

瓦氏雅罗鱼达里湖群体和乌苏里江群体的遗传多样性和遗传结构分析

池炳杰^{1,2}, 常玉梅¹, 闫学春¹, 曹顶臣¹, 高玉奎³, 柳玉海³, 李勇⁴, 梁利群¹

(1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 3. 赤峰市克什克腾旗达里诺日渔场, 内蒙古 赤峰 024000; 4. 黑龙江生物科技职业学院 水产系, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要: 选用5个瓦氏雅罗鱼(*Leuciscus waleckii* Dybowski)微卫星标记和13个草鱼微卫星标记, 对分别采自内蒙古境内的达里湖和乌苏里江抚远江段的各15尾野生瓦氏雅罗鱼个体进行STR-PCR分析。结果显示, 18个微卫星标记共检测到111个等位基因, 平均每个基因座扩增得到6.166 7个等位基因, 观测杂合度(H_o) 0.100 0~0.933 3, 平均为0.531 5; 期望杂合度(H_e) 0.096 6~0.932 8, 平均为0.629 8; 多态信息含量(PIC) 0.090 5~0.911 3, 平均为0.577 4; 乌苏里江群体的平均等位基因数和平均观测杂合度分别为5.555 6和0.577 8, 达里湖群体的平均等位基因数和平均观测杂合度均低于乌苏里江群体的平均等位基因数和平均观测杂合度, 分别为4.388 9和0.485 2。2个群体间的遗传距离(D_c)为0.255 0。个体聚类结果显示, 达里湖雅罗鱼所有个体聚为一簇, 乌苏里江雅罗鱼所有个体聚为一簇。群体间的遗传分化指数(F_{st})为0.085 5, 数值介于0.05~0.15, N_m 值为2.674 9, 表明这2个群体处于中等分化, 存在一定程度的基因交流。对2个群体的基因型进行了Hardy-Weinberg平衡的卡方检验, 结果表明两群体均在一定程度上偏离了平衡。[中国水产科学, 2010, 17(2): 228-235]

关键词: 瓦氏雅罗鱼; 微卫星标记; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: S97

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)02-0228-08

瓦氏雅罗鱼(*Leuciscus waleckii* Dybowski)亦称东北雅罗鱼^[1], 俗名华子鱼, 滑鱼, 白鱼, 隶属鲤形目、鲤科、雅罗鱼亚科的雅罗鱼属。主要分布于黑龙江流域各水系, 也有少量分布于辽河、黄河、滦河、岱海、达里湖及俄罗斯境内黑龙江上游。由于捕捞强度的增加和生态环境的变迁, 瓦氏雅罗鱼的数量逐渐减少。2003年的调查结果^[2]表明, 瓦氏雅罗鱼的平均体长已由1995年的21.5 cm减小到16.6 cm, 同时还发现其资源量呈现一定程度的减少^[1-4]。这表明瓦氏雅罗鱼野生资源已受到一定程度的影响。目前, 瓦氏雅罗鱼的研究已引起国内学者的重视。但迄今为止, 对瓦氏雅罗鱼的研究集中在渔业生物学、人工增殖、同工酶以及营养组分分析等方面^[5-7], 对其遗传多样性和遗传结构的研究还未见报道。

本研究利用微卫星分子标记, 对达里湖(高盐碱水体)和乌苏里江(淡水水体)中的瓦氏雅罗鱼群体进行分析, 以期获得野生瓦氏雅罗鱼群体的遗传多样性、遗传结构特征等相关数据, 为进一步开展有关鱼类耐盐碱功能基因的发掘, 充分开发和保护瓦氏雅罗鱼资源, 建立种质资源管理和保存体系提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源及DNA提取

瓦氏雅罗鱼各15尾分别于2007年8月采自内蒙古达里湖(以下简称为DY)和2006年3月采自乌苏里江抚远江段(以下简称为WY), 鳍条样品保存于无水乙醇中。取鳍条样品在去离子水中反复清洗, 直

收稿日期: 2009-07-02; 修订日期: 2009-10-15.

基金项目: 国家863计划项目(2007AA10Z186).

作者简介: 池炳杰(1983-), 硕士研究生, 从事鱼类基因工程育种研究. E-mail: chibingjie173@163.com

通讯作者: 梁利群, 研究员, 从事水产动物功能基因研究. Tel: 0451-84861314; E-mail: llq-1019@163.com

至乙醇全部去除,晾干剪碎后加入 10 倍于样品质量的 DNA 提取裂解液(成分: 10 mmol/L EDTA pH 8.0; 200 µg/mL Protein K; 0.5% sarcosyl) 50 ℃ 消化 2 h 左右,用酚、氯仿和异戊醇混合液(体积比 25 : 24 : 1)抽提 3 次,无水乙醇沉淀,室温干燥后溶解于 0.1 × TE 中,检测 DNA 浓度,稀释至 5 ng/µL。4 ℃ 保存备用。

1.2 微卫星引物来源

本研究采用的引物中,5 对多态的雅罗鱼微卫星引物(编号“HLJY”)由徐美佳提供(个人通讯),13 对多态的草鱼微卫星引物(编号“HLJY”)由孙效文提供(个人通讯)。18 对引物均由上海生物工程技术服务有限公司合成。引物信息见表 1。

表 1 筛选鉴定的 18 对雅罗鱼微卫星引物
Tab. 1 Eighteen SSR primers available to PCR amplification in *Leuciscus waleckii*

位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	核心序列 Motif	退火温度 /℃ Annealing temperature
HLJY7	F: TGCCAGTGTGTGTACGAACC R: CTCCTCCATGACCTTCCTCA	(GT) ₇	64
HLJY8	F: AGTCCCGACACACACTCTCC R: GCGGTGTCATTGTCACAAA	(GT) ₁₆	53
HLJY14	F: ACGGTCATGACAGAGGGGTA R: GTGCAGGGGAGAGAAAGTCA	(TG) ₂₄	52
HLJY18	F: TAGACGTCTGGGTGTGTTGC R: GGGACAGACAAGGACTCCAA	(GT) ₁₈	64
HLJY20	F: CTCACACACGCACCTCTCAC R: CGCACGAGTCATCACTTCAC	(TA) ₅	54
HLJC82	F: TGGGGAGTACATACTGCTGCT R: ATGTTGCGTCAAGGCTTTCT	(AG) ₂₇	60
HLJC98	F: ACTGATCGTGCTGCAGTGAG R: TCATCTGAGCTTGTCTCATCCT	(GA) ₂₃	55
HLJC99	F: GTCCGTCTCTCTGCCTGTCT R: TCATACTTTCCGCTCGCTGAC	(TC) ₂₂	55
HLJC114	F: GTTCTGTCAAGTGTGCATTCT R: GTCGACGATCTCAGAGCTATAAA	(GA) ₉	60
HLJC57	F: GACCTGGCCTGTGTTTATCT R: TCGACGATCTCTGCATCATC	(TG) ₁₁ (TC) ₉	60
HLJC64	F: CGACGATCCTTAAGCAGAGG R: ATTGGTGTCGAAAGGTACGG	(GA) ₂₀	56
HLJC66	F: GATTGAAAGCCCCACATGAT R: CACGTTTCAATTCGGTCCTGTA	(CA) ₅₇	60
HLJC79	F: ACACCTTCCCAGACAGATGG R: TCCACTCATCGCTGACTCAC	(TC) ₁₁	60
HLJC85	F: TCTGAGCGCTGTGAAGACAC R: GTCGACGATCCCTCTCAGTC	(CT) ₁₅	60
HLJC87	F: GAAACTGAGACCGTTGCACA R: TCGACGATCAAAGCAATCTCT	(GT) ₂₃	60
HLJC91	F: TGGAGAAAAGGGCTGTAGGA R: ACTCCCCTCCCTTCCTCATA	(GA) ₂₂	60
HLJC111	F: GCAAAGCAAAACACAGCAAA R: CGACGATCTGTCCATCAGTG	(GA) ₄₄	60
HLJC116	F: TGTTTGGACAGCAAACAAAG R: TGAAGGTCTGGCTGATGATG	(TC) ₂₇	60

1.3 PCR 反应及产物检测

PCR 扩增反应体系: DNA 模板 2 µL (5 ng/µL), 自制 buffer 10.8 µL (含 50 mmol/L KCl, 10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 1.5 mmol/L MgCl₂, 100 µg/mL 的明胶, 4 种

dNTP 100 µmol/L, 上、下游引物(10 µmol/L) 各 0.5 µL, Taq DNA 聚合酶 1 U (上海生工生物工程技术服务有限公司), 灭菌去离子水补至总体积 15 µL。

所有 PCR 反应均在 9700 PCR 热循环仪上进行

(ABI,美国)。PCR 反应条件为: 94 ℃预变性 3 min; 94 ℃ 30 s, 52 ~ 64 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 共 28 个循环; 最后 72 ℃ 7 min 终止反应。

PCR 扩增产物采用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳进行分离,电泳缓冲液为 1 × TBE, 120 V 电泳 4 ~ 5 h。电泳完毕后,参考季旭等^[8]报道的方法进行银染,扫描后保存图像。

1.4 数据统计及分析

PAGE 电泳获得基因指纹图谱后,采用 Gel-Pro Analyzer 4.5 对图片进行分析,在同一电泳迁移位置上,按 DNA 带纹所对应的 DNA Marker 的分子量(bp)大小,统计不同等位基因的分子量大小。根据 18 个微卫星位点的各自的基因型,利用鱼类种质资源遗传分析软件^[9]将等位基因大小转换成 0、1 形式,然后再利用该软件转换成 POPGENE32^[10]要求的分析格式。利用 POPGENE32 计算了每个位点的等位基因频率、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e),多态信息含量(PIC);并对每个位点的 Hardy-Weinberg 平衡进行了卡方检验($P<0.05$);另根据个体在每个位点的等位基因频率计算了群

体间遗传分化指数(Pairwise F_{st})、基因流(N_m)及群体间遗传距离(D_e)。最后利用软件 PHYLIP3.5^[11]中的 SEQBOOT 命令,将基于 neighbor-joining 方法计算的基因频率构建个体聚类图,最后由软件 PHYLIP3.5 中的 CONSENSE 命令汇总重建,并通过软件 MEGA4.0 显示该个体亲缘关系聚类图^[12]。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增产物电泳分析

本研究筛选鉴定的 18 个微卫星标记在 2 个群体中均能扩增出清晰的片段,并表现出一定的多态性。18 个引物共检测到 111 个等位基因,大小在 83 ~ 428 bp 之间,每个微卫星位点的等位基因数目为 2 ~ 17 个,平均等位基因数为 6.166 7。

在 18 对引物中,达里湖群体在 *HLJY7* 位点和 *HLJC116* 位点单态扩增,乌苏里江群体在 *HLJC98* 位点和 *HLJC99* 位点单态扩增,其余位点在 2 群体中都表现出不同程度的多态性(图 1)。乌苏里江群体在 18 个微卫星位点的平均等位基因数为 5.555 6,高于达里湖群体的 4.388 9。

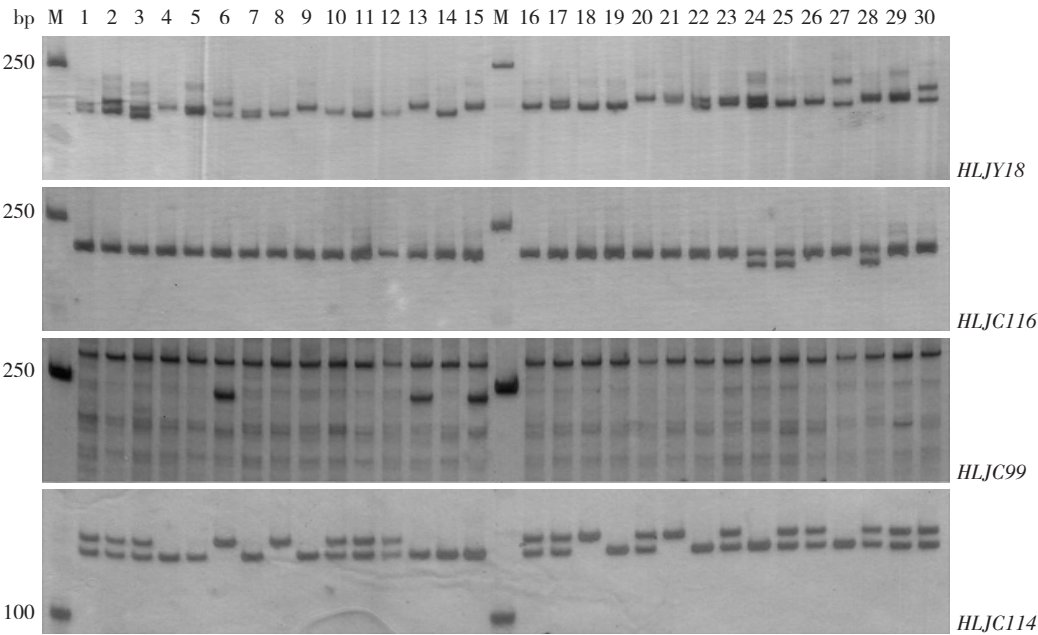


图 1 引物 *HLJY18*、*HLJC116*、*HLJC99*、*HLJC114* 在雅罗鱼 2 个群体中扩增的微卫星电泳图
1-15: DY 群体; 16-30: WY 群体; M: marker (DL2000)
Fig. 1 Electrophoresis patterns of microsatellite loci *HLJY18*, *HLJC116*, *HLJC99*, *HLJC114* in 2 populations
1-15: DY (Dali Lake) population; 16-30: WY (Wusuli River) population; M: marker(DL2000)

2.2 遗传多样性分析

根据每个位点的等位基因频率,计算得到无偏观测杂合度值在 0.100 0 ~ 0.933 3 之间,平均观测杂合度为 0.531 5,位点 *HLJC99* 和 *HLJC116* 观测杂合度最低(0.100 0),位点 *HLJC98* 观测杂合度最高(0.933 3)。期望杂合度值在 0.096 6 ~ 0.932 8,平均期望杂合度 0.629 8,多态信息含量值在 0.090 5 ~ 0.911 3 之间,平均为 0.577 4 (表 2)。达里湖群体和乌苏里江群体的平均观测杂合度分别为 0.485 2 和 0.577 8,平均期望杂合度分别为 0.550 2 和 0.621 6 (表 3)。从表 3 可看出,2 个群体的遗传多样性处于中等水平。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验

用 Hardy-Weinberg 卡方检验发现,在 18 个位点中,2 个群体在 8 个位点上处于平衡,在其他位点上都不同程度的偏离 Hardy-Weinberg 平衡;进一步对 2 个群体中各位点的基因频率分别做平衡分析,基于杂合子过度(Heterozygote excess)全数调查(Complete enumeration)^[13]分析表明:达里湖群体在位点 *HLJY7*、*HLJY8*、*HLJY14*、*HLJY18*、*HLJC116*、*HLJC64*、*HLJC98*、*HLJC57*,乌苏里江群体在位点 *HLJY8*、*HLJC85*、*HLJC99*、*HLJC98* 表现为不平衡,其中在位点 *HLJY8*、*HLJC98* 两群体都表现为不平衡。

表 2 瓦氏雅罗鱼在 18 个微卫星基因座的多样性指数
Tab. 2 Genetic diversity indices of 18 microsatellite loci of *Leuciscus waleckii*

位点 Locus	等位基因数 <i>N</i>	观测杂合度 <i>H_o</i>	期望杂合度 <i>H_e</i>	多态信息含量 PIC	遗传分化指数 <i>F_{st}</i>
<i>HLJY7</i>	2.0000	0.3333	0.2825	0.2392	0.2000
<i>HLJY8</i>	4.0000	0.3667	0.4605	0.4177	0.0037
<i>HLJY14</i>	2.0000	0.2667	0.4723	0.3566	0.1196
<i>HLJY18</i>	6.0000	0.3333	0.7695	0.7218	0.1336
<i>HLJY20</i>	3.0000	0.5000	0.6356	0.5453	0.2942
<i>HLJC57</i>	9.0000	0.5000	0.8294	0.7923	0.1812
<i>HLJC64</i>	8.0000	0.8333	0.8452	0.8096	0.0481
<i>HLJC66</i>	17.0000	0.8667	0.9328	0.9113	0.0551
<i>HLJC79</i>	9.0000	0.7333	0.8141	0.7745	0.0632
<i>HLJC82</i>	8.0000	0.7333	0.8475	0.8122	0.0267
<i>HLJC85</i>	7.0000	0.5667	0.8379	0.8005	0.0182
<i>HLJC87</i>	5.0000	0.4667	0.7056	0.6390	0.1577
<i>HLJC91</i>	7.0000	0.5667	0.8056	0.7629	0.1080
<i>HLJC98</i>	2.0000	0.9333	0.5062	0.3739	0.0045
<i>HLJC99</i>	2.0000	0.1000	0.0966	0.0905	0.0526
<i>HLJC111</i>	16.0000	0.8667	0.9175	0.8944	0.0185
<i>HLJC114</i>	2.0000	0.5000	0.4808	0.3610	0.0106
<i>HLJC116</i>	2.0000	0.1000	0.0966	0.0905	0.0526
平均值 Mean	6.1667	0.5315	0.6298	0.5774	0.0855

表 3 2 个瓦氏雅罗鱼群体的遗传多样性参数
Tab. 3 Genetic diversity parameter of 2 *Leuciscus waleckii* populations

群体 Population	平均等位基因数 Allele <i>N_o</i>	平均观测杂合度 <i>H_o</i>	平均期望杂合度 <i>H_e</i>	平均多态信息含量 PIC
达里湖群体 DY population	4.3889	0.4852	0.5502	0.4884
乌苏里江群体 WY population	5.5556	0.5778	0.6216	0.5535

2.4 群体遗传结构分析

遗传分化系数(*F_{st}*)是衡量群体间遗传分化程度。本研究中遗传分化系数平均值为 0.085 5,表明

有 8.55% 的变异来自群体之间,而超过 90% 的遗传差异来自于群体内。除了位点 *HLJY20* 的 *F_{st}* 值较高(0.294 2),其余 17 个位点的遗传分化水平都比较

弱, F_{st} 值介于 0.003 7 和 0.200 0 之间。

基因流是影响群体内部和群体之间遗传变异程度的重要因素^[14]。本研究中基因流平均值为 2.674 9, 说明两群体之间存在一定的基因流动。

研究表明, 遗传相似系数是衡量群体间遗传变异程度的可靠参数。群体间亲缘关系越近, 则遗传变异性越低, 相似系数值越大^[15]。本研究根据 Nei

的计算方法^[15]计算了 2 个群体的遗传相似指数为 0.774 9, 遗传距离为 0.255 0。表明两群体间存在显著的遗传分化。使用鱼类种质资源遗传分析软件和 PHYLIP3.5 软件包绘制瓦氏雅罗鱼的个体亲缘关系 UPGMA 聚类图。如图 2 所示, 达里湖雅罗鱼所有个体聚为一簇, 乌苏里江雅罗鱼所有个体聚为一簇, 遗传差异明显。

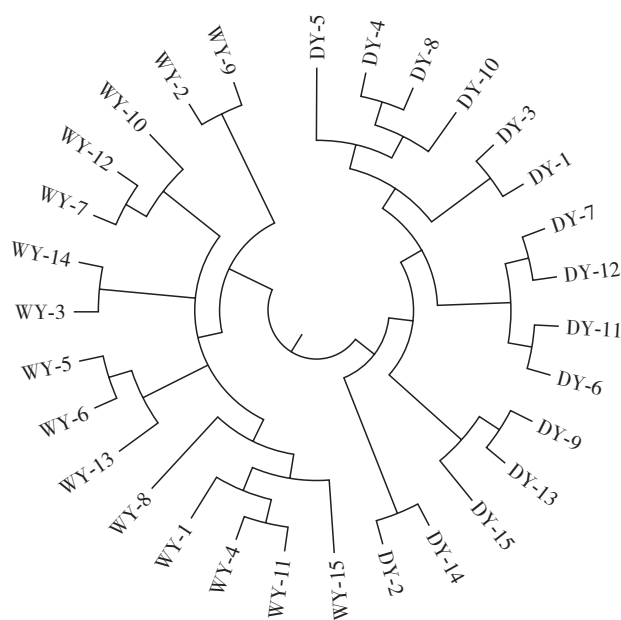


图 2 瓦氏雅罗鱼 30 个个体亲缘关系的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 Constructed dendrogram of 30 individuals in 2 populations of *Leuciscus waleckii* according to the microsatellite results by UPGMA cluster analysis

3 讨论

3.1 引物适用性

在群体分析研究中, 由于微卫星位点的侧翼序列在相近物种中具有相当的同源性^[17], 因此, 利用近缘种的微卫星标记进行的群体分析研究常见报道。在鱼类研究中, Mc Quown 等^[18]用 108 对铲鲟 (*Scaphirhynchus platyrhynchus* Rafinesque) 引物在高首鲟 (*Acipenser transmontanus* Richardsom)、湖鲟 (*A. fulvescens* Rafinesque) 和中吻鲟 (*A. medirostris* Ayres) 中扩增, 得到多态性条带的引物所占的比例为 9.2%、22.2% 和 11%。全迎春等^[19]用 6 072 对斑马鱼 (*Danio rerio*) 引物在在鲤 (*Cyprinus carpio*) 中

扩增, 鉴定多态性引物 563 对, 占 9.27%。邵昭君等^[20]用 21 对铲鲟微卫星引物筛选出 2 对 (9.5 %) 能在中华鲟 (*A. sinensis* Gray) 中扩增出清晰条带的引物。本研究中, 从 75 对草鱼引物中筛选可扩增出清晰条带的引物 13 对, 占 17.33%。引物筛选比例与前人报道相符, 说明用草鱼引物分析雅罗鱼是可行的。

3.2 群体遗传多样性

等位基因数反映了某个位点在进化过程中所积累的遗传变异程度, 等位基因数越多说明进化历程上这个位点突变越活跃, 导致物种在自然选择中发展的取向越多, 对生活环境适应的潜能越大^[21]。由表 2 可知, 本研究中达里湖群体和乌苏里江群体的等位基因数平均值分别为 4.388 9 和 5.555 6, 说

明2个雅罗鱼群体对环境的适应能力具有一定的潜力。达里湖群体的等位基因数低于乌苏里江群体,这可能与它生活的水环境有关。达里湖是一个高原内陆封闭型半碱式湖,其盐碱度极高且呈逐年增长趋势,迫使鱼类发生特异性进化,另外,渔业资源下降^[22]而导致的近交衰退也是原因之一。

杂合度是衡量群体变异的一个重要参数。平均杂合度的大小基本可以反映出多个群体的遗传变异及群体遗传多样性的丰富度。杂合度越高,表明该群体的遗传变异程度越高;反之,说明群体的遗传一致性越高。本研究利用18个微卫星位点所检测的雅罗鱼群体中的观测杂合度平均值为0.5313,显示出丰富的遗传多样性和较高的选择潜力。雅罗鱼2个群体的平均观测杂合度分别为0.4852和0.5778,表明2个群体遗传变异程度较大,而且总体上乌苏里江群体比达里湖群体的遗传多样性更为丰富,产生这种情况的原因,推测与达里湖群体是一个相对独立的群体,加之生态环境不断恶化、分布范围限制、繁殖群体的数量减少等因素有关。

多态信息含量(PIC)是衡量标记多态性的较好指标。一般认为在群体分析中:当 $PIC > 0.5$ 时,该座位为高度多态性座位, $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态性座位, $PIC < 0.25$ 是为低度多态性座位^[23]。同时多态信息含量关系到该座位可用性及使用效率,多态信息含量越大,在一个群体中,该座位杂合子比例则越大,群体的遗传信息就越高。由表2可知,本研究中有11个位点处于高度多态,4个位点属于中度多态性位点,3个位点属于低度多态性位点,多态信息含量平均为0.5774,说明这些微卫星标记的使用能够为瓦氏雅罗鱼的遗传多样性分析提供可靠的信息。

等位基因数量和杂合度都是衡量遗传变异水平的重要指标,综合上面分析结果表明2个群体的遗传多样处于较高水平,对此应采取科学有效的措施,加强其野生资源的保护和恢复,防止有利基因的丢失。

3.3 群体 Hardy-Weinberg 平衡检测

微卫星DNA本身是选择中性的,不受选择的压力,在一个理想群体中,各等位基因在群体中的分布

频率应该是稳定的^[24]。Hardy-Weinberg卡方检验表明雅罗鱼2个群体处于遗传平衡状态。对各位点进行多群体检测发现,18个多态位点中,达里湖群体在8个位点处于不平衡状态,乌苏里江群体只在4个位点处于不平衡。Quan等^[25]认为,由于环境压力、人为因素、样本量小都有可能造成偏离Hardy-Weinberg平衡。本研究中2个群体在某些位点处于不平衡可能与水域生态环境改变和长期捕捞强度不断加大而造成雅罗鱼繁殖群体数量减少有一定关系。达里湖由于蒸发量大于补给量,盐碱度逐年升高而迫使雅罗鱼特异性进化也可能是造成偏离平衡原因之一。另外,样本量不够大也可能是偏离平衡的原因之一。

3.4 群体遗传结构

2个雅罗鱼群体间的遗传分化系数pairwise F_{st} 为0.0855,即群体间的遗传变异占总群体遗传变异的8.55%,而91.45%的遗传变异是由群体内提供的。这表明瓦氏雅罗鱼群体绝大部分遗传变异发生在群体内,而非群体间。刘萍等^[26]认为, F_{st} 值在0~0.05之间,群体遗传分化较弱;0.05~0.15之间,群体遗传分化中等;0.15~0.25之间,表示群体遗传分化较大;当 F_{st} 值大于0.25时,表示分化极大。根据遗传分化结果,瓦氏雅罗鱼2个群体间存在中等程度的遗传分化。

Wright^[27]认为群体间基因流值若小于1($N_m < 1$),有限的基因流是促使群体发生遗传分化的主要原因。如果选择压力(生态气候、生长环境等)很大,即使 N_m 大于1也不能代表群体间发生了基因流。 N_m 大于1可能代表的是过去的基因流而不能反应现在的实际情况,除非 N_m 大于1说明地理距离可能很近或群体间有某种渠道可以发生基因流。本研究中 N_m 值为2.674说明两群体彼此之间有一定的基因流动。 N_m 值可能代表的是过去的基因流。达里湖是个内陆型半封闭式的盐碱湖,湖水无外泄,而主要靠附近的河流补给,与乌苏里江存在地理隔离,两群体之间不可能进行基因流动。而达里湖里的雅罗鱼在万年以前是属于辽河水系的雅罗鱼群体。由于地质构造下陷形成的达里湖。由于蒸发量大于补

给量,湖内的盐碱度逐渐升高,雅罗鱼适应生存环境而不断的分化,但仍有部分基因保留了下来。从遗传分化系数也可以看出,雅罗鱼两群体处于中等分化。所以 N_m 值是代表过去的基因流。

Thorp^[28] 通过分析研究认为:不同物种间遗传相似系数 $I=0.2 \sim 0.8$ (遗传距离 $D_e=0.2 \sim 0.8$),同科属群体间 $I=0.1 \sim 0.5$ ($D_e=0.5 \sim 0.9$),同种群体间 $I=0.8 \sim 0.97$ ($D_e=0.03 \sim 0.2$)。根据 Nei's (1972) 计算雅罗鱼 2 个群体的遗传距离为 0.255 0,遗传相似系数 0.774 9。这说明 2 个群体之间由于地理隔离,已经分化为 2 个有独自明显特征的群体,这一结果还需做进一步验证。

个体聚类结果显示,达里湖雅罗鱼所有个体聚为一类,乌苏里江雅罗鱼所有个体聚为一类。图 2 表明,2 个群体之间经过多年的地理隔离和不断的适应生存环境,自然选择已将其分为 2 个独自的群体。

依据上述分子遗传基础分析的初步结果可见,乌苏里江瓦氏雅罗鱼群体和达里湖瓦氏雅罗鱼群体虽然都属于瓦氏雅罗鱼,但是由于长期生活在 2 种完全不同的水域环境中,达里湖瓦氏雅罗鱼已适应高盐碱的生存条件,其某些遗传基础已发生改变。利用 2 个群体的遗传差异,为开展有关鱼类耐盐碱功能基因的发掘,进一步培育适应盐碱地养殖的新品种提供很好的材料。

致谢:本实验得到大连水产学院的李欧、徐美佳、何薇同学,上海海洋大学高国强、韩启霞同学的帮助,在此表示感谢。

参考文献:

- [1] 李延松,董崇智,赵春刚. 黑龙江上游黑龙江段瓦氏雅罗鱼渔业生物学研究[J]. 黑龙江水产,2004(2): 36-38.
- [2] 李国芳,周长海,崔喜顺,等. 乌苏里江下游海青江段瓦氏雅罗鱼渔业生物学研究[J]. 水产学杂志,2004,17(1): 53-56.
- [3] 韩一平. 达里湖渔业资源现状调查分析[J]. 内蒙古水利,2007(1): 45-46.
- [4] 刘立志,董崇智,宋鑫. 嫩江中游讷河江段瓦氏雅罗鱼生物学研究[J]. 水产学杂志,2006,19(1): 52-56.
- [5] 贾丽,张凤琴,孙彩霞,等. 盐碱池塘养殖达里湖瓦氏雅罗鱼试验初报[J]. 华北农学报,2006,21(专辑): 76-78.
- [6] 李志明,刘海涛,冯伟业,等. 达里湖和岗根湖东北雅罗鱼和鲫四种同工酶的比较研究[J]. 淡水渔业,2008,38(5): 26-29.
- [7] 张利,孟和平,彭本初,等. 达里湖东北雅罗鱼和鲫鱼的营养分析评价[J]. 内蒙古农业科技,2008(3): 77-78.
- [8] 季旭,孙效文,杨立更,等. 微卫星标记对牙鲆有丝分裂雌核发育家系的亲子鉴定[J]. 动物学研究,2008,29(1): 25-30.
- [9] 匡友谊,孙效文,尹家胜. 鱼类种质资源遗传分析装置[PL]. CN200710144749.3. 2008-08-27.
- [10] Yeh FC, Yang R. Popgene Version 1.31: Microsoft window based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and Tim Boyle, Centre for Internation Forestry Research, Canada. 1999.
- [11] Felsenstein J. Phylogeny Inference Package (PHYLIP). Version 3.5. Depart of genetics, University of Washington, Seattle.1993.
- [12] Tamua K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4.0: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molec Biol Evolut,2007,24: 1596-1599.
- [13] 黄磊,王义权. 扬子鳄种群的微卫星 DNA 多态及其遗传多样性保护对策分析[J]. 遗传学报,2004,31(2): 143-150.
- [14] Slatkin. Gene flow and the geographic structure of natural population[J]. Science,1987,236(4803): 787-792.
- [15] Plosky Y, Cahner A, Haberfeld A, et al. DNA Fingerprint bands applied to linkage analysis with quantitative trait loci in chickens[J]. Anim Genet,1993,24(2): 105-110.
- [16] Nei M. Genetic distance between populations [J]. Am Natur,1972,106: 283-292.
- [17] Dietz A B, Womack J E, Swarbrick P A, et al. Assignment of five polymorphic ovine microsatellites to bovine syntenic groups [J]. Anim Genet,1993,24(6): 433-436.
- [18] McQuown E C, Sloss B L, Sheehan R J, et al. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon (Acipenseridae): new primer sequences for Scaphirhynchus and Acipenser [J]. Trans Am Fish Soc,2000,129: 1380-1388.
- [19] 全迎春,梁利群,孙效文,等. 斑马鱼微卫星分子标记检测鲤鱼种间多态性[J]. 中国水产科学,2006,3(13): 300-304.
- [20] 邵昭君,赵娜,朱滨,等. 铲鲟微卫星引物对中华鲟的适用性研究[J]. 水生生物学报,2002,26(6): 577-584.
- [21] 蒋鹏,尹洪滨,张研,等. 雄性普通黄颡鱼所保护受精卵间的亲缘关系分析[J]. 动物学报,2008,54(5): 798-804.
- [22] 孟和平,彭本初,王保文,等. 达里湖东北雅罗鱼受精卵在不同

- 水体中的孵化试验[J]. 华北农学报, 2006, 21 (专辑): 152–154.
- [23] 刘萍, 孟宪红, 孔杰, 等. 中国对虾微卫星 DNA 多态性分析[J]. 自然科学通讯, 2004, 14 (3): 333–338.
- [24] 王伟, 尤锋, 高天翔, 等. 山东近海牙鲆自然和养殖群体 10 个微卫星基因座位的遗传多样性分析[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35 (6): 530–537.
- [25] 赵莹莹, 朱晓琛, 孙效文. 虹鳟 6 个养殖群体遗传多样性的微卫星的分析[J]. 遗传, 2006, 28 (8): 956–962.
- [26] Quan Y C, Sun X W, Liang L Q. Genetic polymorphism of microsatellite DNA in two population of northern sheatfish (*Silurus soldatovi*) [J]. Acta Genet Sin, 2006, 33 (10): 908–916.
- [27] Wright S. The genetic structure of population[J]. Ann Eugen, 1951, 15: 323–354.
- [28] Thorp J P. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation and systematic [J]. Annu Rev Ecol system, 1982, 13 (1): 1639–1681.

Genetic variability and genetic structure of *Leuciscus waleckii* Dybowski in Wusuli River and Dali Lake

CHI Bingjie^{1,2}, CHANG Yumei¹, YAN Xuechun¹, CAO Dingchen¹, LI Yong⁴, GAO Yukui³, LIU Yuhai³, LIANG Liqun¹

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China; 2. College of Fishery and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Dalinuo Fishery of Keshiketeng Banner, Chifeng 024000, China; 4. Department of Aquaculture, Heilongjiang Vocational College of Biology Science and Technology, Harbin 150025, China)

Abstract: *Leuciscus waleckii* Dybowski belongs to Cypriniformes, Cyprinidae and *Leuciscus*, mainly distributing in Amur River, Wusuli River, Songhua River, Liaohe River, Yellow River, Luanhe River and Nenjiang River. It is a cold water species and can survive in saline-alkaline waters above pH 9.0. While, a large number of *L. waleckii* survive in Dali Lake, which is located in the northeast of Inner Mongolia and is a saline-alkaline lake with a salinity of 6.96 and alkalinity of 53.57 mmol/L. Using 5 microsatellite markers of *L. waleckii* and 13 microsatellite markers of grass carp, we analyzed genetic differences and structures of *L. waleckii* sampled from Wusuli River and Dali Lake. The estimates of genetic variability showed that a total of 111 alleles were detected with average of 6.166 7 at each locus. The observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.100 0 to 0.933 3 with the mean of 0.531 5. The expected heterozygosity (H_e) and polymorphic information content (PIC) were 0.096 6–0.932 8 and 0.090 5–0.911 3, respectively. The average number of alleles and average H_o in Wusuli River population were 5.555 6 and 0.577 8 and in Dali population were 4.388 9 and 0.485 2. As described above, the levels of genetic variability were moderate in *L. waleckii* in this study. But the level of genetic diversity in Dali population was slightly lower than that in Wusuli population. The protection of wildlife resources should be strengthened in the future. The genetic distance between the two populations is 0.255 0 and the genetic similarity index is 0.774 9. Individual clustering showed that all Dali individuals converged in the right branch of topology tree, and the 15 individuals of Wusuli population converged in the left branch. The values of pairwise F_{st} and gene flow (N_m) were also estimated for the two populations. The value of pairwise F_{st} is 0.085 5, N_m is 2.674 9, indicating Dali and Wusuli populations have a moderate level of differentiation and little gene exchange between them. Chi-square test was used to analyze the genotype based on Hardy-Weinberg equilibrium; the P value denoted that the two populations deviated equilibrium partially. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (2): 228–235]

Key words: *Leuciscus waleckii* Dybowski; microsatellite marker; genetic diversity; genetic structure

Corresponding author: LIANG Liqun, E-mail: llq-1019@163.com