

## 官井洋野生与养殖大黄鱼同工酶的研究\*

王 军 全成干 苏永全 丁少雄 张 纹

(厦门大学海洋学系 亚热带海洋研究所 361005)

**摘要** 应用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法对取自福建宁德官井洋海区养殖群体和野生种群各 20 尾大黄鱼的 9 种同工酶 15 个基因座位进行检测分析。结果表明,大黄鱼眼球中乳酸脱氢酶 (LDH) 酶谱表现为 LDH 的经典模式即有 5 种谱型的 LDH。在所检测出的 15 个基因座位中,野生种群样品的编码苹果酸脱氢酶 (sMDH)、苹果酸酶 (ME) 和琥珀酸脱氢酶 (IDDH1) 的 3 个基因座位具有多态性;养殖群体中仅发现 1 个基因座位具有多态性 (IDDH1)。所检测的野生种群比养殖群体的遗传变异水平高。但从总体上来说,官井洋大黄鱼遗传多样性相对较低,表明该种群已出现了种质退化现象。因此,进行科学的遗传管理对保护和恢复大黄鱼资源是相当必要的。

**关键词** 大黄鱼,同工酶,遗传多样性

大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea* Richardson) 是福建最具地方特色的海洋经济鱼类。大黄鱼肌肉蛋白的氨基酸含量丰富<sup>[1]</sup>, 肉味鲜美, 营养价值高, 不论鲜销, 制罐还是加工成“黄鱼鲞”都极受群众欢迎。但由于不科学的捕捞生产, 野生大黄鱼资源遭到极为严重的破坏, 据陈卫忠 1994 年报道, 70 年代中后期, 福建大黄鱼的年产量已从仅次于带鱼和中上层鱼类下降到无法形成渔业。为了保护和恢复大黄鱼资源, 福建省有关部门于 80 年代初开始了大黄鱼人工繁殖、育苗和放流的研究<sup>[1]</sup>。90 年代以来, 大黄鱼的网箱养殖发展迅速, 近 10 a 的大规模养殖实践发现, 大黄鱼人工养殖群体普遍出现了生长缓慢、成鱼个体小、性成熟提早等种质退化现象。有关资料已表明, 一个物种的种质退化与该物种遗传多样性的丧失有直接的关系。目前, 有关大黄鱼的种质研究, 除本课题组曾就厦门火烧屿大黄鱼网箱养殖群体遗传多样性的同工酶、染色体核型等研究作了报道外<sup>[2-4]</sup>, 尚未见其他有关公开报道。本文在前人已有的研究基础上, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (Polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 在同工酶水平上对官井洋大黄鱼野生种群和养殖群体进行遗传多样性检测, 期望进一步揭示官井洋大黄鱼的遗传背景, 从而为解释养殖大黄鱼经济性性状退化现象和保护大黄鱼种质资源提供科学依据。

## 1 材料与方 法

## 1.1 材 料

本文所用养殖鱼样本是 1999 年 5 月 29 日取自

宁德市三都镇渔塘村养殖网箱 (20 尾), 健康状况良好; 平均体长为 19.6 cm (15.2 ~ 24.0 cm), 平均体重为 138.3 g (60.3 ~ 260.5 g)。野生鱼样本是 1999 年 5 月 18 ~ 26 日捕自宁德市三都湾东冲口外的官井洋海区 (20 尾), 暂养至 5 月 29 日; 平均体长为 19.4 cm (10.8 ~ 27.2 cm), 平均体重为 115.7 g (52.8 ~ 174.3 g)。取活鲜样本的所需组织用 0.6 mol/L NaCl 洗涤干净后, 于液氮中存放, 带回实验室超低温 (-86 °C) 保存备用。

## 1.2 方 法

样品制备、电泳及染色是以 Show 1970 年及周宗汉 1983 年的方法并加以改进。

数据处理采用 Nei 1978 年的方法, 公式如下:

(1) 多态位点比例 ( $P$ ) = 多态位点数 / 所测位点总数;

(2) 群体的平均杂合度的观测值 ( $H'_o$ ) =  $\sum H_i / n$ , 其中  $H_i$  = 杂合子观测值 / 观察个体的总数;

(3) 群体的平均杂合度的预期值 ( $H_e$ ) =  $\sum (1 - \sum x_i^2) / n$ ;

(4) 位点有效等位基因数 ( $N_e$ ) = 每位点等位基因观测数的和 /  $n$ ;

(5) Hardy Weinberg 遗传偏离指数 ( $D$ ) =  $(H'_o - H_e) / H_e$ ;

\* 国家教委博士点基金资助项目 97038409 号。

收稿日期: 2000-06-08; 修回日期: 2001-02-18

$$(6) \text{群体间的遗传相似系数}(I) = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2}}$$

$$(7) \text{遗传距离}(d) = -\ln I;$$

其中  $x_i$  及  $y_i$  分别为  $x$  及  $y$  种群某一等位基因  $i$  的频率,  $n$  为所测位点的总数;

$$(8) t \text{ 检验: } t = \sqrt{\frac{(n-2)I}{1-I^2}}$$

据熊全沫 1985 年报道,当  $t$  显著不为 0 时,则两群体有密切的亲缘关系。

## 2 结果

表 1 所分析的同工酶及缓冲系统

Tab.1 The isoenzymes analyzed and buffer system used

同工酶	国际编号	所用组织	缓冲系统
乳酸脱氢酶(LDH)	EC1.1.1.27	眼球	Tris-Gly
苹果酸脱氢酶(MDH)	EC1.1.1.37	肌肉	Tris-Gly
醇脱氢酶(ADH)	EC1.1.1.1	肝脏	Tris-Gly
苹果酸酶(ME)	EC1.1.1.40	肌肉	Tris-Cis
超氧化物歧化酶(SOD)	EC1.15.1.1	肝脏	Tris-Gly
谷氨酸脱氢酶(GDH)	EC1.4.1.2	肝脏	Tris-Gly
葡萄糖脱氢酶(GCDH)	EC1.1.1.118	肝脏	Tris-Gly
山梨醇脱氢酶(IDDH)	EC1.1.1.14	肝脏	Tris-Gly
琥珀酸脱氢酶(SUDH)	EC1.3.99.1	肝脏	Tris-Gly

表 2 大黄鱼野生种群和养殖群体的基因频率

Tab.2 The gene frequency of wild and reared *Pseudosciaena crocea* stock

基因座位		等位基因		基因频率	
野生种群	养殖群体	野生种群	养殖群体	野生种群	养殖群体
LDH-A	LDH-A	100	100	1.0	1.0
LDH-B	LDH-B	100	100	1.0	1.0
sMDH*	sMDH	61	/	0.025	/
		100	100	0.975	1.0
mMDH	mMDH	100	100	1.0	1.0
ADH	ADH	100	100	1.0	1.0
ME*	ME	54.5	/	0.025	/
		100	100	0.975	1.0
SOD	SOD	100	100	1.0	1.0
GDH	GDH	100	100	1.0	1.0
SUDH-1	SUDH-1	100	100	1.0	1.0
SUDH-2	SUDH-2	100	100	1.0	1.0
GcDH-1	GcDH-1	100	100	1.0	1.0
GcDH-2	GcDH-2	100	100	1.0	1.0
GcDH-3	GcDH-3	100	100	1.0	1.0
IDDH-1*	IDDH-1*	100	100	0.925	0.9
		133	133	0.075	0.1
IDDH-2	IDDH-2	100	100	1.0	1.0

\* 发现多态性的基因座位

对分属养殖群体和野生种群的各 20 尾大黄鱼的 9 种同工酶进行分析,共检测了 15 个基因座位(表 1)。结果表明:在所检测出的 15 个基因座位中,野生种群样本有 3 个基因座位 sMDH, ME 和 IDDH-1 具有多态性;养殖群体中仅发现 1 个基因座位 IDDH-1 具有多态性(表 2)。大黄鱼在 15 个基因座位上的遗传变异情况见表 3。

在所检测的 9 种同工酶中,与大多数鱼类相比较,大黄鱼 LDH 表现出一定的特殊性,即在大黄鱼眼球中含有 5 个谱型的 LDH,不存在亚基结合受限制的现象,表现出 LDH 的经典模式;也检测不到常出现在鱼类眼球中的 LDH-C 基因,这两点可能就是大黄鱼种水平上的特殊性。

## 3 讨论

有关鱼类 LDH 同工酶的研究已经比较深入,硬骨鱼的 LDH 受 A, B 和 C 3 个基因位点控制,其中 C 基因控制的 LDH 表型,在大多数硬骨鱼的眼组织内均有表达。而 Markert C.L.1975 报道,LDH 同工酶 A 和 B 亚基的结合受到限制的现象在鱼类中是较为普遍的现象,即 A, B 两亚基不能随机结合产生 5 种四聚体同工酶,特别是在海水鱼类中。但据吴力钊 1987 年、朱蓝菲 1983 年报道,草鱼、鲤鱼等少数淡水鱼不存在这种现象。本文所检测到的结果显然有一定的特殊性:不论是野生的还是养殖的大黄鱼眼组织中都不具有 C 基因位点,但是 A, B 两亚基的结合不受限制,产生 5 种类型的 LDH,表现出 LDH 表达的经典模型。这两点与同属一科的 状黄姑鱼<sup>①</sup>的情况截然不同,而这种特异性可能成为生化分类的良好指标。

现场调研得知,养殖群体大黄鱼是 1996 年捕自三都湾东冲口外海区官井洋的野生大黄鱼的子一代,而本文所用的野生种群是 1998 年春季海捕大黄鱼,遗传相似度和  $t$  检验可看出,本文所研究的野生种群与养殖大黄鱼亲缘关系相当密切。但是,野生种群比养殖群体存在着更丰富的遗传变

① 本实验室研究 状黄姑鱼眼组织的 LDH 时发现存在 C 基因的存在,同时 A, B 亚基结合受限制(待刊)。

异; 与野生种群相比较, 养殖群体在s MDH 和 ME 基因座位上各丧失了一个稀有等位基因, 由此可见人工繁育对鱼类群体的遗传多样性存在着一定程度的影响。

**表 3 大黄鱼在 15 个基因座位上的遗传变异情况**

**Tab.3 Genetic variability on 15 loci score in both stocks of**

<i>P. crocea</i>		
群体类型	养殖群体	野生群体
$P(\%)$	6.700	20.000
$H_0$	0.013	0.017
$H_e$	0.012	0.016
$D$	0.083	0.060
$N_e$	1.067	1.200
$I$	0.999 933	
$d$	0.000 073	
$t$ 检验	311.45	

据王可玲 1994 年报道, 与中国近海带鱼(群体的平均杂合度为 0.042 ~ 0.103) 相比较, 本文所测得的官井洋大黄鱼平均杂合度(0.013, 0.017) 相对较低, 也低于一般脊椎动物的平均杂合度(0.03 ~ 0.08)。可见, 官井洋大黄鱼种群已处于遗传多样性水平较低, 遗传背景较单一的状态, 这与目前养殖大黄鱼的种质和经济性状退化有直接关系。

现场调研及本文的结果表明: 导致闽-粤东族大黄鱼遗传背景较单一的原因可能有: (1) 野生大黄鱼被过度捕捞而产生的野生种群资源小型化本身就是一个较大的“瓶颈”, 它直接导致野生种群遗传多样性降低。(2) 虽然本文研究的养殖群体的亲本是 1996 年捕的野生大黄鱼, 但由于近十几年来人工放流的大黄鱼苗多为 1985, 1986 年捕获的 30 多尾亲鱼及其子一

代的后代, 这些苗的群体遗传多样性水平很可能低于野生种群。据刘家富 1994 年报道, 人工放流鱼具有海区天然幼鱼一样的分布特点, 可见放流大黄鱼与野生大黄鱼混群、杂交的可能性是很大的, 而这种人工放流苗与野生种苗的杂交所造成的基因渗透又可进一步导致野生种群大黄鱼遗传多样性下降, 同时也导致网养大黄鱼遗传背景单一。这与 Kjetil Hindar 等人 1991 年报道, 因人工放流和逃逸而大量进入自然水域的 *Salmonid* 已经污染了野生群体基因库的情况有一定的相似性。(3) 该养殖群体的亲本雌、雄各 25 尾, 明显小于李思发 1996 年提出“在一个封闭的群体中, 每一世代的雌、雄亲本至少都在 40 ~ 50 尾以上, 才可以避免近交系数明显降低”的要求。因此, 较小的有效亲本所产生的“瓶颈”效应、遗传漂变和近交衰退进一步导致大黄鱼养殖群体遗传多样性降低。

遗传多样性匮乏对大黄鱼人工养殖业的发展及野生资源的恢复是不利的。但是, 如果能够加强遗传管理, 切实将维持育苗亲本的适当大小、定期更换亲鱼、进行必要的提纯、复壮工作, 设立大黄鱼原种场和保护区等科学的遗传管理措施应用于大黄鱼的人工繁育和放流中, 保护乃至恢复大黄鱼遗传资源是完全可能的。

**参考文献**

- 1 苏跃中, 郑智莺, 游 岚等。现代渔业信息, 1997, 12 (5): 21 ~ 27
- 2 全成干, 王 军, 丁少雄等。台湾海峡, 2000, 19(2): 197 ~ 200
- 3 全成干, 王 军, 丁少雄等。厦门大学学报, 1999, 38 (4): 584 ~ 588
- 4 全成干, 王 军, 丁少雄等。厦门大学学报, 2000, 39 (1): 107 ~ 110

**ISOENZYMES OF WILD AND REARED *Pseudosciaena crocea***

WANG Jun    QUAN Cheng-gan    SU Yong-quan    DING Shao-xiong    ZHANG Wen

(Dept. of Oceanogr. & Instit. of Subtropical Oceanogr., Xiamen University, 361005)

Received: Jun. 8, 2000

Key Words: *Pseudosciaena crocea*, Isoenzyme, Genetic diversity

**Abstract**

Genetic diversity of 9 isoenzymes located in both reared and wild large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* (Richardson) collected from Guanjingyang in Ningde, Fujian on May 29, 1999 was investigated by polyacrylamid gel electrophoresis (PAGE) in this paper. The genetic diversity of wild population was relatively low, with 20% of the polymorphism and 0.017 of the mean heterozygosity, while three polymorphic loci were detected. But the genetic diversity of reared stock was even lower than that of the wild one with just a polymorphic locus found. These results showed the good genetic characters of this fish has greatly been lost in both stocks distributed in the coastal waters of Fujian and eastern Guangdong. So the appropriate management should be conducted in rearing *P. crocea* industry. (本文编辑: 刘珊珊)