

文章编号:1000-0615(2009)03-0364-08

## 长江、珠江、黑龙江水系野生鲢遗传多样性的微卫星分析

姬长虹<sup>1,2</sup>, 谷晶晶<sup>2</sup>, 毛瑞鑫<sup>1,3</sup>, 朱新平<sup>4</sup>, 孙效文<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所北方鱼类生物工程育种重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023;

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

4. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380)

**摘要:**采用34个微卫星分子标记,对长江(湘江、监利、枞阳)、珠江、黑龙江(抚远)鲢共5个群体的观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、多态信息含量(PIC)和有效等位基因数( $N_e$ )等进行了遗传检测,根据基因频率计算遗传相似系数和Nei氏标准遗传距离,以卡方检验估计Hardy-Weinberg平衡,以近交系数( $F_{ST}$ )和基因流( $N_m$ )分析群体的遗传分化。同时,基于Nei氏标准遗传距离获得NJ聚类图。共检测出154个等位基因,其中有80个共有基因。位点等位基因1~9个不等,平均等位基因4.6667,平均有效等位基因2.9489。5群体平均观测杂合度为0.3295~0.4619,平均期望杂合度为0.5002~0.5529,平均多态信息含量为0.4435~0.4930。表明5群体为中度多态,遗传多样性较低,且长江不同地理群体的遗传多样性也有差异,但差异不显著。通过群体间遗传相似性和遗传距离比较显示:长江3个群体间遗传相似系数最大,遗传距离最小;黑龙江与长江鲢群体间相似系数较大(平均0.8718),遗传距离较小(平均0.1374)表明二者遗传分化亦最小;珠江鲢与长江鲢间的相似系数最小(平均0.8310),遗传距离最大(平均0.1852),其遗传分化差异较大,结果未显现出群体间遗传差异的大小与其地理距离远近呈正相关。

**关键词:**鲢;微卫星;遗传多样性

**中图分类号:**Q348;S917

**文献标识码:**A

鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)又名白鲢,属鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae),鲢属,是四大家鱼之一,银灰色,喜动,在全国各大水系如黑龙江、长江和珠江等均有分布。鲢驯化的历史可以追溯到一千多年前的唐朝,现已在世界二十多个国家和地区被养殖,成为人类不可或缺的消费美食。但近几十年来,由于水质污染、大型水利工程建设及人为滥捕致使鲢的种质资源遭到破坏,渔获量明显减少<sup>[1]</sup>。2004年至2006年,长江青、草、鲢、鳊“四大家鱼”的年平均育苗发生量仅为2003年前平均值的10%。为此,人们进行了大量的基础性研究。李思发等<sup>[2-3]</sup>从形态特征、生化遗传结构与变异方面对三大水系的鲢原种种群进行了研究。随着分子生物学的发展,人们开

始用分子标记的手段来研究鲢的遗传多样性。张锡元等<sup>[4]</sup>利用RAPD技术共40个随机引物对鲢、鳊(*Anistchthys nobilis*)的DNA进行检测,同时讨论了鱼类种质资源评估和管理中的应用前景问题。张四明等<sup>[5]</sup>利用PCR技术扩增出mtDNA ND5-ND6基因,选用10种限制性内切酶对PCR产物进行酶切,从鲢中共检出18种单倍型,在草鱼中没有发现多态现象,只有一种单倍型存在,证实长江鲢的遗传多样性比草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的要丰富得多。

微卫星分子标记是共显性标记,较其他分子标记有更高的个体特异性、可重复性,在生物群体进化研究、核基因组研究、遗传连锁图谱的构建、亲缘关系鉴定、基因定位、品种鉴定等领域已得到

收稿日期:2008-06-28

修回日期:2008-12-25

资助项目:鲤科主养鱼类DNA分子标记的种质鉴定技术(2005DIB4J024)

通讯作者:孙效文, Tel:0451-84862646, E-mail:sunxw2002@163.com

广泛的应用。朱晓东等<sup>[6]</sup>利用 30 个微卫星标记研究了长江中下游 5 个群体鲢的遗传多样性。目前,对珠江、黑龙江水系野生鲢群体的遗传多样性状况及三大水系鲢遗传多样性水平还缺少了解,而且,随着南苗北运和向一些江段大量投放养殖鱼苗,对原群体的遗传影响,如可能造成种质退化和南北种群遗传混杂、差异减小等缺少合理的评价。因此,亟需调查了解三大水系野生鲢资源状况,以便对其进行有效的保护和开发利用。本文利用 34 个微卫星标记深入研究鲢的种群结构,遗

传变异来源,了解鲢的种质资源及遗传多样性特点,这将为更合理地保护长江、珠江、黑龙江三大水系鲢的种质资源的保护和合理利用提供可靠的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集及 DNA 提取

所有样品 DNA 的提取和保存参照耿波等<sup>[7]</sup>的方法。本研究 5 个鲢野生群体样本数量、采集地及采集方式见表 1。

表 1 实验用野生鲢群体样本数量、采集地及采集方式  
Tab.1 Sampling size, collection place and method of wild groups of silver carp

群体 group	样本数量 sample size	采集地 sampling location	采集方式 sampling method
湘江 XJ	20	湖南鱼类原种场湘江段 Xiangjiang River	一个采样点一次取样 one location, one time
监利 JL	35	长江四大家鱼老江河种质资源天然生态库湖 北监利 Jianli City	同上 above
枞阳 ZY	32	江苏邗江家鱼原种场安徽枞阳江段 Zongyang City	同上 above
抚远 FY	35	黑龙江抚远江段 Fuyuan County	同上 above
珠江 ZJ	30	珠江西江段(广西梧州到广东肇庆) Xijiang of Pearl River	历时 4 d 在广东肇庆、郁南及广西梧州的渔船上 collected from fishing boats of Zhaoqing, Yunan and Wuzhou fishermen

### 1.2 引物的筛选及群体的扩增

本文选择 34 对微卫星引物对鲢的 5 个群体进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应体系为 15  $\mu$ L, 其中含 DNA 模板 1  $\mu$ L (20 ~ 30 ng/ $\mu$ L), 10.8  $\mu$ L PCR Buffer (含 dNTP 2 mmol/L、Mg<sup>2+</sup> 25 mmol/L), 上下游引物各 0.6  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/ $\mu$ L), *Taq* polymerase 0.6 U, 加适量 ddH<sub>2</sub>O。PCR 扩增反应均在 PE9700 型 PCR 仪上完成, 反应程序如下: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 20 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 引物的序列及退火温度等信息见表 2。

### 1.3 数据统计与分析

PCR 产物通过 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 用 GelPro (version 4.5) 软件处理电泳图谱, 获得个体的基因型, 通过 PopGen (version 1.32) 软件统计 34 个微卫星位点上的等位基因数 (allele,  $A$ )、有效等位基因数 (effective numbers of allele,  $N_e$ )、多态位点百分率 (percentage of polymorphic)、观察杂合度 (observed heterozygosity,  $H_o$ )、期望杂合度 (expected

heterozygosity,  $H_e$ )、多态信息含量 (polymorphic information content,  $PIC$ )、近交系数  $F_{ST}$  值、基因流 (gene flow)、Hardy-Weinberg 卡方检验  $P$  值、遗传相似系数 (genetic identity,  $I$ ) 和遗传距离 (genetic distance,  $D_n$ )。并根据 Nei 氏遗传距离通过 MEGA3 (version 2.1) <sup>[12]</sup> 软件利用 NJ (Neighbor Joining) 聚类法构建系统树。

## 2 结果

### 2.1 PCR 扩增结果

34 个微卫星标记中除 hmo2 座位在抚远、珠江两群体中无扩增产物以外, 其余均能较好地扩增出目的条带。每个座位检测到 1 ~ 9 个等位基因不等。其中 BL15 为单态座位; Hljy3940 在湘江、枞阳群体中为单态; Hljy59 在抚远群体中为单态; Hmo36 在监利、枞阳和抚远群体中表现为单态; B158 仅在枞阳群体中表现为单态。其余 30 个标记均不同程度上表现为多态, 占位点总数的 88%。图 1 为引物 hmo15 在 5 个群体的 PCR 扩增结果。

表 2 微卫星引物信息表  
Tab.2 Characterization of SSR primers

序号 number	微卫星标记 microsatellite markers	引物序列 primer sequences	扩增片段大小 (bp) clone size	复性温度(°C) annealing temperature	标记来源 source of markers
1	Hljy1718	F: GATAATGATGAGTGAGGGAG R: ACAACAGGAGGAAAAGACA	160	52	1~9 号引物为本实验室克隆鱮微卫星 <sup>[8]</sup> 1-9 markers were accessed from bighead carp genome by Lu <i>et al.</i> <sup>[8]</sup>
2	Hljy2324	F: GATTCATTCAAGCCTGTC R: TTACTGCACGTATAAECTCG	189	52	
3	Hljy2526	F: AACAGCCACATAACCAAT R: AGATAGCCGTTGTCAATC	243	52	
4	Hljy2728	F: ACATGGGATTAACCTGGT R: CACAATAAGGTGCTCCAT	181	48	
5	Hljy3536	F: GCATTCTTTGTGGGGATA R: GTGCCGCATTAAGGTTAT	187	50	
6	Hljy3940	F: GAACGCTCTACGGAATGG R: TCCTGTTACACTATCTGGGT	240	52	
7	Hljy4344	F: GAGGTATGTTTCTTTCGGTC R: TGGAATGAAAAAGGACTG	205	48	
8	Hljy59	F: tgaagatgctttgtccc R: gatggtggtgctgtttgt	201	50	
9	Hljy77	F: ggagcttctgtgcttgaacc R: agtcacgctcatgacaatgc	204	52	
10	hljl-11	F: GTCAACACTGCACCCATGTC R: ACCGCCCTCTCATTAATCCT	216	58	10~13 为鲁翠云等 <sup>[9]</sup> 筛选 10-13 markers were selected by Lu <i>et al.</i> <sup>[9]</sup>
11	hljl-19	F: AAAGCAACACTCCGCAGAAG R: TCAGAATGAACGTGATGCCCA	142	59	
12	hljl-24	F: CAAACTGGAGACGCAGTCAA R: CGCAACATTTTCATCTGCTG	267	58	
13	hljl-41	F: GCAGGATGAGGAGAATTCCA R: AGAGAGTAGCGTTGGCTTGC	154	60	14~26 号为 Gheyas 等 <sup>[10]</sup> 发表 14-26 markers were quoted from Gheyas <i>et al.</i> <sup>[10]</sup>
14	hmo-1	F: TGTTCGCCCACTGTCCAGAGT R: GCAGTGTAGTTTCCCCAAAAGACT	165	62	
15	hmo-3	F: GTTACCGAAAAGCGAAACCACAC R: GAGCATGAAGTATTTCCCACTACA	172	62	
16	hmo-11	F: CTGCTTGATCACAGGGTTTG R: CCTTACAGATAGACAGATAITCAG	154	60	
17	hmo-13	F: AAACCTGGAAGATGTTCACTGAAT R: GCGCGAGTGTGTAAGTCTG	164	60	
18	hmo-15	F: TCCTGGAACAGAACCCACTGA R: ATTCGTGCACCATCGCTAAAG	149	60	
19	hmo-25	F: TGIGCTGCATTTTCACTTCA R: TTCTTACTATCCACATTTGTTGATG	142	60	
20	hmo-26	F: GATTTCAGGCACATTTGCTTAICT R: GAGCGTTTCTCATTTGIACTAATTT	185	60	
21	hmo-31	F: TCCACAGAAGAAAGAAAGTCT R: CTCAGAGGAAGGAGATGCT	131	57	
22	hmo-33	F: GTGCAGCAGTATGGAATCAGGACAC R: GTGCTTCGGGATACCACACTTTG	96	59	
23	hmo-34	F: GTTCCCTGAGGCTTTACAA R: GGGTCATTAATCCTTCACTTT	131	59	
24	Hmo-36	F: ATCGGAGGAGTGTGTTTCACTGGA R: ACGATTTGTTGCCGAACGGTTGAT	209	63	
25	Hmo-37	F: CACAGCGGAGGGGCAAAGGTC R: GGACGCCGTGTGACTGGAGATTTT	168	63	
26	hmo-39	F: ACAGTTATGAGCTAGCAGCAGTTTCT R: TACGTCGTAATACCAGTGTAATACCC	140	59	

· 续表 2 ·

序号 number	微卫星标记 microsatellite markers	引物序列 primer sequences	扩增片段大小 (bp) clone size	复性温度(°C) annealing temperature	标记来源 source of markers
27	BL5	F: CCTGTGCCTTTGAACTCTGA R: CCCTCCACCATACTGACAAG	403	52	27 ~ 34 廖梅杰等 <sup>[11]</sup> 发表 27 - 34 markers were selected by Liao <i>et al.</i> <sup>[11]</sup>
28	BL15	F: TACTGATACTCCGTCCT R: GCACCTGTAATCCCAAAT	191	54	
29	BL18	F: CGAGACAAATAAGGTTGGATA R: CACAAAGAACTGGAACAAAGAG	229	52	
30	BL55	F: AAGGAAAGTTGGCTGCTC R: GGCTCTGAGGGAGATAACCAC	220	52	
31	BL58	F: TTCCTGCCTGTGCTCCAT R: TTGCATTGATGCTGTCCC	123	52	
32	BL69	F: CTCGTCTCGTCTTGTA R: GGTGGTCATAATCACCATTCC	320	52	
33	BL101	F: CCATCAGACAGCCAAAGACAA R: TGAAGGCAAGTCAAGGTTTT	333	54	
34	BL106-2	F: TTTAATTCTTCTAGCTGGACACG R: CACTCCTCTCCCTCGTAAAT	232	54	

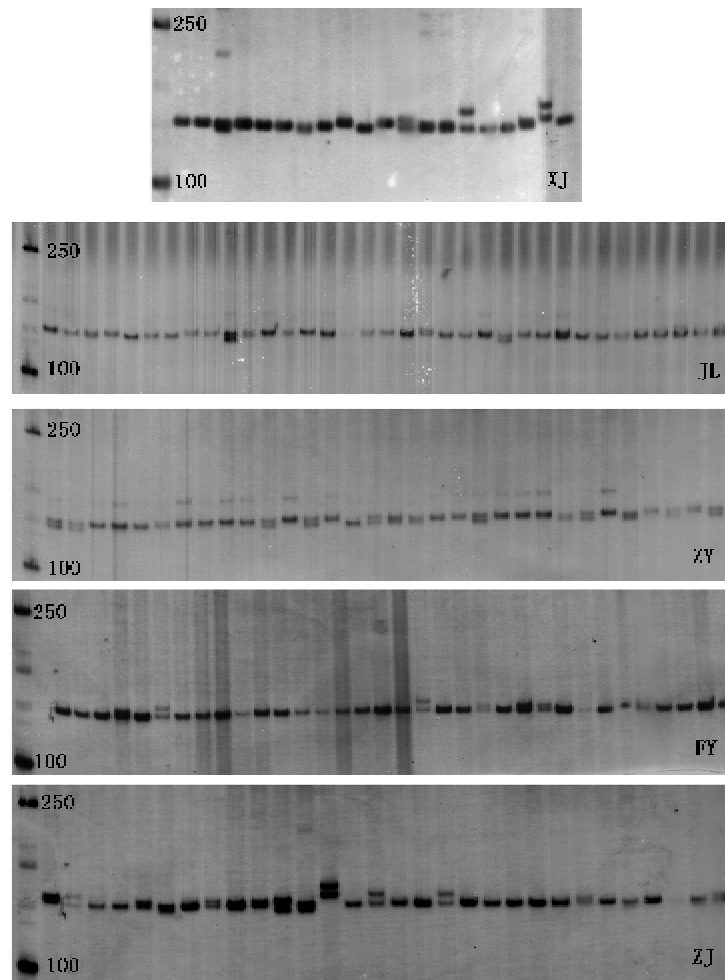


图1 引物 hmo15 在 5 个群体的 PCR 扩增结果

XJ: 湘江, JL: 监利, ZY: 枞阳, FY: 抚远, ZJ: 珠江

Fig.1 PCR profile of hmo15 in five populations of silver carp

XJ: Xiangjiang, JL: Jianli, ZY: Zongyang, FY: Fuyuan, ZJ: Zhujiang

## 2.2 群体遗传多样性分析

在34个基因座位上,共检测出154个等位基因,其中有80个为共有等位基因。湘江、监利、枞阳、抚远、珠江群体分别检测出121、121、113、110、113个等位基因。平均观测等位基因数4.6667,平均有效等位基因2.9489。各个多态位点的观测杂合度变化范围为0.0263~0.7881,

期望杂合度为0.0261~0.8177,平均观测杂合度为0.4133,平均期望杂合度为0.5707。多态微卫星位点的PIC在0.0257~0.7935之间变动,平均为0.5157。5个群体多态位点百分率分别为93.94%、93.94%、87.88%、88.24%、90.91%,各群体部分遗传多样性统计数据见表3。

表3 34个微卫星标记在5个群体中的遗传多样性参数  
Tab.3 Genetic diversity of five silver carp populations in 34 microsatellite loci

座位 locus	等位基因数 $A$	有效等位基因 $N_e$	观察杂合度 $H_o$	期望杂合度 $H_e$	多态信息含量 PIC
Hljy1718	6	4.1429	0.5667	0.7612	0.7215
Hljy2324	4	3.4404	0.4832	0.7117	0.6582
Hljy2526	2	1.6967	0.2416	0.4120	0.3263
Hljy2728	7	3.5601	0.4067	0.7215	0.6844
Hljy3536	9	5.4057	0.4605	0.8177	0.7935
Hljy3940	2	1.0892	0.0724	0.0821	0.0786
Hljy4344	6	3.8966	0.5347	0.7460	0.7083
Hljy59	3	1.1953	0.1788	0.1639	0.1511
Hljy77	4	3.5162	0.7881	0.7180	0.6642
Hljl11	5	1.7984	0.1284	0.4454	0.3864
Hljl19	6	4.9173	0.6395	0.7994	0.7660
Hljl24	4	3.6023	0.2933	0.7248	0.6698
Hljl41	4	1.0849	0.0805	0.0787	0.0772
Hmo1	4	2.4124	0.2632	0.5874	0.5064
Hmo3	3	1.6506	0.3289	0.3955	0.3306
Hmo11	5	2.1583	0.4702	0.5384	0.4941
Hmo13	5	3.8670	0.6133	0.7439	0.7036
Hmo15	4	2.7487	0.2171	0.6383	0.5697
Hmo25	3	1.2421	0.1776	0.1955	0.1784
Hmo26	7	4.2064	0.5133	0.7648	0.7251
Hmo31	6	3.5138	0.5364	0.7178	0.6810
Hmo33	6	5.1832	0.7152	0.8098	0.7787
Hmo34	6	3.6688	0.5658	0.7298	0.6837
Hmo36	2	1.0267	0.0263	0.0261	0.0257
Hmo37	6	3.7111	0.7152	0.7330	0.6929
Hmo39	7	2.0639	0.3562	0.5173	0.4884
Bl5	4	3.1299	0.5629	0.6828	0.6288
Bl15	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Bl18	6	4.2944	0.6225	0.7697	0.7348
Bl55	4	3.2078	0.4934	0.6905	0.6272
Bl58	4	1.5155	0.2171	0.3413	0.3133
Bl69	6	3.4341	0.4371	0.7112	0.6657
Bl101	3	1.7985	0.4079	0.4454	0.3877
Bl106-2	4	3.2198	0.6053	0.6917	0.6334
Mean	4.6667	2.9489	0.4133	0.5707	0.5157
湘江 XJ	3.6667	2.6788	0.4619	0.5529	0.4930
监利 JL	3.6667	2.6063	0.4169	0.5002	0.4553
枞阳 ZY	3.4242	2.5895	0.4435	0.5250	0.4728
长江混 CJ	4.4545	2.9435	0.4367	0.5512	0.5126
抚远 FY	3.3333	2.3697	0.3295	0.5030	0.4435
珠江 ZJ	3.4242	2.5775	0.4433	0.5464	0.4890

**2.3 Hardy-Weinberg 平衡、近交系数和基因流**

经 Hardy-Weinberg 平衡检验发现,湘江、监利、枞阳、抚远、珠江鲢分别有 20、17、13、11、15 个座位符合哈代-温伯格平衡( $P > 0.05$ )。

34 个微卫星座位除 Hljy77、Hm01、Hm033、Hm036、B15、B1101 等 6 个座位的近交系数小于

0.05,其余均大于种群间无遗传分化的标准( $F_{ST} = 0 \sim 0.05$ )。各基因座的近交系数的均值为 0.096 6,基因流均值为 2.337 8。5 个群体间基因流  $N_m$  均大于 1,除湘江和枞阳群体间外  $F_{ST}$  值均在 0.05 以上,具体信息见表 4。

**表 4 5 群体间的近交系数和基因流**  
**Tab.4 The  $F_{ST}$  and gene flow among five populations**

群体 population	湘江 XJ	监利 JL	枞阳 ZY	抚远 FY	珠江 ZJ
湘江 XJ		0.0504	0.0386	0.0519	0.0673
监利 JL	4.7152		0.0579	0.0684	0.0764
枞阳 ZY	6.224	4.0663		0.0669	0.0772
抚远 FY	4.5655	3.4070	3.4858		0.0667
珠江 ZJ	3.4645	3.0243	2.9895	3.4961	

注:对角线以上为近交系数,对角线以下为基因流  
Notes:  $F_{ST}$  (above diagonal) and gene flow (below diagonal)

**2.4 遗传相似系数和遗传距离**

群体间遗传相似系数和遗传距离结果见表 5。由表中可以看出,湘江和枞阳两群体的遗传相似系数最大为 0.920 3,枞阳和珠江群体的遗传相似系数最小为 0.821 2。

**表 5 5 群体的 Nei 氏遗传距离与遗传相似系数**  
**Tab.5 Nei's genetic distance and genetic identity in the five populations of silver carp**

	湘江 XJ	监利 JL	枞阳 ZY	抚远 FY	珠江 ZJ
湘江 XJ	*****	0.896 7	0.920 3	0.893 2	0.840 6
监利 JL	0.109 1	*****	0.881 4	0.862 3	0.831 1
枞阳 ZY	0.083 1	0.126 3	*****	0.859 8	0.821 2
抚远 FY	0.113 0	0.148 1	0.151 1	*****	0.855 7
珠江 ZJ	0.173 6	0.185 0	0.197 0	0.155 8	*****

注:对角线以上为遗传相似系数,对角线以下为遗传距离  
Notes: Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

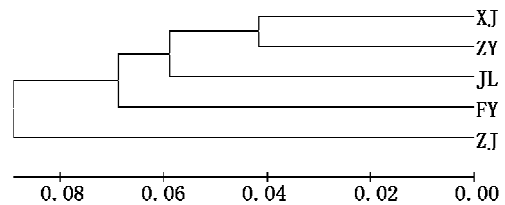
**2.5 系统发生分析结果**

根据 Nei 氏遗传距离,5 个群体系统分析结果见图 2。由图可知,湘江和枞阳遗传距离最近,其次是与监利较近,而与抚远群体和珠江群体亲缘关系较远。

**3 讨论**

**3.1 微卫星标记及样本数量的有效性**

本研究有 9 个来自鲢基因组的微卫星标记,在鲢基因组中可扩增出清晰的条带,说明这些基



**图 2 基于标准遗传距离的 5 个鲢群体的 NJ 聚类图**  
**Fig. 2 The dendrogram of the five silver carp populations based on standard genetic distance using NJ method**

因位点在种间具有较高的保守性,引物也有一定的通用性。平均多态信息含量(PIC)是衡量等位基因片段多态性的理想指标。Hljy1718、Hljy3536、Hljy4344、Hlj119、Hm013、Hm026、Hm033、B118 八个标记的 PIC 值大于 0.7,可作为群体遗传多样性分析的最佳标记。hmo2 在抚远、珠江两群体中无扩增产物,可能是由于这两个群体 DNA 相应区域发生了缺失、插入等变异,有待于进一步验证。引物 Hljy3536 多态性最丰富,在 5 个群体中共检测出 9 个等位基因,其次是 Hljy2728、Hm026、hmo39 各检出 7 个等位基因。湘江、监利、枞阳、抚远、珠江 5 个鲢群体分别有 21、19、19、19、21 个微卫星座位的平均多态信息含量大于 0.5,为高度多态。

生物统计学与抽样调查中通常将 30 作为区分大样本与小样本的界定值。本研究由于采样点捕获量少,湘江群体鲢样本只有 20 尾,其样本容

量可能对结果产生一些影响,但基本上能反映该群体的遗传资源状况。

### 3.2 遗传多样性分析

本研究鲢5个群体的遗传多样性参数分布范围显示,该5个群体的遗传多样性水平为中等;平均观测杂合度均小于平均期望杂合度,证明群体中普遍存在杂合子缺失情况,可能是由于近交或自交所致,遗传多样性有待于进一步加以保护。其中,湘江鲢遗传多样性最高;珠江鲢  $H_e$ 、 $PIC$  分别为 0.546 4、0.489 0 仅次于湘江,其  $A$  和  $N_e$  较长江3群体低,其遗传多样性较高;黑龙江水系鲢的遗传多样性水平最低。由于捕获量少,珠江鲢样品与其它4个群体样本采集方法不同(表1),为减少由此产生的误差,首先对长江3个群体遗传多样性参数进行显著性检验,差异不显著后,再将湘江、监利、枞阳群体合并为长江群体。分析发现:长江群体除观测杂合度稍低外, $A$ 、 $N_e$ 、 $H_e$ 、 $PIC$  均高于珠江和抚远群体,但观测杂合度却介于二者之间(表3),原因可能是由于人工放流降低了野生鲢的多样性,致使其杂合度降低,或者是由于取样的随机性和样品量偏少引起,这需要进一步的调查确定。

长江3个群体的有效等位基因为 2.589 5 ~ 2.678 8,平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.416 9 ~ 0.461 9、0.500 2 ~ 0.552 9,平均  $PIC$  0.455 3 ~ 0.493 0,湘江鲢的各项多样性指标均最高,表现出了较高的遗传多样性,枞阳鲢群体等位基因数较低,但杂合度和多态信息含量较高,说明枞阳群体中基因分布较均匀,遗传多样性较稳定。

### 3.3 H-W 平衡与群体遗传变异

由表4可知,湘江和枞阳间近交指数最小,两群体间遗传分化最小;珠江和枞阳群体间近交系数最大为 0.077 2,两群体间遗传分化最大,但也只是中等偏下水平。群体间基因流均大于 1,说明由遗传漂变引起群体间变异的可能性很小,遗传变异主要来自群体内,而不是群体间。

### 3.4 群体间遗传距离与地理位置比较

Thorp<sup>[13]</sup>认为,同种群体间  $I = 0.80 \sim 0.97$  ( $D_s = 0.03 \sim 0.2$ )。五群体间的遗传相似系数为 0.821 2 ~ 0.920 3 ( $D_s = 0.083 1 \sim 0.197 0$ ),为同种种群。黑龙江抚远与长江3个群体间相似系数最大(平均为 0.871 8),遗传距离最小(平均为

0.137 4)表明二者遗传分化亦最小;抚远与珠江群体间遗传距离 0.155 8,位居第二;同理,珠江群体与长江3个群体间的相似系数最小(平均 0.831 0),遗传距离最大(平均 0.185 2),反映出二水系鲢群体间遗传分化差异较大,但二者地理位置却最近,未显现出群体间遗传差异大小与其地理分布距离远近呈正相关。此结论与李思发等<sup>[2-3]</sup>结论不同,他们认为种群间形态、生化遗传差异的大小与其地理位置成正相关,可能原因如下:①近年来由于水利建设及江河污染等各种原因,鲢等鱼种的资源正处于严重衰退之中,部分江河已多次人工放流或放养。此措施一方面增大了江河中的群体量,保证物种繁衍生存;另一方面可能造成原种种群基因资源受到遗传污染,从而改变其遗传多样性,由此可能降低了南北群体遗传多样性差异;②由于暴雨或洪水等自然因素,引起养殖鱼逃逸入其他水体并可能引起不同程度的遗传渐渗,缩小了不同地理位置种群间的遗传距离;③环境污染对水质的影响不同及对一些流域的过度捕捞也可能成为原因之一;④分析手段不同,同工酶作为遗传标记其多态座位比例较低,仅为 15% 左右,本实验 34 个微卫星标记在群体内的多态比率平均达 90.98%,又由于本实验采用了比琼脂糖凝胶电泳更为灵敏的聚丙烯酰胺凝胶电泳,其分辨率远高于前者,因此结果更为可靠,说服力更强。

长江鲢样品由朱晓东、马海涛、于冬梅、明召华等采集,文章经匡友谊、张研等修改,在此一并表示感谢。

### 参考文献:

- [1] 李思发,陆伟民,周碧云,等.长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼渔业资源状况[J].淡水渔业,1990,6:15-20.
- [2] 李思发,周碧云,倪重匡,等.长江、珠江、黑龙江鲢、鳙和草鱼原种种群形态差异[J].动物学报,1989,35(4):390-398.
- [3] 李思发,王强,陈永乐.长江、珠江、黑龙江三水系的鲢、鳙、草鱼原种种群的生化遗传结构与变异[J].水产学报,1986,10(4):351-372.
- [4] 张锡元,杨建琪,邓凤姣,等.白鲢和鳙鱼的随机扩增多态DNA分析[J].生物化学与生物物理进展,1999,26(5):469-472.

- [5] 张四明,汪登强,邓 怀,等. 长江中游水系鲢和草鱼群体 mtDNA 遗传变异的研究[J]. 水生生物学报,2002,26(2): 142-147.
- [6] 朱晓东,耿 波,李 娇,等. 利用 30 个微卫星标记分析长江中下游鲢群体的遗传多样性[J]. 遗传,2007,06,29(6):705-713.
- [7] 耿 波,孙效文,梁利群,等. 利用 17 个微卫星标记分析鳊鱼的遗传多样性[J]. 遗传,2006,28(6):683-688.
- [8] 鲁翠云,孙效文,梁利群. 鳊鱼微卫星分子标记的筛选[J]. 中国水产科学,2005,12(2):192-196.
- [9] 鲁翠云,孙效文,曹 洁,等. 磁珠富集法筛选白鲢的微卫星分子标记[J]. 农业生物技术学报,2005,13(6):772-776.
- [10] Gheyas A A, Cairney M, Gilmour A E, et al. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), and cross-amplification in other cyprinid species [J]. Mol Ecol Notes, 2006,6(3): 656-659.
- [11] Liao M J, Yang G P, Wang X C. Development of microsatellite DNA markers of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and their cross-species application in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. Molecular Ecology Notes, 2007,7:95-99.
- [12] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA 2: Molecular evolutionary genetics analysis software [M]. Tempe: Arizona State University, 2001.
- [13] Thorp J P. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation, and systematics [J]. Annual Review of Ecology Systematics, 1982,13(1): 139-168.

## Analysis of genetic diversity among wild silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) populations in the Yangtze, Heilongjiang and Pearl Rivers using microsatellite markers

JI Chang-hong<sup>1,2</sup>, GU Jing-jing<sup>2</sup>, MAO Rui-xin<sup>1,3</sup>, ZHU Xin-ping<sup>4</sup>, SUN Xiao-wen<sup>1</sup>

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. Life Science and Technology Institute, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China;

3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China)

**Abstract:** In this paper, genetic diversity of five wild silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) populations, collected from the Yangtze River, Pearl River and Heilongjiang River was analyzed using 34 microsatellite markers. The observed ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ), polymorphism information content (PIC) and number of effective alleles ( $A_e$ ) were all determined. The genetic similarity coefficient and Nei's standard genetic distance were computed based on the allele frequencies. The Hardy-Weinberg equilibrium was checked by  $X^2$  test. Genetic differentiation and hierarchical partition of genetic diversity were evaluated by  $F_{ST}$  and  $N_m$ . A dendrogram was constructed based on NJ method using MEGA3 software package. For each locus, 1-9 alleles were amplified with an average of 4.6667, adding up to 154 alleles in all five populations, of which the mean valid alleles were 2.9489. We found the genetic variability level was moderate in the five populations, as shown by  $H_o$  (0.3295-0.4619),  $H_e$  (0.5002-0.5529) and PIC (0.4435-0.4930), respectively. Based on the genetic similarity coefficients and genetic distance, the genetic diversity between the two groups of Yangtze and Pearl Rivers ( $D_s = 0.1852$ ) was higher than that of the two populations of Heilongjiang and Pearl Rivers ( $D_s = 0.1558$ ). There were no obvious relations between genetic distance and geographical distribution of the five populations.

**Key words:** *Hypophthalmichthys molitrix*; microsatellite; genetic diversity