

星突江鲮 (*Platichthys stellatus*) 群体同工酶分析

陈艳翠^{1,2}, 高天翔¹, 陈四清², 庄志猛², 刘长琳²

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 采用水平凝胶电泳技术对星突江鲮 (*Platichthys stellatus*) 养殖群体进行了同工酶分析。筛选了9种酶, 检测到15个位点, 在0.99水平上, 仅PGM*位点表现为多态, LDH*、SDH*、G3PDH*、GPI-1*、GPI-2*、GPI-3*、IDHP*、SOD-1*、SOD-2*、SOD-3*、MDH-1*、MDH-2*、MPI-1*和MPI-2*均为单态, 多态位点比例为6.67%, 实际观测杂合度为0.0098, 预期杂合度为0.0303, 平均有效等位基因数目为1.0557。结果表明, 星突江鲮养殖群体的遗传多样性水平较低。

关键词: 星突江鲮; 养殖群体; 同工酶分析

中图分类号: Q55; Q814

文献标识码: A

文章编号: 1673-2227-(2008)01-0048-05

Isozyme analysis of a cultured *Platichthys stellatus* stock

CHEN Yancui^{1,2}, GAO Tianxiang¹, CHEN Siqing², ZHUANG Zhimeng², LIU Changlin²

(1. The Key Lab. of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: Horizontal starch gel electrophoresis was used to investigate the genetic diversity of a cultured *Platichthys stellatus* stock. Only PGM* locus was polymorphic among fifteen loci which were examined from nine enzymes while the most common allele was less than or equal to 0.99. The proportion of polymorphic loci was 6.67%, the mean observed heterozygosity was 0.0089, and the mean expected heterozygosity was 0.0303. The average effective number of alleles was 1.0557.

Key words: *Platichthys stellatus*; cultured stock; isozyme analysis

星突江鲮 (*Platichthys stellatus* Pallas) 又称星斑川鲮, 隶属鲮形目、鲮科、鲮亚科、江鲮属, 俗称江鲮、沼鲮、棘鲮、星点石鲮、珍珠鲮、黄金鲮等, 江鲮属仅2种, 即我国的星突江鲮和欧洲的川鲮 (*Platichthys flesus*)。星突江鲮分布于北太平洋的亚洲和美洲沿岸 (70°N~30°N), 主要分布海域有北冰洋、东西伯利亚海、白令海峡、鄂霍次克海、朝鲜海峡、日本海、北极的阿拉斯加海湾、波

弗特海、楚克其海、加冕海湾、拉普帖夫海、加利福尼亚海域。主要分布国有加拿大、美国、俄罗斯联邦、中国、朝鲜、韩国和日本等, 为广温、广盐性鲱鲮鱼类^[1-2]。

星突江鲮体长圆形, 体高、口小, 两颌齿一行, 侧线发达, 至胸鳍上部弯曲; 体两侧与头部散布有许多非常粗砺的星状骨质突起圆鳞; 背、腹鳍基底部各有一纵向较大瘤状突起物。形态发生逆转

收稿日期: 2007-08-09; 修回日期: 2007-10-10

项目资助: 青岛市科技发展计划项目 (06-2-3-18-hy); 科技支撑计划项目 (2006BAD03B08-07); 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA09Z418)

作者简介: 陈艳翠 (1979-), 女, 硕士, 从事渔业生态学研究。E-mail: cui8012@yahoo.com.cn

通讯作者: 陈四清, E-mail: chensq@ysfri.ac.cn

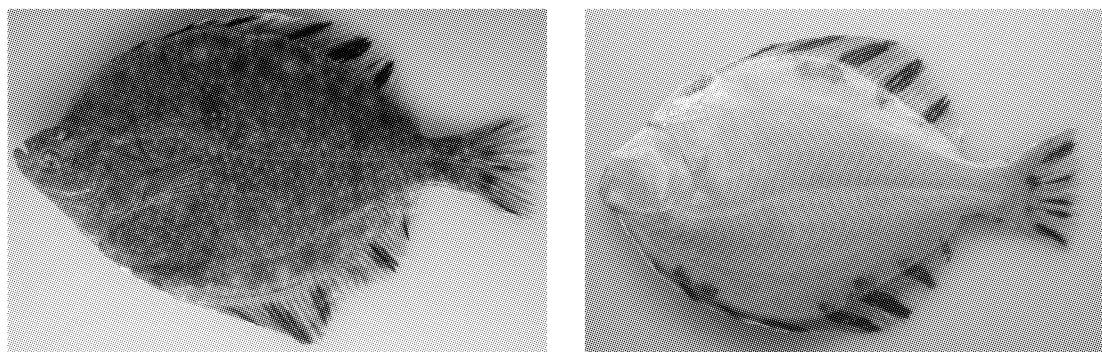


图1 星突江鲈背面(左)和腹面(右)图
Fig. 1 Dorsal (left) and ventral (right) views of *P. stellatus*

时有眼侧暗呈黄绿色或黄褐色、无眼侧白色,在白色、黄色或菊黄色的奇鳍(背鳍、臀鳍、尾鳍)上有多条黑色条斑(图1)。

星突江鲈肉质细嫩,肌肉弹性比褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)高1.7倍,是高级生鱼片的主要材料,具有品质优、抗逆性强、耐低温、营养价值高的特点,是我国北方名贵海水鱼类。星突江鲈可进入江河,我国20世纪80年代前曾经见于江苏连云港以北的黄海及东北的图们江等地,目前自然种群罕见,市场上常见的多为养殖群体^[1]。2007年6月黄海水产研究所星突江鲈苗种繁育成功,实现了苗种规模化生产,科研人员培育幼鱼苗种137.2万尾,平均体长5.49 cm。星突江鲈实现推广养殖后,年产值可达2 000万元以上,而且将改善北方海水鱼类养殖品种过于单一的局面。可以采用多种养殖方式进行星突江鲈养殖,如工厂化养殖、网箱养殖和池塘养殖等。迄今,有一些关于星突江鲈的研究报道和相关介绍,如尤锋等^[3]对星突江鲈养殖群体进行了RAPD分析,法国学者BORSA等^[4]用22种同工酶对采自日本沿岸的星突江鲈进行了群体研究等。

文章应用水平凝胶电泳技术对星突江鲈的生化遗传特征进行了研究,以期对星突江鲈的遗传育种与养殖提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用鱼于2007年5月24号取自青岛龙湾生物科技有限公司,共60尾,体长范围9.4~15.5

cm,体重范围20~85 g。活体运回实验室,生物学测定后取肌肉存放在-80℃冰箱备用。

1.2 方法

采用水平凝胶电泳技术对星突江鲈养殖群体进行同工酶分析。此试验凝胶所用的淀粉是Smithies公司生产的水解马铃薯淀粉,凝胶浓度约为11%。缓冲液系统为CT-7.0,电泳在恒温4℃的冰箱内进行,约5 h。电泳条件为稳压(200 V),电流40 mA。按照日本水产资源保护协会^[5]和PASTEUR等^[6]推荐的方法进行电泳和染色。具体的染色方法、酶的命名和电泳技术分别参照日本水产资源保护协会^[5]和SHAKLEE等^[7]方法,此研究中采用肌肉组织,筛选了9种同工酶,IDHP、PGM、MPI、LDH、GPI、MDH、G3PDH、SOD和SDH。试验检测的酶的名称、缩写和代码见表1。

1.3 数据处理

同工酶数据处理参照NEI^[8]和日本水产资源保护协会^[5]的方法计算多态位点比例(P)、平均预期杂合度(H_e)、平均观测杂合度(H_o)、Hardy-Weinberg遗传偏离指数(d)等,公式如下:

$$(1) \text{多态位点比例 } P = k/n$$

式中: k 为多态位点数, n 为所测定位点的总数。

当一个位点的主基因频率 $P \leq 0.99$ 时认为其为多态位点。

$$(2) \text{平均观测杂合度 } H_o$$

$$H_o = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n h_o = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (1 - \sum_{j=1}^{m_i} p_{ij}^2)$$

表 1 酶的名称、缩写和国际编号及组织

Tab.1 Names, abbreviations and E. C. numbers

酶的名称 enzyme name	缩写 abbreviation	国际编号 E. C. numbers
异柠檬酸脱氢酶 Isocitrate dehydrogenase	IDHP	1. 1. 1. 42
磷酸葡萄糖变位酶 Phosphoglucomutase	PGM	5. 4. 2. 2
乳酸脱氢酶 Lactate dehydrogenase	LDH	1. 1. 1. 27
6-磷酸葡萄糖异构酶 Glucose-6-phosphate isomerase	GPI	5. 3. 1. 9
甘露糖-6-磷酸异构酶 Mannose-6-phosphate isomerase	MPI	5. 3. 1. 8
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenate	MDH	1. 1. 1. 37
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 Glycerol-3-phosphalate dehydrogenase	G3PDH	1. 1. 1. 8
天冬氨酸转氨酶 Asparatate aminotransferase	AAT	2. 6. 1. 1
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	SOD	1. 15. 1. 1
乙醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	ADH	1. 1. 1. 1
山梨醇脱氢酶 Sorbitol dehydrogenase	SDH	1. 1. 1. 14

式中： n 为所测定的位点总数， p_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因的纯合基因型的频率， m_i 为第 i 个位点上测定到的等位基因的总数， h_e 表示某个位点的观测杂合度。

(3) 平均预期杂合度 H_e

$$H_e = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n h_e = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (1 - \sum_{j=1}^{m_i} q_{ij}^2)$$

式中： n 为所测定的位点总数， q_{ij} 为第 i 个位点上第 j 个等位基因的频率， m_i 为第 i 个位点上测定到的等位基因的总数， h_e 表示某个位点的预期杂合度。

(4) 平均每个位点等位基因有效数目 A_e

$$A_e = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (1 / \sum_{j=1}^{m_i} q_{ij}^2)$$

式中： q_j 为第 i 个位点第 j 个等位基因的频率， n 为所测定的位点的总数， m_i 为第 i 个位点测定到的等位基因的总数。

2 试验结果

试验选取 9 种酶 IDHP、PGM、MPI、LDH、GPI、MDH、G3PDH、SOD 和 SDH。共检测到 15 个位点，在 0.99 水平上， PGM^* 为多态位点， LDH^* 、 SDH^* 、 $G3PDH^*$ 、 $GPI-1^*$ 、 $GPI-2^*$ 、 $GPI-3^*$ 、 $IDHP^*$ 、 $SOD-1^*$ 、 $SOD-2^*$ 、 $SOD-3^*$ 、 $MDH-1^*$ 、 $MDH-2^*$ 、 $MPI-1^*$ 和 $MPI-2^*$ 均为单态位点，多态位点比例为 0.0667，平均观测杂合度为 0.0089，平均预期杂合度 0.0303，平均有效等位

基因为 1.0577（表 2）。同工酶图谱见图 2，由图可知，仅 PGM^* 位点检测到杂合子，检测到 a^* 、 b^* 2 个等位基因、3 种基因型 a/a^* 、 a/b^* 、 b/b^* ；其他位点只检测到 1 种基因型 a/a^* ，1 个等位基因 a^* 。

表 2 等位基因频率、多态位点比例、观测杂合度、预期杂合度、有效等位基因数目 A_e

Tab.2 Allele frequency, mean proportion of polymorphic loci, mean observed heterozygosity, mean expected heterozygosity and mean effective number of alleles

位点 locus	等位基因 allele	基因频率 allelic frequency
LDH^*	a^*	1
SDH^*	a^*	1
$G3PDH^*$	a^*	1
$GPI-1^*$	a^*	1
$GPI-2^*$	a^*	1
$GPI-3^*$	a^*	1
$IDHP^*$	a^*	1
$SOD-1^*$	a^*	1
$SOD-2^*$	a^*	1
$SOD-3^*$	a^*	1
$MDH-1^*$	a^*	1
$MDH-2^*$	a^*	1
$MPI-1^*$	a^*	1
$MPI-2^*$	a^*	1
PGM^*	a^*	0.65
	b^*	0.35
$P_{0.99} = 6.67\%$		$H_o = 0.0089$
		$H_e = 0.0303$
		$A_e = 1.0557$

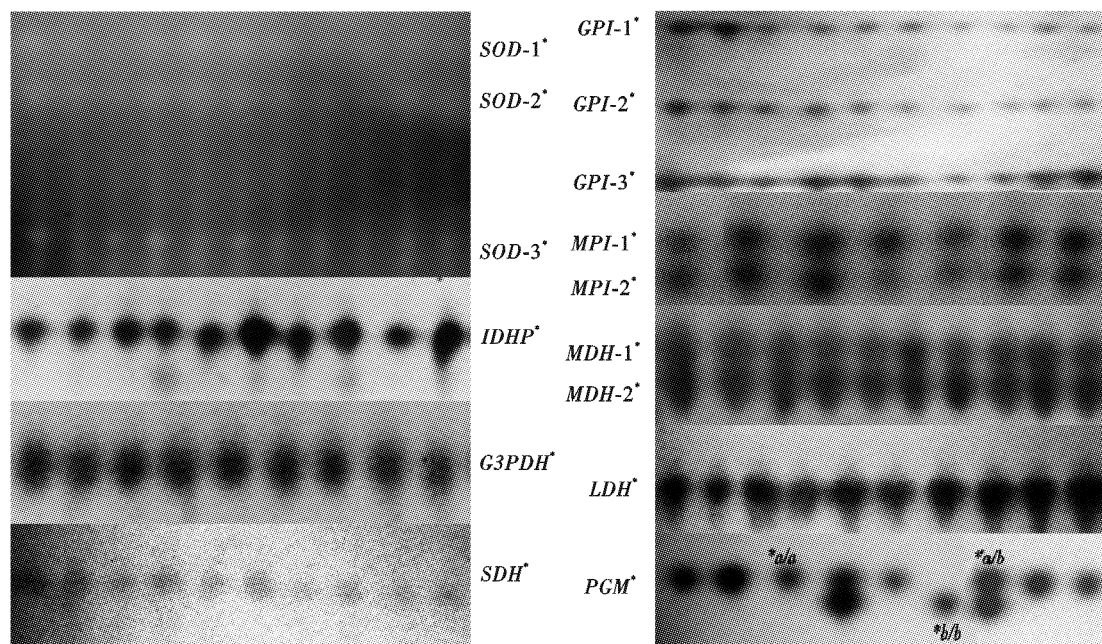


图2 星突江鲈9种同工酶图谱：MPI、PGM、MDH、LDH、SDH、GPI、SOD、IDHP和G3PDH

Fig. 2 Electrophoretic pattern of nine enzymes of *P. stellatus*, MPI, PGM, MDH, LDH, SDH, GPI, SOD, IDHP and G3PDH

3 讨论

多态位点比例和平均杂合度是体现遗传变异和多样性的2个重要指标。鱼类的多态位点比例会因种或同种的不同种群而异，据报道最高可达50%，最低的只有9%，海洋鱼类的多态位点比例一般在30%左右^[9]。该试验的研究结果表明，星突江鲈养殖群体的多态位点比例为6.67%，低于其它鲆鲽类的研究结果，如张岩等^[10]采用水平淀粉凝胶电泳技术对产于山东蓬莱水域的野生钝吻黄盖鲈（*Pseudopleuronectes yokohamae*）同工酶组织特异性及其群体遗传结构进行研究，其多态位点比例为23.53%；刘曼红等^[11]对山东半岛南岸海阳近海石鲈（*Kareius bicoloratus*）同工酶的组织特异性及群体遗传结构进行了研究，多态位点比例为28.57%；尤锋等^[3]对山东近海褐牙鲆自然与养殖群体生化遗传结构及其遗传变异的比较分析，野生群体的多态位点比例为31.03%，养殖群体的多态位点为24.10%。

平均杂合度量化了基因的遗传多样性，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。PARK等^[12]于1991年进行了19个同工酶位点研究报道。1997年法国学者BORSA等^[4]同样也用22种同工酶对采自日本沿岸的星突江鲈进行了群体研究，分析了33个基因位点，其预期杂合度为0.095。有关欧洲川鲈群体遗传学的研究报道也不多，BORSA^[4]采用22种同工酶的33个位点也分析了分布于法国附近海区中的欧洲川鲈一些群体间的遗传分化。西班牙学者CASAS等^[13]于2005年采用自己开发的5个微卫星引物对采自西班牙附近海区的22个欧洲川鲈群体进行了群体遗传分析，其预期杂合度范围为0.43~0.75。尤锋等^[3]利用RAPD技术对星突江鲈养殖群体的遗传多样性进行了研究，从20个随机引物中筛选出18个用于群体遗传学分析，共扩增出133条带，谱带大小为100~2000 bp，大多数谱带分布在250~1000 bp。多态谱带数为83，每个引物扩增谱带数为1~14条，平均为7条。多态位点比例为62.41%，Shannon信息指数和Nei的多样性指数分别为0.21和0.3166。由此可见，星突江鲈的遗传多样性水平较低。

星突江鲈是继褐牙鲆、大菱鲆（*Scophthalmus*

maximus) 后被认为最有希望的养殖鱼类之一, 星突江鲈营养价值高, 口感独特, 在国内外市场上深受欢迎, 特别是欧洲, 在市场上与鲑鳟鱼类媲美, 加之其耐运输、耐冷冻, 冷藏后肉质基本不变, 深受广大消费者的喜欢。日本经过近十年研究和开发, 证明星突江鲈是一种潜力巨大的养殖鱼类^[14]。它温驯、宜于进行集约化养殖, 但养殖环境较为封闭, 人工繁殖易造成某些基因丢失, 从而使养殖群体的遗传多样性水平降低, 此研究结果为其遗传育种提供了必不可少的基础数据。

参考文献:

- [1] 成泰庆, 郑葆珊. 中国鱼类系统检索 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 503.
- [2] 李思忠. 中国动物志 (鲈形目) [M]. 北京: 科学出版社, 1995: 253.
- [3] 尤锋, 吴志昊, 李军, 等. 星斑川鲈 (*Platichthys stellatus*) 养殖群体的 RAPD 分析 [J]. 海洋科学进展, 2007, 25 (1): 73-78.
- [4] BORSA P, BLANQUER A, BERREBI P. Genetic structure of the flounders *Platichthys flesus* and *P. stellatus* at different geographic scales [J]. Mar Biol, 1997, 129 (2): 233-246.
- [5] Japan Fisheries Resource Conservation Association. Population differentiation of marine organism by isozyme analysis. Report on the Genetic Assessment Project [R]. Tokyo: Fish Resource Conserv Assoc, 1989: 28-209.
- [6] PASTEUR N, PASTEUR G, BONHOMME F, et al. Practical Isozyme Genetics [M]. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1988: 61-150.
- [7] SHAKLEE J B, ALLENDORF F W, MORRIZOT D C. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish [J]. Trans Am Fish Soc, 1990, 119 (1): 2-15.
- [8] NEI M. Molecular evolutionary genetics [M]. New York: Columbia University Press, 1987: 128-134.
- [9] 尤锋, 王可玲, 相建海, 等. 山东近海褐牙鲈自然与养殖群体生化遗传结构及其遗传变异的比较分析 [J]. 海洋与湖沼, 2001, 32 (5): 512-516.
- [10] 张岩, 高天翔, 刘曼红, 等. 钝吻黄盖鲈同工酶组织特异性及群体遗传结构的初步研究 [J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37 (2): 235-242.
- [11] 刘曼红, 高天翔, 于常红, 等. 山东近海石鲈的同工酶分析 [J]. 海洋水产研究, 2005, 26 (1): 41-48.
- [12] PARK J Y, KIJMA A. Genetic variability and differentiation within and between the stone flounder (*Kareius bicoloratus*) and the starry flounder (*Platichthys stellatus*) [J]. Tohoku J Agric Res, 1991, 41 (3/4): 69-82.
- [13] CASAS L, MARTINEZ P, SANCHEZ L. Characterization of microsatellite markers derived from sequence databases for the European flounder (*Platichthys flesus*) [J]. Mol Ecol Notes, 2005 (5): 664-665.
- [14] 王广军. 星斑川鲈的生物学特性与养殖前景分析 [J]. 水产科技, 2006 (2): 35-36.