

## 新疆额尔齐斯河水系银鲫克隆多样性研究

李风波<sup>1,2</sup> 周莉<sup>1</sup> 桂建芳<sup>1</sup>

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:** 银鲫 (*Carassius auratus gibelio* Bloch) 由于其独特的遗传背景和繁殖方式而成为研究进化遗传学和选择育种的一个独特的模式生物。到目前为止, 我们对新疆额尔齐斯河水系银鲫群体的多样性状况一直知之甚少。为了更好地了解额尔齐斯河水系银鲫群体的克隆多样性状况, 本研究中, 我们采集了来自新疆额尔齐斯河水系的 4 个鲫鱼群体。通过流式细胞术分析血细胞样品, 结果证实这些鲫鱼均为三倍体银鲫。通过血清转铁蛋白电泳表型分析, 我们从这些银鲫群体中鉴定出总共 8 个不同的克隆。在这些鉴定的克隆中, 有 4 个克隆 (克隆 A、J、M 和 S) 同于以前鉴定的克隆, 而另外的 4 个克隆是新发现的。克隆 A 和 M 分布最广, 出现在所调查的 4 个群体中; 克隆 J 出现在 2 个不同的群体中; 其余的 5 个克隆中每个克隆均为单个群体所拥有。不同克隆在群体中的这种分布谱式可能反映了银鲫的各个克隆可在不同水体之间迁移以及同一克隆在不同水体中生存能力存在有差异。在取样的银鲫群体中, 发现有一个群体的克隆多样性水平明显低于其他 3 个群体, 而这后 3 个群体的克隆多样性水平是与已报道过的银鲫群体相似的。这一结果可能暗示着修建水利工程和过度捕捞等人类活动的不良影响。本研究所揭示的克隆多样性将有助于进化遗传学和选择育种研究。同时, 也反映了保护额尔齐斯河水系银鲫克隆多样性的重要性。

**关键词:** 银鲫; 克隆; 克隆多样性; 转铁蛋白; 流式细胞术; 三倍体

**中图分类号:** Q347 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)03-0363-06

根据目前的形态分类, 鲫属 (*Carassius*) 仅有两个种: 黑鲫或称欧鲫 (*C. carassius*) 和鲫 (*C. auratus*)。根据形态特征和染色体数目的差异, 鲫又分为指名亚种 (*C. a. auratus*) 和银鲫 (*C. a. gibelio*) 亚种。据文献记载, 鲫几乎遍布中国各主要水系, 而银鲫则分布于黑龙江水系和额尔齐斯河水系<sup>[1]</sup>。雌核生殖银鲫最初发现于中国东北的黑龙江省方正县双凤水库<sup>[2]</sup>。相对于染色体数目为 100 的普通鲫鱼, 染色体数目在 150 左右的银鲫被认为是三倍体<sup>[3,4]</sup>。此外, 银鲫还有一些有趣的特征, 如存在异精雌核发育现象, 群体中有 5%—20% 的雄性个体, 群体中存在克隆多样性, 具有雌核生殖和有性生殖的双重生殖方式等<sup>[2,5-9]</sup>。这些特征使得银鲫成为研究进化遗传学和遗传育种的一个模式系统<sup>[10,11]</sup>。

目前, 我们对黑龙江水系银鲫群体的遗传多样性状况有了一定的了解<sup>[5,7,8]</sup>, 而对于额尔齐斯河水

系银鲫群体的多样性状况知之甚少。因此, 本研究的主要目的是检测额尔齐斯河水系银鲫群体的克隆多样性。由于银鲫和普通鲫鱼外形相似, 很难从形态特征上将它们直接区分开。为了更好地区分它们, 需要鉴定它们的倍性水平, 而流式细胞仪术可能是鉴定鲫鱼倍性的一种快速有效的方法<sup>[12]</sup>。最近, 转铁蛋白电泳表型分析已成功地应用于方正银鲫群体克隆多样性分析, 并证实为鉴定银鲫克隆的一种简单有效的方法<sup>[7]</sup>。本研究就是采用这些方法对额尔齐斯河水系银鲫的克隆多样性进行了探索。

### 1 材料与方法

**1.1 样品收集** 收集的 4 个鲫鱼群体来自新疆额尔齐斯河水系 (图 1、表 1); 采样的阿克塔拉七号湖面积有 1.7 万多亩, 与额尔齐斯河直接相通; 采样的二牧场下塘面积有 1.6 万多亩, 通过克兰河与额尔

收稿日期: 2007-11-09; 修订日期: 2008-12-06

基金项目: 国家自然科学基金 (30630050); 中国科学院农业基地创新方向项目 (KSCX2-YW-N-020); 淡水生态和生物技术国家重点实验室项目 (2007FB17) 资助

作者简介: 李风波 (1980—), 男, 汉族, 湖北天门人; 博士; 主要从事鱼类种群遗传学研究。E-mail: fengboli@gmail.com

通讯作者: 桂建芳, E-mail: jfgui@ihb.ac.cn; Tel: 027-68780707

齐斯河相连;采样的乌伦古湖面积约为 120 万亩,通过一条 3km 的长渠与额尔齐斯河相连;采样的吉力湖面积约 27 万亩,与乌伦古湖相通。所有的鲫鱼样品直接在当地取材。具体来说,将 1 mL 或 2 mL 一次性注射器用 0.1% 的肝素润湿,从鱼体尾静脉取血 0.2—1 mL,于低温静置至分层以分离血清和血细胞,吸取上层的血清用于转铁蛋白的制备和电泳表型分析,而位于下层的血细胞用于倍性水平分析。然后,从收集的血细胞样品中各取 5 $\mu$ L,分别用 1 mL 预冷的 1  $\times$  PBS 溶液小心地清洗 2—3 次,接着用 70% 酒精固定后放入装有冰袋的便携冰箱中带回实验室。DNA 含量测定以鸡血细胞为参照标准,鸡血细胞的处理方法参照文献 [12]。用作电泳对照的是方正银鲫的两个雌核生殖克隆(克隆 A 和克隆 D),现保存在中国科学院水生生物研究所关桥实验基地。

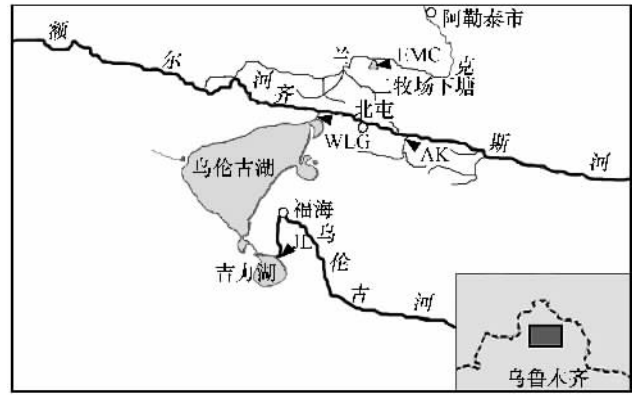


图 1 本研究的采样地点

Fig. 1 Locations of the samples obtained for this study

三角形指采样地点;字母组合代表鲫鱼群体,详细说明见表 1。

本研究的分布图参考文献 [21] 中的图 1-1

Triangles indicate sampling sites; combinations of letters denote *Carassius auratus* populations, see details in Tab. 1. This distribution map refers to Fig. 1-1 in the monograph [21]

表 1 鲫鱼群体的来源及鉴定的克隆数

Tab. 1 Source of *Carassius auratus* populations and number of clones identified

群体 Populations	地点 Locality	样本大小 Sample size	克隆数 Number of clones
AK	新疆阿勒泰地区阿克塔拉七号湖 The Qihao Lake, Aketala, Aletai Region, Xinjiang Province	40	2
EMC	新疆阿勒泰市切尔克齐乡二牧场下塘 Ermuchangxiatang, Qieerkeqi Village, Aletai City, Xinjiang Province	37	5
WLG	新疆福海县乌伦古湖 The Wulungu Lake, Fuhai County, Xinjiang Province	26	4
JL	新疆福海县吉力湖 The Jili Lake, Fuhai County, Xinjiang Province	30	4
总计 Total		133	8

**1.2 倍性鉴定** 血细胞样品制备过程和 DNA 含量测定参照文献 [12] 的方法,用流式细胞仪检测 PI 荧光强度,每个样品至少测量  $10^4$  个细胞。鲫鱼倍性鉴定标准为:单个细胞核 DNA 含量在 3.5 pg 左右的被认为是二倍体鲫鱼,而在 5.0 pg 左右的为三倍体银鲫 [12]。

**1.3 转铁蛋白的制备和电泳** 转铁蛋白 (TF) 的分离步骤参照 Hershberger [13] 和 Yang, *et al.* [7] 的方法。TF 电泳参照 Yang, *et al.* [7] 的方法,但有改进。采用 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶 (10 cm  $\times$  10.5 cm) 在 Hoefer mini VE 垂直板电泳系统 (Amersham Biosciences, Inc.) 上分析 TF 样品。电极缓冲液为 Tris-glycine 缓冲系统 (0.025 mol/L tris, 0.117 mol/L glycine; pH 8.3)。具体步骤如下:将电压设置为

150V,电泳 20min 左右;待溴酚蓝前沿进入分离胶后调为 180V,电泳约 4h;电泳结束后,室温下用 0.25% 的考马斯亮蓝 R250 溶液 (用含 45% 甲醇和 10% 乙酸的溶液配制) 染色;在含 45% 甲醇和 10% 乙酸的溶液中反复脱色至背景清楚为止;最后照相记录。

**1.4 银鲫克隆鉴定和克隆多样性指数计算** 以方正银鲫 2 个克隆的 TF 电泳表型为参照,对所有样品的 TF 电泳表型进行一一比较,并且对每个样品电泳多次以确保 TF 表型区分的可靠性。由于银鲫同一克隆的不同个体有相同的 TF 电泳表型,而不同的克隆呈现不同的 TF 电泳表型 [7],本研究中我们将具有相同 TF 电泳表型的个体鉴定为同一克隆,而不同 TF 表型的个体认为是不同的克隆。随后,

我们计算了各群体的克隆多样性指数(克隆数/样品数的比值),克隆多样性指数的大小反应了群体克隆多样性水平的高低。此外,我们还将这些银鲫群体的克隆多样性水平和已报道过的方正银鲫群体(简称 FZ)和淇河鲫群体(简称 QH)<sup>[8]</sup>进行了比较分析。

## 2 结果

### 2.1 倍性鉴定

通过采集血样,分离血细胞,制备分析样品,我们通过流式细胞术检测了 4 个鲫鱼群体总共 133 个样品。检测结果表明,所有样品单个细胞核的平均 DNA 含量均在 4.9—5.4 pg 之间,其数值与已测定的银鲫单个细胞核平均 DNA 含量<sup>[12]</sup>相近。由此推断,本次所采集的鲫鱼样本均为三倍体银鲫。

### 2.2 克隆鉴定

从血清样品中分离出 TF 后,我们用 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳扫描了所有的银鲫样品,结果呈现出丰富的 TF 表型。基于观察到的 TF 表型,我们从 4 个银鲫群体中鉴定出总共 8 个不同的克隆(图 2),其中在 AK 群体中克隆数最少(2 个),而在 EMC 群体中克隆数最多(5 个)(表 1)。

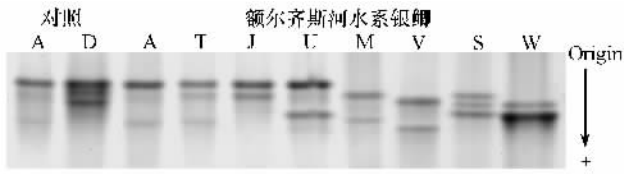


图 2 新疆额尔齐斯河水系银鲫不同克隆样品在 10% PAGE 胶上的 TF 电泳表型

Fig. 2 Transferrin electrophoretic phenotypes on 10% PAGE gel in different clone samples of gibel carp from the Irtysh River water system in Xinjiang Province

上面的字母代表不同的克隆。以方正银鲫克隆 A 和 D 为参照,从额尔齐斯河水系银鲫群体中很清楚地鉴定出 8 个不同的克隆  
The above letters represent different clones. Eight clones were clearly identified in gibel carp populations from the Irtysh River water system, using clones A and D of Fangzheng gibel carp as controls

### 2.3 银鲫不同克隆的分布谱式

鉴定的这 8 个克隆在 4 个不同的银鲫群体中分布情况有差异(表 2):克隆 A 和 M 分布最广,出现在所有调查的银鲫群体中;其次是克隆 J,出现在 2 个不同的群体(EMC 和 JL)中;其余的 5 个克隆(克隆 S、T、U、V 和 W)中,每个克隆均只在单个群体中出现。

表 2 银鲫不同克隆在 4 个群体中分布的个体数

Tab. 2 Individual number distributed within different clones in three gibel carp populations

群体 Populations	克隆 Clones							
	A	J	M	S	T	U	V	W
AK	7		33					
EMC	16	2	17			1		1
WLG	16		6	1	3			
JL	11	12	1					6

### 2.4 银鲫不同群体的克隆多样性

我们计算了银鲫各群体的克隆多样性指数。通过比较发现,不同群体的克隆多样性水平存在差异(图 3):WLG 群体的克隆多样性水平最高(0.15),EMC 和 JL 群体的克隆多样性水平其次,AK 群体的克隆多样性水平最低(0.05)。与已报道过的两个银鲫群体(FZ 和 QH)相比较,本研究的 4 个银鲫群体中 AK 群体的克隆多样性水平相对较低,而其他 3 个群体(EMC、WLG 和 JL)的克隆多样性水平与 QH 群体的大致相当而低于 FZ 群体(图 3)。

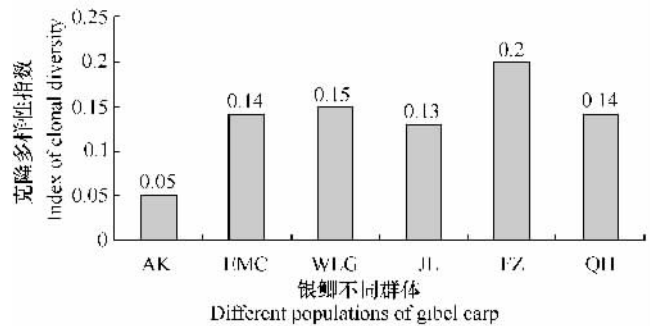


图 3 银鲫不同群体的克隆多样性水平比较

Fig. 3 Comparisons of levels of clonal diversity among different populations of gibel carp

X 轴下面的不同字母组合代表银鲫不同群体(表 1)。此外,FZ 和 QH 分别代表方正银鲫群体和淇河鲫群体

Different combinations of letters under the X axis represent different wild populations of gibel carp (Tab. 1). Moreover, FZ and QH refer to Fangzheng and Qihe gibel carp populations, respectively

## 3 讨论

### 3.1 流式细胞术用于鱼类倍性水平分析的适用性

本研究利用流式细胞术成功地分析了额尔齐斯河水系野生鲫鱼的倍性水平。以往测定鱼类倍性主要是通过染色体压片计数法、细胞核体积测量和显微荧光光度法等方法。这些方法虽然直观,但是都存在一些缺点,比如耗时较多,操作过程复杂,测量

容易出现差错等,尤其是检测大样本时。采用流式细胞术可以克服这些缺点,同时还有一个优点,即经过固定的细胞或组织样品可以在低温长期保存而不影响分析结果,这对于野外取样无疑是非常重要的。Wei, *et al.* [12]的工作是在实验室取材并固定血细胞样品以鉴定鲫鱼倍性,而本研究的工作则是在野外固定血细胞样品后带回实验室鉴定倍性。本研究结果证实,野外固定的血细胞样品也适用于流式细胞术进行倍性分析,因此可以作为一种鉴定野生鱼类倍性的快速有效的方法,不仅适用于鲫鱼,而且很可能还适用于其他野生鱼类。

### 3.2 银鲫野生群体的育种潜力

TF 由于带型简单,易于检测以及能最大限度地呈现遗传多态性,作为一个有用的遗传标记已被广泛用于鱼类遗传育种工作 [7,8,14,15]。通过 TF 电泳表型分析, Yang, *et al.* [7]证实方正银鲫养殖群体中存在 4 个不同的克隆。用同样的方法, Li, *et al.* [8]最近从两个银鲫原种场银鲫群体中鉴定出 13 个不同的克隆,除一个已知克隆 A 外,其他的克隆都是新发现的。与以前的这些研究工作相比,在本次所鉴定的 8 个克隆中,只有 4 个克隆(克隆 A、J、M 和 S)同于已报道过的克隆 [7,8],而其他 4 个克隆是新发现的(表 2)。这一发现意味着,银鲫野生群体中可能尚存在有许多未被利用的克隆,银鲫野生群体蕴含有很大的育种潜力。

### 3.3 银鲫不同群体克隆组成异同及其原因分析

本研究还发现,额尔齐斯河水系不同采样位置的银鲫群体之间在克隆组成上既有共同之处也有明显差异(表 2)。克隆 A 和 M 是 4 个群体共有的克隆以及克隆 J 为 2 个群体(EMC 和 JL)所共有,这可能是由于几个采样点均与额尔齐斯河水面相通导致鱼类相互交流的结果。考虑到克隆 A 在方正银鲫群体和淇河鲫群体中也有报道 [7,8],这种分布的广泛性以及在该群体中所占据的数量优势可能反映了克隆 A 具有很强的生存和适应能力;克隆 M 在以前报道的方正银鲫群体 50 个个体中只检测到一个个体 [8],而本研究克隆 M 的个体数在大多数群体中占有重要的比例,特别是在与额尔齐斯河直接相通的阿克塔拉 7 号湖中占有的比例更高,达 82.5% (表 2),这可能意味着克隆 M 在额尔齐斯河水系有更强的适应能力,是额尔齐斯河水系银鲫的优势克隆。此外,除了群体共有的克隆外,本研究的 3 个银鲫群体(EMC、WLG 和 JL)还有各自独有的克隆(表 2),这可能是由于同一克隆在不同水体中生存能力的差

异造成的,当然也不能排除取样误差造成的影响。相对其他 3 个群体,AK 群体有最少的克隆数(表 2),这一结果可能反映了人类活动对银鲫群体克隆组成的负面影响。近年来,人们在额尔齐斯河干支流上已修建了水闸和水库等水利工程,这些水利工程的修建会使主河道水位波动较大,尤其在繁殖季节,水位下降会严重影响主河道银鲫群体的繁殖;过度捕捞以及采金等行为也可能导致主河道的银鲫资源显著下降。因此,与主河道直接相通的七号湖中银鲫群体克隆数自然会很少。乌伦古湖虽然有狭窄的水渠与额尔齐斯河相连,但是由于其水面非常宽广,可能受到的影响相对较小些而保存了较多的克隆。吉力湖和二牧场下塘没有直接与额尔齐斯河主河道直接相连而受到的影响可能偏少,因而也保存了更多的克隆。

### 3.4 不同物种克隆多样性水平比较

本研究中银鲫群体的克隆多样性水平(以克隆数/样品数计算)在 0.05—0.15 之间(图 3)。与行雌核生殖 *Phoxinus eos/neogaesus* (0.002 或 1/164) [16] 和行孤雌生殖的高加索蜥蜴 *Lacerta dahlia* (0.031 或 5/161) [17] 相比,银鲫群体的克隆多样性水平相对较高。相似的克隆多样性水平在日本关东鲫 (*Carassius auratus langsdorfii*) 群体中也有报道 (0.126 或 61/484) [18]。在其他雌核生殖脊椎动物中,甚至更高的克隆多样性水平也有报道,如 *Rivulus marmoratus* (0.724 或 48/62) [19] 和 *Poecilia formosa* (0.842 或 16/19) [20]。由于收集的样品数量还相对有限,如果调查的样本数增大,再运用更灵敏的检测方法,那么,从银鲫群体中还可能会检测到更多的克隆。

### 3.5 本研究工作的意义

本研究揭示额尔齐斯河水系银鲫群体中存在克隆多样性,这一工作将有助于进一步研究一些重要的进化遗传学问题,例如单性生殖物种群体中多个不同的克隆是如何产生以及如何共存的。群体中存在的克隆多样性也将有助于对银鲫进一步选择育种研究。考虑到银鲫兼具雌核生殖和两性生殖双生殖方式 [2,6],在育种实践中,我们有望通过银鲫克隆之间的有性重组来筛选和集中具有优良性状的个体,并且通过雌核发育的方式将优良性状稳定地遗传下去。对银鲫新克隆的进一步选育,将会有更多新的优良品种被培育出来。在利用银鲫资源的同时,我们迫切需要开展保护遗传学研究,采取相应的措施保护额尔齐斯河水系银鲫克隆多样性,以防止

银鲫资源的进一步衰竭。

### 参考文献:

- [ 1 ] Yue P Q. Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes (Ⅲ) [M]. Beijing: Science Press. 2000, 427—433 [乐佩琦. 中国动物志, 硬骨鱼纲, 鲤形目(下卷). 北京: 科学出版社. 2000, 427—433]
- [ 2 ] Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, *et al.* Biological effect of heterologous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1983, **8**(1): 1—13 [蒋一珪, 梁绍昌, 陈本德, 等. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应. 水生生物学报, 1983, **8**(1): 1—13]
- [ 3 ] Zhou L, Gui J F. Karyotypic diversity in polyploid gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch [J]. *Genetica*, 2002, **115**: 223—232
- [ 4 ] Zhu H P, Ma D M, Gui J F. Triploid origin of the gibel carp as revealed by 5S rDNA localization and chromosome painting [J]. *Chromosome Research*, 2006, **14**: 767—776
- [ 5 ] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Analysis of genetic heterogeneity among five gynogenetic clones of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, based on detection of RAPD molecular markers [J]. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 2000, **88**: 133—139
- [ 6 ] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2000, **51**: 498—506
- [ 7 ] Yang L, Yang S T, Wei X H, *et al.* Genetic diversity among different clones of the gynogenetic silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio*, revealed by transferrin and isozyme markers [J]. *Biochemical Genetics*, 2001, **39**: 213—225
- [ 8 ] Li F B, Gui J F. Clonal diversity and genealogical relationships of gibel carp in four hatcheries [J]. *Animal Genetics*, 2008, **39**(1): 28—33
- [ 9 ] Yi M S, Li Y Q, Liu J D, *et al.* Molecular cytogenetic detection of paternal chromosome fragments in allogynogenetic gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch [J]. *Chromosome Research*, 2003, **11**: 665—671
- [ 10 ] Wu Q J, Gui J F, *et al.* Fish Genetics and Breeding Engineering [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers. 1999 [吴清江, 桂建芳, 等. 鱼类遗传工程. 上海: 上海科学技术出版社. 1999]
- [ 11 ] Yang L, Gui J F. Positive selection on multiple antique allelic lineages of transferrin in the polyploid *Carassius auratus* [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2004, **21**: 1264—1277
- [ 12 ] Wei W H, Zhang J, Zhang Y B, *et al.* Genetic heterogeneity and ploidy level analysis among different gynogenetic clones of polyploid gibel carp [J]. *Cytometry*, 2003, **56**(1): 46—52
- [ 13 ] Hershberger, W K. Some physicochemical properties of transferrins in brook trout [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1970, **99**: 207—218
- [ 14 ] Kirpichnikov V S. Genetic Bases of Fish Selection [M]. Berlin: Springer-Verlag. 1981
- [ 15 ] Csizmadia C, Jeney Z, Szerencses I, *et al.* Transferrin polymorphism of some races in a live gene bank of common carp [J]. *Aquaculture*, 1995, **129**: 193—198
- [ 16 ] Elder J F, Jr, Schlosser I J. Extreme clonal uniformity of *Phoxinus eos/neogaeus* gynogens (pisces: Cyprinidae) among variable habitats in northern Minnesota beaver ponds [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, **92**: 5001—5005
- [ 17 ] Murphy R W, Darevsky I S, MacCulloch R D, *et al.* Old age, multiple formations or genetic plasticity? Clonal diversity in a parthenogenetic Caucasian rock lizard, *Lacerta dahli* [J]. *Genetica*, 1997, **101**: 125—130
- [ 18 ] Ohara K, Ariyoshi T, Sumida E, *et al.* Clonal diversity. in the Japanese silver crucian carp, *Carassius langsdorffii* inferred from genetic markers [J]. *Zoological Science*, 2003, **20**: 797—804
- [ 19 ] Turner B J, Elder J F, Jr, Laughlin T F, *et al.* Extreme clonal diversity and divergence in populations of a selfing hermaphroditic fish [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, **89**: 10643—10647
- [ 20 ] Turner B J, Elder J F, Jr, Laughlin T F, *et al.* Genetic variation in clonal vertebrates detected by simple sequence DNA fingerprinting [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, **87**: 5653—5657
- [ 21 ] Ren M L, *et al.* Fisheries Resources and Fishery of the Ertixhe River in China [M]. Urumqi: Xinjiang Science, Technology & Health Press. 2002 [任慕莲, 等. 中国额尔齐斯河鱼类资源及渔业. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社. 2002]

## STUDIES ON CLONAL DIVERSITY OF GIBEL CARP, *CARASSIUS AURATUS GIBELIO*, FROM THE IRTYSH RIVER WATER SYSTEM IN XINJIANG PROVINCE

LI Feng-Bo<sup>1,2</sup>, ZHOU Li<sup>1</sup> and GUI Jian-Fang<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039)

**Abstract:** Gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, as a subspecies of *Carassius auratus*, has a wide geographic distribution from northern Europe to Asia. As a new culture target, it has been used widely for aquaculture practice in recent 30 years in China, and its production capacity has increased up to 2 billion kilograms annually. Gibel carp possess several interesting characteristics: 1) It is a triploid fish with more than 150 chromosomes, 2) It exists as a bisexual population with predominantly more females (an 80:20 female:male ratio) in natural habitats, 3) It has dual reproductive modes of gynogenesis and bisexual reproduction, 4) Various gynogenetic clones have been identified. These features make gibel carp a promising study model for evolutionary genetics, developmental biology and selective breeding. Recently, we have detected clonal diversity of gibel carp in Fangzheng stock hatchery of Heilongjiang Province and Qihe stock hatchery of Henan Province. Up to now, however, little information had been known about the status of gibel carp populations from the Irtysh River water system in Xinjiang Province. In order to obtain a better understanding of the status of clonal diversity of the gibel carp populations, four populations of *Carassius auratus* were collected from the Irtysh River water system in this study. Flow cytometry was applied to analyze their blood cells, revealing that all of them were triploid gibel carp. Then, a total of eight different clones were clearly discriminated from these gibel carp populations by analysis of serum transferrin phenotypes. Among them, four clones were identical to those identified previously, whereas, the other four were new. Clones A and M were the most wide-ranging, occurring in all of the four populations. Clone J appeared in two populations. Each of the other five clones was specific to single population. These distribution patterns of different clones within populations might reflect clones being able to migrate and differences in viability of a clone among different water bodies. Among these sampled populations of gibel carp, one had the level of clonal diversity obviously lower than those in the other three, similar to those in populations reported, probably suggesting negative effects of human activities such as hydraulic engineering construction and overharvesting. The clonal diversity revealed in this study will likely benefit evolutionary genetics and selective breeding studies. At the same time, this work also highlights the significance of protecting clonal diversity of gibel carp in the Irtysh River water system.

**Key words:** *Carassius auratus gibelio*; Clones; Clonal diversity; Transferrin; Flow cytometry; Triploid