

重要海水养殖鱼类遗传多样性与种质基因组的研究

林浩然
(中山大学生命科学学院水生经济动物研究所, 教授、中国工程院院士 广州 510275)

〔摘要〕 过度捕捞、海区污染严重、海洋生态环境恶化等因素,使得海洋鱼类多样性受到严重威胁,鱼类资源正面临枯竭的危险。积极发展海洋鱼类的增殖和养殖,是海洋鱼类资源合理利用与可持续发展的基本措施和有效途径。海洋生物基因组研究是海洋生物资源开发与利用的基础和新的生长点,其中,积极开展重要海水养殖鱼类遗传多样性与种质基因组研究,必将对提高海洋鱼类增殖与养殖的理论水平和创建高新技术起重要促进作用。文章对重要海水养殖鱼类遗传多样性和种质资源基因组的检测、遗传性状的调控、分子系统进化研究等方面的目的、意义和国内外研究进展做了综合分析,并指出我国今后开展这些方面研究工作的重要性和应用前景。

〔关键词〕 海水养殖鱼类 遗传多样性 种质资源 基因组

〔中图分类号〕 Q2 Q3 S9 P7

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 1000-7857(2004)09-0004-03

STUDIES ON THE GENETIC DIVERSITY AND THE GENOME OF GERMPLASM RESOURCE ON MAJOR MARICULTURE FISHES

LIN Hao-ran

(Institute of Aquatic Economic Animals, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Due to overfishing, heavy marine pollution and deterioration of marine ecosystem, the diversities of marine fish are declined, the fish resources are facing an exhaustive risk. The implementation of proliferation and culture of marine fishes is the fundamental measures and effective ways for the reasonable and sustainable exploitation of marine fish resources. Genomic researches on marine life are the bases and new growing point for the exploitation of marine bio-resources, and especially researches on the genetic diversity and germplasm genome on major mariculture fish will enhance the theoretical level and promote the development of new techniques for the proliferation and culture of marine fish. A comprehensive analysis on the purposes, significances and advances in the detection of genetic diversity and germplasm genome, the control of genetic trait, the studies of molecular phylogeny and evolution on the major mariculture fish is made in this article.

Key Words: marine culture fish, genetic diversity, germplasm resource, genome

CLC Number: Q2 Q3 S9 P7

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2004)09-0004-03

随着人类社会和经济的发展,海洋生物资源的开发与利用越来越受到各国政府和科技界的重视。我国的海域辽阔,海岸线漫长,海洋生物的多样性和资源蕴藏量在世界上占有重要地位。海洋鱼类资源是海洋生物资源的重要组成部分。近几十年来,人类对海洋鱼类的过度捕捞,海区污染严重,海洋生态环境日益恶化等因素,使得海洋鱼类的多样性受到严重威胁,鱼类资源正面临枯竭的危险。以我国最重要的海洋渔业捕捞对象之一的带鱼(*Trichiurus lepturus*)为例,其最高年产量曾达到50多万吨,居我国海洋渔业单鱼种渔获量首位,但自上世纪70年代以来,由于多年持续捕捞过度,带鱼资源严重衰退,出现个体小型化、低龄化和早熟现象,渔汛期缩短,渔场日益萎缩,渔获量大幅度下降;进入上世纪80年代以后,带鱼的渔汛已不再出现^[1]。因此,积极发展海洋鱼类的养殖生产,努力促进海洋鱼类的增殖规模,是海洋鱼类资源合理利用与可持续发展的基本措施和

有效途径。

海洋生物基因组的研究是海洋生物资源开发与利用的基础和新的生长点,其研究成果对于海洋生物资源的可持续利用具有非常重要的意义。其中,积极开展具有重要经济价值的海洋生物特别是鱼类的遗传多样性和种质基因组研究,必将对提高海洋鱼类增殖与养殖的理论水平和创建高新技术起重大的促进作用。这些研究包括:养殖鱼类遗传多样性和种质的保持和改良,优良品种的选育和培育,提高养殖品种的繁殖能力和配子质量,促进苗种生长和发育变态,提高抗病害能力,增强抗逆性和不良环境的适应能力等。

1 重要海水养殖鱼类遗传多样性和种质资源基因组的检测

由于对海水养殖鱼类长期进行人工繁育,近亲交配、遗传漂变、遗传瓶颈效应等因素容易造成物种或群体的遗传

多样性降低。遗传多样性是物种在长期进化过程中形成的携带遗传信息的总和,与其生存能力、适应能力以及进化潜力密切相关。遗传多样性降低将会导致海水养殖鱼类人工繁育后代的适应能力与生存能力下降,有害的隐性基因表达增强,优良的经济性状丧失,以致于种质衰退,从而严重损害养殖生产。因此,采用先进的分子生物学技术,对我国主要海水养殖鱼类进行遗传多样性和种质资源基因组的研究,及早采取有效措施保护优良品种的种质资源,对于持续发展海洋鱼类的增殖和养殖事业,是十分必要的。

在鱼类遗传多样性和种质资源研究中采用的 DNA 分子技术主要有 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism, 限制性片段长度多态性)、AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, 扩增片段长度多态性)、RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA, 随机扩增多态性 DNA)、SSR (Simple Sequence Repeat, 简单重复序列)、ISSR (Inter-simple Sequence Repeat, 区间简单重复序列)、小卫星 (Minisatellite) 和微卫星 (Microsatellite) 技术等^[2]。我们可以采用这些 DNA 分子技术检测重要海水养殖鱼类基因组随机扩增产物和简单重复序列多态性,结合生物信息学研究对它们的自然群体和养殖群体各个世代的遗传多样性进行综合对比分析,以评价人工繁育对其种质的影响,同时提供遗传背景资料,及时采取保护种质和遗传育种与品种改良措施。

目前,我国已有学者采用 DNA 分子技术对一些重要海水养殖鱼类自然群体或不同地理群体的遗传多样性和种质资源进行分析鉴定。例如:蒙子宁等采用 RAPD 技术分析黄海和东海小黄鱼 (*Pseudosciaena Manchurica*) 的遗传多样性^[3];王军等采用 RAPD 技术研究宫井洋大黄鱼 (*Pseudosciaena Crocea*) 的遗传多样性^[4];蒙子宁等对黄鱼带鱼 (*Trichiurus Lepturus*) 和小带鱼 (*Eupleurogrammus Muticus*) 进行 RAPD 分析,对比多态位点比例、遗传多态度以及遗传距离,并构建邻近连接 (Neighbor-joining) 系统树^[5];杨慧荣等对黄鳍鲷 (*Sparus Latus*) 和黑鲷 (*Sparus Macrocephalus*) 不同自然群体的遗传变异进行 RAPD 分析^[5,6]。这方面的研究还需继续系统深入进行,特别是自然群体和养殖群体遗传多样性和种质资源的分析对比,准确评估人工繁育对海水养殖鱼类种质的影响,提供较详细而全面的遗传背景资料,以便能有目的、有针对性地采用有效的种质保护和遗传育种改良措施。

2 重要海水养殖鱼类遗传性状的调控

我国的淡水鱼类养殖生产具有 2 000 多年的悠久历史,曾经驯化(家养化)和培育鲤鱼、鲫鱼(金鱼)和 4 大家鱼(青、草、鲢、鳙)等优良品种。但海水鱼类养殖生产在近二三十年才逐步发展起来,绝大部份养殖品种还依靠野生种群,很少或者完全没有进行选育,驯化或“家养化”过程仍很短促。今后,随着海洋鱼类增殖和养殖的大规模发展,迫切需要对一些重要的养殖鱼类进行良种选育和遗传改良。

传统的品种选育和遗传改良进展缓慢,需要的时间长,而且难以达到预定的目的。运用分子生物学技术,有可能在较短时间内有目的地进行物种的遗传改良。例如,采用 RAPD 和微卫星分子标记技术建立重要海水养殖鱼类的遗传连锁图谱,可以为目标基因定位,特别是一些重要经济性状和数量性状位点(如性别决定基因、性别转换基因、抗病抗逆基因等)定位,以及为克隆这些基因打下基础,进而促

进它们的标记辅助选育 (Marker Assisted Selection, MAS),在基因水平进行遗传改良以达到人工调控一些重要遗传性状的目的。

美国农业部于 1997 年开始实施鲱鱼、鲑鱼、罗非鱼、对虾和牡蛎 5 种水产动物的基因组计划,要求建立中密度遗传连锁图谱,定位重要的经济性状基因,进行比较基因组作图。经过几年的努力,已经取得一系列成果。目前在国外已报道建立了以下一些代表性鱼类的中密度遗传连锁图谱。

斑马鱼 (*Danio/Brachydanio Rerio*): 已先后发表有关斑马鱼的 12 个遗传连锁图谱,其中 Postlethwait 等^[7]发表斑马鱼第一个遗传连锁图谱,定位 39 个突变基因;接着,他们在 1998 年又创建一个以克隆基因、RAPD、微卫星和突变标记为标记的斑马鱼遗传连锁图谱^[8]。

青鳉 (*Oryzias Latipes*): Wada 等^[9]利用 161 个 RAPD 标记、3 个色素模式位点、5 个同工酶和 1 个性别决定因子构建青鳉第一个遗传连锁图谱;随后, Ohtsuku 等 (1999)^[10]和 Naruse 等^[11]又分别构建标记更多、覆盖率更大的青鳉遗传连锁图谱。

尼罗罗非鱼 (*Oreochromis Niloticus*): Kocher 等^[12]构建尼罗罗非鱼第一个遗传连锁图谱,包括 62 个微卫星标记和 112 个 AFLP 标记;随后, Agresti 等^[13]又以微卫星和 AFLP 标记构建罗非鱼的雌性和雄性两个遗传连锁图谱。

虹鳟 (*Oncorhynchus Mykiss*): Young 等^[14]以双重单倍体虹鳟为作图群体构建遗传连锁图谱,随后 Sakamoto 等^[15]以 3 个回交家系为作图群体,以微卫星标记构建虹鳟遗传连锁图谱。

斑点叉尾鲷 (*Ictalurus Punctatus*): Waldbieser 等^[16]利用微卫星标记构建斑点叉尾鲷的遗传连锁图谱,随后 Liu 等^[17]以种间杂交 (♀ 斑点叉尾鲷 × ♂ 长鳍叉尾鲷) 家系为作图群体,以 607 个 AFLP 标记构建斑点叉尾鲷遗传连锁图谱。

我国孙效文等^[18]以 262 个标记构建了鲤鱼的遗传连锁图谱。到目前尚未有构建我国主要海水养殖鱼类遗传连锁图谱的报道。

由于遗传连锁图谱对养殖种类的遗传育种和良种培育具有重大的应用前景,其生物学功能包括:目标基因定位与克隆,数量性状位点 (Quantitative Trait Loci, QTL) 分析,标记辅助选育,进行比较基因组研究和遗传改良等方面;因此,我们应组织力量,分工协作,建立我国一些重要海水养殖鱼类的中、高密度遗传连锁图谱。

3 重要海水养殖鱼类分子进化系统的研究

阐明鱼类的进化系统对于持续发展鱼类的增殖和养殖事业具有重要意义。采用分子生物学技术,应用 DNA 测序技术对线粒体特定基因进行序列分析,能对一些重要经济鱼类进行分子进化系统研究。

目前,已有一些关于测定鱼类线粒体 16Sr RNA 基因序列研究我国海水鱼类系统进化的报道。例如,蒙子宁等^[1,19]通过线粒体 16Sr RNA 基因序列变异分析证实带鱼 (*Trichiurus Lepturus*) 和小带鱼 (*Eupleurogrammus Muticus*) 是不同属的两个种;又研究我国近海 8 种石首鱼类线粒体 16Sr RNA 基因序列变异,证明叫姑鱼 (*Johnius Belengerii*) 在进化上最早分化,其次是黄姑鱼 (*Nibea Albiflora*) 和白姑鱼 (*Argyrosomus Argenteus*), 而黄鱼亚科 (包括大黄鱼 *Pseudosciaena Cro-*

cea, 小黄鱼 *Pseudosciaena Polyactis*, 棘头梅童鱼 *Collicythus Lucidus*, 黑鳃梅童鱼 *C. Niveatus* 和鲢鱼 *Miichthys Miiuy* 分化最晚;周发林等(2004)^[20]通过 6 种笛鲷属鱼类线粒体 16Sr RNA 基因片段的序列比较,证明它们聚成 3 个分支,第 1 分支包括勒氏笛鲷(*Lutjanus Russelli*)、斜带笛鲷(*L. Decussatus*)和白星笛鲷(*L. Stellatus*),第 2 分支包括紫红笛鲷(*L. Argentimaculatus*),第 3 分支包括红鳍笛鲷(*L. Erythropterus*)和千年笛鲷(*L. Sebae*)。

国外在这方面的研究开展较早,亦较为深入。例如, Kocher 等^[21]在建立尼罗罗非鱼遗传连锁图谱的基础上,系统分析研究非洲 40 多种丽鱼科鱼类(*Oreochromis* 属, *Sarotherodon* 属和 *Tilapia* 属)的分子系统进化和生物多样性,并证明遗传连锁图谱、转录子类型和候选基因分析的综合运用是鉴别鱼类适应进化的分子遗传基础最有效的途径。又如 Yamamoto 等^[22]测定 mtDNA 序列(Cyto b 区)的多态性,系统研究白斑红点鲑(*Salvelinus Leucomaenis*)在远东地区 50 个自然群体的种群分子遗传分化和地理分布的关系,证明每个亚种内的遗传变异比亚种之间显著得多,因此,每个种群都可以认为是一个进化明显的单元。由于鲑鱼类具有重要经济价值,过度的捕捞和引种会使它们自然种群的遗传多样性降低,因此,有关自然种群分子遗传分化和地理分布的研究结果将为鲑鱼资源的保护、捕捞与养殖的经营管理提供重要依据。

今后,我们应借鉴国外同行的研究工作,加强重要海水养殖鱼类分子进化系统的研究,为保持鱼类优良的种质资源和遗传多样性做出贡献。

参考文献(References)

- [1]蒙子宁,庄志猛,金显仕等. 黄海带鱼、小带鱼 RAPD 和线粒体 16Sr RNA 基因序列变异分析[J]. 自然科学进展,2003,13 (11): 1 170~1 176
- [2]葛颂,洪德元. 遗传多样性及其检测方法[A]. 见:中国科学院生物多样性委员会(主编).生物多样性研究的原理与方法[M]. 北京:中国科学技术出版社,1994. 123~139
- [3]蒙子宁等. 黄海和东海小黄鱼遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 生物多样性,2003,11(3):197
- [4]王军,全成干,苏永全. 宫井洋大黄鱼遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 海洋学报,2001,23(3):89~93
- [5]杨慧荣,江世贵,苏天凤等. 黄鳍鲷两个自然群体遗传变异的 RAPD 分析[J]. 热带海洋学报,2004,23(2):55~61
- [6]杨慧荣,江世贵,周发林等. 3 个不同地理群体黑鲷遗传变异的 RAPD 分析[J]. 中国水产科学,2004,11(3):185~189
- [7]Postlethwait J H,Johnson S L, Midson C N,et al. A genetic linkage map for the Zebrafish[J]. Science, 1994,264:699~703
- [8]Postlethwait J H, Yan Y, Gates M A,et al. Vertebrate genome evolution and the Zebrafish gene map [J]. Nat. Gent., 1998,18: 345~349

- [9]Wada H, Naruse K, Shimada A,et al. Genetic linkage map of a fish, the Japanese medaka, *Oryzias latipes* [J]. Mol. Mar. Biol. Biotech., 1995,4(3):269~274
- [10]Ohtsuka M, Mahino S, Yoda K,et al. Construction of a linkage map of the medaka (*Oryzias latipes*) and mapping of the Da mutant locus defective in dorsoventral patterning [J]. Genome Res., 1999,9:1 277~1 287
- [11]Naruse K, Fukamachi S, Mitani H,et al. A detailed linkage map of medaka, *Oryzias latipes*, comparative genomics and genome evolution[J]. Genetics, 2000,154:1 773~1 784
- [12]Kocher T D, Lee W, Sobalewska H,et al. A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Genetics, 1998,148:1 225~1 232
- [13]Agresti J J, Seki S, Cnaani A,et al. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. Aquaculture. 2000,185:43~56
- [14]Young W P, Wheeler P A, Coryell V H,et al. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids [J]. Genetics. 1998,148:1~13
- [15]Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K,et al. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates[J]. Genetics, 2000,155:1 331~1 345
- [16]Waldbieser G C, Bosworth B G, Nonneman D J, et al. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Genetics, 2001,158:727~734
- [17]Liu Z J, Karsi A, Li P, et al. An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family [J]. Genetics. 2003, 165: 687~694
- [18]孙效文, 梁利群. 鲤鱼的遗传连锁图谱 [J]. 中国水产科学, 2000,7(1):1~5
- [19]蒙子宁,庄志猛,丁少雄等. 中国近海 8 种石首鱼类的线粒体 16Sr RNA 基因序列变异及其分子系统进化[J]. 自然科学进展, 2004,14(5):514~521
- [20]周发林,江世贵,苏天凤等. 6 种笛鲷属鱼类线粒体 16Sr RNA 基因片段的序列比较[J].中国水产科学,2004,11(2):99~103
- [21]Kocher T D, Albertson R C, Carleton K L, et al. The genetic basis of biodiversity:genomic studies of cichlid fishes [A]. In: Aquatic Genomics:Steps Toward a Great Future [M]. N. Shimizu, et al. Tokyo:Springer, 2002,pp. 35~44
- [22]Yamamoto S, Morita K, Kitano S, et al. Phylogeography of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) inferred from mitochondrial DNA sequences[J]. Zoological Studies, 2004,21(2): 229~240

(责任编辑 苏 青)

·科技动态·

美国计划建立轻便、安全核电站

据英国 2004 年 9 月 4 日《新科学家》报道,美国能源部正在开发一种核电站,该核电站能够供应发展中国家所需的电力,而不会利用其副产品来制造核武器的风险。Lawrence Livermore 国家实验室的开发者克雷格·史密斯说,以小巧、密封、可运输、自治而著称的该核电站(SSTAR),能够持续产生接近 30 年的电力,当其燃料用

尽时能够循环恢复能量,而不需要添加燃料或维护。开发者还号称,没有人能够从该核电站中窃取裂变材料,因为它的堆芯是装在一个有警报装置的中子反射镜桶里面。美国能源部希望 2015 年建成该核电站的模型。

(胡春华 译)