

黑龙江和乌苏里江唇鮈的微卫星引物筛选及群体遗传结构

胡雪松, 石连玉, 李池陶, 曹顶臣, 马波, 徐伟
(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: 利用鲤 (*Cyprinus carpio* L.) (20 对引物) 和 *Hemibarbus mylodon* (21 对引物) 共 41 对微卫星引物对黑龙江 (逊克, XK) 和乌苏里江 (虎头, HT; 海青, HQ) 的 3 个野生唇鮈 (*Hemibarbus labeo*) 群体进行引物适合性研究, 并将获得的多态性微卫星位点用于唇鮈群体遗传结构分析。引物筛选结果表明, 5 对鲤引物可对唇鮈扩增出条带, 但产物均无多态性; 11 对 *H. mylodon* 引物能在唇鮈中成功扩增, 10 对引物 (10 个位点) 的扩增产物具有多态性, 其中 7 个位点为高度多态 ($PIC > 0.5$)。对 3 个唇鮈群体进行遗传多样性分析, 结果显示 10 个位点的平均杂合度为 0.483 4, 共检测到 96 个等位基因 (40 个有效等位基因), 以 HT 群体的遗传变异水平最高。卡方检验结果表明, 8 个位点在 3 个群体中不同程度地偏离遗传平衡 ($P < 0.05$), 且偏离平衡的位点均表现为杂合体缺失 ($F_{is} > 0$)。3 个群体两两间具有较多的基因交流 ($N_m > 11$), 以 XK 和 HQ 间最高 (17.27), 二者的遗传距离也最近 (0.0497), 群体间的遗传分化微弱 ($F_{st} = 0.0236$)。以上结果表明, *H. mylodon* 的微卫星引物适合于唇鮈的群体遗传变异研究。黑龙江和乌苏里江的野生唇鮈资源受人为及环境因素的影响较大; 3 个群体间的遗传分化不明显, 乌苏里江的 HT 群体更适合在人工繁殖计划中利用。[中国水产科学, 2008, 15 (2): 230-236]

关键词: 唇鮈; 微卫星; 遗传结构

中图分类号: Q959.46

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)02-0230-07

唇鮈 (*Hemibarbus labeo*) 属鲤科 (Cyprinidae), 鲈亚科 (Gobioninae), 鮈属 (*Hemibarbus*), 分布于中国各主要水系^[1]。唇鮈为中小型经济鱼类, 其肉质鲜嫩, 具有较高的营养价值。近年来, 过度捕捞和环境污染对唇鮈野生资源的破坏较大, 采捕量逐年下降, 捕获个体逐年减小。对唇鮈野生资源进行保护, 通过人工繁殖恢复其资源量, 对该鱼的育种和生产都十分必要。冯晓宇等^[2]对钱塘江的野生唇鮈进行过人工繁殖和鱼苗的培育, 贺吉胜等^[3]、甘光明等^[4]对唇鮈胚胎发育及受精机制也进行了研究, 但有关唇鮈的遗传多样性及群体遗传结构方面的研究, 国内外均未见报道。本实验初次探讨了与唇鮈同科的鲤 (*Cyprinus carpio* L.) 和同属的 *Hemibarbus mylodon* (原产于韩国, 主要分布于临津江、汉江和锦江^[5]) 的微卫星引物在唇鮈中进行扩增的适合性, 并利用筛选出的多态性微卫星引物对黑龙江中游、乌苏里江上游和下游 3 个唇鮈群体的遗传变异水平进行研究, 以了解中国黑龙江流域唇鮈的种质资源现状, 旨为唇鮈资源的有效保护、科学

繁育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集与基因组DNA提取

唇鮈样本采自黑龙江中游逊克江段 (XK, 30 尾)、乌苏里江上游虎头江段 (HT, 30 尾) 及下游海清江段 (HQ, 30 尾)。采用常规酚 / 氯仿法提取鳍条中基因组 DNA, 纯化并定量至 50 ng/ μ L。

1.2 PCR扩增和基因型判定

备选微卫星引物共 41 对。其中 20 对鲤微卫星引物根据 Crooijmans 等^[6] (13 对) 和 Yue 等^[7] (7 对) 提供的序列合成, 另外 21 对 *H. mylodon* 的微卫星引物参考 GenBank 提供的相应微卫星序列, 利用 primer premier5.0 和 Oligo6.0 软件设计并合成 (表 1)。

PCR 反应体系总体积 25 μ L, 其组成为 10×PCR buffer 2.5 μ L, 10 mmol/L 4×dNTPs 2 μ L, 2.0 mmol/L MgCl₂ 1.5 μ L, 10 pmol/ μ L 上下游引物各 1 μ L, Taq DNA 聚合酶 1 U, 50 ng/ μ L DNA 模板 1 μ L。反应条

收稿日期: 2007-04-16; 修订日期: 2007-08-16。

基金项目: 黑龙江省科委重点项目 (GC05B509)。

作者简介: 胡雪松 (1977-), 男, 助理研究员, 硕士, 主要从事鱼类遗传育种研究。E-mail: hxsgh@163.com

通讯作者: 徐伟。E-mail: xwsc23@tom.com

表1 用于筛选的适合在唇鱈中扩增的鲤和*H. mylodon*的微卫星引物Tab.1 Microsatellite primers of *Cyprinus carpio* L. and *H. mylodon* screened for cross-species amplification in *H. labeo*

来源物种 Source species	引物数量 No. of primers	位点 Locus	引物来源 Source of primers	可成功扩增的引物 Primers with successful amplification
鲤 <i>Cyprinus carpio</i> L.	13	<i>MFW2</i> 、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14、26	Crooijmans, et al ^[6]	4
	7	<i>CCA1</i> 、2、3、4、6、16、17	Yue, et al ^[7]	1
<i>H. mylodon</i>	21	<i>HM4</i> 、5、6、7、8、10、12、13、19、26、33、35、37、38、40、44、57、76、106、115、127	GenBank Access.No. DQ486712-16, 18-28, 31, 34-37	11

件为 94 ℃ 预变性 5 min, 94 ℃ 变性 30 s, 以适宜的温度(表2)退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 循环 25 次, 72 ℃ 继续延伸 5 min, 4 ℃ 保存。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后, 利用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 硝酸银染色。电泳图谱利用 Gel-pro analyzer 4.5 软件分析, 分子量标记为 pBR322/*MspI* Marker 和 pUC18/*MspI* Marker, 结合 PCR 产物长度及核苷酸重复单位数目确认片段大小并判定基因型。

1.3 数据分析

利用 Popgen32 软件统计整个群体及各群体检测到的等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e), 计算平均杂合度 (Average heterozygosity, H)、哈代-温伯格平衡 (HWE) 偏离程度 (P)、固定指数 (F_s)、群体间遗传分化指数 (F_{st})、群体间的每代迁移数 (N_m) 及 Nei's 标准遗传距离 (D_s)^[8]。其中利用卡方 (Chi-square) 检验来检测各位点 HWE 的偏离程度, $P < 0.05$ 时认为该位点显著偏离遗传平衡。各位点多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC) 参照 Botstein 等^[9]提供的方法计算。根据 Nei's 标准遗传距离用 Mega3.1 软件构建 3 个群体的 UPGMA 聚类图。

2 结果与分析

2.1 微卫星引物的筛选及电泳检测结果

选用与唇鱈同科的鲤微卫星引物共 20 对, 在每个唇鱈群体中取 2 个样本进行检测, 结果发现仅 5 对引物 (*MFW2*、*MFW4*、*MFW5*、*MFW10*、*CCA2*) 可扩增出产物。聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果显示, 所有目的片段均无多态性, 部分位点的电泳结果如图 1 所示。从各群体中再任取 20 个个体重复以上实验, 结果仍显示均无多态性。这表明本研究采用的部分鲤微卫星的侧翼 DNA 序列在唇鱈中是保守的, 能够实现扩增, 但产物并未呈现多态性, 因此不适合用于唇鱈的群体遗传学研究。根据 GenBank 中提供的与唇鱈同属的 *H. mylodon* 的微卫星标记, 共设计 21 对引物, 其中 11 对能在唇鱈中稳定扩增, 用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离 PCR 产物, 结果显示, 有 10 对引物具有多态性, 其序列及退火温度见表 2, 部分位点的检测结果见图 2。就本研究选择的微卫星引物而言, *H. mylodon* 的微卫星引物在唇鱈中具有更高的保守性, 且扩增获得的微卫星位点具有较高的多态性, 适合作为唇鱈的群体遗传变异研究。

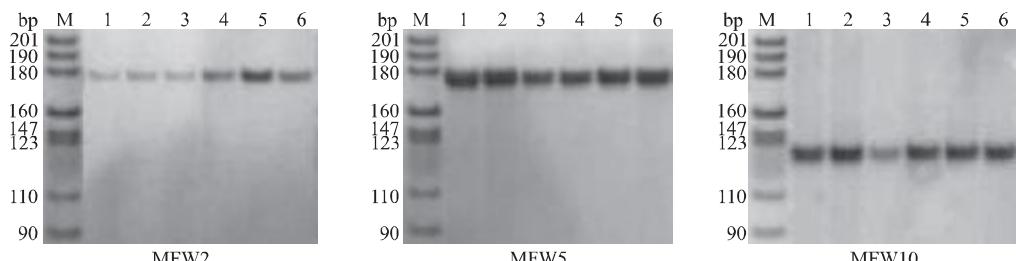


图 1 鲤微卫星引物 *MFW2*、*MFW5*、*MFW10* 对 3 个唇鱈群体 (逊克, XK; 虎头, HT; 海青, HQ) 部分样本扩增产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

1~2: 逊克; 3~4: 虎头; 5~6: 海青; 1~6: 样本序号; M: pBR322/*MspI* Marker.

Fig.1 Polyacrylamide gel electrophoresis of PCR products of cross-species amplification in partial samples of 3 *H. labeo* populations using carp microsatellite primers

1,2: Xunke population, XK; 3,4: Hutou population, HT; 5,6: Haiqing population, HQ. 1~6: Sample number; M: pBR322/*MspI* Marker.

表 2 10 对多态微卫星引物序列、退火温度及等位基因大小
Tab.2 Sequences and annealing temperature of 10 polymorphic microsatellite primers and allele size

位点 Locus	引物序列 (5'-3') Primer sequences (5'-3')	退火温度 /℃ Ann temp	等位基因大小 /bp Allele size
HM6 F: CGCAGGTATTGGGAGGAT	R: TCTTATTTCGGTCCTCATT	56.4	148-156
HM7 F: CATCCAGTATCCAGGCAAC	R: GAGCAATCTCAGAGGACCAT	56.4	95-167
HM8 F: TTCTGTCACCGTGATTAG	R: CTCAGTGGAAACACCTTG	54.0	152-192
HM10 F: GACACATCACTTGAGAGGAGG	R: TCATTGAAGACCAAGCACAC	55.2	115-167
HM12 F: AGGCTCGCAGATAACCG	R: TTCCCGTCCTCATTTGTT	55.2	160-168
HM19 F: AGACACAGCATCCGTATC	R: GAGCAATCTCAGAGGACCAT	60.0	105-169
HM33 F: GCATAGAGGAGGCAGAAC	R: ATGTTATGAGGCGAGGGT	58.8	127-151
HM38 F: CGTGGACGACGATTCT	R: CTCAGTGGAAACACCTTG	58.8	165-205
HM44 F: GGTCGAATCCTTGAGGT	R: GCTGTGGTGTCTGAGGAG	57.6	127-139
HM115 F: CTGCCAGGTGATTGTTACT	R: CATTGAAGACCAAGCACAC	57.6	162-214

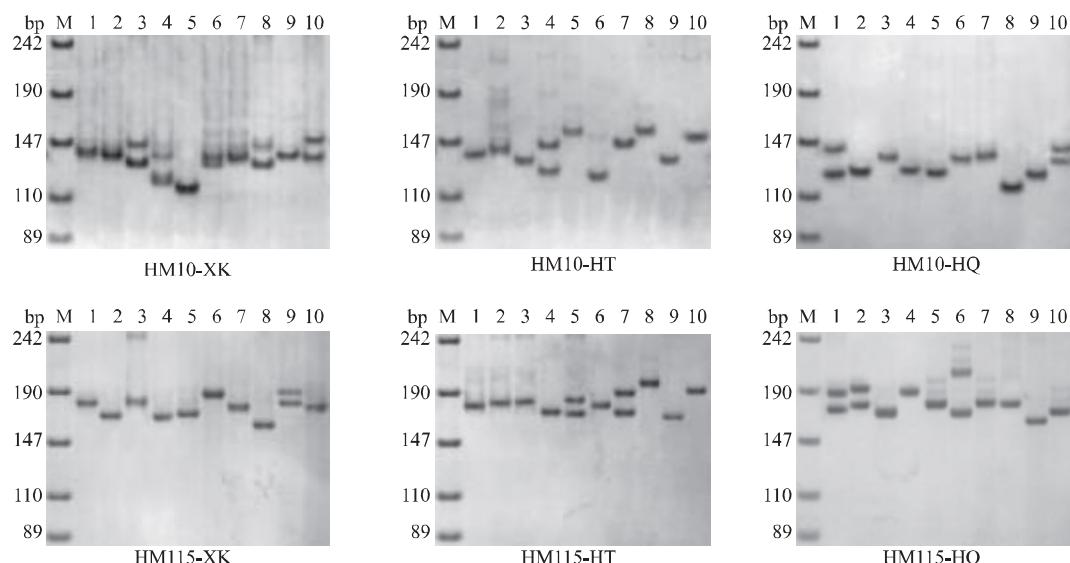


图 2 *H. mylodon* 微卫星引物 HM10 和 HM115 对 3 个唇鰧群体部分样本扩增产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

XK: 逊克; HT: 虎头; HQ: 海青; 1~10: 样本序号; M: pUC18/MspI Marker.

Fig.2 Polyacrylamide gel results of PCR products of cross-species amplification in partial samples of 3 *H. labeo* populations using *H. mylodon* microsatellite primers

XK: Xunke population; HT: Hutou population; HQ: Haiqing population; 1~10: Sample number; M: pUC18/MspI Marker.

2.2 等位基因组成和分布

实验研究的 3 个唇鰧群体在 10 个位点上共检测到 96 个等位基因, HM7 位点的等位基因数 (N_a) 最多, 为 21 个, HM6、HM33、HM44 位点等位基因数最低, 均为 4 个; 有效等位基因数 (N_e) 的范围为 1.845 5 (HM8)~9.804 8 (HM115)。从整个群体看, 多个位点上等位基因分布不均匀, 表现为低频等位基

因较多, N_a 和 N_e 差别较大, 其中以位点 HM7、HM8、HM19、HM38 最明显 (表 3)。从表 4 可知, HT 群体的 N_a 最高 (7.6), HQ 群体最低 (6.0); HT 群体的 N_e 仍为最高, 但 HQ (3.673 2) 略高于 XK (3.463 3)。

2.3 群体遗传变异及遗传平衡分析

在检测的 10 个微卫星位点中, 每个位点的平均杂合度 (H) 范围为 0.276 9 (HM10)~0.640 4 (HM

7), 平均值为 0.483 4; 除 *HM8*、*HM38*、*HM44* 位点属中度多态 ($0.5 < \text{PIC} < 0.25$) 外, 其他 7 个位点均为高度多态 ($\text{PIC} > 0.5$)。该结果表明, 这 7 个 *H.mylodon* 的微卫星标记可用于唇鱈的群体遗传变异研究 (表 3)。HT 群体的遗传多样性最丰富, 其 H 和 PIC 最高, 分别为 0.518 2 和 0.626 0, HQ 群体的 H 和 PIC 最低, 为 0.463 3 和 0.571 7 (表 4)。群体间遗传分化系数 (F_{st}) 为 0.005 3~0.049 1。3 个群体在 10 个位点的平均 F_{st} 为 0.023 6 (表 3), 表明只有 2.36% 的变异是由群体间分化导致的, 而 97.64% 的变异来源于群体内。

对检测的 10 个位点进行卡方检验。结果表明, 仅 *HM7*、*HM33* 符合哈代-温伯格平衡 (HWE) ($P > 0.05$), 其他 8 个位点均显著偏离 HWE ($P < 0.01$), 且这些偏离平衡的位点均由杂合体缺失导致 ($F_{\text{is}} > 0$), 详见表 3。进一步分析表明, *HM7*、*HM33* 在 3 个群体中均符合 HWE ($P > 0.05$), 而 *HM10*、*HM12*、*HM44*、*HM115* 在所有群体中均偏离 HWE ($P < 0.05$), 其他 4 个位点至少在 1 个群体中偏离 HWE ($P < 0.05$), 各群体偏离平衡的位点均由杂合体缺失引起。

表 3 10 个微卫星位点的遗传变异参数
Tab.3 Genetic variation parameters for ten microsatellite loci

位点 Locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	多态信息含量 PIC	平均杂合度 H	哈-温平衡 偏离程度 P	固定指数 F_{is}	遗传分化指数 F_{st}
<i>HM6</i>	4	2.894 6	0.598 2	0.494 4	0.000 0	0.244 7	0.020 0
<i>HM7</i>	21	3.669 7	0.716 2	0.640 4	0.093 1	0.119 7	0.049 1
<i>HM8</i>	5	1.845 5	0.388 1	0.400 0	0.000 0	0.126 9	0.012 9
<i>HM10</i>	16	9.337 0	0.888 0	0.276 9	0.000 0	0.689 9	0.020 0
<i>HM12</i>	5	3.016 8	0.617 2	0.500 0	0.000 0	0.252 1	0.013 7
<i>HM19</i>	15	3.292 0	0.678 9	0.622 2	0.000 0	0.106 3	0.031 0
<i>HM33</i>	4	2.431 3	0.501 2	0.588 9	0.977 7	-0.000 3	0.025 2
<i>HM38</i>	5	1.866 0	0.395 6	0.382 0	0.000 0	0.176 8	0.007 9
<i>HM44</i>	4	2.107 2	0.482 0	0.483 1	0.000 0	0.080 5	0.005 3
<i>HM115</i>	17	9.804 8	0.891 2	0.445 9	0.000 0	0.503 4	0.034 2
平均 Mean	9.6	4.026 5	0.615 7	0.483 4	-	-	0.023 6

表 4 3 个唇鱈群体的遗传变异参数
Tab.4 Genetic variation parameters for three *H.labeo* populations

群体 Populations	样本量 No. of samples	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	多态信息含量 PIC	平均杂合度 H
逊克 XK	30	7.0	3.463 3	0.595 7	0.470 5
虎头 HT	30	7.6	4.047 5	0.626 0	0.518 2
海青 HQ	30	6.0	3.673 2	0.571 7	0.463 3

2.4 群体间的遗传关系

3 个唇鱈群体间的遗传关系见表 5 和图 3。由表 5 可见, XK 与 HQ 的 Nei's 标准遗传距离 (D_s) 最近 (0.049 7), 而 XK 与 HT 最远 (0.086 8)。群体间每代迁移数 (N_m) 以 XK 与 HQ 间最多 (17.27), 而乌苏里江上游、下游的 HT 和 HQ 居中 (14.26), 地理位置间隔最近的 XK 和 HT 间基因交流最少 (11.20)。基于 Nei's 标准遗传距离 (D_s) 构建的 3 个群体的 UPGMA 聚类结果如图 3 所示。

表 5 3 个唇鱈群体间的每代迁移数 (N_m) (对角线以上)
及 Nei's 标准遗传距离 (D_s) (对角线以下)

Tab.5 Migrants per generation (N_m) (above diagonal) and
Nei's standard genetic distance (D_s)
(below diagonal) between each pair of 3 *H.labeo* populations

群体 Population	逊克 XK	虎头 HT	海青 HQ
逊克 XK		11.20	17.27
虎头 HT	0.086 8		14.26
海青 HQ	0.049 7	0.063 0	

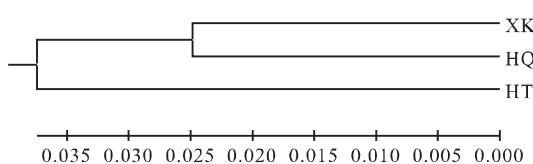


图3 基于 Nei's 标准遗传距离的 3 个唇鰈群体的 UPGMA 聚类图

XK: 逊克; HQ: 海青; HT: 虎头。

Fig.3 UPGMA dendrogram for 3 *H. labeo* populations based on Nei's standard genetic distance

XK: Xunke population; HQ: Haiqing population; HT: Hutou population.

3 讨论

3.1 物种间微卫星引物的适用性

目前,在鱼类已有许多同科亚科间、属间微卫星引物共用的研究报道,廖小林等^[10]自 45 对鲤微卫星引物中筛选出 5 对引物可扩增草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 的微卫星,共检测到 6 个多态位点。Tong 等^[11]的研究结果表明,鲤微卫星引物可用来扩增鱥鱼 (*Aristichthys nobilis*) 和白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 的同源序列,在 18 对引物中,检测到 6 对引物可同时扩增鱥鱼和白鲢,且产物均有多态性。Scribner 等^[12]根据红大麻哈鱼 (*Oncorhynchus nerka*) 部分基因组文库克隆的 (GA)_n 和 (CA)_n 微卫星位点共设计 22 对引物,对 4 属 10 种鲑科鱼的扩增结果表明,几乎所有引物在多种鲑科鱼中均可成功扩增。引物的扩增效率在大麻哈鱼属内 (*Oncorhynchus*) 7 种鱼间较高,而在其他 3 属 3 种鱼间略低。可见,鱼类基因组微卫星侧翼序列的保守性既因种类不同而异,又与彼此间亲缘关系的远近有关。在本研究供试的 20 对鲤引物中,仅有 5 对能在唇鰈中成功扩增,且产物均无多态性,但利用与唇鰈同属的 *H. mylodon* 的微卫星引物 (21 对) 成功扩增的达到 11 对,共检测到 10 个多态位点。这说明处于不同亚科的鲤和唇鰈的微卫星侧翼序列具有一定同源性,但二者由于亲缘关系较远或重复单元差异较大等原因,在鲤中表现为多态性的位点在唇鰈中却不具有多相性,而 *H. mylodon* 与唇鰈的亲缘关系更近,其引物对唇鰈扩增的成功率及微卫星位点多态性的比例均较高,可用于对唇鰈进行群体遗传变异研究。

3.2 唇鰈群体的遗传结构

本研究根据 *H. mylodon* 的微卫星设计的引物在唇鰈中进行了成功的扩增,且扩增产物具有较高的多态性。从平均每个位点的等位基因数 (N_a) 来看,唇鰈具有较高的等位基因多样性,3 个群体每个位点平均检测到 6.0 (HQ)~7.6 (HT) 个等位基因。同已报道的一些鲤科野生鱼类相比,等位基因数量高于印度的 Chalakkudi 江和 Periyar 江 2 个红尾鮰 (*Gonoproktopterus Curnuca*) 群体 (4.2、4.4)^[13] 及长江水系的 4 个草鱼群体 (3.8~4.8)^[10],同长江野生鲤群体 (7.3) 相似^[14]。但分析发现,唇鰈群体的等位基因分布很不均衡,每个位点的等位基因数 (N_a) 与有效等位基因数 (N_e) 相差较大。位点 HM7、HM10、HM19 和 HM115 检测到的 N_a 很丰富 (≥ 15),但 N_e 均小于 10,其中 HM7、HM19 的 N_e 小于 4,其他 6 个位点的 N_a 均相对较低 (≤ 5),位点 HM8、HM38 的 N_e 小于 2。这表明群体中各位点的低频等位基因较多,如果不对唇鰈资源加以保护或跟踪监测,群体等位基因多样性有进一步下降的可能。

实验发现,在检测的 10 个位点中,有 4 个位点在 3 个群体中均偏离哈代-温伯格平衡 (HWE),另有 4 个位点至少在 1 个群体中偏离 HWE,这些偏离平衡的位点均由杂合体缺失引起。本研究采用的 *H. mylodon* 的微卫星在唇鰈中未发生大的缺失或插入变异,PCR 产物片段与设计片段大小基本相符,但不排除相应的微卫星引物序列存在碱基突变而产生无效等位基因 (Null alleles) 的可能。但这些偏离遗传平衡的位点均为杂合体缺失,不可能都由无效等位基因引起,因此唇鰈有效群体数量的日益减少导致的近交及瓶颈效应才是引起杂合体缺失的主要原因。

唇鰈属中小型鱼,3~4 龄才能达到性成熟,群体世代间隔较长,因此和性成熟早的鱼类相比,过度捕捞更易引起有效群体数量的快速下降,进而导致近交的发生,环境污染及农药的大量使用会加剧这一结果。从研究结果来看,黑龙江和乌苏里江唇鰈群体的多个位点偏离遗传平衡且杂合体缺失严重,其遗传多样性已受到人为及环境因素的干扰。

唇鰈虽不属洄游鱼类,但黑龙江和乌苏里江在下游的抚远江段汇合,因此本研究所用的 3 个唇鰈群体理论上均存在基因交流的可能。研究结果也说明了这一点,即 3 个唇鰈群体两两间具有较高的基因流 ($N_m > 11$),其中黑龙江中游的逊克群体和乌苏里江下游的海青群体间基因交流最多 (17.27),二

者的遗传距离也最近 (0.049 7); 逊克群体与乌苏里江上游的虎头群体地理位置最远, 二者基因交流最少 (11.20), 彼此间的遗传距离最远 (0.086 8), 详见表 5。较高的基因流使 3 个群体间的遗传分化很微弱, 只有 2.36% 的变异产生于群体间, 而总变异的 97.64% 来源于群体内 (表 3)。由此可见, 本研究的 3 个唇鱈群体间的亲缘关系较近, 整体的遗传分化微弱。相对而言, HT 群体的遗传多样性最高, 因此该群体可能更适合作为人工育种的亲本加以选择。

参考文献:

- [1] 伍献文. 中国鲤科鱼类志 (下卷) [M]. 上海: 人民出版社, 1997.
- [2] 冯晓宇, 杨仲景, 郭水荣, 等. 唇鱈人工繁殖和鱼苗培育初步研究 [J]. 淡水渔业, 2006, 36(6): 58-60.
- [3] 贺吉胜, 何学福, 严太明. 滘江下游唇鱈胚胎发育研究 [J]. 西南师范大学学报, 1999, 24(2): 225-231.
- [4] 甘光明, 张耀光. 唇鱈受精卵的皮层反应及其引发机制 [J]. 水生生物学报, 2005, 29(5): 479-487.
- [5] Kim W J, Lee Y A, Bang I C, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers for the endangered Korean freshwater fish *Hemibarbus mylodon* [J]. Mol Ecol Notes, 2007, 7: 516-518.
- [6] Crooijmans R P M A, Bierbooms V A F, Komen J, et al. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio*)
- L.) [J]. Anim Genet, 1997, 28: 129-134.
- [7] Yue G H, Ho M Y, Orban L, et al. Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp [J]. Aquaculture, 2004, 234: 85-98.
- [8] Nei M. Genetic distance between populations [J]. Am Natl, 1972, 106: 283-291.
- [9] Bostein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Anim Genet, 1980, 32: 314-331.
- [10] 廖小林, 俞小牧, 谭德清, 等. 长江水系草鱼遗传多样性的微卫星分析 [J]. 水生生物学报, 2005, 29(2): 113-119.
- [11] Tong J, Wang Z, Yu X, et al. Cross-species amplification in silver carp and bighead carp with microsatellite primers of common carp [J]. Mol Ecol Notes, 2002, 2: 245-247.
- [12] Scribner K T, Gust J R, Fields R L. Isolation and characterization of novel salmon microsatellite loci: cross-species amplification and population genetic applications [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1996, 53: 833-841.
- [13] Gopalakrishnan A, Musammi K K, Abdul Muneer P M, et al. Microsatellite DNA markers to assess population structure of red tailed barb *Gonoproktopterus curmuca* [J]. Acta Zoologica Sinica, 2004, 50(4): 686-690.
- [14] Zhou J, Wu Q, Wang Z, et al. Genetic variation analysis within and among six varieties of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) in China using microsatellite Markers [J]. Rus J Genet, 2004, 40(10): 1144-1148.

• 书讯 •



《朱树屏信札》是世界著名海洋生态学家、海洋化学家、浮游生物学家和水产学家朱树屏先生的往来信件集。全书收集了朱树屏先生 1938~1973 年间 580 余封往来书信, 在长长的通信名单中, 有他的师长 F.E.Fritsch、E.G.Pringsheim、H.W.Harvey、秉志、王家楫、伍献文等, 有他的妻子王致平, 有他的好友冯德培、王应睐、王承绪、王大珩、张香桐、沈嘉瑞、沈其益、J. W. G. Lund 等, 有他的同好张景钺、吴素萱、崔之兰、张春霖、张玺、唐世凤、郑重、倪达书、朱浩然、熊大仁、曾呈奎、张孝威等, 是研究我国现代科技发展的珍贵史料。透过这些信件, 折射出朱树屏这位世界著名科学家的非凡人生, 一幕幕历史事件也跃然纸上。《朱树屏信札》已由海洋出版社出版发行, 定价 48 元。

Screening of microsatellite primers and population genetic structure of *Hemibarbus labeo* in Heilongjiang River and Wusulijiang River

HU Xue-song, SHI Lian-yu, LI Chi-tao, CAO Ding-chen, MA Bo, XU Wei

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

Abstract: In this study, among 41 pairs of primers tested for the cross-species amplification in *Hemibarbus labeo*, 20 pairs were chosen from primers of *Cyprinus carpio* and 21 pairs were designed from sequences of flanking microsatellites of Korea *Hemibarbus mylodon*. The results showed that 16 primers amplified successfully. Among them, 5 loci from *C. carpio* primers didn't show polymorphism, while 10 polymorphic loci were detected by using 11 primers from *H. mylodon*. Furthermore, the 10 polymorphic loci were used to evaluate the genetic variety of 3 *H. labeo* populations (XK, HT and HQ) which were sampled from Xunke segment in middle region of Heilongjiang River, Hutou (upstream) and Haiqing segment (downstream) in Wusulijiang River respectively. The results demonstrated that 7 loci had high polymorphism ($PIC > 0.5$) and the average heterozygosity of the 10 polymorphism loci was 0.483 4. In addition, total of 96 alleles (40 effective alleles) were detected in the 10 loci. Higher genetic variation level was found in HT population than in XK and HQ. The Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) analysis showed that 8 loci deviated from genetic equilibrium to different extents in 3 populations, and heterozygote deficiency occurred at all the 8 loci ($F_{is} > 0$). Among the 3 populations, high gene flow was examined between populations ($N_m > 11$), and the highest gene flow was between XK and HQ populations (17.27) with closest genetic distance (0.049 7). No significant genetic differentiation among populations ($F_{st} = 0.026$) was detected. The present results indicate that for cross-species in *H. labeo*, primers from *H. mylodon* are more efficient and suitable than those from *C. carpio* which is probably due to the closer relationship between *H. mylodon* and *H. labeo* than that between *C. carpio* and *H. labeo*. The genetic structures of 3 wild *H. labeo* populations in Heilongjiang River and Wusulijiang River were analyzed successfully using these polymorphic loci screened from *H. mylodon*. These polymorphic markers from *H. mylodon* microsatellites will shed light on the future genetic condition investigation of *H. labeo*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (2) : 230-236]

Key words: *Hemibarbus labeo*; microsatellite; genetic structure