

DOI: 10.1360/yc-007-0705

# 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

朱晓东<sup>1, 2</sup>, 耿波<sup>1, 3</sup>, 李娇<sup>3</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, 哈尔滨 150070;
2. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090;
3. 吉林大学畜牧兽医学院, 长春 130062

**摘要:** 利用 30 对微卫星分子标记对长江中下游 5 个鲢群体进行了遗传多样性分析。结果表明: 在 30 个基因座中, 共检测到 144 个等位基因, 每个座位检测到的等位基因数为 1~10 个, 其中有 25 个座位具有多态性, 多态位点百分率为 83.33, 5 个群体的平均等位基因数  $A$  为 4.0/4.1, 平均有效等位基因数  $N_e$  为 2.4445~2.6332, 平均观察杂合度  $H_o$  为 0.3233~0.3511, 平均期望杂合度  $H_e$  为 0.4421~0.4704, 平均多态信息含量  $PIC$  为 0.4068~0.4286。对数据进行 F-检验,  $F_{st}$  值表明群体间的遗传分化程度中等, 并对基因型进行了基于 Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验, 所得  $P$  值说明 5 个群体均一定程度上偏离了平衡。5 个群体间的遗传相似系数为 0.8466~0.9146, 遗传距离为 0.0893~0.1665, 并根据 Nei 氏标准遗传距离用 UPGMA 方法对 5 个鲢群体进行亲缘关系聚类。

**关键词:** 鲢; 微卫星; 野生群体; 遗传多样性

## Analysis of genetic diversity among silver carp populations in the middle and lower yangtse river using thirty microsatellite markers

ZHU Xiao-Dong<sup>1,2</sup>, GENG Bo<sup>1,3</sup>, LI Jiao<sup>3</sup>, SUN Xiao-Wen<sup>1</sup>

1. Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin 150070, China;
2. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;
3. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China

**Abstract:** Thirty microsatellite markers were used to analyze the genetic diversity of five Silver carp populations in the middle and lower reaches of the Yangtze River. A total of 144 different alleles were found and the number of alleles in each locus ranged from 1 to 10. Twenty-five loci(83.33%) were polymorphic. In the five populations, the average number of alleles was 4.0 to 4.1, the number of mean valid alleles was 2.4445 to 2.6332, the value of average observed and expected heterozygosity ranged from 0.3233 to 0.3511 and 0.4421 to 0.4704, and the mean  $PIC$  was 0.4068 to 0.4286.  $F_{st}$  value indicated that the populations were moderately differentiated. Chi-square test was used to analyze the genotypes based on Hardy-Weinberg equilibrium, the  $P$  value denoted that the five populations deviated equilibrium partially. The genetic similarity coefficient of the five populations was 0.8466 to 0.9146, and the genetic distance of the populations was 0.0893 to 0.1665. A UPGMA dendrogram was constructed based on Nei's standard genetic distance for the five Silver carp populations.

**Keywords:** silver carp; microsatellite; wild population; genetic diversity

收稿日期: 2006-11-05; 修回日期: 2006-12-01

基金项目: 国家公益性计划资助项目(编号: 2005DIB4J024)[Supported by Basic and public welfare fund (No.2005DIB4J024)]

作者简介: 朱晓东(1981-), 男, 北京人, 硕士研究生, 专业方向: 水产动物遗传育种。E-mail: xdzh1981@163.com

通讯作者: 孙效文(1955-), 男, 吉林人, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 水产动物遗传育种。Tel: 0451-84862646; E-mail: sunxw2002@163.com

微卫星标记是一种以 1~6 bp 的核苷酸序列为核心序列的串联重复, 因其在基因组中分布广泛, 多态信息含量高, 呈共显性遗传, 检测方便快捷, 遗传稳定等特点而倍受青睐, 已在遗传图谱的构建, 分子标记辅助育种, QTL 定位, 及亲子鉴定等方面得到了广泛的应用<sup>[1-4]</sup>; FAO 已将它列为进行动物遗传研究的首选标记。

鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*), 是我国的 4 大家鱼之一, 在我国淡水渔业中占有重要的地位。长江是我国鲢天然资源的重要产地, 然而, 由于近些年长江水系自然环境的剧烈变化, 使得长江水系鲢野生群体的产量急剧下降, 20 世纪 60 年代, 鲢鱼在长江水系四大家鱼中占有 26.1%, 而 80 年代只占有 3.9%<sup>[5]</sup>。鲢天然产量的大幅度变化与鲢自身的遗传物质的改变有着密切的关系, 因此, 对于长江水系鲢鱼的遗传结构及遗传多样性的深入研究已是势在必行, 且具有重要意义。虽然我国学者对于长江水系鲢群体的遗传变异有了一定的研究<sup>[6-10]</sup>, 但利用微卫星标记对长江水系鲢进行群体遗传多样性分析却鲜有报道。本文利用 30 对微卫星引物对长江水系 5 个鲢野生群体的遗传多样性及种质资源的特征进行分析和研究, 为进一步深入研究长江水系鲢野生群体的遗传背景和种质资源的保护提供了一定的理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

PCR 仪为 PE 公司的 Gene Amp PCR System 9700; 离心机为 BECKMAN CS-15R Centrifuge; 凝胶成像系统购自 UVP LIFE SCIENCES; *Taq* DNA polymerase、dNTP 购自哈尔滨 TaKaRa 公司。

### 1.2 样品的采集与 DNA 提取

本实验 5 个鲢野生群体样品(各 30 尾)分别采自湖北石首老河长江 4 大家鱼原种场(采自石首江段)、湖北监利长江 4 大家鱼老江河种质资源天然生态库(采自监利江段)、湖南省鱼类原种场(采自湘江)、江苏邗江长江系家鱼原种场(采自安庆江段)、浙江嘉兴长江 4 大家鱼原种场(采自九江江段)(图 1)。剪取鳍条每 0.2 g 加 0.4 mL 裂解液(0.5% 十二烷基肌酸钠, 0.5 mol/L EDTA(pH=8.0), 200 μg/mL 蛋白酶 K)50 温育 8~12 h, 并不时轻摇至组织块完全消化, 然后用酚、氯仿、异戊醇混合液(25:24:1)抽提 2 遍, 对样品进行透析, 然后无水乙醇沉淀, 70% 乙醇洗 1 次, 自然干燥后加 100 μL 0.1 × TE (pH8.0) 溶解, 4℃ 保存备用。

### 1.3 引物的筛选及群体的扩增

用于 5 个鲢群体遗传多样性分析的微卫星引物中 18 对根据本实验室鲁翠云等<sup>[11]</sup>克隆序列设计合成, 另外 12 对引自 Gheyas 等<sup>[12]</sup>发布的微卫星引物序列并合成。引物筛选实验先以两个地理区域鲢(监利和九江)DNA 样品为模板, 并设计了一个对照, 对所有的微卫星引物进行 PCR 筛选(重复一次), 从中选择扩增稳定且条带清晰的 30 对微卫星引物, 用于本次实验中群体样品的微卫星 DNA 遗传多态性分析(表 1)。反应体系为: DNA 模板 1 μL(20~30 ng/μL), 18 μL PCR buffer(含适量的 dNTP、Mg<sup>2+</sup>), 上下游引物各 1 μL(10 pmol/μL), *Taq* polymerase 1 U, 补灭菌去离子水至 25 μL 反应体系。PCR 扩增反应均在 PE9700 型 PCR 仪上完成, 设计反应程序如下: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 复性 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 共 39 个循环; 72℃ 延伸 10 min, 每对微卫星引物复性温度见表 1。2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测反应结果, 并用 Gel-Pro Analyzer 4.5 软件分析数据。



图 1 5 个采样点的地理分布

Fig. 1 Location map of five sampling sites

表1 鲢微卫星引物及扩增结果

Table 1 SSR primers and PCR amplification in silver carp

微卫星标记 Microsatellite markers	引物序列 Primer sequences	片段长度(bp) Size range(bp)	复性温度( ) Annealing temperature( )
hljl-1	F: CAGAAGTTTAACCCAAGCC R: TCCTGCCACTGTACTGATGT	126 ~ 173	54
Hljl-3	F: GCTCCGTCAGCGTGTCACT R: CCCATCTGTTGCCTCCA	126 ~ 171	60
hljl-11	F: GTCAACACTGCACCCATGTC R: ACCGCCCTCTCATTAATCCT	197 ~ 221	58
hljl-16	F: GCCGAAACTTGACGCTTATC R: TTTCATCTGCAGCACAAAGC	159 ~ 226	58
hljl-19	F: AAAGCAACACTCCGCAGAAG R: TCAGAATGAACGTGATGCCCA	126 ~ 199	59
hljl-22	F: TGATGCATCTGGGAGTGAAC R: GCAGCACTGTTGGCTCAGTA	120	59
hljl-24	F: CAAACTGGAGACGCAGTCAA R: CGCAACATTTTCATCTGCTG	267 ~ 350	58
hljl-29	F: TCCTCCTCGTCTCGTCTGTT R: TGCTCACAATGCCAATGAAT	116 ~ 158	59
hljl-35	F: TCGTTCTTTCCACCTCATC R: AACCAGCCGCCTTAAATTCT	164 ~ 187	59
hljl-40	F: ATCAGCGTGAAGGAGAAGGA R: GCGCTCTGAGACACACAGAC	152	60
hljl-41	F: GCAGGATGAGGAGAATTCCA R: AGAGAGTAGCGTTGGCTTGC	132 ~ 150	60
hljl-44	F: CATCACGGTCTCATCAGGAA R: CATGGTGGTGATTCAAACGA	126	60
hljl-49	F: GCTGTGTGTGTGTGTTACG R: GAATGGTAAAAGGCCGCTCT	194 ~ 257	51
hljl-54	F: CGCTCTCTCCTCTCAACCAG R: ACAGCAGGTGTGGTGTGTGT	141	60
hljl-58	F: CAGACACGCCTTCATCAGTG R: CAGCGCACTCGAACTCTACA	145 ~ 189	60
hljl-73	F: AGCAGCAGCTGTGCACTT R: GCCGTGAGATTGATAATAAGAT	250 ~ 325	52
hljl-75	F: ATCGCAGGATGAGGAGAA R: TGGCTTGCCTCTGAACAA	146	60
Hljl-76	F: ATGGCTGCCACTGCTCT R: CTCCAAAGTGCCAGGTGC	178 ~ 278	60
hmo-1	F: TGTTTGCCACACTGTCCAGAGT R: GCAGTGTAAGTTTCCCCAAAAGACT	161 ~ 165	62
hmo-2	F: CATCTGTTCTGAGGGGCTGAG R: CCCCACCTTTACCACCAATTATTAT	160 ~ 180	60
hmo-3	F: GTTACCGAAAGCGAAACCACAC R: GAGCATGAAGTATTTCCCACTACA	166 ~ 174	62
hmo-11	F: CTGCTTGATCACAGGGTTTG R: CTTACAGATAGACAGATATTCAG	142 ~ 166	60
hmo-13	F: AAACCTGGAAGATGTTCACTGAAT R: GCGCGAGTGTTTGAAGTCTG	136 ~ 168	60
hmo-15	F: TCCTGGAACAGAACCCTGA R: ATTTCTGTCACCATCGCTAAAG	141 ~ 149	60
hmo-25	F: TGTGCTGCATTTTCACTTCA R: TTCTTACTATCCACATTTGTTGTATG	137 ~ 146	60
hmo-26	F: GATTTCAAGCACATTGCTTATCT R: GAGCGTTTCTCATTTGTAATTTTT	145 ~ 238	60
hmo-31	F: TCCACAGAAGAAAGAAAGTCT R: CTCAGAGGAAGGAGATGCT	107 ~ 160	57
hmo-33	F: GTGCAGCAGTATGTGAATCAGGACAC R: GTGCTTCGGGATACCACACTCTTG	86 ~ 126	59
hmo-34	F: GTTCCCTGAGGCTTTACAA R: GGGTCATTATCCTCTCACTT	114 ~ 132	59
hmo-39	F: ACAGTTATGAGCTAGCAGGTTTCT R: TACGTCGTAATACCAGTGAATACCC	119 ~ 143	59

#### 1.4 数据统计与分析

计算并统计了 30 个微卫星基因座位的等位基因数  $A$ 、有效等位基因数  $N_e$ 、多态位点百分率、观测杂合度  $H_o$ 、期望杂合度  $H_e$ 、多态信息含量  $PIC$ 、 $F_{st}$  值、基因型卡方检验所得  $P$  值、遗传相似系数、遗传距离等参数。所得数据使用 POPGENE 软件进行分析计算,

并使用 phylip 软件对 5 个群体进行聚类。

## 2 结果

### 2.1 电泳结果

引物在 5 个群体中经 PCR 特异扩增和琼脂糖凝胶电泳检测后均可以表现出清晰的片段大小和一定的多态性。电泳结果见图 2~图 6。

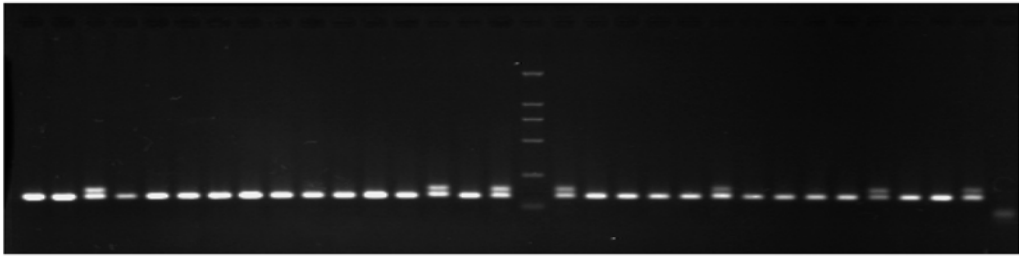


图2 引物hmo-15在湘江群体的PCR扩增结果

Fig. 2 PCR profile of hmo-15 in Xiangjiang population of silver carp

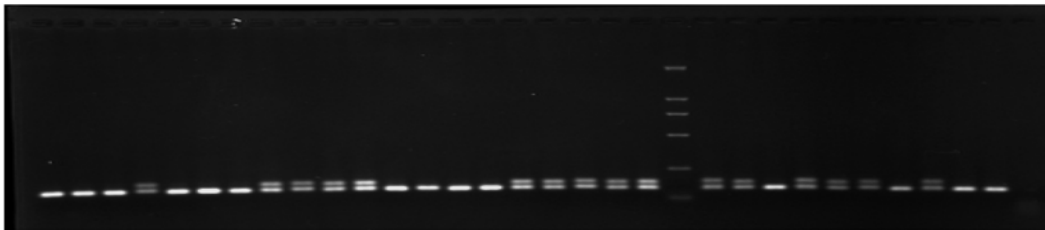


图3 引物hmo-15在安庆群体的PCR扩增结果

Fig. 3 PCR profile of hmo-15 in Anqing population of silver carp

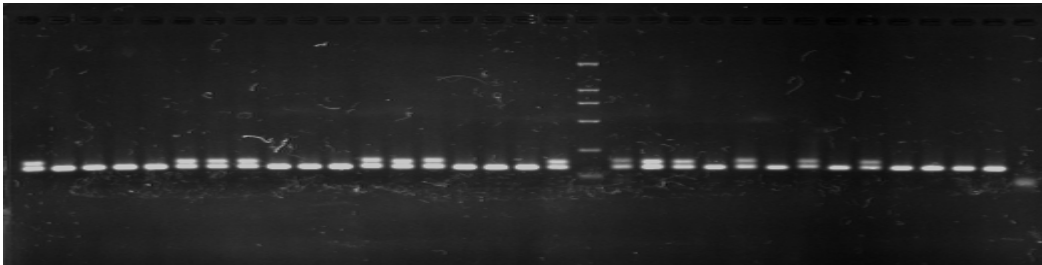


图4 引物hmo-15在监利群体的PCR扩增结果

Fig. 4 PCR profile of hmo-15 in Jianli population of silver carp

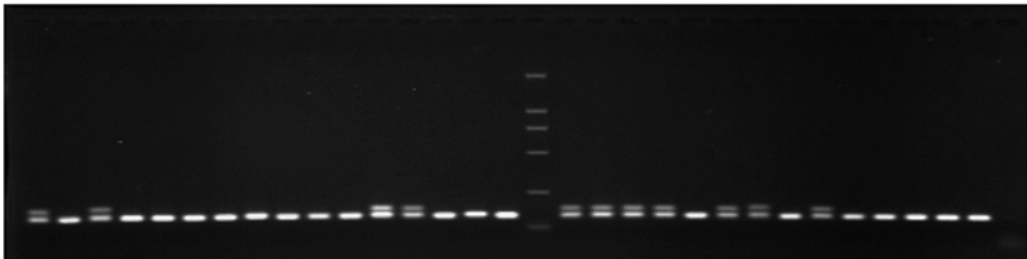


图5 引物hmo-15在石首群体的PCR扩增结果

Fig. 5 PCR profile of hmo-15 in Shishou population of silver carp

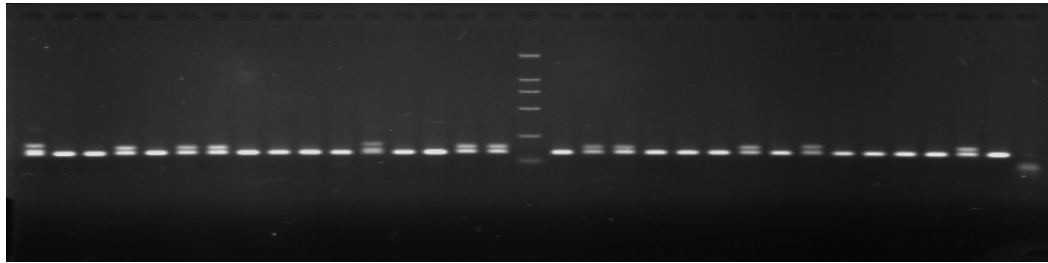


图 6 引物 hmo-15 在九江群体的 PCR 扩增结果

Fig. 6 PCR profile of hmo-15 in Jiujiang population of silver carp

表 2 鲢群体的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of silver carp

基因座或群体 Locus or group	A	Ne	Ho	He	PIC
hljl-1	7	4.6589	0.4400	0.7880	0.6910
hljl-3	3	1.2690	0.1733	0.2127	0.1881
hljl-11	4	1.6379	0.0800	0.3907	0.2581
hljl-16	8	5.0201	0.6733	0.8035	0.7154
hljl-19	7	4.2025	0.5200	0.7646	0.6668
hljl-22	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
hljl-24	10	5.5201	0.6467	0.8216	0.7295
hljl-29	6	4.5932	0.6800	0.7849	0.6674
hljl-35	2	1.0067	0.0067	0.0067	0.0065
hljl-40	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
hljl-41	2	1.0618	0.0600	0.0584	0.0539
hljl-44	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
hljl-49	6	3.0970	0.2400	0.6749	0.5511
hljl-54	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
hljl-58	2	1.0618	0.0600	0.0584	0.0559
hljl-73	2	1.8546	0.4267	0.4623	0.2824
hljl-75	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
hljl-76	5	3.3817	0.5200	0.7066	0.6373
hmo-1	4	2.2215	0.3467	0.5517	0.3575
hmo-2	7	4.2088	0.3867	0.7649	0.6821
hmo-3	5	2.8911	0.4000	0.6563	0.5270
hmo-11	7	4.8956	0.5867	0.7984	0.7067
hmo-13	8	5.8442	0.6467	0.8317	0.7612
hmo-15	7	2.5632	0.4000	0.6119	0.5192
hmo-25	4	1.3090	0.1200	0.2368	0.2074
hmo-26	8	4.6440	0.6000	0.7873	0.6816
hmo-31	8	4.1628	0.6667	0.7623	0.6492
hmo-33	7	5.3318	0.7067	0.8152	0.7323
hmo-34	7	5.5439	0.6267	0.8224	0.6480
hmo-39	6	3.9498	0.3067	0.7493	0.5791
湘江 Xiangjiang	4.1	2.5757	0.3500	0.4421	0.4109
安庆 Anqing	4.1	2.4445	0.3478	0.4433	0.4068
监利 Jianli	4.0	2.5551	0.3233	0.4704	0.4286
九江 Jiujiang	4.1	2.6332	0.3478	0.4569	0.4234
石首 Shishou	4.0	2.5194	0.3511	0.4590	0.4227
平均 Average	4.06	2.5456	0.3440	0.4543	0.4185

## 2.2 30 个微卫星位点的遗传多样性

5 个群体各位点的等位基因数、有效等位基因

数、观测杂合度、期望杂合度、多态信息含量统计结果见表 2。30 个微卫星位点上共检测到 144 个等

位基因, 其中湘江群体、安庆群体、监利群体、九江群体、石首群体分别具有 123、123、120、123、120 个等位基因, 97 个为 5 个群体所共有。每个座位检测到的等位基因数 1 ~ 10 个不等, 其中引物 h1j1-22, h1j1-40, h1j1-44, h1j1-54, h1j1-75 为单态座位; 引物 h1j1-35 和 h1j1-41 为部分单态, 其余 23 对引物在 5 个群体中均表现为多态。监利群体的期望杂合度和多态信息含量最高, 而观测杂合度最高的是石首群体。5 个群体的多态位点百分率分别为 80.00, 80.00, 80.00, 76.67, 80.00。通过计算基因型的  $P$  值检验, 长江水系鲢 5 个群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离常数均

发生了不同程度的偏离, 结果见表 3, 5 个群体中偏离极显著的位点分别有 13, 17, 17, 13, 14 个; 表明各群体均在一定程度上偏离了 Hardy-Weinberg 平衡。

### 2.3 群体间的 $F_{st}$ 值、遗传相似系数与遗传距离

群体间的  $F_{st}$  值(表 4)表明 5 个群体间遗传分化程度中等, 只有九江群体与石首群体间遗传分化较弱。利用 popgene 软件计算了 5 个群体间的 Nei 氏遗传距离与相似系数, 具体结果见表 5。根据表 5 可以看出, 湘江群体与安庆群体之间的遗传距离最大, 九江和石首群体间的遗传距离最小。

表 3 鲢 5 个群体基因型 Hardy-weinberg 平衡的卡方检验

Table 3 Chi-square test for Hardy-weinberg equilibrium of genotypes in the five populations of silver carp

位点 Locus	湘江(P) Xiangjiang	安庆(P) Anqing	监利(P) Jianli	九江(P) Jiujiang	石首(P) Shishou
h1j1-1	0.003389	0.000617	0.000000	0.000000	0.000000
H1j1-3	0.996670	0.990235	0.815391	0.342997	0.000061
h1j1-11	0.000013	0.000003	0.000000	0.000273	0.999385
h1j1-16	0.000122	0.053367	0.007795	0.287140	0.436654
h1j1-19	0.128449	0.000000	0.000000	0.000606	0.022825
h1j1-22	-	-	-	-	-
h1j1-24	0.080741	0.000046	0.000246	0.000139	0.023514
h1j1-29	0.000345	0.000487	0.001298	0.000000	0.000000
h1j1-35	1.000000	-	-	-	-
h1j1-40	-	-	-	-	-
h1j1-41	-	0.736769	0.815391	-	0.894626
h1j1-44	-	-	-	-	-
h1j1-49	0.000007	0.000001	0.000000	0.000000	0.000109
h1j1-54	-	-	-	-	-
h1j1-58	1.000000	0.815391	1.000000	0.894626	0.894626
h1j1-73	0.079468	0.433898	0.315979	0.433898	0.236710
h1j1-75	-	-	-	-	-
H1j1-76	0.049433	0.000326	0.035922	0.010093	0.000501
hmo-1	0.000006	0.715811	0.000000	0.013195	0.000000
hmo-2	0.000010	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
hmo-3	0.000000	0.000000	0.000291	0.000002	0.000004
hmo-11	0.000474	0.004571	0.002563	0.000000	0.000610
hmo-13	0.000058	0.001267	0.000000	0.064503	0.071998
hmo-15	0.000216	0.000000	0.000002	0.000035	0.000883
hmo-25	0.658553	0.000000	0.000060	0.999385	0.000000
hmo-26	0.896925	0.000913	0.000000	0.465983	0.000000
hmo-31	0.041109	0.009737	0.012414	0.002654	0.027755
hmo-33	0.251867	0.494930	0.093908	0.058390	0.727201
hmo-34	0.000462	0.002572	0.000000	0.000081	0.000045
hmo-39	0.000051	0.001344	0.000000	0.002526	0.002311

- : 该位点只有一个等位基因。

- : There is only one allele at the locus.

表4 不同鲢群体间的 $F_{st}$ 值Table 4  $F_{st}$  values between different populations of silver carp

群体 Populations	湘江 Xiangjiang	安庆 Anqing	监利 Jianli	九江 Jiujiang	石首 Shishou
湘江Xiangjiang	-	0.0905	0.0600	0.0769	0.0560
安庆Anqing		-	0.0631	0.0585	0.0539
监利Jianli			-	0.0719	0.0589
九江Jiujiang				-	0.0496
石首Shishou					-

表5 鲢5个群体的Nei遗传距离与遗传相似系数

Table 5 Nei's genetic distance and genetic identity in the five populations of silver carp

群体 Populations	湘江 Xiangjiang	安庆 Anqing	监利 Jianli	九江 Jiujiang	石首 Shishou
湘江 Xiangjiang	-	0.8466	0.8964	0.8680	0.9057
安庆 Anqing	0.1665	-	0.8905	0.9014	0.9092
监利 Jianli	0.1094	0.1160	-	0.8703	0.8948
九江 Jiujiang	0.1416	0.1038	0.1389	-	0.9146
石首 Shishou	0.0990	0.0952	0.1112	0.0893	-

注: 对角线以上为遗传相似系数, 对角线以下为遗传距离。

Notes: Numbers above the diagonal are genetic identity and numbers below are genetic distance.

## 2.4 聚类分析结果

根据表5所列的遗传距离, 对5个群体进行UPGMA聚类分析, 聚类结果见图7。由图可知, 湘江群体与监利群体被聚为一类, 九江群体与距离较近的石首群体先聚在一起, 再与安庆群体聚在一起。

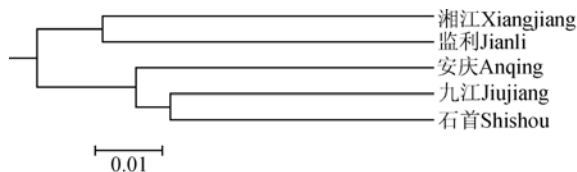


图7 基于标准遗传距离的5个鲢群体聚类图

Fig. 7 The dendrogram of the five silver carp populations based on standard genetic distance using UPGMA method

## 3 讨论

30 个微卫星位点上共检测到 144 个等位基因, 每个座位检测到的等位基因数为 1~10 个, 这与 LIAO 等<sup>[13]</sup>利用微卫星检测长江水系一个鲢野生群体所得结果(3~10 个)相近。97 个等位基因为 5 个群体所共有, 它们是鲢在进化过程中最原始最保守的一部分等位基因, 对于维持鲢物种的稳定有着重要的意义。引物 h1j1-35 和 h1j1-41 在不同地理群体间扩增结果存在着一定的特异性, 表现为引物 h1j1-35 在除湘江以外的四个群体中均为单态座位, 表明在此座位上湘江群体比其他 4 个群体的变异程度高;

引物 h1j1-41 在湘江和九江两个群体中扩增出一条带, 而在其他 3 个群体中存在多态性, 说明在此位点湘江和九江群体的变异程度低于其他 3 个群体。对于位点 h1j1-35 和 h1j1-41 的进一步研究对于区分不同地理位置的鲢群体具有重要的指导作用。基因杂合度表示群体在某座位为杂合子的比例。在 5 个群体之中, 平均观测杂合度最高的为石首群体, 而平均期望杂合度最高的为监利群体, 由于样品的采集过程具有随机性, 因此平均观测杂合度最高的群体并没有表现出最高的平均期望杂合度; 而在 5 个群体之中, 平均观测杂合度均低于各自相对应的平均期望杂合度, 表明 5 个群体当中纯合子个体所占的比例较大, 存在着一定程度的近交现象。原因可能有以下几点: (1) 鲢是半洄游性鱼类, 由于近些年人类活动的剧烈干扰, 导致鲢天然产卵场规模变小, 从而导致遗传多样性的下降; (2) 近些年来, 由于对长江水系野生鲢鱼的过渡捕捞, 导致野生鲢鱼的生物量急剧下降, 生物量的减小与遗传多样性的下降有着密切联系; (3) 由于近些年来我国鲢鱼人工养殖的逐渐推广, 养殖的白鲢逃逸到自然水域中的现象时有发生, 势必会导致鲢鱼自然群体遗传多样性的下降。Clifford 等<sup>[14]</sup>在 1998 年曾报道过因人工孵化的大西洋鲑苗种逃逸到天然水域而使得自然群体的遗传多样性明显下降。

多态信息含量(PIC)是衡量位点多样性的另外一种较好的指标。在某一群体中,当 $PIC > 0.5$ 时该位点表现为高度多态;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时该位点表现为中度多态;当 $PIC < 0.25$ 时该位点表现为低度多态<sup>[15]</sup>。根据表 2 可知,长江 5 个鲢群体的 30 个位点中:17 个位点表现为高度多态性;4 个位点表现为中度多态性;9 个位点表现为低度多态性。在遗传连锁分析中, $PIC > 0.7$  的微卫星DNA标记为最理想的选择标记,标记hljl-16、hljl-24、hmo-3、hmo-11、hmo-13的平均PIC值均大于 0.7,这 5 个标记对鲢遗传多样性的进一步分析以及未来鲢遗传图谱的构建有着重要意义。所检测的位点当中,大部分位点的基因型分布偏离了Hardy-Weinberg平衡,说明群体内的基因型频率发生了较大改变,这种改变与突变、选择、迁移和杂交等因素有密切的关系。根据群体间 $F_{st}$ 值可知,绝大部分的遗传变异是来自于群体内,体现出群体间的遗传分化程度较低,这与张四明等<sup>[5]</sup>利用RAPD技术研究长江水系鲢遗传结构和变异性所得结果一致。

以等位基因频率计算的遗传距离通常被用来衡量群体间遗传关系。李思发等<sup>[16]</sup>利用线粒体DNA对长江中下游鲢进行了多样性分析,通过对基因型进行聚类,认为长江中、下游鲢群体可能是从 2 个祖先群体进化而来;本文从基于遗传距离所得群体间聚类关系的角度进一步证实了长江中下游鲢可能存在 2 个祖先群体。由群体间聚类关系(图 7)可以看出长江中下游鲢不同地理群体间存在着一定的差异。赵金良等<sup>[17]</sup>利用同工酶分析长江中下游鲢种群分化认为,长江中下游地区的鲢鱼为一个遗传分化不显著的群体。李思发等<sup>[16]</sup>采用mtDNA RFLP 研究长江中下游鲢群体多样性,认为鲢群体间有显著的差异。微卫星和mtDNA RFLP技术比同工酶技术灵敏度高,信息含量大,因此,长江中下游水系鲢群体间存在一定的遗传差异是可信的。5 个群体当中,石首和监利在地理位置上距离最近,而石首和安庆距离最远;而 5 个群体间的遗传距离表明:遗传距离最小的是石首与九江群体,遗传距离最大的是湘江与安庆群体,与 5 个群体所分布的地理位置及群体间远近并没有一定的联系。这种现象的产生可能与近些年来长江沿岸水域污染现象日趋严重导致长江水域生态环境的不断恶化有一定的关系,由于 5 个群体所在水域遭受的污染类型存在着一定的差异,使得不同地理位置的鲢鱼产生了对环境的特异性变

异,而这种变异又具有一定的随机性,因此产生了长江水系不同地理区域的鲢鱼被聚在一起的现象。长江水系 5 个群体鲢鱼的遗传距离的计算对于野生鲢鱼的人工繁殖有着重要意义,可以避免因近亲交配而造成的稀有基因的丢失和群体遗传多样性的下降。遗传多样性,是生物适应环境的基础和物种进化动力。对一个物种来说,其遗传多样性越高,则其对生存环境变化所产生的适应能力越强,进化的潜力也越大。因此,长江水系鲢鱼的遗传多样性研究对于鲢物种的保护和整个长江生态系统的稳定都有着重要的意义。

#### 参考文献(References):

- [1] QU Yan-Chun, DENG Chang-Yan, XIONG Yuan-Zhu, SU Yu-Hong, ZHENG Rong, LIU Gui-Lan. The microsatellite polymorphism research on porcine chromosome 1 and the construction of its genetic map. *Hereditas(Beijing)*, 2002, 24(5): 539-542.  
屈彦纯, 邓昌彦, 熊远著, 苏玉虹, 郑嵘, 刘桂兰. 猪 1 号染色体微卫星多态性研究及遗传连锁图谱的构建. *遗传*, 2002, 24(5):539-542.
- [2] TANG Qing-Ping, CHEN Kuan-Wei, LI Hui-Fang, ZHANG Shuang-Jie, ZHAO Dong-Wei. Analysis of the genetic diversity of 12 Chinese indigenous black-bone chicken breeds using microsatellite marker. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2005, 36(8): 755-760.  
汤青萍, 陈宽维, 李慧芳, 章双杰, 赵东伟. 应用微卫星标记对 12 个中国地方乌骨鸡品种遗传多样性的研究. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(8):755-760.
- [3] XU Ning-Ying, Thomsen H, Reinsch N, Looft C, Kalm E. Study of mapping qtls for milk traits on the German dairy cattle. *Acta Genetica Sinica*, 2000, 27(9): 772-776.  
徐宁迎, Thomsen H, Reinsch N, Looft C, Kalm E. 利用微卫星进行奶牛数量性状基因位点定位的研究. *遗传学报*, 2000, 27(9):772-776.
- [4] HAN Chun-Mei, ZHANG Jia-Bao, GAO Qing-Hua, CHEN Qing-Bo. Study on parentage testing in JIRONG rabbit by microsatellite markers. *Hereditas(Beijing)*, 2005, 27(6): 903-907.  
韩春梅, 张嘉保, 高庆华, 陈庆波. 微卫星 DNA 在吉戎兔亲子鉴定中的应用研究. *遗传*, 2005, 27(6): 903-907.
- [5] ZHANG Si-Ming, DENG Huai, WANG Deng-Qiang, YU Lai-Ning. Population structure and genetic diversity of Silver carp and Grass carp from populations of Yangtze river system revealed by RAPD. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25(4): 324-330.



- 张四明, 邓怀, 汪登强, 余来宁. 长江水系鲢和草鱼遗传结构及变异性的 RAPD 研究. *水生生物学报*, 2001, 25(4):324-330.
- [6] YANG Xue-Ming, LI Si-Fa. Growth differences and biochemical genetic changes between wild stock and hatchery populations of Silver carp and Grass carp from Yangtze River. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1996, 3(4): 1-10.
- 杨学明, 李思发. 长江鲢、草鱼原种-人繁群体生长差异与生化遗传变化. *中国水产科学*, 1996, 3(4): 1-10.
- [7] LI Si-Fa, WANG Rui-Xia. Maturity speed and genetic analysis of Silver carp and Bighead from Changjiang and Zhujiang river systems. *Journal of Fisheries of China*, 1990, 14(4): 189-197.
- 李思发, 王瑞霞. 长江、珠江水系鲢、鳙的性成熟速度及其遗传分析. *水产学报*, 1990, 14(4):189-197.
- [8] LI Si-Fa, WANG Qiang, CHEN Yong-Le. Biochemical genetic structures and variations in natural populations of Silver carp, Bighead and Grass carp in Changjiang river, Zhujiang river and Heilongjiang river. *Journal of Fisheries of China*, 1986, 10(4): 351-372.
- 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. *水产学报*, 1986, 10(4):351-372.
- [9] XIA De-Quan, YANG Hong, WU Ting-Ting, DONG Zai-Jie, JIAN Ji-Chang, CAO Ying, ZHANG Yan-Sheng. Study on the population genetic structures of Black carp, Grass carp, Silver carp and Bighead fish in Tian-e-zhou open old course of the Yangtze river. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1996, 3(4): 11-19.
- 夏德全, 杨弘, 吴婷婷, 董在杰, 简纪常, 曹莹, 张燕生. 天鹅洲通江型长江故道“四大家鱼”种群遗传结构的研究. *中国水产科学*, 1996, 3(4):11-19.
- [10] ZHANG Si-Ming, WANG Deng-Qiang, DENG Huai, YU Lai-Ning. Mitochondrial DNA variations of Silver carp and Grass carp in populations of the middle reaches of the Yangtze river revealed by using RFLP-PCR. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26(2): 142-146.
- 张四明, 汪登强, 邓怀, 余来宁. 长江中游水系鲢和草鱼群体 mtDNA 遗传变异的研究. *水生生物学报*, 2002, 26(2):142-146.
- [11] LU Cui-YUN, SUN Xiao-Wen, CAO Jie, LIANG Li-Qun. Microsatellite enrichment by magnetic beads in Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2005, 13(6): 772-776.
- 鲁翠云, 孙效文, 曹洁, 梁立群. 磁珠富集法筛选白鲢的微卫星分子标记. *农业生物技术学报*, 2005, 13(6): 772-776.
- [12] Gheyas AA, Cairney M, Gilmour AE, Sattar MA, Das TK, Mcandrew BJ, Penman DJ, Taggart BT. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), and cross-amplification in other cyprinid species. *Mol Ecol Notes*, 2006, 6(3): 656-659. [DOI](#)
- [13] LIAO Mei-Jie, YANG Guan-Pin, ZOU Gui-Wei, WEI Qi-Wei, WANG Deng-Qiang. Development of microsatellite DNA markers of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and their application in the determination of genetic diversities of silver carp and bighead carp (*Aristichthys nobilis*). *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(5): 756-761.
- [14] Clifford SL, Meginnity P, Feguson A. Genetic changes in an Atlantic salmon population resulting from escaped juvenile farm salmon. *Fish Biol*, 1998, 52(1): 118-127. [DOI](#)
- [15] Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Human Genet*, 1980, 32(3): 314-331.
- [16] LI Si-Fa, LV Guo-Qing, Bernatchez L. Diversity of mitochondrial DNA in the populations of Silver carp, Bighead carp, Grass carp and Black carp in the middle and lower reaches of the Yangtze river. *Acta Zoologica Sinica*, 1998, 44(1): 82-93.
- 李思发, 吕国庆, L 贝纳切兹. 长江中下游鲢鳙草青四大家鱼线粒体 DNA 多样性分析. *动物学报*, 1998, 44(1): 82-93.
- [17] ZHAO Jin-Liang, LI Si-Fa. Isoenzyme analysis of population divergence of Silver carp, Bighead carp, Grass carp and Black carp in the middle and lower stream of Changjiang river. *Journal of Fisheries of China*, 1996, 20(2): 104-110.
- 赵金良, 李思发. 长江中下游鲢、鳙、草鱼、青鱼种群分化的同工酶分析. *水产学报*, 1996, 20(2): 104-110.