0.433 9			
Me-2	0.066 7	0.176 5	0.222 2	0.555 7	0.498 3	0.475 3	-0.879 0	-0.645 8	-0.532 5			
Sdh	0.187 5		0.523 8	0.470 6		0.620 4	-0.601 6		0.155 7			
										-0.442 7	-0.073 6	-0.279 3

表5 各站位的遗传距离

Tab.5 Genetic distance of three stations

站点	D		
	E2	E3	E7
E2		0.067 1	0.079 1
E3			0.084 3
E7			

表6 各站位的遗传相似度

Tab.6 Genetic identity of three stations

站点	I		
	E2	E3	E7
E2		0.935 1	0.923 4
E3			0.919 2
E7			

该调查海区各站点精致真刺水蚤种群遗传结构研究表明, 这种桡足类的遗传杂合度较高 (表3)。黄海中部的E2 站点、南部的E3 站点以及东海陆架区的E7 站位的 H_o 分别为 0.213 1, 0.328 9 和 0.461 5, 与部分浮游动物杂合度较高的结果相一致^[8,10]。精致

真刺水蚤为大洋广布种, 故E7 站点应具有更大的种群数量和更广的分布区域, 因而表现出更高的杂合性。E2 和E3 站点精致真刺水蚤可能为受黑潮暖流的分支即黄海暖流携带侵入黄海, 种群数量相对较少, 分布范围较窄, 因而杂合度较低。在该次采样中, E2, E3 位于南黄海区域, E3 站点以幼体居多, 样品中可见到各期幼体; 而E2, E7 站点则为成体。对3 个站点进行遗传距离分析 (表5) 表明, D 为 0.067 1~0.079 1, 其中E3 和E7 站点间为 0.079 1, 较E2 和E3 间的 0.067 1 大。同时, 从各站点间基因型分布来看, Mdh 位点也已存在分化现象, E3 站点仅检测到aa, ab, bb, bc 4 种基因型, ab 型占总数的 63.64%。E2, E7 的 ab 基因型分别占总数的 19.05% 和 20.00%。E3 站点 c 等位基因频率仅为 0.022 7, 而E2, E7 站点分别为 0.333 3 和 0.250 0。许多研究表明, 海洋环境中存在浮游动物隔离分化的机制: 海流、地理距离、海底地貌、生活史差异、遗传漂变、温盐急剧变化都将是导致基因流阻断、物种隔离、遗传分化的因素^[11,12]。南黄海和东海取样区均为黑潮暖流分布区, 水系较为复杂, 可能存在发生遗传分化的机制。采集样品时, E1 和E2 站点温盐差异小, 但E2 站点水深(71.8 m)比E1 站点(37.8 m)深, E1 未采

集到样品,说明这2个站位水系可能比较复杂。E2与E3遗传相似度较大,E7与E3遗传相似度较低,而E2和E3间的距离小于E3和E7(UPGMA对3个群体的聚类分析见图3),这是否跟距离的隔离作用有关?作者对黄、东海和台湾海峡中华哲水蚤的种群遗传分化研究表明,随着纬度差异的扩大,中华哲水蚤也已经有一定的分化存在^[13]。该研究中所取酶位点数目偏少,可能会对结果有一定影响,同时作为一个大洋广布种,需扩大分析海区和分析该种的季节变化模式,以及分析更多的酶位点,这些将在作者今后的工作中补充。

参考文献:

- [1] 郑重,李少菁,连光山. 海洋浮游桡足类生物学[M]. 厦门:厦门大学出版社,1992.151.
- [2] 吴鹤龄,林锦湖. 遗传学实验方法及技术[M]. 北京:高等教育出版社,1983.260-275.
- [3] Nei M. Genetic distance between populations[J]. *Amer Natr*, 1972, 106: 283-292.
- [4] Benzie J A H. Population genetic structure in penaeid[J]. *Prawns Aquaculture Research*, 2000, 31: 95-119.
- [5] 吴力钊,王祖熊. 长江中游草鱼天然种群的生化遗传结构及变异[J]. *遗传学报*, 1992, 19(3): 221-227.
- [6] Burton R S, Feldman M N, Curtis J W. Population genetics of *Tigriopus californicus* (Copepoda: Harpacticoida) I: population structure along the Central California coast[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1979, 1: 29-39.
- [7] Burton R S, Feldman M N. Population genetics of *Tigriopus californicus* (Copepoda:Harpacticoida) II: Differentiation among neighbouring populations[J]. *Evolution*, 1981, 35: 1192-1205.
- [8] Bucklin A, Marcus N H. Genetic differentiation of population of the plankton copepod *Labidocera aestiva* [J]. *Mar Biol*, 1985, 84: 219-224.
- [9] Kann L M, Wishner K. Genetic population structure of the copepod *Calanus finmarchicus* in the Gulf of Maine: allozyme and amplified mitochondrial DNA variation[J]. *Mar Biol*, 1996, 125: 65-75.
- [10] 吴仲庆. 水产生物遗传育种学(第三版)[M]. 厦门:厦门大学出版社,2000.107-108.
- [11] Wolf H D, Verhagen R, Backdjaou T. Large scale population structure and gene flow in the planktonic developing periwinkle, *Littorina striata*, in Macaronesia (Mollusca: Gastropoda) [J]. *J Exp Mar Biol and Ecol*, 2000, 246: 69-83.
- [12] Zane L, Ostellari L, Maccatrozzo L, et al. Genetic differentiation in a pelagic crustacean (*Meganyctiphanes norvegica*: Euphausiacea) from the North East Atlantic and the Mediterranean sea [J]. *Mar Biol*, 2000, 136: 191-199.
- [13] 谭树华,林元烧,曹文清,等. 东、黄海中华哲水蚤(*Calanus sinicus*)种群遗传的初步分析 I: 等位酶分析 [J]. *厦门大学报(自然科学版)*, 2003, 42(1): 87-91.

Population genetic structure of *Euchaeta concinna* (Copepoda) in the Yellow Sea and the East China Sea

TAN Shu-hua, CAO Wen-qing, LIN Yuan-shao, Li Shao-jing, Guo Dong-hui
(Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Received: Sep., 18, 2002

Key words: *Euchaeta concinna*; allozyme; geographic population; the Yellow Sea; the East China Sea

Abstract: Using vertical acrylamide gel electrophoresis, 4 polymorphic loci encoded by 3 allozymes of *Euchaeta concinna* collected from the Yellow Sea and the East China Sea were analyzed. The genetic structure and genetic differentiation revealed that the genotypes and phenotypes of MDH were significantly different and that average genetic distance (D) and genetic identity (I) was 0.076 8, 0.925 9 among stations E2, E3 and E7 respectively. The extent of differentiation between E3 and E7 is greater than that of E2 and E7, suggesting hereditary differentiation between *E. concinna* populations in the Yellow and East China seas.

(本文编辑: 张培新)