

20种鲤科鱼类同工酶的表型 分析及有关进化问题的探讨*

朱 蓝 菲 陈 湘 彝 王 祖 熊

(中国科学院水生生物研究所)

提 要

本文对20种鲤科鱼类的同工酶表型进行了分析比较。鲈亚科中存在几种不同的LDH同工酶表型,以各种LDH同工酶表型所组成的一些类群,反映出亚科水平中属间的亲缘关系。按同工酶的表型可将它们分为4个类群,这些类群的划分和进化趋异的过程是与经典的系统分类相一致的。按LDH同工酶表型的异同可将鲈亚科、密鲈亚科和鲢亚科的鱼类划分成两个主要的支系。一支鱼类是具有相同迁移率的LDH-A₄同工酶,其中包括鲈亚科的多数鱼类,由LDH同工酶的表型推断它们与雅罗鱼亚科有较密切的亲缘关系;另一支鱼类则是具有相同迁移率的LDH-B₄同工酶,其中包括密鲈亚科和鲢亚科的鱼类,结果表明这支鱼类与鲈亚科亲缘关系比较密切。

前 言

生化遗传学的研究,为探讨生物进化提供了可靠的分子遗传信息。用生化遗传学方法来研究鱼类的系统发育已有了不少报导。不少研究表明生化分类与经典分类的结果基本上是一致的^[4,5,9],因而它被用来检验由形态解剖资料所建立的系统分类是否正确。山口胜己(1975)^[8]曾用血红蛋白的电泳图谱对鲑鳟鱼类进行了分类。Wilson (1964)^[12]对乳酸脱氢酶(LDH)的性质进行了系统的比较,发现脊椎动物中不同纲的A、B亚基具有非常不同的氨基酸顺序,关系密切的种类氨基酸顺序非常相似。Page (1973)^[7]用同工酶来研究鳟鲑类的亲缘关系,提出苹果酸脱氢酶同工酶进化的趋向是与LDH同工酶一致的。国内,陈湘彝等^[1]通过骨骼等一系列形态学方面的比较,对鲤科的科下类群及其系统发育关系进行了研究。指出在雅罗族的鱼类中,雅罗鱼亚科是较原始的一支;鲈、鲮、鲢三亚科的鱼类则组成较进化的另一支。但用生化的方法来研究鲤科鱼类的分类系统国内尚未见报导。作者曾对几种鲤科鱼类及四组不同的杂交组合进行了LDH同工酶谱的分析比较,发现在雅罗鱼亚科、鲈亚科、密鲈亚科和鲢亚科的鱼类中谱型的异同与亲缘的远近有一定关系^[1]。本文在这基础上又补充了一批分析资料,对酶谱的比较方法进行了改进,并对这

* 在收集鱼类标本的过程中得到了罗云林、乐佩琦、张伟和蔡鸣俊等同志的大力协助,在此表示谢意。

(1) 陈湘彝、乐佩琦、林人端:鲤科的科下类群及其系统发育关系(手稿)。

些鱼类在进化中的亲缘关系进行了初步的探讨。

材 料 和 方 法

实验用鱼的分类,均按“中国鲤科鱼类志”^[2]。采集地点列于表1。样品不能及时进行分析时用低温保存。野外采集时,在保温瓶内加冰块和食盐(3:1),以便降低保存样品的温度;若需较长时期保存样品时则放入液态氮中。每尾鱼取样后用福尔马林固定以备查证。

表1 鱼类样品的采集地

亚 科	属	种	采集地
雅罗鱼亚科 (Leuciscinae)	鳙鱼属	鳙鱼 <i>Ochetobius elongatus</i>	湖北宜昌,武汉东湖 内蒙岱海
	雅罗鱼属	瓦氏雅罗鱼 <i>Leuciscus waleckii</i>	
鲃亚科 (Cultrinae)	细鳞属	线细牙鲃 <i>Rasborinus lineatus</i>	广西南宁
	鳊属	长春鳊 <i>Parabramis pekinensis</i>	武汉东湖,湖北宜昌
	鲃属	红鳍鲃 <i>Culter erythropterus</i>	武汉东湖,本所鱼池
	鲃属	团头鲃 <i>Megalobrama amblycephala</i>	武汉东湖,本所鱼池
	红鲃属	戴氏红鲃 <i>Erythroculter dabryi</i>	武汉东湖,本所鱼池
		蒙古红鲃 <i>Erythroculter mongolicus</i>	武汉东湖
		翘嘴红鲃 <i>Erythroculter ilishaeformis</i>	武汉东湖
	似鲃属	海南似鲃 <i>Toxabramis houdemeri</i>	广西南宁
	鲮条属	鲮条 <i>Hemiculter leucisculus</i>	广西桥圩,本所鱼池
		贝氏鲮条 <i>Hemiculter bleekeri bleekeri</i>	湖北宜昌
	鲮鱼属	银鲮 <i>Parapelecus argenteus</i>	广西南宁
		寡鳞鲮 <i>Parapelecus engraulis</i>	湖北宜昌
密鲮亚科 (Xenocyprininae)	鲮属	银鲮 <i>Xenocypris argenteus</i>	湖北宜昌
		黄尾密鲮 <i>Xenocypris davidi</i>	本所鱼池
	斜颌鲮属	细鳞斜颌鲮 <i>Plagiognathops microlepis</i>	武汉东湖,本所鱼池
	似鳊属	逆鱼 <i>Acanthobrama simoni</i>	武汉东湖、湖北宜昌
鲢亚科 (Hypophthalmichthyinae)	鳊属	鳊 <i>Aristichthys nobilis</i>	本所鱼池
	鲢属	白鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	本所鱼池

LDH同工酶具有明显的组织特异性,为了使每种鱼的表型反映得更清楚,每尾鱼取4种组织:心、脑、晶状体和背部白肌。组织块的匀浆和LDH的分离及显色方法均同参考文献[1]。电泳时电压400伏,电流2.5毫安/管。

为了正确地进行比较,除了使每个样品电泳的距离相同外,我们还采用了鳊鱼晶状体的LDH同工酶做标准,因为它五条区带很清晰,就象标尺一样一目了然。用它与被分析的样品混合进行电泳,经显色后,很快就能确定每个同工酶的相对位置(图1,图2,图3)。这样避免了不同批的电泳操作所造成在迁移率上的差异。文中的2张插图就是根据这个相对位置绘制的。

在分析过程中观察到晶状体的LDH同工酶比较稳定,能代表各种鱼的LDH表型,所以本文中所出现的照片除了特别标明者外,都是晶状体的LDH同工酶。



图1 贝氏鲮条中 LDH 同工酶相对位置

A: 鳙鱼的晶状体; B: 鳙鱼的晶状体加上贝氏的晶状体; C: 贝氏鲮条的晶状体。



图2 逆鱼中 LDH 同工酶相对位置

A: 鳙鱼的晶状体; B: 鳙鱼的晶状体加上逆鱼的晶状体; C: 逆鱼的晶状体。



图3 寡鳞飘中 LDH 同工酶相对位置

A: 鳙鱼的晶状体; B: 鳙鱼的晶状体加上寡鳞飘的晶状体; C: 寡鳞飘的晶状体;

结 果

(一) 鲃亚科鱼类同工酶的表型分析

分析了鲃亚科⁽¹⁾中 8 个属的 12 种鱼类。按 LDH 同工酶的表型, 可将这些鱼划分为四个类群:

第一类是线细牙鳊(细鳊属)。所分析到的样品中属于这一类的只有这一种。根据形态解剖方面的材料认为它是具有较多原始性状的鱼类, 是鲃亚科中最原始的类群⁽¹⁾。图谱中每个同工酶间隔较大, 比较特殊的是在照片中可清楚的看到出现了六条区带(图 4: D)在异聚体 A_2B_2 处出现了两条色带。这种情况在欧鳊(*Abramis*)的同工酶谱中也曾出现过^[8], 这可能因存在两个 A_2B_2 同分异构体所致。

通过反复的比较, 发现线细牙鳊却与雅罗鱼亚科中的瓦氏雅罗鱼的 LDH 表型相似, 从不同的组织中也可清楚地看出这一点(图 4)。它们中各同工酶的迁移率都相同, 只是在某些酶带的着色浓度上有所差别, 反映各同工酶活性不同。

第二类是以鲮条属的鲮条为代表。还有同一个属的贝氏鲮条和似鲮属的海南似鲮。这一类中五个同工酶较密集, 虽然电压增高了(前文为 360 伏), 分离效果有所改善, 但 A_4 、 A_3B 、 A_2B_2 三条区带还是不易完全分开(图 5: A-C)。

第三类是以飘鱼属的寡鳞飘鱼为代表。还有同属的银飘鱼。从几种不同的组织中

(1) 罗云林、乐佩琦, 1980。中国鲃亚科鱼类的系统发育关系(摘要)。中国鱼类学会 1980 年学术年会论文摘要汇编, 39—40 页。此文中将东亚水体生活的鳊列为鲃亚科, 而欧洲产的鳊类归入雅罗鱼亚科。

显出一条酶带(图6)。很难分出 A_4 和 B_4 同工酶的位置。估计这是由于 A_4 和 B_4 同工酶的性质较接近,而聚丙烯酰胺凝胶电泳对这些同工酶的分离效果较差所造成的。尽管这样,这一类鱼的 LDH 同工酶与同亚科中其它的鱼还是有明显区别的。

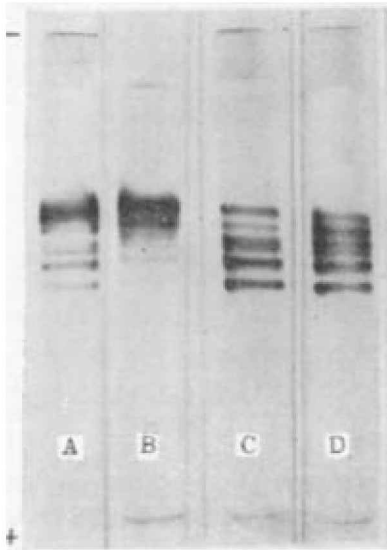


图4 瓦氏雅罗鱼与线细牙鲈的 LDH 同工酶

A 瓦氏雅罗鱼的肌肉; B 线细牙鲈的肌肉; C 瓦氏雅罗鱼的晶状体; D 线细牙鲈的晶状体。

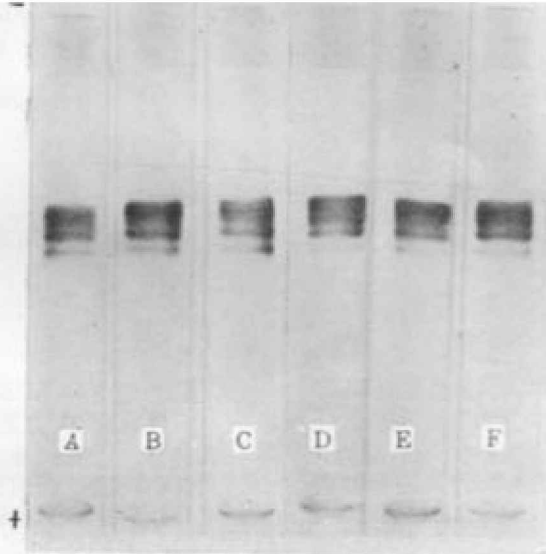


图5 鲈亚科与密鲮亚科几种鱼类的 LDH 同工酶

A: 贝氏鲮条(鲈亚科); B: 鲮条(鲈亚科); C: 海南拟鲮(鲈亚科); D: 银鲮(密鲮亚科)。

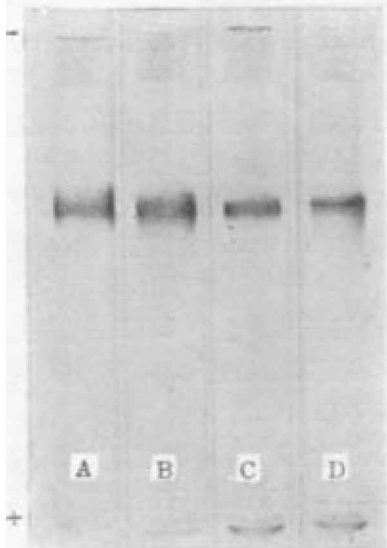


图6 寡鳞鲈鱼的四种不同组织中 LDH 同工酶

A: 肌肉; B: 心脏; C: 鳃; D: 晶状体。

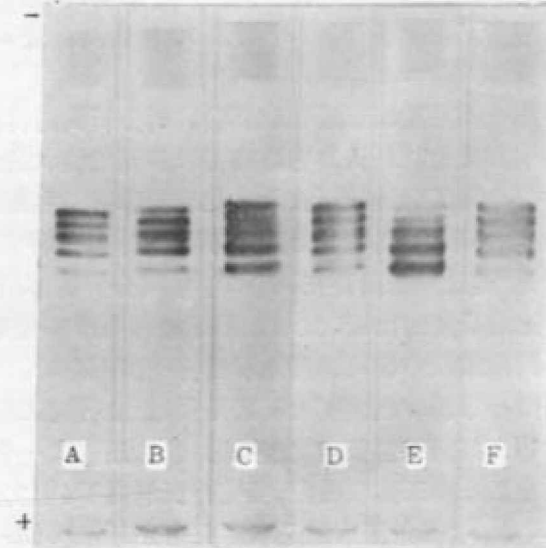


图7 以长春鲈为代表的一些鱼类中 LDH 同工酶

A: 长春鲈; B: 红鳍鲈; C: 团头鲈; D: 戴氏红鲈; E: 蒙古红鲈; F: 翘咀红鲈。

第四类是以鳊属的长春鳊为代表。还有鲃属中的红鳍鲃、鲃属中的团头鲃和红鲃属中的戴氏红鲃、蒙古红鲃和翘嘴红鲃。它们虽然表型相似,但每个同工酶的活性在不同的鱼中是有区别的(图 7)。

比较鲃亚科鱼类中这 4 种不同的 LDH 同工酶表型时,用鳊鱼晶状体的 LDH 做标准,确定每个同工酶的相对位置(图 8),发现前三个类群的鱼类都具有迁移率相同的 A_4 同工酶。而以长春鳊为代表的这个类群是比较特殊的,它除了与鲃条为代表的这一类群的 B_4 同工酶迁移率相同外与其它类群的差异都较大(图 8)。

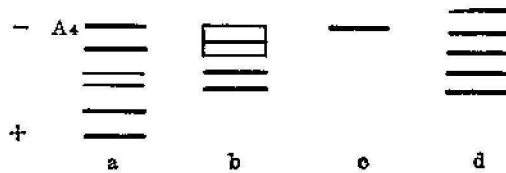


图 8 鲃亚科鱼类的 LDH 同工酶表型的比较
a: 细鳊属; b: 鲃条属, 似鲃属; c: 飘鱼属; d: 鳊属、鲃属、鲃属和红鲃属。

(二) 密鲃亚科和鲢亚科鱼类同工酶的表型分析

分析了密鲃亚科中 3 个不同属的 4 种鱼类,按 LDH 同工酶表型可将这 4 种鱼分成两个类群。一类是鲃属的银鲃、黄尾密工和斜颌鲃属的细鳞斜颌鲃。这三种鱼的 LDH 同工酶表型与鲃亚科中的鲃条、似鲃这一类群的鱼类相似(图 5)。另一类是似鳊属的逆鱼,在几种不同的组织中都只有一条区带(图 9)。这一类与鲃亚科的飘鱼属鱼类相似,用鳊鱼晶状体的样品混合进行分析,表明逆鱼和寡鳞飘鱼的 LDH 的相对位置也是接近的(图 2 及图 3)。

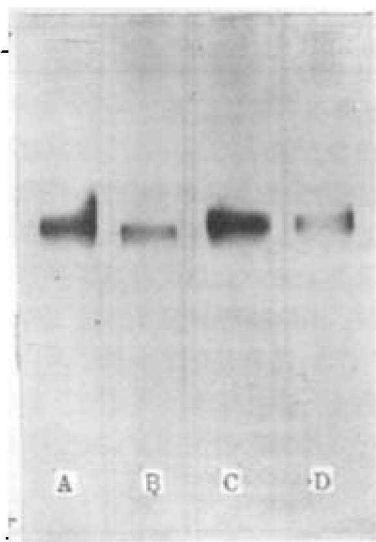


图 9 逆鱼中四种不同组织的 LDH 同工酶

A: 肌肉; B: 心脏; C: 脑; D: 晶状体。

鲢亚科中,除了鳊鱼的个别组织中出现一些附加的区带以外,这两属鱼类的 LDH 同工酶表型是一致的^[11]。

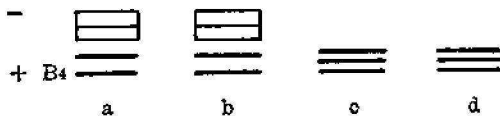


图 10 密鲃亚科和鲢亚科鱼类的 LDH 同工酶表型的比较

a: 鲃属; b: 斜颌鲃属; c: 鲃属; d: 鳊属。

将鲢亚科中的两个属和密鲃亚科中的鲃属和斜颌鲃属的鱼类进行比较,发现它们的 B_4 同工酶的迁移率是相同的(图 10)。

讨 论

Markert (1975)^[6], Whitt (1973, 1975)^[10,11]对鱼类 LDH 基因的进化进行了详细地阐述。从低等的无颌类到高等的硬骨鱼类在 LDH 的基因演变上反映出某些进化性的差异。在七鳃鳗(无颌类)中仅有一个 LDH 基因(A),经过重复和趋异作用的不断积累产生了 B 基因,到了硬骨鱼类则又发现衍生出第三个基因,即 C 基因。但是,在进化的过程中除了增加一些新的基因外,原有的 A、B 基因在硬骨鱼类中又是如何演变的呢,我们却了解得不多。Page (1973)^[7]曾在镖鲈类 (*Etheostomatini*) 的 20 种鱼类中发现有几种不同的 LDH 表型,而 B₂ 同工酶具有相同的迁移率,从而认为它是这些鱼类单系起源的证据。Rainboth(1974)^[8]对分布在北美的一些雅罗鱼类 (*Notropis* 属) 的亲缘关系进行了研究,指出 LDH 基因的 A 座位和 B 座位是判定亚属之间亲缘关系的好指标。尽管他们所研究的鱼类是不同的,但都表明 LDH 基因的演变是反映亲缘关系的。下面根据我们自己的资料来讨论这类问题。

(一) 鲈亚科各属之间的亲缘关系及其起源问题

本文从 LDH 同工酶的表型将鲈亚科的鱼类分成四种不同的类群,这些不同的同工酶表型反映了在亚科水平中属之间的亲缘关系,同一表型的鱼类亲缘关系更为密切。我们的这一结果与罗云林等⁽¹⁾根据形态学的材料划分类群所得的结果基本一致。现将上述两种结果对照如下:

根据形态学的材料所划分的类群	根据 LDH 表型所划分的类群
<ul style="list-style-type: none"> 红鲷属 白鱼属 依氏鱼属 华鲷属 鲈属 半鲈属 拟鲈属 瓢鱼属 似鲈属 罗碧鱼属 鳊属 鲂属 红鲈属 近红鲈属 	<ul style="list-style-type: none"> 细鲷属 <ul style="list-style-type: none"> 鲈属 似鲈属 瓢鱼属 <ul style="list-style-type: none"> 鳊属 鲂属 红鲈属 鲈属

除有 7 个属的鱼类因没取到样品而无法分析比较外,其他都可以看到以同工酶表型分类的结果与形态学的分类结果基本是一致的,仅似鲈属所处的位置在两种结果中有些出入,这可能是酶学与形态学指标的进化速率不同所致。

(1) 同第 147 页脚注。

以线细牙鲷、鲮条和寡鳞瓢鱼为代表的这三个类群的鱼类由于 A_4 同工酶的迁移率相同,表明这些鱼类有着一定的亲缘关系,这可能与镖鲈类中出现的情况相类似,说明它们也是单系起源的。其中较原始的种类——线细牙鲷却与雅罗鱼亚科中的瓦氏雅罗鱼的 LDH 同工酶表型相似。这两者在形态上分别属于不同亚科的鱼类,而在 LDH 基因上却反映出它们的关系较密切,表明它们是从共同的祖先进化而来的,因此我们赞同鲈亚科可能起源于雅罗鱼亚科。

(二) 密鲷亚科和鲢亚科鱼类的亲缘关系及其起源问题

密鲷亚科有两类不同表型的鱼类: 鲷属、斜颌鲷属与似鳊属,它们分别和鲈亚科中的鲮条属与瓢属这两个类群的鱼类相似,这表明鲈亚科与密鲷亚科可能有着平行发展的情况;另一方面似鳊属的逆鱼可能应该属于鲈亚科而不是密鲷亚科。这两种可能性目前很难断定,还有待进一步的研究。

鲢亚科中的两个属和密鲷亚科中二个属的鱼类都具有迁移率相同的 B_4 同工酶。据此,我们认为这两个亚科的鱼类也是单系起源的,又因密鲷亚科的鲷属和斜颌鲷属的 LDH 同工酶表型与鲈亚科的鲮条和似鲃这一类群相似,说明它们是从共同的祖先进化而来的。因此,密鲷亚科和鲢亚科的鱼类都可能起源于鲈亚科的鱼类。

(三) 从 LDH 基因演变的模式看鱼类的进化问题

本文所涉及的鱼类中,有些表现出 B 基因是保守的,有些则表现 A 基因是不变的。从这二种不同的 LDH 基因演变模式中反映出这些物种在进化中已分成两个主要的支系。一支具有 A_4 同工酶迁移率相同的鱼类,起源于雅罗鱼亚科,它反映出 B 基因变化的趋势: B_4 同工酶是最靠近阳极的,在进化的过程中有较多的碱性氨基酸被酸性氨基酸所置换,导致 B_4 同工酶的迁移率不断地减慢,直至与 A_4 同工酶的迁移率接近。因而可以认为瓢鱼属鱼类可能是其中较进化的种类。另一支是 B_4 同工酶迁移率相同的鱼类,起源于鲈亚科,它反映出 A 基因变化的趋势: A_4 同工酶是靠近阴极的,在进化过程中由于酸性氨基酸逐渐地被碱性氨基酸所置换,迁移率不断地增大,直至与 B_4 同工酶的迁移率接近。同样可以认为鲢鱼和鳊鱼是其中较进化的种类。

除了这二个主要的支系外,可能还有一些分支。如在鲈亚科这一支中以长春鳊为代表的这个类群是比较特殊的,由于它与鲮条这一类群的 B_4 同工酶在迁移率上相同,因此推测它可能是这一支系上的一个分支。象这样主支上又有分支,因而才能从纵向和横向二方面构成复杂的生物系统树。

参 考 资 料

- [1] 朱蓝非,1982. 几种鲤科鱼类及杂种的乳酸脱氢酶同工酶的比较. 水生生物学集刊,7(4):539—545.
- [2] 伍献文等,1964. 中国鲤科鱼类志(上卷). 上海科学技术出版社.
- [3] 山口勝己,1975. ヘモグロビンの泳動像かうみたサケ・マス類の分類. “魚類種族の生化学的判別” 80—98 页. 恒星社厚生閣.
- [4] Avise, J. C. et al., 1977. Biochemical genetics of sunfish IV. relationships of centrarchid genera. *Copeia*, 2: 250—258.

- [5] Ferris, S. D. *et al.*, 1973. Phylogeny of tetraploid catostomid fishes based on the loss of duplicate gene expression. *Syst. Zool.*, **27** (2): 143—274.
- [6] Markert, C. L. *et al.*, 1975. Evolution of a gene. *Science*, **189**(4197): 102—114.
- [7] Page, L. M. *et al.*, 1973. Lactate dehydrogenase isozymes, malate dehydrogenase isozymes and tetrazolium oxidase mobilities of darters (*Etheostomatini*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **44B**: 611—623.
- [8] Rainboth, Jr. W. J. *et al.*, 1974. Analysis of evolutionary relationships among shiners of the subgenus *luxilus* (teleostei, cypriniformes, *notropis*) with the lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase isozyme systems. *Comp. Biochem. Physiol.*, **49B**: 241—252.
- [9] Utter, F. M. *et al.*, 1973. Genetic variability and relationships in Pacific salmon and related trout based on protein variations. *Syst. Zool.*, **22**(3): 257—270.
- [10] Whitt, G. S. *et al.*, 1973. Developmental and biochemical genetics of lactate dehydrogenase isozymes of fishes. 243—276. In: Genetics and Mutagenesis of fish. Springer-Verlag, Berlin.
- [11] Whitt, G. S. *et al.*, 1975. Evolution of the lactate dehydrogenase isozymes of fishes. In "Isozymes IV" Genetics and Evolution (C. L. Markert, editor), 381—400. Academic Press, New York.
- [12] Wilson, A. C. *et al.*, 1964. Evolution of lactic dehydrogenase. *Federation Proceedings American*, **23**(6): 1258 - 1266.

ANALYSIS OF ISOZYME PHENOTYPES OF 20 CYPRINID FISHES AND DISCUSSION ON SOME PROBLEMS ABOUT EVOLUTION

Zhu Lanfei, Chen Xianglin and Wang Zuxiong

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

Abstract

Lactate dehydrogenase (LDH) isozymes of 20 species of *Cyprinidae* fish were analysed with disc polyacrylamide gel electrophoresis. In *Cultrinae*, there are several different LDH isozyme phenotypes which reflect the intergeneric relationships in the subfamily level. According to their isozymes phenotypes, we divide them into four groups, which show evolutionary divergence and well agree with the results of systematic studies based on their morphological and anatomical characteristics.

While in fishes of *Cultrinae*, *Xenocyprininae* and *Hypophthalmichthyinae*, the differences of LDH isozyme phenotypes may be classified into two primal branches. One branch contains most species of *Cultrinae*, they all show same electrophoretic mobility of LDH-A₄ isozyme. This character shows that the species of this branch are closely related to those of *Leuciscinae*. The second branch consists of the species of *Xenocyprininae* and *Hypophthalmichthyinae* which show same electrophoretic mobility of LDH-B₄ isozyme, this result indicates the close relationship between species of this branch and other species of *Cultrinae*.