

鲈鱼群体生化遗传学研究

II. 种群生化遗传结构及变异*

徐 成 王可玲 张培军

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 1995 年 6 月—1996 年 5 月分别在汕头及青岛收集共 100 尾鲈鱼生化样品,采用淀粉胶及聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了鲈鱼 17 种同工酶,记录出 31 个基因座位,统计了基因频率。结果表明,2 群体间遗传相似度和遗传距离分别为 0.9920 和 0.0080。作者初步认为中国近海鲈鱼为 1 个种,分南、北 2 个种群。汕头种群多态座位比例为 22.6%,青岛种群为 25.8%。 χ^2 检验表明,2 个群体多态座位等位基因频率除汕头的 Est-4 外均符合 Hardy-Weinberg 平衡。汕头与青岛种群平均杂合度分别为 0.079 和 0.099,表明目前鲈鱼种质资源状况尚好,但当前捕捞鲈鱼苗的压力过大,应严格控制鲈鱼苗的捕捞,避免因滥捕仔稚幼鱼而导致资源衰竭。

关键词 鲈鱼,同工酶,种群,遗传结构,遗传变异

中图分类号 Q178.53

鲈鱼属于鲈形目,是我国沿海重要的增养殖种类,目前国内外关于其生化遗传学的研究基本是空白。近年来,种质资源的研究和保护日益受到重视,其目的是最大限度地维持种内的遗传多样性水平,以维持物种和种群的自然繁殖能力和进化潜力,确保种质资源的可持续利用。种质资源研究的基础是查清物种和种群的遗传背景,特别是一些重要经济种类原种种质资源的遗传本底,在此基础上,监测由于人为或自然因素所引起的遗传变化,评估人为干预和自然灾害对种质资源的遗传后效,并采取相应的管理和保护措施(尤锋等,1999;张四明等,2000)。作者曾进行过鲈鱼同工酶表达的基本酶谱及生化遗传分析(徐成等,2001),本文报道鲈鱼两个种群的生化遗传结构与变异,以及对其种质资源状况的评估,以期对鲈鱼的种质资源研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验用鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)包括汕头和青岛 2 个群体。汕头群体于 1995 年 6 月取自广东省汕头市南澳县青澳镇,共 49 尾,全长(101.8±10.2)mm,系捕获自然苗人工养殖的活鱼。青岛群体于 1995 年 9 月至 1996 年 5 月取自青岛近海,共 51 尾,全长(275.7±36.2)mm,为当天捕获的鲜鱼或捕自然苗人工养成的活鱼。

* 国家攀登计划 B 资助项目,PD B6-5-2 号。徐 成,男,出生于 1968 年 9 月,博士,助理研究员,E-mail: chxu@163.net

收稿日期:1999-03-19,收修改稿日期:2000-05-28

1.2 样品处理与电泳方法

见徐成等(2001)。

1.3 数据的分析与处理

1.3.1 群体内遗传变异的主要度量参数

a. 多态座位比例(mean proportion of polymorphic loci, P)

$$P = \text{多态座位数} / \text{所测座位总数} \times 100\%$$

多态座位以其主要的等位基因频率低于 0.99 为标准(Nei, 1972)。

b. 多态座位杂合度(heterozygosity)的观察值(H_o)与预期值(H_e)

$$H_o = \text{观察到的杂合个体数} / \text{观察的个体总数}$$

$$H_e = 1 - \sum i^2$$

i 为该座位第 i 个等位基因的频率。

c. Hardy-Weinberg 遗传偏离指数(d)

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

d. 种群平均杂合度(average heterozygosity, H)

$$H = \frac{\sum (1 - \sum x_i^2)}{n}$$

式中, x_i 为第 x 座位第 i 个等位基因的频率, n 为所测座位总数。

1.3.2 多态座位等位基因频率与 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 拟合度检验 参照王福保等(1984)。

1.3.3 群体间遗传差异的度量 采用 Nei(1972) 公式。

遗传相似度(genetic similarity, I)

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

式中, 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。

遗传距离(genetic distance, D)

$$D = -\ln I$$

2 结果

2.1 汕头及青岛鲈鱼群体的等位基因频率

结果见表 1。

2.2 群体内遗传变异的度量

2.2.1 多态座位比例 根据表 1 统计分析的 17 种同工酶共记录出 31 个基因座位。汕头群体中, 有 Mep-1、Pgm-1、Sdh、Gdh、Mpi、Est-1、Est-4 等 7 个座位为多态, $P_{\text{汕头}} = 7/31 \times 100\% = 22.6\%$; 青岛群体中, 除了上述 7 个座位外, Pgdh 也是多态, $P_{\text{青岛}} = 8/31 \times 100\% = 25.8\%$ 。

2.2.2 多态座位杂合度的观察值(H_o)、预期值(H_e)和遗传偏离指数(d) 结果见表 2。

H_o 、 H_e 量化了基因的遗传多样性, d 值则反映两者的平衡关系。 d 值越接近于零, 基因型分布越接近于平衡状态; d 值的正负直观地反映了种群内杂合子的过剩或缺失状

态, d 值为正杂合子过剩, d 值为负杂合处于缺失状态。由表 2 可知, 偏离指数较大的汕头种群 Est-4, 为 0.960, 说明杂合子明显偏多。

表 1 汕头和青岛鲈鱼群体等位基因频率

Tab. 1 Allele frequencies in *L. japonicus* of Shantou and Qingdao Population

基因座位	等位基因	取样群体	
		汕头	青岛
Ldh-A	100	1.0000	1.0000
Ldh-B	100	1.0000	1.0000
Ldh-C	100	1.0000	1.0000
s-Mdh-A	100	1.0000	1.0000
s-Mdh-B	100	1.0000	1.0000
MeP-1	100	0.5306	0.4706
	110	0.4694	0.5294
MeP-2	100	1.0000	1.0000
s-Idhp	100	1.0000	1.0000
m-Idhp	100	1.0000	1.0000
Pgm-1	75	0.0204	0.0196
	100	0.7041	0.5980
	120	0.2755	0.3726
	140	0	0.0098
Pgm-2	100	1.0000	1.0000
G3pdh-1	100	1.0000	1.0000
G3pdh-2	100	1.0000	1.0000
Ak-1	100	1.0000	1.0000
Ak-2	100	1.0000	1.0000
Ck	100	1.0000	1.0000
Ach	- 100	1.0000	1.0000
Sdh	64	0.0341	0.0098
	100	0.8636	0.8823
	136	0.1023	0.1079
G6pdh-1	100	1.0000	1.0000
G6pdh-2	100	1.0000	1.0000
Gdh	85	0.0532	0.2451
	100	0.9468	0.7549
Pgdh	95	0	0.1667
	100	1.0000	0.8333
Cat-1	100	1.0000	1.0000
Cat-2	100	1.0000	1.0000
Mpi	90	0.2000	0.1875
	100	0.7667	0.6042
	110	0.0333	0.2083
Est-1	100	0.8061	0.7600
	110	0.1939	0.2400
Est-2	100	1.0000	1.0000
Est-3	100	1.0000	1.0000
Est-4	100	0.5102	0.8542
	105	0.4898	0.1458
s-Sod	100	1.0000	1.0000
m-Sod	100	1.0000	1.0000

表 2 鲈鱼多态座位杂合度的观察值 H_o 、预期值 H_e 及遗传偏离指数 d Tab. 2 H_o , H_e and d of polymorphic loci in *L. japonicus*

多态座位	汕头群体			青岛群体		
	H_o	H_e	d	H_o	H_e	d
Me ρ -1	0.408	0.498	-0.181	0.471	0.498	-0.054
Pgm-1	0.490	0.428	0.145	0.451	0.503	-0.103
Sdh	0.227	0.243	-0.066	0.196	0.210	-0.067
Gdh	0.106	0.101	0.050	0.333	0.370	-0.100
Pgdh				0.167	0.278	-0.399
Mpi	0.467	0.371	0.259	0.375	0.556	-0.326
Est-1	0.347	0.313	0.109	0.360	0.365	-0.014
Est-2	0.980	0.500	0.960	0.208	0.249	-0.165

2.2.3 群体平均杂合度 根据等位基因频率得出: $H_{\text{汕头}} = 0.079$; $H_{\text{青岛}} = 0.099$ 。

2.2.4 多态座位等位基因频率与 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 拟合度检验 结果见表 3。 χ^2 拟合度检验, 一般认为 $P < 0.05$ 时, 差异显著。在上述 2 个群体共 15 个多态座位的检验中, 只有汕头 Est-4 $P < 0.01$, 说明它不符合 Hardy-Weinberg 平衡。其它多态座位皆与 Hardy-Weinberg 平衡相吻合。

表 3 多态座位的 χ^2 检验结果Tab. 3 χ^2 test at polymorphic loci

多态座位	汕头群体			青岛群体		
	χ^2	自由度	P 值	χ^2	自由度	P 值
Me ρ -1	1.599	1	0.10—0.25	0.157	1	0.25—0.50
Pgm-1	1.844	2	0.25—0.50	2.836	3	0.50—0.75
Sdh	0.773	2	0.50—0.75	0.465	2	0.75—0.90
Gdh	0.145	1	0.50—0.75	0.504	1	0.25—0.50
Pgdh				2.578	1	0.10—0.25
Mpi	1.398	2	0.25—0.50	4.235	2	0.05—0.10
Est-1	0.529	1	0.25—0.50	0.009	1	0.90—0.95
Est-4	45.157	1	< 0.01	1.290	1	0.10—0.25

2.3 群体间遗传差异的度量

根据 Nei (1972) 公式得出汕头与青岛 2 个群体间遗传相似度 (I) 和遗传距离 (D): $I = 0.9920$; $D = 0.0080$ 。

根据已发表的鱼类遗传距离研究资料(王可玲等, 1994; Menezs *et al*, 1988, 1990) 分析, 鲈鱼的汕头群体与青岛群体应是种群一级的差异。

3 讨论

3.1 多态座位比例与平均杂合度

多态座位比例 (P) 和平均杂合度 (H) 是评估鱼类种群生化遗传变异及其种质资源状况的两个主要参数。与其它高等脊椎动物相比, 鱼类的遗传变异性在不同物种之间以及同一物种的不同种群之间均有较大的差异, 但仍有规律可循。Selander (1976) 报道, 14 种

鱼类的多态座位比例平均为 30.6%，平均杂合度平均为 0.078；王可玲等(1994)报道，带鱼属鱼类不同种群的多态座位比例为 12.5%—41%，平均杂合度为 0.042—0.103。一般说来，海水鱼类的遗传变异要高于淡水鱼类。据估计，鲤科鱼类平均杂合度平均为 0.052 (Butth, 1983)；106 种海水鱼类的平均杂合度平均值为 0.055 (Smith *et al.*, 1982)；Gyllenstein(1985)发现海水鱼类的平均杂合度(平均值为 0.063, 范围为 0.029—0.088)高于淡水鱼类(平均值为 0.043, 范围为 0.080—0.100)，洄游性鱼类的平均杂合度与淡水鱼类相似，平均值为 0.041。

对比以上数据，本文结果 $P_{\text{汕头}} = 22.6\%$ ， $P_{\text{青岛}} = 25.8\%$ 说明鲈鱼的多态座位比例在鱼类中居中等水平。本文另一结果 $H_{\text{汕头}} = 0.079$ ， $H_{\text{青岛}} = 0.099$ ，说明鲈鱼的平均杂合度较高，在遗传上具体体现在多态座位的等位基因多 ($P_{\text{gm-1}}$ 有 4 个等位基因，Sdh 和 Mpi 均有 3 个等位基因)，杂合度较高。

另外，2 个取样群体比较，青岛种群的平均杂合度(0.099)和多态座位比例(25.8%)均高于汕头种群(分别为 0.079 和 22.6%)。这也与实际分布中，北方鲈鱼分布广、种群大的特点相一致。

尽管鲈鱼 2 个种群的多态座位比例和平均杂合度在鱼类中处于较高水平，说明其种质资源状况尚维持在较好状态，但值得注意的是，每年春天在黄、渤海沿岸大量的鱼苗被捕捞。由于鲈鱼苗个体太小、捕捞方法不当造成大量死亡，仅有少部分用于人工养殖或出口。如不严加控制，势必会影响鲈鱼的资源状况。这就迫切需要及早采取保护措施，以免鲈鱼重蹈真鲷、小黄鱼、带鱼等因过度捕捞，尤其是滥捕仔稚鱼导致资源衰竭的覆辙。

3.2 关于 χ^2 检验与遗传偏离指数

进行种群生化遗传结构研究时，一般要检验多态座位的基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡。常用的检验方法有 2 个，一个是用遗传偏离指数(d)来检查，另一方法是 χ^2 检验。本文 2 种检验方法对比情况见表 4。

表 4 χ^2 检验 P 值与遗传偏离指数(d)的比较

Tab. 4 Comparison between P value in χ^2 test and d value

多态座位	汕头群体		青岛群体	
	P	d	P	d
M _{ep-1}	0.10—0.25	-0.181	0.25—0.50	-0.054
P _{gm-1}	0.25—0.50	0.145	0.50—0.75	-0.103
Sdh	0.50—0.75	-0.066	0.75—0.90	-0.067
Gdh	0.50—0.75	0.050	0.25—0.50	-0.100
Pgdh			0.10—0.25	-0.399
M _{pi}	0.25—0.50	0.259	0.05—0.10	-0.326
Est-1	0.25—0.50	0.109	0.90—0.95	-0.014
Est-4	< 0.01	0.960	0.10—0.25	-0.165

从表 4 可以看出， P 值与 d 值的趋势基本一致。从检验方法角度看， χ^2 检验是一种经典的、数学上已得到证明的拟合度检验方法。 χ^2 检验的 P 值定量地给出了差异水平(一般 $P < 0.05$ 认为是差异显著)，这一点是遗传偏离指数所做不到的。一般 d 值越接近于零，说明基因型分布越接近于平衡状态； d 值越偏离零，基因型分布越偏离平衡状态。

目前还没有一个公认的标准来衡量 d 值达到多少被认为是偏离了 Hardy-Weinberg 平衡。但是遗传偏离指数方法也有它的优点。 d 值的正负直观地反映了种群内杂合子的过剩或缺失状态, d 值为正说明杂合子过剩, d 值为负说明杂合子缺失。因此, 作者认为两种方法相结合更能正确、全面地反映种群的遗传平衡状况。

3.3 中国近海鲈鱼分类的探讨

鲈鱼汕头和青岛 2 个取样群体的遗传距离为 0.0080, 在已知的种群间 D 值的差异范围内, 说明中国近海鲈鱼有不同的种群。

从作者 1995 年取样时了解的情况看, 山东沿海均有鲈鱼繁殖, 尤以莱州湾为产卵集中地, 是一个分布中心。广东省汕头市南澳岛周围也是鲈鱼的天然产卵场。作者在浙江沿海的宁波、舟山、玉环等地的水产部门和渔民处了解到, 当地很少见到鲈鱼天然苗出现, 说明当地鲈鱼繁殖、分布较少。

综合以上情况, 可以初步认为中国近海鲈鱼为一个种, 存在南北两个种群。

参 考 文 献

- 王可玲, 张培军, 刘兰英等, 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
- 王福保, 闵华玲, 叶润修等, 1984. 概率论及数理统计. 上海: 同济大学出版社, 220—256
- 尤 锋, 王可玲, 相建海等, 1999. 山东近海牙鲆同工酶的生化遗传分析. 海洋与湖沼, 30(2): 127—133
- 张四明, 邓 怀, 晏 勇等, 2000. 中华鲟随机扩增多态性 DNA 及遗传多样性研究. 海洋与湖沼, 30(2): 1—7
- 徐 成, 王可玲, 尤 锋等, 2001. 鲈鱼群体生化遗传学研究 I. 同工酶的生化遗传分析. 海洋与湖沼, 32(1): 42—49
- Buth D G, 1983. Allobzymes of the Cyprinid Fishes: Variation and Application. In: Turner B J ed. Evolutionary Genetics of Fishes. New York, London: Plenum Press, 561—590
- Gyllensten U, 1985. The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous, and freshwater species. J Fish Biol, 26(6): 691—699
- Menezes M R, Taniguchi N, 1988. Interspecific genetic divergence in sciaenids from Japan and its adjacent waters. Jap J Ich, 35(1): 40—46
- Menezes M R, Taniguchi N, Seki S, 1990. Degree of intraspecific genetic divergence and variability in three sciaenid species. Jap J Ich, 37(1): 39—48
- Nei M, 1972. Genetic distance between populations. Amer Natu, 106: 283—292
- Selander R K, 1976. Genic Variations in Natural Populations. In: Ayala F J ed. Molecular Evolution. Massachusetts: Sinauer Associates, 21—45
- Smith P J, Fujino Y, 1982. Genetic variation in marine teleosts: high variability in habitat specialists and low variability in habitat generalists. Mar Biol, 69(1): 7—20

BIOCHEMICAL GENETICS OF *LATEOLABRAX JAPONICUS* POPULATION

II. BIOCHEMICAL GENETIC STRUCTURE AND VARIATION

XU Cheng, WANG Ke-Ling, ZHANG Pei-Jun

(Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract One hundred samples of two sea bass (*Lateolabrax japonicus*) populations were collected from Shantou and Qingdao coastal waters from June, 1995 to May, 1996. Seventeen isozymes coded by 31 gene loci were analyzed by starch gel electrophoresis and polyacrylamide gel electrophoresis, and allele frequencies of each loci in two populations were calculated. Seven loci, which were Mep-1, Pgm-1, Sdh, Gdh, Mpi, Est-1 and Est-4, were found polymorphic in Shantou population, the mean proportions of polymorphic loci was 22.6%. Pgdh was also polymorphic besides these loci in Qingdao population, the mean proportions of polymorphic was 25.8%. The observational value of heterozygosity (H_o) of polymorphic locus in Shantou population was 0.106–0.980, the expected value of heterozygosity (H_e) was 0.101–0.500, the genetic departure index (d value) was -0.181 – -0.960 , d value of Est-4 in Shantou population was 0.960, obviously on the high side, this showed the number of hybrid individuals was more than expected. H_o in Qingdao population was 0.167–0.471, H_e was 0.210–0.556, d value was -0.399 – -0.014 . The average heterozygosities of Shantou and Qingdao populations were 0.079 and 0.099 respectively. The chi-Square test showed all polymorphic loci but Est-4 from Shantou were in Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic deviation index agreed with the result of chi-Square test. The genetic similarity and genetic distance between the two populations were 0.9920 and 0.0080 respectively. It is concluded that the sea bass in Chinese coastal waters should belong to one species and two populations. The polymorphic loci proportions of the two populations was average among fishes, the average heterozygosities were high, reflected by high allele number of polymorphic loci. The genetic diversity level of Qingdao population was higher than that of Shantou population, because the former was distributed over a wider area and its population was larger. Various genetic indexes show that sea bass resource quality is still good, but overfishing should be prohibited to protect resources.

Key words *Lateolabrax japonicus*, Isozyme, Population, Genetic structure, Genetic variation