

张国松,侯新远,尹绍武,等. 黄颡鱼属(*Pelteobagrus*) 鱼类遗传多样性的研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):174-179.

黄颡鱼属(*Pelteobagrus*) 鱼类遗传多样性的研究进展

张国松¹, 侯新远¹, 尹绍武¹, 贾一何¹, 祝 斐¹, 胡亚丽¹, 周国勤², 茆建强²

(1. 南京师范大学生命科学学院/江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 江苏南京 210023;

2. 江苏省南京市水产科学研究所, 江苏南京 210036)

摘要:分别从表型、染色体、蛋白质、DNA 等 4 个层次简要概述黄颡鱼属鱼类遗传多样性的研究进展,为今后开展黄颡鱼属种质资源保护和遗传育种研究提供参考。

关键词:黄颡鱼属鱼类;遗传多样性;种质资源

中图分类号: Q959.4;S917.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0174-05

遗传多样性(genetics diversity)为生物多样性的的重要组成部分,是物种多样性、生态系统多样性和景观多样性的基础,也是生命进化和适应的基础;种内遗传多样性越丰富,物种对环境变化的适应能力也越强。遗传多样性体现在种群水平、个体水平、组织和细胞水平以及分子水平上。通常所指的遗传多样性是指种内的遗传多样性,即种内个体之间或一个群体内不同个体的遗传变异总和,主要包括表型多态、染色体多态、蛋白质多态以及 DNA 多态。开展鱼类遗传多样性的研究可以反映鱼种的进化历史,为分析其进化潜力提供参考,还有助于对物种稀有或濒危的原因进行研究,为物种保护提供参考^[1-3]。近年来,由于人类活动的不断加剧,过度捕捞、掠夺性开发、水环境的污染和破坏、养殖群体近亲繁殖、外来种入侵等原因,鱼类资源日益衰退,许多重要的经济鱼类已经不再形成渔汛,而且种质资源在不断退化^[3-4]。黄颡鱼是黄颡鱼属(*Pelteobagrus*)鱼类的总称,隶属于鲶形目(Siluriformes)鲿科(Bagridae)。如今黄颡鱼的天然种群数量不断减少,捕捞的黄颡鱼个体偏小,因此,充分了解黄颡鱼的种群结构、群体遗传多样性、生活环境状况等,对其进行保护性开发具有重要意义。本文分别从表型、染色体、蛋白质、DNA 等 4 个层次简要概述国内外黄颡鱼遗传多样性的研究进展,为今后开展黄颡鱼的种质资源保护和遗传育种提供参考。

1 黄颡鱼属鱼类的种类、分布及生态概要

黄颡鱼属鱼类种类多样,有黄颡鱼(*P. fulvidraco*)、瓦氏黄颡鱼(*P. vachelli*)、长须黄颡鱼(*P. eupogon*)、中间黄颡鱼(*P. intermedius*)、光泽黄颡鱼(*P. nitidus*)。近年来,黄颡鱼消费量急剧增加,其肉质细嫩,少鱼刺,味鲜美,颇受消费者青睐,有较高的经济价值。黄颡鱼广泛分布于长江、黄河、珠江及黑龙江各水域,具有一定的天然产量,但目前资源呈下降趋

势。因其具有饲养成活率高、适应能力强、生长快、经济价值高等特点,已成为重要的淡水鱼类养殖对象^[5-8]。

在人工繁殖和人工养殖的基础上,国内学者研究黄颡鱼种内和种间杂交,探寻其杂交优势^[9-16],但新品种流入自然界后,在一定程度上影响了黄颡鱼的种质资源;且由于捕捞量的加大、产卵场遭到破坏、水体污染日益严重等导致野生黄颡鱼有效种群缩小,使得有效等位基因更容易丢失,容易发生近交衰退现象和“瓶颈”效应,从而导致群体遗传多样性降低。因此,保护黄颡鱼遗传多样性不容忽视。

2 黄颡鱼遗传多样性的研究概况

2.1 表型水平

在形态学水平上,利用表型性状来研究遗传多样性具有简便、快速、易行的特点,可以在短期内对所研究物种的遗传变异水平有一个基本的认识。但是,有些情况下表型变化并不能真实反映遗传变异状况,因为表型性状经常受环境因素的影响而发生变化,若要更加准确了解种群的遗传变异状况,仅依赖表型性状是不够的,还必须进行更深层次的研究,并加以比较和验证。与其他生物相比,鱼类的性状是多变的,多数性状属于数量性状,然而人们对控制鱼类性状基因这方面的了解并不多。鱼类种内遗传变异是多水平的,体现在不同的地理种群间和群体内、不同个体间和个体内,不同性状在不同水平上的变异程度也不同^[17]。黄颡鱼的生存适应力较强,在中国分布较广,其表型多样性丰富(表 1)。

黄颡鱼的表型多样性还体现在不同水平上的种群大小、地理分布、生长发育、繁殖周期、产卵量等方面。如光泽黄颡鱼、黄颡鱼雌鱼产卵期 5—6 月,而瓦氏黄颡鱼雌鱼产卵期 4—5 月;黄颡鱼广布于各水系(除西部高原及新疆外);中间黄颡鱼分布区域北起闽江,南至珠江水系及海南岛;长须黄颡鱼分布于长江水系;瓦氏黄颡鱼分布区域北起黄河,南至珠江水系;光泽黄颡鱼北起黑龙江,南至闽江水系^[19]。Liu 等分别对洞庭湖水系沅水和澧水的 2 个黄颡鱼群体进行形态学特征研究,得出沅水和澧水的黄颡鱼在体长/头长、体长/尾柄高、头长/吻长 3 个比例性状上存在显著差异($P < 0.05$)^[20-21]。

2.2 染色体水平

染色体是基因携带者,染色体变异必然导致遗传变异发生,是生物遗传多样性的重要来源。染色体变异主要表现

收稿日期:2013-07-19

基金项目:江苏省南京市科技计划发展项目(编号:201201030);江苏省水产三新工程重大项目(编号:D2013-2-1)。

作者简介:张国松(1989—),男,山东曹县人,硕士研究生,主要从事鱼类种质资源与遗传育种研究。E-mail:1101787529@qq.com。

通信作者:尹绍武,博士,教授,博士生导师。Tel:(025)85891840;E-mail:yinshaowu@163.com。

表 1 5 种黄颡鱼的形态特征^[18-19]

种类	形态特征					
	胸鳍硬刺	个体体长	头顶	吻	触须	体色
黄颡鱼	前后缘均具锯齿	个体大,前背长大于体长 1/3	裸露	吻钝圆弧形	须粗壮,鼻须末端超过眼眶后缘	体黑褐至黄色,体侧二横二纵黑色带纹 3 块斑
长须黄颡鱼	前缘锯齿细小,后缘锯齿强壮	个体小,前背长小于体长 1/3	裸露	吻钝弧形	鼻须末端接近胸鳍起点	体黄色,体侧有宽而长的黑色斑纹
中间黄颡鱼	前后缘均具锯齿	前背长大于体长的 1/3	裸露	吻部背视略圆钝	触须细弱	体侧无黄色细带纹,仅有 2 暗色斑块
瓦氏黄颡鱼	前缘光滑,后缘锯齿	个体大,体长	覆盖薄皮	吻钝圆弧形	须发达,青黑色,颌须长于头长且伸过胸鳍起点	体青灰色,黄绿色,体侧淡黄或青灰色
光泽黄颡鱼	前缘光滑,后缘锯齿	个体小,体延长	裸露	吻稍尖突出	须较短,颌须短于头长	体黄色,体侧有 2 暗色斑块

在染色体组型特征的变异,包括染色体数目变异(整倍体、非整倍体)和染色体结构变异(缺失、易位、倒位、重复);染色体水平上的多样性表现在染色体的形态(着丝点位置)、缢痕和随体等核型特征上^[17]。从 20 世纪 60 年代开始,国内外学者先后将压片法、胚胎细胞-低渗-空气干燥法、外周血淋巴细胞(或肾短期)培养-低渗-空气干燥法、肾细胞 PHA 活体注

射-空气干燥法(或火焰干燥法)等多种方法用于鱼类染色体标本制备,使鱼类染色体的研究工作得到迅速发展;同时,一些显带技术如 CMA 荧光染色、Ag-NORs、C-带和复制带等在鱼类染色体上获得了成功。随着染色体分析技术的发展与应用,在鱼类染色体水平上将揭示出更加丰富的遗传多样性^[2-4]。对于黄颡鱼染色体的报道多在核型研究上(表 2)。

表 2 黄颡鱼属鱼类染色体核型比较

种类	样品来源	染色体数目 2n (条)	染色体臂数	核型公式
黄颡鱼 ^[22]	黑龙江省兴凯湖	52	92	—
瓦氏黄颡鱼 ^[23]	长江和池塘培育	52	—	—
黄颡鱼 ^[24]	黑龙江省肇东市	52	90	28m+10sm+8st+6t
黄颡鱼 ^[20]	洞庭湖水系沉水和澧水	52	84	20m+12sm+10st+10t
光泽黄颡鱼 ^[21]	洞庭湖水系沉水和澧水	52	90	24m+14sm+14st
长须黄颡鱼 ^[21]	洞庭湖水系沉水和澧水	50	84	18m+16sm+1st+2t
黄颡鱼 ^[25]	鄱阳湖	52	86	20m+14sm+14st+4t

通过不同地域的黄颡鱼染色体研究报道的差异充分体现了黄颡鱼的遗传多样性。刘汉勤等基于性染色体的遗传机制,为获得经济价值高的全雄黄颡鱼 XY,采用激素性逆转结合雌核发育技术,从 XY 雌鱼产生 YY 超雄黄颡鱼,现已投入生产全雄黄颡鱼当中^[26-27]。目前,关于黄颡鱼种间及种内各地种群间的染色体比较研究还比较少,也没有良种选育与细胞遗传学之间内在联系的研究,因此利用黄颡鱼染色体分析其遗传多样性的研究还有待于进一步深入。

2.3 蛋白质(酶)水平

鱼类蛋白质遗传多样性的研究主要集中在同工酶、血红蛋白、血清蛋白、肌肉蛋白等方面。同工酶是存在于生物的同

一属或同一个体的不同组织,甚至同一组织或同一细胞中,催化同一种化学反应,但酶分子结构有所不同的一组酶在发育分化及代谢调节中必不可少。鱼类同工酶差异是鱼种间不同生化遗传结构的反映,已广泛应用于鱼类的物种及杂种鉴定、种质资源保护和遗传多样性研究等方面^[2]。虽然同工酶电泳技术从 20 世纪 80 年代开始就被广泛应用于鱼类遗传多样性的研究中,但关于黄颡鱼的研究报道从 2000 年才出现(表 3)。

2.4 分子(DNA)水平

表型水平、蛋白质水平、染色体水平都是基因表达型的标记,可利用的多态位较少,易受环境影响;而 DNA 多态性信息储存在基因组 DNA 及细胞器序列中,可利用的多态位多,不

表 3 同工酶技术应用于黄颡鱼遗传多样性分析的现状

种类	同工酶种类	同工酶组织	结果
黄颡鱼 ^[28]	LDH、MDH、SOD、EST	眼、心脏、肾脏、肝脏、肌肉、尾鳍	同工酶 EST、SOD、MDH 具有显著的组织特异性
黄颡鱼、长须黄颡鱼、光泽黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼 ^[29]	LDH	血液、肌肉、肝脏	黄颡鱼、长须黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼亲缘关系较近
黄颡鱼 ^[30]	血清蛋白、EST、Hb	血液	雌雄个体血清蛋白间存在明显差异,利用 EST 同工酶可区分黄颡鱼性别,Hb 同工酶则不能
黄颡鱼 ^[31]	ADH、EST、GDH、IDH、MDH、LDH、POD、α-AMY、G-6-PDH、SOD	性腺、眼、肌肉、肝、心、肾	10 种同工酶均具有显著的组织特异性,其群体预期杂合度和实际杂合度分别为 0.0962 和 0.0050,黑龙江水系黄颡鱼种质较为纯化,遗传变异较低
黄颡鱼 ^[32]	MDH、ME、SOD、EST、GD	血、鳃、脑、肝、心、胃、肾、性腺、肌肉、肠、头肾、脾、膀胱	5 种同工酶均具有显著的组织特异性
黄颡鱼 ^[33]	过氧化氢酶	心脏、肝脏、鳃、肠、眼、肌肉	过氧化氢酶活性由大到小依次为心脏、肝脏、鳃、肠、眼、肌肉,存在明显组织差异性

易受环境影响。随着分子生物学的发展,从分子水平上研究生物多样性逐渐显示出其优越性,即表现在结果稳定可靠、重复性好等方面^[34-35]。目前,关于黄颡鱼 DNA 分子标记方面的研究主要集中在 mtDNA、RAPD 和 SSR 对遗传多样性、系统分类和种质鉴定等方面,而关于新型标记 SNP 等研究较少。

2.4.1 线粒体 DNA (mtDNA) 动物 mtDNA 具有母系遗传、闭环双链、分子量小及进化速度较快等特点,常被用于物种分子系统进化、种系划分、遗传多样性等研究。鱼类 mtDNA 分子大小为 13.5 ~ 19.3 kb,其基因组包括 2 个 rRNA 基因、13 个蛋白质编码基因、1 个非编码区和 22 个 tRNA 编码基因。mtDNA 进化速度为核 DNA 进化速度的 5 ~ 10 倍^[36]。mtDNA 基因组内 RNA 基因进化速度最慢,常用于种或科以上水平的监测,D-Loop 区的进化速度最快,通常用于种内、种群间的进化分析,而 *Cytb* 和 *ND* 基因的进化速度适中,适于从种间到种内水平的遗传差异检测^[37-39]。方耀林等运用 PCR 技术对位于洞庭湖、涨渡湖、长湖黄颡鱼 mtDNA *ND1/2* 基因进行扩增,并结合 RFLP 技术检出 15 种单倍型,3 个群体单倍型间的遗传距离为 0.20% ~ 2.08%,说明长江中游黄颡鱼自然群体种群遗传结构有差异,但遗传距离不大^[40]。丁言伟等对黄颡鱼属鱼类 mtDNA 的 *ND4* 基因进行测序分析,阐明了 5 种黄颡鱼遗传变异和系统发育的关系,通过遗传距离比较发现瓦氏黄颡鱼和光泽黄颡鱼的关系更近,黄颡鱼、长须黄颡鱼和中间黄颡鱼三者关系更近^[41-42]。李林等对瓦氏黄颡鱼线粒体基因组全序列进行扩增测序,并从线粒体基因组水平阐述了鲮科鱼类在鲮形目的系统进化地位,得出拟鲮属与黄颡鱼属的关系较近;瓦氏黄颡鱼与光泽黄颡鱼关系近于黄颡鱼^[43],这与丁言伟等的结论^[41-42]一致。库喜英等对中国长江、珠江、闽江、辽河、韩江和富春江 6 个水系的黄颡鱼线粒体 *Cytb* 基因的测序分析表明,约在 10.1 万 ~ 14.1 万年前,黄颡鱼在其分布范围内经历过群体扩张,而且中国黄颡鱼群体缺乏明显的地理结构^[44]。钟立强等对长江中下游 5 个湖泊黄颡鱼种群线粒体 *Cytb* 进行遗传变异分析,在 *Cytb* 序列中检测到 54 个变异位点,60 个样本得到 37 个单倍型,单倍型多样性为 0.945 ± 0.018,核苷酸多样性为 0.004 19 ± 0.000 43,遗传多样性表现中等;鄱阳湖和巢湖种群之间遗传距离最近(0.003 75),太湖与涌湖种群间的遗传距离最远(0.006 51);通过 AMOVA 分析表明,群体间遗传分化系数 F_{st} 为 0.068 4,群体间遗传分化极小;*Cytb* 序列构建 UPGMA 系统进化树显示,5 个种群没有分化成不同的分枝谱系,种群间存在广泛的基因交流^[45]。

2.4.2 随机扩增多态性 DNA (RAPD) RAPD 是 1990 年由 Williams 和 Welsh 领导的 2 个研究小组几乎同时发展起来的建立在 PCR 基础上的一种 DNA 分子标记技术^[46-47],尽管 RAPD 在陆生生物研究中得到了广泛应用,但我国国内对黄颡鱼的 RAPD 研究始于 2001 年^[48]。随后,肖调义等对洞庭湖黄颡鱼、长须黄颡鱼、光泽黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼进行 RAPD 分析,得出黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼遗传距离最大($D = 0.989$ 5),黄颡鱼和光泽黄颡鱼遗传距离最小($D = 0.672$ 0)^[49]。周秋白等应用 RAPD 标记分析了江西鄱阳湖的黄颡鱼和长须黄颡鱼,得出二者遗传距离为 0.158 39^[50]。赵文学等筛选出 6 个可用来准确鉴别黄颡鱼属鱼类的引物,其种间遗传距离在 0.500 0 左右波动,黄颡鱼与长须黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼与光泽

黄颡鱼之间的遗传距离最小,说明它们之间有更近的亲缘关系;另外,对黄颡鱼 ♀ × 瓦氏黄颡鱼 ♂ 杂交的 F_1 代进行 RAPD 分析,结果表明 F_1 代 DNA 多态性增强,杂合度较高^[51]。陈国生对闽江中上游 4 个黄颡鱼群体进行了 RAPD 分析,其平均杂合度为 0.301,多态位点比例为 71.9%,得出南平和顺昌群体遗传多态性高于三明和建瓯群体^[52]。祖慧琳等对江苏太湖和安徽升金湖共 4 个区域的黄颡鱼群体进行 RAPD 分析,得出 4 个黄颡鱼种群的 Shannon 指数和 Nei's 基因多样性指数都表现出和多态位点比率一致的趋势,即胥口湾黄颡鱼 > 升金湖黄颡鱼 > 东太湖黄颡鱼 > 梅梁湾黄颡鱼,太湖蓝藻水华产生的环境污染在一定程度上影响着生物多样性^[53]。

2.4.3 扩增片段长度多态性 (AFLP) AFLP 是 1993 年由荷兰 Keygene 公司科学家 Zabeau 发明的一种 DNA 分子标记技术,其基本原理是:对基因组 DNA 进行限制性酶切片段的选择性扩增^[54]。目前,关于黄颡鱼 AFLP 标记的研究报道较少,研究者专注于雌雄性别差异的标记筛选,较多地应用于黄颡鱼性别鉴定方面。鲁翠云等利用 20 个 AFLP 引物组合分析黄颡鱼雌雄个体的遗传差异,雌性和雄性黄颡鱼的 Nei's 基因多样性分别为 0.141 8、0.369 1,Shannon 信息指数为 0.209 4、0.535 0,雌雄个体间的相似系数为 0.822 5 ~ 0.988 9,遗传距离为 0.011 2 ~ 0.177 5^[55]。桂建芳等筛选出能够产生 X 染色体或 Y 染色体特异 AFLP 片段,并将其转化为 SCAR 标记测序,建立染色体基因型 PCR 鉴定方法,用于全雄黄颡鱼培育过程中的遗传性别鉴定^[56-57]。

2.4.4 微卫星 (SSR) 简单重复序列别称微卫星 DNA,SSR 序列是以 1 ~ 6 个碱基为重复单元的串联重复序列,广泛分布于真核生物基因组的编码区和非编码区。SSR 是目前较好的遗传标记技术之一,尤其适用于生物群体内的遗传多样性研究^[58]。截至目前,黄颡鱼微卫星标记用于遗传多样性研究的报道最多。许多学者应用磁珠富集法筛选出多态性较高的微卫星标记,用于分析野生黄颡鱼种群的遗传结构、亲缘关系以及人工选育良种^[59-70](表 4)。蒋鹏等通过微卫星标记探讨了具有筑巢产卵保护后代习性的雄性黄颡鱼与其所保护的子代间的亲缘关系^[61]。张秀杰在黄颡鱼微卫星标记开发的基础上,采用 AFLP 标记和微卫星标记构建了黄颡鱼的第 1 代遗传连锁图谱^[69]。

2.4.5 相关序列扩增多态性 (SRAP) SRAP 标记是 Li 等发展的一种新型的基于 PCR 的分子标记技术,该标记具有简便、稳定、产率高、便于克隆目标片段等特点,可用于不同作物的基因克隆、遗传多样性分析和基因定位等^[71-72]。葛学亮等用 SSR、SRAP 和 TRAP 等 3 种 DNA 分子标记技术构建黄颡鱼的遗传连锁图谱^[73]。辛文婷等建立了可广泛应用于黄颡鱼遗传学研究的 SRAP-PCR 扩增反应体系,筛选出 75 个 SRAP 标记,初步构建了黄颡鱼 SRAP 遗传连锁图谱,该框架图全长 1 276.2 cM,覆盖预期长度的 79.5%,标记在连锁群长分布均匀。同时,在筛选标记过程中还发现了与雌雄性别特异性 SRAP 标记,该标记序列稳定可靠,重复性强,可根据 Gene Tools 软件对该特征性 DNA 序列的相对表达量在雌雄间差异的统计分析结果,设定此 DNA 序列相对表达量(10%)作为鉴别雌雄黄颡鱼的界定参考指标,低于 10% 判定为雌

表 4 微卫星标记应用于黄颡鱼遗传多样性分析的现状

黄颡鱼样品来源	微卫星数目 (个)	有效等位 基因数(个)	多态信 息含量	期望杂合度	观测杂合度	文献来源
山东微山湖、天鹅湖、清风湖	6	3.24	0.588 9	—	0.641 8	[59]
山东东平湖	6	3.70	0.488 0	0.537 2	0.583 3	[60]
黑龙江肇东	10	11.70	0.829 2	0.847 1	0.591 1	[61]
洞庭湖	18	3.78	0.533 6	0.575 5	—	[62]
吉林月亮湖、松花江、湖北长湖、天津、 四川野生群体	40	1.96	0.340 0	0.395 0	0.478 0	[63]
长江赤水、乐山段	18	5.89	—	0.587 5	0.703 5	[64]
不详	11	6.20	—	0.784 4	0.550 2	[65]
不详	9	4.78	0.629 6	0.689 0	0.657 4	[66]
不详	12	6.60	—	0.800 0	0.720 0	[67]
长江赤水、乐山段和湖南洞庭湖	10	4.80	0.465 7	0.543 8	—	[68]
长江、黄河、珠江、黑龙江水系	20	5.40	0.653 4	0.752 1	0.599 0	[69]
湖州、澄湖、太湖、四川	7	3.14	0.408 3	—	—	[70]

鱼,高于 10% 判定为雄鱼^[74-75]。

2.4.6 其他分子标记 朱媛媛等采用 PCR-SSCP 技术对黄颡鱼 *MSTN* 基因进行单核苷酸多态性检测和分型,在第一内含子部分检测到 1 个缺失位点和 2 个突变位点(T1003del、G1022A 和 T1063G),在第三外显子部分检测到 1 个突变位点(T132C)^[76]。徐敏华等将瓦氏黄颡鱼与黄颡鱼的 GH 编码序列进行了比较,结果发现其相似率达 97.3%^[77]。梁宏伟等对黄颡鱼 *Myod* 基因进行了克隆,并分析了该基因在雌雄个体中表达的差异,认为此差异可能是造成雌雄生长差异的重要因素之一^[78]。

3 展望

近年来,黄颡鱼养殖业发展迅速,我国大部分省份都开展了黄颡鱼养殖。养殖品种主要有 4 种,即黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼、黄颡鱼×瓦氏黄颡鱼杂交种、全雄 1 号黄颡鱼;但黄颡鱼产量仍满足不了市场需求,发展空间很大。同样,黄颡鱼种质资源研究也应引起重视,结合国内外黄颡鱼遗传多样性研究现状,对今后的工作提出以下几点展望。

3.1 建立黄颡鱼种质资源基因库

建立种质资源基因库有利于开展分子生物学研究,也是鱼种资源保护的重要举措。目前,我国水质污染、过度捕捞严重,导致天然群体黄颡鱼出现严重小龄化情况,为保护野生的黄颡鱼群体,建设国家级黄颡鱼种质资源保护区刻不容缓。

3.2 制定黄颡鱼种质标准

以我国各大水系黄颡鱼为试验材料,对其生物学特性进行系统分类研究,制定黄颡鱼属种质标准,为保护黄颡鱼遗传多样性提供理论依据。

3.3 建立黄颡鱼遗传育种中心

以培育生长快、抗逆性强的优良品种为目标,系统开展黄颡鱼的育种工作,建立黄颡鱼遗传育种中心。目前,黄颡鱼×瓦氏黄颡鱼杂交种养殖比率较高,应充分开展杂交种杂交优势遗传机理研究,以培育出生长快、肉质好、抗逆性强的品种。

3.4 深度开发黄颡鱼 DNA 分子标记,建立高密度的遗传连锁图谱

目前,关于黄颡鱼 DNA 分子标记的研究主要集中在 mtDNA、RAPD、SSR、SRAP 等对遗传多样性、系统分类和种质

鉴定等方面,而关于新型标记 SNP 等研究较少。今后,有必要开发 DNA 分子标记,并在现有图谱以及对黄颡鱼基因组测序的基础上,针对黄颡鱼遗传育种上有重要价值的特定性状进行深入细致的研究,建立高密度的遗传连锁图谱。

参考文献:

[1]沈浩,刘登义. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志,2001,18(3):5-7,4.

[2]李国庆,伍育源,秦志峰,等. 鱼类遗传多样性研究[J]. 水产科学,2004,23(8):42-44.

[3]马静,安永平,王彩芬,等. 遗传多样性研究进展[J]. 陕西农业科学,2010(1):126-130.

[4]尤锋,张培军,相建海,等. 海水养殖鱼类遗传多样性的保护[J]. 海洋科学,2003(12):10-13.

[5]王令玲,仇潜如,邹世平,等. 黄颡鱼生物学特点及其繁殖和饲养[J]. 淡水渔业,1989(6):23-24,31.

[6]李明锋. 黄颡鱼生物学研究进展[J]. 现代渔业信息,2010,25(9):16-22.

[7]黄峰,严安生,熊传喜,等. 黄颡鱼的含肉率及鱼肉营养评价[J]. 淡水渔业,1999,29(10):3-6.

[8]尤新智,刘国志,窦胜平. 黄颡鱼养殖及前景[J]. 吉林农业,2012(5):179.

[9]魏刚. 瓦氏黄颡鱼与长吻鮠杂交的初步研究[J]. 淡水渔业,1987(6):14-17,49.

[10]王卫民,严安生,张志国,等. 黄颡鱼♀与瓦氏黄颡鱼♂的杂交研究[J]. 淡水渔业,2002,32(3):3-5.

[11]王峰,王武. 江黄颡鱼、黄颡鱼、粗唇鲮杂交繁育初报[J]. 水产科技情报,2004,31(1):10-11.

[12]王峰. 江黄颡鱼、黄颡鱼、粗唇鲮及其杂交 F₁ 代形态差异分析[J]. 中国农学通报,2013,29(2):36-43.

[13]何尧平,曾洁,冯军,等. 瓦氏黄颡鱼与长吻鮠杂交养殖试验[J]. 水产养殖,2008,29(5):33-34.

[14]王明宝,陈强,陈耀炳,等. 黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼杂交技术研究[J]. 现代农业科技,2012(24):273,278.

[15]秦钦,梁丹妮,王明华,等. 杂交鳢(乌苏里拟鲮♀×瓦氏黄颡鱼♂)胚胎发育的研究[J]. 南京师大学报:自然科学版,2012,35(3):81-86.

[16]王明华,蔡永祥,陈校辉,等. 乌苏里拟鲮、瓦氏黄颡鱼杂交与自

- 交子代生长性能比较[J]. 水产科学, 2013, 32(1): 50-54.
- [17] 尹绍武, 黄海, 张本, 等. 石斑鱼遗传多样性的研究进展[J]. 水产科学, 2005, 24(8): 46-49.
- [18] 李明锋. 瓦氏黄颡鱼研究进展及前景展望[J]. 现代渔业信息, 2011, 26(1): 5-12.
- [19] 诸新洛, 郑葆珊, 戴定远, 等. 中国动物志: 硬骨鱼纲: 鲇形目[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 152-156.
- [20] 刘良国, 邹万生, 杨春英, 等. 洞庭湖水系黄颡鱼的形态差异及染色体组型[J]. 农业科学与技术: 英文版, 2011, 12(10): 1521-1524.
- [21] 杨春英, 贺一原, 郭沐林, 等. 洞庭湖水系沅水和澧水 2 种黄颡鱼的形态及染色体组型[J]. 湖南文理学院学报: 自然科学版, 2011, 23(4): 57-61.
- [22] 沈俊宝, 范兆廷, 王国瑞. 黄颡鱼的核型研究[J]. 遗传, 1983, 5(2): 23-24.
- [23] 蔡焰值, 蔡烨强, 何长仁. 瓦氏黄颡鱼生物学的初步研究[J]. 北京水产, 2003, 6(6): 24-29.
- [24] 薛淑群, 尹洪滨. 黄颡染色体组型的初步分析[J]. 水产学杂志, 2006, 19(1): 11-13.
- [25] 毛慧玲, 葛欣琦, 刘佳丽, 等. 鄱阳湖黄颡鱼染色体核型分析及进化地位探讨[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(6): 1222-1225.
- [26] Liu H, Guan B, Xu J, et al. Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale breeding of YY super-male and XY all-male yellow catfish [*Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson)] [J]. Marine Biotechnology, 2012, 15(3): 321-328.
- [27] 刘汉勤, 崔书勤, 侯昌春, 等. 从 XY 雌鱼雌核发育产生 YY 超雄黄颡鱼[J]. 水生生物学报, 2007, 31(5): 718-725.
- [28] 刘文彬, 陈合格, 张轩杰. 黄颡鱼不同组织中同工酶的表达模式[J]. 激光生物学报, 2003, 12(4): 274-278.
- [29] 肖调义, 陈清华, 陈开健, 等. 四种黄颡鱼乳酸脱氢酶同工酶电泳的研究[J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(1): 72-74.
- [30] 李雅娟, 赵兴文, 杨国成, 等. 黄颡鱼雌、雄个体血清蛋白、酯酶同工酶及血红蛋白的电泳分析[J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(3): 339-342.
- [31] 尹洪滨, 孙中武, 姚道霞, 等. 黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson) 同工酶分析[J]. 东北师大学报: 自然科学版, 2007, 39(3): 92-97.
- [32] 董乐, 王芳, 戴聪杰, 等. 黄颡鱼不同组织 5 种同工酶的分析[J]. 中国农学通报, 2011, 27(29): 59-63.
- [33] 孔有琴. 黄颡鱼不同器官过氧化氢酶活性比较[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(4): 2284-2285.
- [34] 闫华超, 高岚, 付崇罗, 等. 鱼类遗传多样性研究的分子学方法及应用进展[J]. 水产科学, 2004, 23(12): 44-48.
- [35] 邱芳, 伏健民, 金德敏, 等. 遗传多样性的分子检测[J]. 生物多样性, 1998, 6(2): 64-71.
- [36] Nei M, Koehn R K. Evolution of genes and proteins[M]. Sunderland MA: Sinauer, 1983: 62-88.
- [37] Ovenden J R, White R W G. Mitochondrial DNA restriction site map for *Gadopsis marmoratus*[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1988, 16(3): 355-357.
- [38] Milinkovitch M C, Ortí G, Meyer A. Revised phylogeny of whales suggested by mitochondrial ribosomal DNA sequences[J]. Nature, 1993, 361: 346-348.
- [39] Carr S M, Marshall H D. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction[J]. Can J Fish Aqua Sci, 1991, 1: 48-52.
- [40] 方耀林, 汪登强, 刘绍平, 等. 长江中游湖泊中黄颡鱼线粒体 DNA 的遗传变异[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 56-61.
- [41] 丁言伟, 彭作刚, 张训蒲, 等. 黄颡鱼属两种鱼类的线粒体 ND4 基因序列变异性分析[J]. 水生生物学报, 2006, 30(4): 413-419.
- [42] 丁言伟. 黄颡鱼属(硬骨鱼纲, 鲶科)鱼类分子系统发育及种群遗传结构的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [43] 李林, 梁宏伟, 李忠, 等. 瓦氏黄颡鱼线粒体全基因组序列分析及系统进化[J]. 遗传, 2011, 33(6): 627-635.
- [44] 库喜英, 周传江, 何舜平. 中国黄颡鱼的线粒体 DNA 多样性及其分子系统学[J]. 生物多样性, 2010, 18(3): 262-274.
- [45] 钟立强, 刘朋朋, 潘建林, 等. 长江中下游 5 个湖泊黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 种群线粒体细胞色素 b 基因的遗传变异分析[J]. 湖泊科学, 2013, 25(2): 302-308.
- [46] Williams J K, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [47] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(24): 7213-7218.
- [48] 宋平, 潘云峰, 向筑, 等. 黄颡鱼 RAPD 标记及其遗传多样性的初步分析[J]. 武汉大学学报: 理学版, 2001, 47(2): 233-237.
- [49] 肖调义, 张学文, 章怀云, 等. 洞庭湖四种黄颡鱼基因组 DNA 遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(3): 84-89.
- [50] 周秋白, 李风波, 周莉, 等. 黄颡鱼与长须黄颡鱼种间的 RAPD 标记[J]. 水生生物学报, 2006, 30(4): 482-485.
- [51] 赵文学, 杨星, 彭智, 等. 黄颡鱼属物种的 RAPD 分子鉴定及杂种遗传分析[J]. 水生生物学报, 2006, 30(1): 101-106.
- [52] 陈国生. 应用 RAPD 技术分析闽江中上游黑脊倒刺鲃和黄颡鱼遗传多样性[J]. 现代渔业信息, 2011, 26(5): 9-11, 17.
- [53] 祖慧琳, 朱煜, 郑典元, 等. 太湖蓝藻水华污染对黄颡鱼遗传多样性的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(4): 37-40.
- [54] Zabeau M. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting; European, EP0534858[P]. 2005-04-27.
- [55] 鲁翠云, 孙效文, 梁利群. AFLP 分析黄颡鱼雌雄个体的遗传差异[J]. 水产学杂志, 2007, 20(2): 24-28, 34.
- [56] 桂建芳, 王达, 毛慧玲, 等. 黄颡鱼性染色体特异分子标记及遗传性别鉴定方法: 中国, ZL200810236650.0[P]. 2008-12-04.
- [57] Wang D, Mao H L, Chen H X, et al. Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations[J]. Animal Genetics, 2009, 40(6): 978-981.
- [58] Hamada H, Petrino M G, Kakunaga T. A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1982, 79(21): 6465-6469.
- [59] 郭金峰, 王玉, 马洪雨, 等. 三个黄颡鱼群体遗传多样性及亲缘关系的微卫星标记分析[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(3): 5-8.
- [60] 马洪雨, 姜运良, 郭金峰, 等. 利用微卫星标记分析东平湖黄颡鱼的遗传多样性[J]. 激光生物学报, 2006, 15(2): 136-139.

王琳, 季国军, 赵荷娟, 等. 双孢蘑菇栽培覆土机制研究进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 179-182.

双孢蘑菇栽培覆土机制研究进展

王琳¹, 季国军¹, 赵荷娟¹, 魏启舜¹, 郑青松²

(1. 江苏丘陵地区南京农业科学研究所, 江苏南京 210046; 2. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏南京 210095)

摘要:栽培双孢蘑菇必须通过覆土才能形成子实体, 但是目前关于覆土刺激双孢蘑菇原基形成的机制还不是非常清楚。从覆土的物理性质、化学性质、微生物的作用 3 个方面阐述了覆土对双孢蘑菇子实体形成的作用, 着重介绍了覆土层中微生物与双孢蘑菇子实体形成的关系、不同覆土材料的特性及其对双孢蘑菇产量的影响, 以期对双孢蘑菇覆土机制的进一步研究提供参考。

关键词:双孢蘑菇; 原基形成; 覆土; 机制

中图分类号: S359; S646.1⁺10.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0179-04

双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*) 别称白蘑菇、蘑菇、洋蘑菇、西洋松茸, 由于其栽培起源于 300 多年前的法国, 因此又有“法国蘑菇”之称。双孢蘑菇是一种目前世界上栽培最广、规模最大、产量最多的全球性食用菌^[1], 我国是双孢蘑菇的生产大国, 出口量位居世界第一。覆土层是一种用来覆盖在培养料上的物质^[2], 当双孢蘑菇的菌丝在培养料中生长并吃透

料后, 此时在料面上覆盖 1 层覆土, 等菌丝长到覆土层后, 降低温度、增加空气和覆土层的湿度, 菌丝就开始扭结, 形成子实体原基, 原基不断生长就发育成可采收的蘑菇。双孢蘑菇子实体原基的形成过程有以下几个步骤: 首先是许多菌丝相连并扭结在一起形成一条条菌索; 然后在菌索特定部位的菌丝出现大量分支组成的菌丝团, 这就是子实体原基; 再由原基进一步分化发育成成熟的子实体^[3]。如果不覆土, 一般的双孢蘑菇就不能形成子实体原基。双孢蘑菇子实体的形成是非常复杂的生物学现象, 至今还存在许多不清楚的地方, 但是已经知道覆土在双孢蘑菇的栽培过程中起重要的作用, 因为覆土提供的双孢蘑菇生长环境的变化使得双孢蘑菇由营养生长转向生殖生长^[4], 同时覆土也是双孢蘑菇产量、质量和商业蘑菇均一性的主要影响因素^[5]。尽管覆土的确切作用机理还不是很清楚, 但人们普遍认为是覆土层特定的物理特性、化学性质和微生物的活动对双孢蘑菇子实体的形成起作用^[6]。

收稿日期: 2013-07-22

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金重大体系专项[编号: CX(12)1002、CX(12)3023]。

作者简介: 王琳(1980—), 女, 江苏泰兴人, 博士, 助理研究员, 主要从事秸秆综合利用、食用菌栽培、菌物中活性成分的研究。
E-mail: njwanglin0421@gmail.com。

通信作者: 郑青松, 江苏涟水人, 博士, 副教授, 主要从事农业资源利用研究。E-mail: qszheng@njau.edu.cn。

[61] 蒋鹏, 尹洪滨, 张研, 等. 雄性普通黄颡鱼与所保护受精卵间的亲缘关系分析[J]. 动物学报, 2008, 54(5): 798-804.

[62] 刘臻, 鲁双庆, 张建社, 等. 黄颡鱼微卫星标记筛选及特征分析[J]. 农业生物技术学报, 2008, 16(4): 604-609.

[63] 李大宇, 殷倩茜, 侯宁, 等. 黄颡鱼 (*Pelteobagrus eupogon*) 不同生态地理分布群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(4): 460-469.

[64] Hu G F, Liang H W, Li Z, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in the yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. Conservation Genet Resour, 2009, 1(1): 63-66.

[65] Zhang X J, Li Y, Gao Z X, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. Conservation Genet Resour, 2009, 1(1): 313-315.

[66] Kong Y, Guo B Y, Xie C X, et al. The isolation via enrichment and characterization of 9 dinucleotide microsatellite markers in *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. Conservation Genet Resour, 2009, 1(1): 353-355.

[67] Feng X Y, Li Z Q, Xie N, et al. Isolation and characterization of twelve novel microsatellites in yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. Conservation Genet Resour, 2009, 10(3): 755-757.

[68] 吴勤超, 梁宏伟, 李忠, 等. 黄颡鱼微卫星标记的筛选及三个野生群体的遗传结构分析[J]. 生物技术通报, 2010(3): 154-159, 163.

[69] 张秀杰. 黄颡鱼微卫星标记的开发及其遗传连锁图谱的构建[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.

[70] 王婷婷, 宋学宏, 许爱国, 等. 应用微卫星标记分析 4 个黄颡鱼群体的遗传多样性[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(4): 41-45.

[71] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 455-461.

[72] 郑学项, 冯素萍, 李维国. DNA 分子标记研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(26): 12420-12422.

[73] 葛学亮, 尹洪滨, 毕冰, 等. 黄颡鱼遗传图谱构建及生长相关性状的 QTL 定位[J]. 水产学报, 2010, 34(2): 185-193.

[74] 辛文婷, 孙中武, 尹洪滨, 等. 黄颡鱼雌雄差异的 SRAP 标记[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(5): 112-113.

[75] 辛文婷. SRAP 遗传图谱的构建[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.

[76] 朱媛媛, 梁宏伟, 李忠, 等. 黄颡鱼 MSTN 基因多态性及其与生长性状的相关性分析[J]. 遗传, 2012, 34(1): 74-80.

[77] 徐敏华, 龙丽娜, 王悦如, 等. 瓦氏黄颡鱼生长激素基因克隆及其组织特异性表达分析[J]. 水产学报, 2012, 36(5): 652-662.

[78] 梁宏伟, 李忠, 邹佳伟, 等. 黄颡鱼 *MyoD* 基因的克隆及其表达[J]. 武汉大学学报: 理学版, 2012, 58(4): 347-353.