

乌苏里江 2 种细鳞鲑种群遗传多样性及亲缘关系的微卫星分析

马波, 姜作发

(中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070)

摘要:尖吻细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)28 尾和钝吻细鳞鲑(*B. tumensis*)26 尾,均采自乌苏里江中游。利用 9 对微卫星引物(10 个位点)对其种群遗传多样性进行比较研究,以期从分子水平上探讨 2 个种间的遗传多样性差异水平及其亲缘关系。结果表明,尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑种群的平均杂合度(H)分别为 0.323 0 和 0.339 1,多态信息含量(PIC)分别为 0.322 9 和 0.435 3;在检测到的 10 个基因位点中有 9 个位点上的等位基因及其在 2 种细鳞鲑间的分布存在显著差异,2 种细鳞鲑各自拥有大量的特有等位基因,而共有等位基因很少;2 种细鳞鲑在 4 个微卫星位点上的遗传相似度(I)为 0,在其他 6 个具有相同等位基因的位点上的遗传距离(D)为 0.011 5~2.575 9,平均为 0.939 3。研究表明,2 种细鳞鲑在种群遗传多样性上差异显著,亲缘关系很远,物种间可能存在生殖隔离,遗传分化程度远达到种以上的分类水平。本研究从分子水平上验证了对 2 种细鳞鲑的形态学分类结论,并对 2 种细鳞鲑的起源及其演化进行了探讨。[中国水产科学,2007,14(1):39-45]

关键词:尖吻细鳞鲑;钝吻细鳞鲑;微卫星;遗传多样性;分类地位;乌苏里江

中图分类号:S965.232

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2007)01-0039-07

细鳞鲑属(*Brachymystax*)鱼类是 1866 年 Günther 根据 1773 年在叶尼塞河发现细鳞鲑 *Salmo lenok* 而确定的,该属鱼类分布于俄罗斯的西伯利亚、蒙古东北部、朝鲜等水域,以及中国的黑龙江流域、图们江、鸭绿江、辽河支流,河北省北部白河上游、滦河上游、陕西秦岭北麓渭河,甘肃渭河上游,新疆额尔齐斯河及其分支等水域。目前,对细鳞鲑属鱼类的分类学问题存有争议,多数学者认为细鳞鲑属的鱼类在中国只有 *Brachymystax lenok* 一种^[1-5],李思忠先生^[6]曾把分布于陕西秦岭北麓渭河、甘肃渭河上游的细鳞鲑定为秦岭亚种(*B. lenok tsinlingensis*)。马波等^[7]最近的研究认为,在中国境内的黑龙江流域分布着 2 种形态类型的细鳞鲑,在黑龙江、乌苏里江等水域内的分布区广泛重叠,形态学差异显著,应归为细鳞鲑属的 2 个种,分别为尖吻细鳞鲑(*B. lenok*)和钝吻细鳞鲑(*B. tumensis*)。目前对中国细鳞鲑的研究多见于形态学、生态学等方面,对其种群遗传学的研究仅见于线粒体 DNA 序列方面的分析^[8]。本研究采用微卫星 DNA 分子标记技术,从基因水平上对分布于乌苏里江的这 2

种细鳞鲑的种群遗传多样性及其亲缘关系进行了比较研究,旨在为进一步确定 2 种细鳞鲑的分类地位、起源进化及其种质资源保护提供遗传学理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料及基因组 DNA 的提取

尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑采自于乌苏里江中游的海青乡江段,主要外部形态特征及样本数量见表 1。经形态鉴定后,取背部肌肉 10 g,置于低温下(-80 °C)保存。按照常规的苯酚-氯仿法提取基因组 DNA。

1.2 微卫星 PCR 扩增及电泳检测

从 GenBank 上获得尖吻细鳞鲑的微卫星序列 (AY484447~AY484458),共设计出 16 对引物,由上海生工生物工程技术有限公司合成,筛选出 9 对引物用于群体分析,引物序列见表 1。PCR 反应在美国伯乐公司的 MyCycler PCR 仪上进行,反应体系为 25 μ L,其中含有:1 \times PCR buffer 2.5 μ L, 1.5 mmol/L MgCl₂,正反向引物各 0.2 μ mol/L, dNTP 各 0.2 mmol/L,模板 DNA 100 ng, *Tap* DNA

收稿日期:2006-05-11; 修订日期:2006-07-19.

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目资助(C200507).

作者简介:马波(1974-),男,副研究员,主要从事鱼类生态学与分子生物学研究. E-mail:hsymb@tom.com

聚合酶 0.2 U(上海生工公司)。反应条件:94 °C 预变性 4 min,循环设置为:94 °C 变性 30 s,退火 30 s (不同引物的退火温度见表 2),72 °C 延伸 30 s,共 30 个循环,然后 72 °C 延伸 8 min。对 PCR 反应的产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶恒电压低温下电泳

(5 V/cm),电泳缓冲液为 1×TBE。凝胶经银染色显色后,用凝胶成像系统对凝胶进行拍摄,并用图像分析软件对电泳图谱进行分析,根据标准 pUC19 DNA/*MspI*(*Hpa* II) Marker 计算扩增片段的大小,确定个体的等位基因和基因型。

表 1 乌苏里江 2 种细鳞鲑的主要外部形态及样本数量

Tab. 1 Morphological comparison and sample numbers of two lenok species in Wusuli River

鱼名 Species	主要外部形态特征 Morphological characteristics	来源 Locality	样品数量 Samples
尖吻细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	吻长,较尖,口亚下位,上颌前端明显超出下颌,上颌骨后缘在眼中央下方之前,鳃耙数为 27~30,体色为棕绿色,体两侧有明显大块红斑	乌苏里江 Wusuli River	28
钝吻细鳞鲑 <i>B. tumensis</i>	吻短,较钝,口端位,上颌前端微突出于下颌,上颌骨后缘伸达眼中央下方,鳃耙数为 19~22,体色为金棕色,体两侧无明显大块红斑	乌苏里江 Wusuli River	26

1.3 数据处理

计算等位基因数(N_e)、等位基因频率(P)、有效等位基因数(N_e)、群体的平均杂合度(H)和多态信息含量(PIC)以统计种群内的遗传多样性;用 Nei 氏^[9]遗传距离(D)比较两种群间的遗传分化状况。以上检验用 POPGENE32 软件运算分析,多态信息

含量(PIC)采用以下公式^[10]:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$$

其中: P_i 和 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因的频率; n 为等位基因数。

表 2 9 对微卫星 DNA 的引物序列、核心重复序列及退火温度

Tab. 2 Sequences, core repetitive sequences and anneal temperatures of nine pairs of microsatellite DNA primers

微卫星引物 Microsatellite primer	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer	核心重复序列 Core motif	退火温度/°C Ann. temp
Lenok01	TGCGAGATACATCGTGAA	GTTTCGTCAGAGGGCATAG	(TATC) ₁₁	56
Lenok02	CCCTTTATCTGGCACTCC	GCCTCCAGCGTATCTTTT	(CAT) ₈ (TAT) ₆	56
Lenok03	GATGAGGATGTCTCGTGC	CTCTGTCTAATGTACTG-GTTTC	(TCA) ₈	56
Lenok04	ACCTCCAGGCCAGGACATA	CCGCCACAACAAAATCACA	(CAT) ₁₁	56
Lenok05	ATGTATTTGGCTAAGGTGT	CATTGGAGTGGAGGTTGT	(AC) ₅ (CA) ₁₀	60.5
Lenok06	AGACATCCGCTGCGAAAT	CAGGCATACAGTCAGACATA-CA	(CCTG) ₇	53
Lenok07	TCCAGTCCAACAGGCAACAA	CTTAGGGGGGCTGCTTCAT	(TGTC) ₇	58.5
Lenok08	GTCCAGACTGCTGCTTGT	AGAGGTAGTGTTAGTGGGTAT	(CTGT) ₇	57
Lenok09	GTAGCGTAAAGCCACAGA	CAGACAGGCAGACAGACA	(TGTC) ₈	57

2 结果与分析

2.1 基因位点与等位基因

筛选出的 9 对微卫星引物在乌苏里江的尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的种群中均能扩增出清晰的等位基因,表明这些微卫星引物对 2 种细鳞鲑均有适用性。在 2 种细鳞鲑中共检测出 10 个基因位点,其中

Lenok 02 引物检测出 2 个位点(Lenok02-1、Lenok02-2)。尖吻细鳞鲑中的 Lenok01、Lenok02-1、Lenok03、Lenok04、Lenok05、Lenok07 和 Lenok08 等 7 个位点为多态位点,多态位点比例为 70%;钝吻细鳞鲑中的 Lenok01、Lenok02-1、Lenok03、Lenok04、Lenok05、Lenok06、Lenok07、Lenok08 和 Lenok09 等 9 个位点为多态位点,多态位点比例为

90%, 高于尖吻细鳞鲑。部分微卫星凝胶电泳图谱见图 1, 微卫星位点的等位基因及频率统计见表 3。由表 3 可见, 在 2 种细鳞鲑中共检测出 76 个等位基因, 尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的等位基因数分别为 42 个和 52 个, 但等位基因的大小及分布在 2 种间存在很大的差异。仅为尖吻细鳞鲑所特有的等位基因有 24 个, 仅为钝吻细鳞鲑所特有的等位基因有 30 个, 分别占 2 个种等位基因总数的 31.58% 和 39.47%, 而两者共有的等位基因数为 22 个, 仅占等位基因总数的 28.95%。2 种细鳞鲑间基因位点上的显著差异除了表现为 *Lenok01*、*Lenok02-1*、

Lenok03 和 *Lenok04* 等位点上两者存在大量的不同等位基因外, 在 *Lenok06* 和 *Lenok09* 位点上, 尖吻细鳞鲑为单态, 而钝吻细鳞鲑为多态, 共含有 12 个等位基因, 且两者无相同等位基因, 在 *Lenok08* 和 *Lenok02-2* 位点上同样也无相同等位基因; 因此, 上述 4 个微卫星位点可作为鉴别 2 种细鳞鲑物种的有效分子遗传标记。同时, 除了 *Lenok07* 位点外, 两种细鳞鲑共有等位基因大多不是本位点上频率最高的优势等位基因 (如等位基因 *Lenok02-1-336*、*Lenok03-288*、*Lenok04-163*、*Lenok05-117* 等), 而往往各自拥有不同的频率较高的优势等位基因。

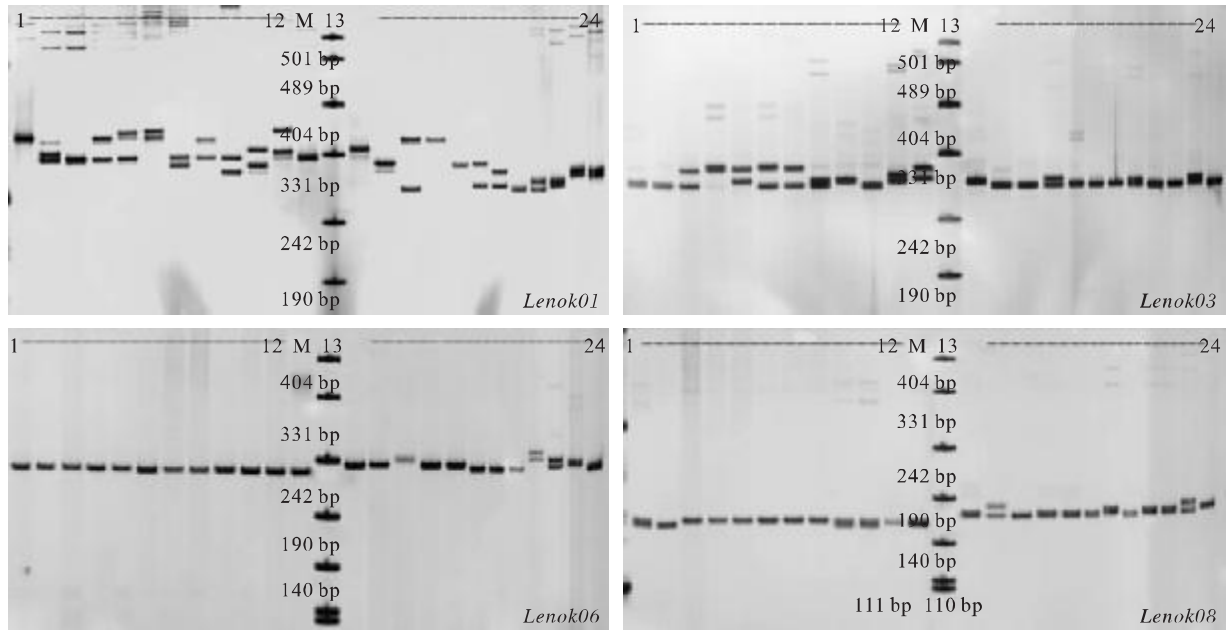


图 1 微卫星位点 *Lenok01*、*Lenok03*、*Lenok06* 和 *Lenok08* 的 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测图谱

1~12: 尖吻细鳞鲑; 13~24: 钝吻细鳞鲑; M: pUC19 DNA/*Msp* I Marker

Fig. 1 Photographs of 8% nondenaturing polyacrylamide demonstration of *Lenok01*, *Lenok03*, *Lenok06* and *Lenok08* micro-satellite loci

1-12: *Brachymystax lenok*; 13-24: *B. tumensis*; M: pUC19 DNA/*Msp* I Marker

2.2 种群的遗传多样性

根据各位点上等位基因频率分别计算 2 种细鳞鲑种群的等位基因数 (N_e)、有效等位基因数 (N_e)、平均杂合度 (H) 和多态信息含量 (PIC) 等 (表 4)。由表 4 可见, 不同微卫星位点间的遗传多样性水平差异很大, 尖吻细鳞鲑群体仅在 *Lenok01*、*Lenok02*、*Lenok03* 和 *Lenok04* 位点上, 钝吻细鳞鲑群体仅在 *Lenok01*、*Lenok04* 和 *Lenok09* 位点上表现出较高的遗传多样性水平, 而在其他位点上均表现出较低的

水平。因此, 总体上 2 种细鳞鲑的种群遗传多样性水平较低, 尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的 H 分别为 0.323 0 和 0.339 1, PIC 分别为 0.322 9 和 0.435 3, 钝吻细鳞鲑略高于尖吻细鳞鲑。尖吻细鳞鲑在 *Lenok05*、*Lenok06*、*Lenok07*、*Lenok08* 和 *Lenok09* 位点上 N_e 仅为 1~2 个, H 仅为 0.000~0.136 4, 远低于钝吻细鳞鲑的 2~7 个和 0.136 4~0.550 0, 表明在这些位点上, 尖吻细鳞鲑的遗传多样性比钝吻细鳞鲑更低。

表3 乌苏里江2种细鳞鲑10个微卫星位点及等位基因频率统计

Tab. 3 Allele frequencies of ten microsatellite loci in two lenok species in Wusuli River

位点/ 等位基因 Locus/allele	尖吻细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	钝吻细鳞鲑 <i>B. tumensis</i>	位点/ 等位基因 Locus/allele	尖吻细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	钝吻细鳞鲑 <i>B. tumensis</i>	位点/ 等位基因 Locus/allele	尖吻细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	钝吻细鳞鲑 <i>B. tumensis</i>
<i>Lenok01</i>			200		1.000 0	129		0.022 7
285		0.113 6	<i>Lenok03</i>			<i>Lenok06</i>		
289		0.068 2	288	0.250 0	0.890 2	230	1.000 0	
293		0.181 8	294	0.250 0	0.048 8	234		0.150 0
297		0.136 4	297	0.125 0	0.036 6	238	0.625 0	
305		0.045 5	300	0.020 8	0.024 4	242		0.125 0
309	0.022 7	0.068 2	303	0.020 8		246		0.075 0
317	0.090 9	0.090 9	306	0.020 8		254		0.025 0
321	0.045 5	0.045 5	309	0.104 2		<i>Lenok07</i>		
325	0.136 4		312	0.166 7		236	0.022 7	0.150 0
329	0.181 8		321	0.041 7		244	0.977 3	0.850 0
333	0.113 6	0.068 2	<i>Lenok04</i>			<i>Lenok08</i>		
337	0.090 9	0.045 5	157	0.043 5		162	0.238 1	
341	0.068 2	0.022 7	160		0.022 7	166	0.761 9	
345		0.045 5	163	0.478 3	0.181 8	174		0.523 8
353		0.068 2	166	0.065 2	0.159 1	178		0.333 3
357	0.068 2		169	0.152 2	0.250 0	182		0.142 9
361	0.045 5		172	0.108 7	0.090 9	<i>Lenok09</i>		
369	0.045 5		175	0.021 7	0.045 5	308	1.000 0	
373	0.090 9		178	0.043 5		312		0.225 0
<i>Lenok02-1</i>			181	0.021 7	0.068 2	314		0.325 0
230		0.818 2	184		0.136 4	318		0.050 0
236	0.431 8	0.045 5	187		0.022 7	322		0.225 0
239	0.113 6	0.090 9	190		0.022 7	326		0.100 0
242	0.068 2	0.045 5	193	0.021 7		330		0.050 0
245	0.227 3		196	0.043 5		334	0.025 0	
248	0.113 6		<i>Lenok05</i>					
254	0.045 5		117	0.295 5	0.931 8			
<i>Lenok02-2</i>			123	0.704 5				
203	1.000 0		125		0.045 5			

表4 乌苏里江2种细鳞鲑的种群遗传多样性统计

Tab. 4 Observed number(N_a) and effective number(N_e) of alleles, heterozygosity among populations(H) and polymorphism in formation content(PIC) of two lenok species in Wusuli River

位点 Loci	尖吻细鳞鲑 <i>B. lenok</i>				钝吻细鳞鲑 <i>B. tumensis</i>			
	N_a	N_e	H	PIC	N_a	N_e	H	PIC
<i>Lenok01</i>	12	9.490 2	0.818 2	0.885 4	13	9.979 4	0.727 3	0.891 5
<i>Lenok02-1</i>	6	3.694 7	0.727 3	0.693 9	4	1.466 7	0.363 6	0.301 5
<i>Lenok02-2</i>	1	1.000 0	0.000 0	—	1	1.000 0	0.000 0	—
<i>Lenok03</i>	9	5.485 7	0.625 0	0.793 4	4	1.254 9	0.146 3	0.196 4
<i>Lenok04</i>	10	3.635 7	0.782 6	0.702 2	10	6.410 6	0.681 8	0.825 7
<i>Lenok05</i>	2	1.713 3	0.136 4	0.329 7	3	1.148 3	0.136 4	0.124 7
<i>Lenok06</i>	1	1.000 0	0.000 0	—	5	2.298 9	0.200 0	0.529 1
<i>Lenok07</i>	2	1.046 5	0.045 5	0.043 4	2	1.342 3	0.300 0	0.222 5
<i>Lenok08</i>	2	1.569 4	0.095 2	0.297 0	3	2.463 7	0.285 7	0.517 4
<i>Lenok09</i>	1	1.000 0	0.000 0	—	7	4.494 4	0.550 0	0.744 4
平均值 Mean	4.6	2.963 5	0.323 0	0.322 9	5.2	3.185 9	0.339 1	0.435 3

2.3 种群间的遗传距离

基于等位基因频率,计算尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑种群间的遗传相似度和遗传距离(表 5)。由表 5 可见,2 种细鳞鲑在 *Lenok02-2*、*Lenok06*、*Lenok08* 和 *Lenok09* 位点上的遗传相似度为 0.000 0,其他 6 个位点上的遗传相似度在 0.076 1~0.988 6,平均

相似度为 0.306 7。除了位点 *Lenok07* 外,其他 5 个具有相等等位基因的多态位点间的遗传距离为 0.338 0~2.575 9,平均为 0.939 3,尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑种群间的遗传距离已明显达到种以上的分化水平。

表 5 乌苏里江 2 种细鳞鲑微卫星位点间的遗传相似度(*I*)和遗传距离(*D*)

Tab. 5 Genetic similarity indices(*I*)and genetic distances(*D*)of two species of lenok in Wusuli River

参数 Index	<i>Lenok</i> 01	<i>Lenok</i> 02-1	<i>Lenok</i> 02-2	<i>Lenok</i> 03	<i>Lenok</i> 04	<i>Lenok</i> 05	<i>Lenok</i> 06	<i>Lenok</i> 07	<i>Lenok</i> 08	<i>Lenok</i> 09	平均 Mean
遗传相似度 <i>I</i> Genetic similarity index	0.273 8	0.076 1	0.000 0	0.629 3	0.713 2	0.386 2	0.000 0	0.988 6	0.000 0	0.000 0	0.306 7
遗传距离 <i>D</i> Genetic distance	1.295 4	2.575 9	—	0.463 2	0.338 0	0.951 5	—	0.011 5	—	—	0.939 3

3 讨论

3.1 乌苏里江尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的种群遗传多样性

平均杂合度(*H*)是度量种群遗传变异程度的一个最适参数,多态信息含量(PIC)是衡量基因片段多态性的较好指标。乌苏里江尖吻细鳞鲑在 *Lenok01*、*Lenok02-1*、*Lenok03* 和 *Lenok04* 位点上的 *H* 和 PIC 为 0.625 0~0.818 2 和 0.693 9~0.885 4,有效等位基因数(N_e)为 3.635 7~9.490 2,表现出丰富的遗传多样性水平。但在其他 6 个位点上的遗传多样性水平却较低,*H* 和 PIC 最高仅为 0.136 4 和 0.329 7, N_e 最高为 1.713 3,其中有 3 个位点为单态。研究表明尖吻细鳞鲑的遗传多样性水平在所分析的 10 个基因位点上产生显著分化:在一些位点上表现出较高的遗传变异;而在另一些位点上的遗传多样性却很贫乏,且占多数(60%),尖吻细鳞鲑大部分位点上等位基因的变异较为保守。钝吻细鳞鲑在 *Lenok01*、*Lenok04* 和 *Lenok09* 位点上也表现出较高的遗传多样性水平,*H* 和 PIC 分别为 0.363 6~0.727 3 和 0.744 4~0.891 5,且 *Lenok05*、*Lenok06*、*Lenok07* 和 *Lenok08* 等位点上的等位基因变异水平又明显高于尖吻细鳞鲑,表明钝吻细鳞鲑位点间遗传多样性水平的分化程度不如尖吻细鳞鲑位点间的分化程度显著。乌苏里江尖吻细鳞鲑种群的平均 N_e 、*H* 和 PIC 分别为 2.963 5、0.323 0 和 0.322 9,钝吻细鳞鲑种群的平均 N_e 、*H* 和 PIC 分别为 3.185 9、0.339 1 和 0.435 3,尖吻细鳞鲑种群的

遗传多样性水平略低于钝吻细鳞鲑,与黑龙江流域大马哈鱼(*Oncorhynchus keta*)相比^[11],2 种细鳞鲑种群的遗传多样性处于中等水平。

3.2 尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的亲缘关系及属内地位

在东西伯利亚的勒拿河流域、黑龙江流域内尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑具有广泛的重叠分布区域,大量的研究表明,2 种细鳞鲑在头部、躯体、鳃耙数、体色、产卵地、摄食及其他生物学特征上存在显著的差异,研究结论都趋向于将 2 种细鳞鲑划归为细鳞鲑属的 2 个物种^[7,12-14]。在对 2 种细鳞鲑进行形态学和生物学比较研究的同时,对其种群遗传多样性及差异水平也进行了许多研究,Shed'ko 等^[15]对黑龙江流域重叠分布区的尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑进行线粒体 DNA 限制性内切酶分析,表明 2 种细鳞鲑的遗传差异显著,平均核苷酸序列差异为 1.86%。此后,Shed'ko 等^[16]又对乌苏里江流域不同河流中的 2 种细鳞鲑进行线粒体 DNA 限制性内切酶分析,尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑平均核苷酸序列差异为 2.24%,仅略低于细鳞鲑和哲罗鲑(*Hucho taimen*)之间的分歧水平(3.10%)。Osinov^[17]利用同工酶电泳技术对勒拿河 2 种细鳞鲑不同地理种群的遗传多样性进行了研究,遗传距离平均为 0.103,分析认为在所有重叠分布区内的 2 种细鳞鲑间可能存在生殖隔离,应属于 2 个独立的生物种,并确定两者为单独起源。Froufe 等^[18]对分布于整个东西伯利亚地区的 2 种细鳞鲑的 40 个种群研究表明,两者在 mtDNA 控制区和 NADH-1 基因序列上分别存

在 1.5% 和 5.5% 的分歧; Frolov 等^[19] 比较了 2 种细鳞鲑在染色体近端着丝粒短臂上所存在的差异, 认为这种差异可能会导致 2 种细鳞鲑不能杂交。本研究对乌苏里江尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的种群遗传结构分析表明, 由于 2 种细鳞鲑各自拥有大量的特有等位基因, 在 10 个微卫星位点中, 有 9 个位点在 2 种间的遗传变异已达到显著差异, 其中的 4 个位点没有相同等位基因, 遗传相似度为 0, 其他 6 个具共有等位基因的多态位点间的遗传距离最大可达 2.575 9, 平均为 0.939 3, 远达到种以上的分化水平。可以确认分布于乌苏里江的尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑亲缘关系很远, 种群间明显没有基因交流, 可能存在生殖隔离。综合现有的研究结果, 本研究利用微卫星分子标记, 从基因组 DNA 水平上再次验证了形态学和遗传学的研究结论, 即尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑应划为细鳞鲑属的两个独立物种。同时, 微卫星 *Lenok02-2*、*Lenok06*、*Lenok08* 和 *Lenok09* 位点在 2 种细鳞鲑的种群中没有相同的等位基因, 因而可以作为鉴别乌苏里江尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的有效分子遗传标记。

3.3 关于黑龙江流域尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑的起源及演化

鲑科鱼类起源于亚欧北寒带^[20], 而细鳞鲑的现代分布中心是北冰洋流域的西伯利亚地区, 推断这里是它们的起源中心^[3], 2 种细鳞鲑在勒拿河和黑龙江流域有广泛的重叠分布区, 表明两者可能具有相同的起源地及演化过程。Alekseyev 等^[13] 研究认为, 在东西伯利亚的勒拿河流域, 2 种细鳞鲑分别起源于各自的祖先, 并且这些祖先被假设来自于勒拿河的上游, 在后冰河时期由于气候变化, 主要流水系发生混流交融, 致使细鳞鲑向外迁移扩散。Froufe 等^[21] 研究发现, 勒拿河流域和黑龙江流域之间的尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑在遗传上各自共享一个单倍型, 推测黑龙江流域的 2 种细鳞鲑各有独立起源, 也支持东西伯利亚主要江河的水文混合是由于冰河时期大规模的水文交换的假设。因此, 可以确认分布于中国黑龙江流域的 2 种细鳞鲑起源于东西伯利亚, 在冰河期经河流体系的交融作用下一起迁移扩散于此。本研究表明, 分布于乌苏里江的尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑在大多数微卫星位点上的等位基因及分布存在显著差异, 各自拥有大量的特有等位基因并成为群体中的优势等位基因。优势等位基因是指在特定的基因位点上相对集中的等位基因,

往往是物种在起源进化过程中比较古老、原始、保守的基因。尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑虽然可重叠分布在同一水域, 不存在地理隔离, 但在遗传结构上却保持相互独立且没有关联, 物种间可能会存在生殖隔离, 没有发生明显的基因交流现象; 并且也没有研究表明其中的一种细鳞鲑是从另外一种细鳞鲑分化而来, 这暗示着 2 种细鳞鲑可能起源于不同的原始基因, 即起源于不同的最原始祖先, 尖吻细鳞鲑起源于尖吻细鳞鲑的祖先, 钝吻细鳞鲑起源于钝吻细鳞鲑的祖先, 并在种群迁移扩散过程中保持平行进化, 以至于形成现今的 2 种细鳞鲑在黑龙江流域内广泛重叠的分布格局。与对 2 种细鳞鲑的起源与演化的地理学及蛋白质、线粒体 DNA 基因序列分析的遗传学研究结果相一致, 本研究利用微卫星分子标记对基因组 DNA 的分析结果也支持分布于黑龙江流域内的尖吻细鳞鲑和钝吻细鳞鲑为单独起源, 各有原始祖先的推论。

参考文献:

- [1] 张觉民. 黑龙江省鱼类志[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995: 52—55.
- [2] 黄浩明, 张德龙, 庄龙杰, 等. 鸭绿江细鳞鱼的生物学[J]. 水生生物学报, 1989, 13(2): 160—168.
- [3] 秦树臻, 王所安. 细鳞鱼亚种问题的研究[J]. 鲑鳟渔业, 1989, 1: 52—60.
- [4] 任慕莲, 郭炎, 张人铭, 等. 中国额尔齐斯河鱼类资源及渔业[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2002: 63—67.
- [5] 王鸿媛. 细鳞鱼属的研究和河北北部的细鳞鱼[J]. 鲑鳟渔业, 1988, 1(1): 16—25.
- [6] 李思忠. 陕西太白山细鳞鲑的一新亚种[J]. 动物分类学报, 1966, 3(1): 92—94.
- [7] 马波, 尹家胜, 李景鹏. 黑龙江流域两种细鳞鲑的形态学比较及其分类地位初探[J]. 动物分类学报, 2005, 30(2): 257—260.
- [8] 夏颖哲, 盛岩, 陈宜瑜. 利用线粒体 DNA 控制区序列分析细鳞鲑种群的遗传结构[J]. 生物多样性, 2006, 14(1): 48—54.
- [9] Nei M. Genetic distance between populations[J]. Am Nat, 1972, 106: 283—291.
- [10] Bostein D, White T L, Skolnick M. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. Am J Hum Genet, 1980, 32: 314—331.
- [11] 陈金平, 董崇智, 孙大江, 等. 微卫星标记对黑龙江流域大麻哈鱼遗传多样性研究[J]. 水生生物学报, 2004, 28(6): 607—612.
- [12] Alekseyev S S, Gruzdeva M A, Skopets M B. Fish fauna of the Shantar Islands[J]. J Ichthyol, 2004, 44: 36—51.
- [13] Alekseyev S S, Kirillov A F, Samusenok V P. Distribution and Morphology of the sharp-snouted and the blunt-snouted lenoks of the genus *Brachymystax* (Salmonidae) of East Siberia[J]. J

- Ichthyol, 2003, 43: 350—373.
- [14] Kifa M I. Morphology of two forms of lenok (genus *Brachymystax*, fam. Salmonidae) from the Amur basin and their systematic position [M] // Zoogeography and Systematics of Fishes. Leningrad: USSR Publishing House, 1976: 142—156.
- [15] Shed'ko S V, Ginatulina L K. Restriction analysis of mitochondrial DNA of the two forms of lenok *Brachymystax lenok* (Pall.) and taimen *Hucho taimen* (Pall.) [J]. *Genetika*, 1993, 29(5): 799—807.
- [16] Shed'ko S V, Ginatulina L K, Parpura I Z, et al. Evolutionary and taxonomic relationships among Far-Eastern salmonid fishes inferred from mitochondrial DNA divergence [J]. *J Fish Biol*, 1996, 49: 815—829.
- [17] Osinov A G. Counter current dispersion, secondary contact and speciation in lenoks of the genus *Brachymystax* [J]. *Genetika*, 1993, 29(4): 654—669.
- [18] Froufe E, Alekseyev S, Alexandrino P, et al. Phylogeographic analysis of the genus *Brachymystax* based on mtDNA control region and NADH-1 genes, with inferences on broad-scale Eurasian paleohydrological dynamics [C] // The First Baikal Workshop on Evolutionary Biology. Russian Academy of Sciences Siberian Branch Limnological Institute Irkutsk, Irkutsk, Russia September, 2004, 7: 6—11.
- [19] Frolv S V, Sakai H, Frolova V N. Karyotypes of two forms of lenok from the Amur River basin [C] // Scientific Treatise on First International Symposium on Fish Biodiversity of the Amur River and Adjacent Rivers Fresh Waters [C]. Khabarovsk, Russia, 2002, 13—14.
- [20] 李思忠. 中国蛙科鱼类地理分布的探讨 [J]. *动物学杂志*, 1984, 1(3): 34—37.
- [21] Froufe E, Alekseyev S, Knizhin I, et al. Comparative phylogeography of salmonid fishes (Salmonidae) reveals late to post-Pleistocene exchange between three now-disjunct river basins in Siberia [J]. *Divers Distribut*, 2003, 9: 269—282.

Genetic diversity and relationship between two species of *Brachymystax* in Wusuli River revealed by microsatellites

MA Bo, JIANG Zuo-fa

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: *Brachymystax* fish are economically important cold water species, which are mainly distributed over waters in Russia, Korea and China. In China, they can be found in northeast and southwest areas. There are two different opinions about its taxonomy. Most of researchers thought that there is only one species in *Brachymystax*, but the author found that there were two species of *Brachymystax* in the rivers in Heilongjiang, i. e. *B. lenok* and *B. tumensis*. These two species had ranged over many water areas in northern China. Little genetic information is available for *Brachymystax* fish, and there are currently no genetic diversity data about *Brachymystax* fish in China, although progress has been made in characterizing its ecology and morphological characters. In this paper, population genetic diversity and divergence of these two species in Wusuli River were investigated with 9 pairs of microsatellite primers. The average heterozygosity across 10 loci were 0.323 0 in *B. lenok* and 0.339 1 in *B. tumensis*, and polymorphic information content were 0.322 9 and 0.435 0 respectively. The average number of effective alleles were distinctly different between the two species for 10 microsatellite loci tested. The two species shared few alleles and each has a lot of specific alleles compositions. The genetic similarity at four loci (*Lenok02-2*, *Lenok 06*, *Lenok 08* and *Lenok 09*) between the two species was 0, but the two species shared some alleles at the other six loci and their mean genetic distance was 0.939 3 (ranging from 0.011 5 to 2.575 9). These results suggest that there is significant difference of population genetic diversity and for genetic relationship between *B. lenok* and *B. tumensis*, which is in accordance with their morphological differences. Moreover, origin and evolution of *Brachymystax* are also discussed in this paper. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 39—45]

Key words: *Brachymystax lenok*; *Brachymystax tumensis*; microsatellite; genetic diversity; taxonomy; Wusuli River

Corresponding author: Ma Bo. E-mail: hsymb@tom.com