

不同品系尼罗罗非鱼生化遗传标志研究

赵金良 李思发 李晨虹 李家乐

(农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室, 上海水产大学, 200090)

摘要 用聚丙烯酰胺凝胶水平电泳分析了吉富、“埃及”、“78”、“88”及“美国”五个品系尼罗罗非鱼的生化遗传特征。不同品系尼罗罗非鱼在肝脏 EST 同工酶的表型上有明显差异。Est-2 谱带为吉富和“埃及”品系所特有, 可作为与其他品系尼罗罗非鱼区分的遗传标志。

关键词 生化遗传标志, 尼罗罗非鱼, 品系

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)原产非洲, 因其食性广, 生长快, 繁殖力强, 成为世界上重要的养殖对象, 被广泛地移植世界各地。由于尼罗罗非鱼被引进时, 往往在各国间反复移植, 奠基群体通常都很小, 种质退化现象严重[李思发, 1993]。

目前, 亚洲地区现有尼罗罗非鱼养殖品系的遗传变异过低, 种质混杂严重, 不宜用来选育[Puillin 等, 1988]。在亚洲开发银行和联合国开发计划署的资助下, 1989年起, 国际水生生物资源管理中心(ICLARM)同挪威、菲律宾有关研究机构协作, 在菲律宾利用当地的四个亚洲品系尼罗罗非鱼和新引进的四个非洲原种品系尼罗罗非鱼进行选育, 成功地培育出一种吉富(Genetic Improvement of Farmed Tilapia, GIFT)品系尼罗罗非鱼。据报道, 吉富品系罗非鱼生长速度比菲律宾的一般商业品系快60%, 成活率高50%。

上海水产大学于1994年分别从菲律宾引进了吉富品系和“埃及”品系尼罗罗非鱼(1992年 ICLARM 从埃及再次引入菲律宾)。在黄河流域、长江三角洲及珠江三角洲三个不同的农业生态环境下, 与我国已有的“78”品系(1978年长江水产研究所从苏丹引进)、“88”品系(1988年湖南省水产局从埃及引进)、“美国”品系尼罗罗非鱼(1993年从美国引进)进行了养殖性能等综合评估研究。研究结果表明, 在不同的生态环境下, 新引进的吉富品系尼罗罗非鱼的生长速度比其他几个品系快5-30%左右(李思发等, 1996a; 1996b)。

由于罗非鱼的种间差异很小, 种属间容易杂交, 仅从外形上很难区分, 而生化遗传标志法可成功地应用到罗非鱼种间及杂交种的鉴别[李思发、蔡完其, 1995; 李传武等, 1986; 杨兴棋等, 1984; Avtalion, 1976; McAndrew, 1983; Galman, 1985]。为了有效地区分和鉴别我国目前主养的与新引进的尼罗罗非鱼的不同品系, 我们对这几个品系尼罗罗非鱼的生化遗传特征进行了比较研究, 以期获得不同品系的遗传标志, 为尼罗罗非鱼的生产管理、优良品系的鉴别和保存提供依据。

1997-04-15收到。

- (1) 李思发等, 1996a. 吉富等五品系尼罗罗非鱼生长性能评估。
- (2) 李思发等, 1996b. 吉富品系尼罗罗非鱼推广中试研究。

1 材料与方 法

试验鱼分别取自上海水产大学种质资源试验站、浙江省湖州水产试验场、国家级青岛罗非鱼良种场(表1)。皆为当龄鱼,体长为15.1—19.5cm,体重92.4—151.6g。活鱼取背部肌肉及肝脏,编号后放入小塑料袋中,液氮保存,转至实验室内于低温冰箱(-25℃)保存。

表1 5个品系尼罗罗非鱼的采集地点

Tab. 1 Sampling sites of five strains of Nile tilapia

品 系	样本大小	采 样 地 点	备 注
“78”	30	上海水产大学种质资源试验站	源于南京罗非鱼良种场
“88”	30	上海水产大学种质资源试验站	源于浙江省湖州水产试验场
吉富	30	上海水产大学种质资源试验站	1994年从菲律宾引进
“埃及”	30	浙江省湖州水产试验场	1994年从菲律宾引进
“美国”	30	国家级青岛罗非鱼良种场	1993年从美国引进

电泳方法参照李思发等(1994)的方法。用4%的聚丙烯酰胺凝胶在 Pharmacia 产水平平板电泳仪上进行电泳,酯酶用5%的聚丙烯酰胺凝胶。本次试验所分析酶类见表2。为便于比较和减少试验误差,每块凝胶上均点5个品系各4尾鱼样品。

群体的遗传相似度(I)、遗传距离(D)及聚类分析法均参照根井正利[1975年汉译本]。

表2 本试验中酶类、组织及缓冲系统

Tab. 2 Enzymes, tissues and buffer systems used in this study

酶 类	组 织	缓冲系统
醇脱氢酶(Adh)	肝	EBT
甘油-3-磷酸脱氢酶(a-Gpdh)	肌	TC
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-pdh)	肝	TC
乳酸脱氢酶(Ldh)	肌	TC
苹果酸脱氢酶(Mdh)	肌	TC
苹果酸酶(Me)	肌	EBT
异柠檬酸脱氢酶(Idh)	肝	TC
6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-Pgdh)	肝	TC
酯酶(Est)	肝	EBT
超氧化物歧化酶(Sod)	肌	EBT
肌蛋白	肌	TC

注:T-三羟甲基氨基甲烷,C-柠檬酸,E-乙二胺四乙酸,B-硼酸。

2 结果

2.1 同工酶表达

对5个品系尼罗罗非鱼肌、肝组织中的 Adh、 α -Gpdh 等同工酶及肌蛋白进行了电泳分析,各种同工酶电泳的酶谱表型如同李思发、蔡完其[1995]的描述。在所分析的酶和肌蛋白中,5个品系的尼罗罗非鱼除酯酶 Est 表型有不同外,其它均未见有明显差异。

酯酶 Est 是一种催化复杂酯类化合物水解的酶,广泛分布在动物的组织液中。该酶为单体酶,在尼罗罗非鱼肝脏中共由4个座位编码,研究发现不同品系酯酶同工酶的酶谱表现有其特异性(图1)。

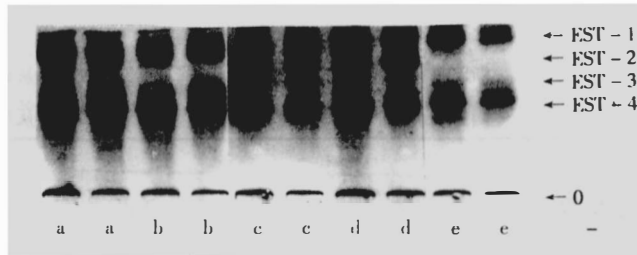


图1 5个品系尼罗罗非鱼肝脏中 Est 同工酶的电泳图谱

Fig.1 Electrophoretogram of Est in the liver of five strains of Nile tilapia
a ——“78”; b ——“88”; c ——吉富; d ——“埃及”; e ——“美国”。

Est-1座位表现为1-2条谱带,五个品系均表现有多态现象。各品系的 Est-1位点的等位基因频率见表3。

表3 5个品系尼罗罗非鱼肝脏 Est 座位的等位基因及其频率

Tab.3 Allelic frequencies of Est in the liver of five strains of Nile tilapia

座位	等位基因	“78”	“88”	吉富	“埃及”	“美国”
Est-1	100	0.5000	0.5333	0.8438	0.5714	0.5000
	94	0.5000	0.4667	0.1562	0.4286	0.5000
Est-2	100			1.0000	1.0000	
Est-3	100	0.9706	0.8667	0.7187	0.4286	0.9667
	104	0.0294	0.1333	0.2813	0.5714	0.0333
Est-4	100	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

Est-2座位表现为1条谱带,该谱带为吉富品系和“埃及”品系所特有,其他三个品系未见有表达。该谱带可作为吉富品系、“埃及”品系与我国其他品系尼罗罗非鱼区分的遗传标志。

Est-3座位表现为1~2条谱带,“78”品系、“88”品系、吉富品系、“埃及”品系和“美国”品系都表现为一定的杂合性(表3)。

Est-4座位表现1条谱带,单态,为“78”品系、“88”品系、吉富品系、“埃及”品系和“美国”品系尼罗罗非鱼所共有。

2.2 5个品系尼罗罗非鱼的聚类分析

5个品系尼罗罗非鱼群体的遗传相似度和遗传距离的结果如表4所示。

表4 5个品系尼罗罗非鱼的遗传相似度和遗传距离(D)

Tab. 4 Genetic similarity and genetic distance among five strains of Nile tilapia

遗传相似度 遗传距离	“78”	“88”	吉富	“埃及”	“美国”
“78”		0.9993	0.9622	0.9551	0.9999
“88”	0.0007		0.9657	0.9610	0.9994
吉富	0.0378	0.0343		0.9913	0.9623
“埃及”	0.0449	0.0390	0.0087		0.9553
“美国”	0.0001	0.0006	0.0377	0.0447	

根据遗传距离D值对5个品系的尼罗罗非鱼进行了聚类分析(图2)。“美国”品系、“78”品系、“88”品系尼罗罗非鱼间的遗传距离较小,构成一支,其中“美国”品系与“78”品系最为接近($D=0.0001$);吉富品系为“埃及”品系接近($D=0.0087$),与上述的3个品系相别($D=0.0389$),另为一支。

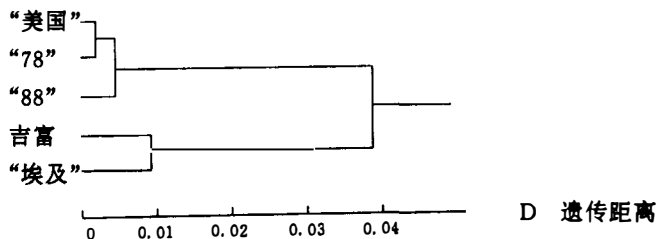


图2 5个品系尼罗罗非鱼的聚类分析

Fig. 2 Dendrogram constructed from genetic distance values of five strains of Nile tilapia

3 讨论

对这五个品系尼罗罗非鱼生化遗传特征的研究发现,不同品系在Est同工酶的酶谱上表现了品系特有的差异。吉富品系尼罗罗非鱼的Est同工酶酶谱表型与“埃及”原种尼罗罗非鱼相似,其中Est-2座位为吉富品系和“埃及”品系所特有,与我国目前生产上常用的“78”品系以及后来引进的“88”品系、“美国”品系极易区别,因而可作为这些不同品系区分的遗传标志。这可能是由于我国主养的“78”品系、“88”品系、“美国”品系尼罗罗非鱼与新引进的吉富品系、“埃及”品系种源不同,加上引种时群体数量较少,长期饲养中近亲交配机会较多,在遗传上可能会产生某些等位基因的丢失或导致个别基因座位表达时受抑,因而反映在生化遗传特征上表现出一定的差异。

在本次研究的五个品系尼罗罗非鱼中,“埃及”品系是新引入菲律宾的原种,吉富品系是在非洲品系和其他亚洲品系的基础上混合选育的新品系。研究发现,吉富品系尼罗罗非鱼表现有与“埃及”品系高度相似的遗传特征。吉富品系尼罗罗非鱼与“埃及”品系的遗传相似度最大(I 为0.9913),而与我国其它品系的尼罗罗非鱼遗传相似度则稍低(I 为0.9622—0.9659)。这些说明了在混合种群基础上经过综合选育的吉富品系尼罗罗非鱼已继承了包括“埃及”等原种在内的遗传物质,是遗传上已改良的新品系。试验与生产中试结果均表明,该品系尼罗罗非鱼优于其他几个品系,生长上具有一定的优势(李思发等,1996a),增产能力较强(李思发等,1996b)(内部文献均见本文首页),起捕率高[李思发等,1997]。是一种优良的尼罗罗非鱼。

余来宁等[1995]研究发现长江原种鲢酯酶 Est 同工酶存在9种不同的表型,不同的遗传表型与生长存在着显著的相关性。本次研究查明吉富品系、“埃及”品系尼罗罗非鱼与我国其他品系的尼罗罗非鱼在酯酶上有着不同的表型。尽管尚未发现尼罗罗非鱼的酯酶表型与生长差异之间有何相关性,但可利用 Est 酶谱表型作为生化遗传标志,为尼罗罗非鱼的种质保存与良种选育提供科学依据。

本课题为国际水产养殖遗传研究网(INGA)合作项目“罗非鱼品系评估”成果之一。

参 考 文 献

- [1] 李思发,1993.主要养殖鱼类种质资源研究进展.水产学报,17(4):344—358.
- [2] 李思发、蔡完其,1995.我国尼罗罗非鱼与奥利亚罗非鱼养殖群体的遗传渐渗.水产学报,19(2):105—111.
- [3] 李传武等,1988.尼罗罗非鱼(♀)、奥利亚罗非鱼(♂)及其杂种(F_1)酯酶(EST)同工酶的研究.淡水渔业,(3):22—25.
- [4] 李思发、李晨虹,1997.吉富等品系尼罗罗非鱼的起捕率差异.水产科技情报,24(2):108—109.
- [5] 余来宁等,1995.长江白鲢酯酶同工酶的类型与生长相关性及其在原种保存中的应用.中国水产科学,2(5):219—224.
- [6] 杨兴棋等,1984.几种罗非鱼乳酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶同工酶的电泳研究.遗传学报,14(2):132—140.
- [7] 根井正利(王家玉译),1975.分子群体遗传学与进化论,121—203.农业出版社(京).
- [8] Avtalion, R. R. *et al.*, 1976. Tilapia stock identification using electrophoretic makers. *Aquaculture*, 7:255—265.
- [9] McAndrew, B. J. *et al.*, 1993. Determination of allogeneic and xenogeneic marker in the genus of Tilapia. II. Identification of *T. aurea*, *T. vulcani* and *T. nilotica* by electrophoretic analysis of their serum proteins. *Aquaculture*, 30:249—261.
- [10] Galman, O. R. *et al.*, The use of electrophoresis as a technique for the identification and control of tilapias breeding stock in Israel, p. 177—181. In R. S. V. Pullin *et al.* (eds); The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15. Manila, Philippines.
- [11] Pullin, P. S. V. *et al.*, 1988. Genetic improvement of farmed tilapias, problems and prospects, p. 259—266. In R. S. V. Pullin *et al.* (eds); The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15. Manila, Philippines.

**STUDY OF BIOCHEMICAL GENETIC MARKER
OF DIFFERENT STRAINS OF NILE TILAPIA,
*OREOCHROMIS NILOTICUS***

Zhao Jin-liang, Li Si-fa, Li Chen-hong and Li Jia-le

(*Key Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture, Ministry of Agriculture, SFU, 200090*)

ABSTRACT Biochemical genetic characteristics of GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia) strain, "EGYPT" strain, "78" strain, "88" strain and "AMERICA" strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were analysed by polyacrylamide gel electrophoresis. The result showed that there were significant differences of phenotype of Est in the liver among different strains. Est-2 was only found in GIFT strain and "EGYPT" strain, which could be used as a genetic marker to differentiate these strains of Nile tilapia.

KEYWORDS biochemical genetic marker, Nile tilapia, strain