

# 应用微卫星多态分析青海湖裸鲤 (*Gymnocypris przewalski* (Kessler)) 六个野生群体的遗传多样性

蒋 鹏<sup>1,2</sup>, 史建全<sup>3</sup>, 张 研<sup>1,2</sup>, 祁洪芳<sup>3</sup>, 孙效文<sup>1,\*</sup>

(1. 中国水产科学院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070; 2. 上海水产大学, 上海 200090; 3. 青海湖裸鲤救护中心, 青海 810016)

**摘要:** 青海湖裸鲤是青海湖唯一的经济鱼类, 由于湖区生态环境的恶化, 使得该鱼种群数量越来越稀少。2004 年中国环境发展国际合作委员会在《中国物种红色名录》中, 将其列为濒危物种。研究利用生物素-磁珠富集法获得 10 个具有多态的微卫星分子标记, 检测 6 个野生裸鲤群体: 布哈河群体、沙柳河群体、哈尔盖河群体、泉吉河群体、黑马河群体、淡水系群体的遗传多样性。结果表明: 每个座位上的等位基因数为 2~8 个, 大小在 161~486bp 之间。有效等位基因数在 1.00~5.45 个, 平均多态信息含量分别为 0.3642、0.4044、0.3830、0.4047、0.3869 和 0.3940, 无偏观测杂合度的平均值在 0.4145~0.5105 之间, 说明这几个群体属于中度多态, 遗传多样性水平较高。根据群体间的遗传距离和遗传相似系数发现, 布哈河群体与淡水系群体之间的遗传距离最大 ( $D_A = 0.1607$ ), 哈尔盖河群体与泉吉河群体之间的遗传距离最小 ( $D_A = 0.0125$ )。由 UPGMA 聚类图可知: 哈尔盖河和泉吉河两个群体聚为一个分支, 布哈河、沙柳河、黑马河和淡水系 4 个群体聚为另一个分支。

**关键词:** 青海湖裸鲤; 遗传多样性; 微卫星

文章编号: 1000-0933 (2009)02-0939-07 中图分类号: Q145, Q16, Q17, S931.1 文献标识码: A

## Microsatellite variation analysis of genetic diversity in six wild populations of naked common carp [*Gymnocypris przewalski* (Kessler)]

JIANG Peng<sup>1,2</sup>, SHI Jian-Quan<sup>3</sup>, ZHANG Yan<sup>1,2</sup>, QI Hong-Fang<sup>3</sup>, SUN Xiao-Wen<sup>1,\*</sup>

1 Heilongjiang River Fisheries Research Institute of China Academic Fishery science, Harbin 150070, China

2 College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China

3 Rescue Center of Naked Common Carp (*Gymnocypris przewalski*), Qinghai 810016, China

*Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(2): 0939 ~ 0945.

**Abstract:** Naked common carp (*Gymnocypris przewalski*) is the only one economic fish endemic to the Qinghai Lake. Recent years, the number of naked common carp has decreased dramatically due to over fishing and deteriorated habitat. In 2004, this fish was listed in China Species Red List as one of endangered species. In this study, we utilized ten polymorphic microsatellite makers to detect the genetic diversities of six wild populations, abbreviated as BHH, SLH, HEG, QJH, HMH and DSX. Basic data statistics showed that the observed alleles per locus was 2–8 alleles with size ranges of 161–468 bp, the number of effective alleles ( $N_e$ ) ranged from 1.00 to 5.45, the observed heterozygosity ( $H_o$ ) from 0.4145 to 0.5105, and the polymorphic information contents ( $PIC$ ) from 0.383 to 0.4047, respectively. Obviously, the above-mentioned data showed a relatively higher genetic diversity in naked common carp. In addition, the data of genetic similarity and distance showed that there was little differentiation between populations HEG and QJH ( $D_A = 0.0125$ ). The genetic distance was further between populations BHH and DSX ( $D_A = 0.1607$ ). The UPGMA phylogenetic tree showed populations HMH and QJH clustered into one group, and the other four populations converged into the other group.

基金项目: 国家重点基础研究发展计划资助项目(2004CB117405); 国家科技基础条件平台建设(2004DKA30470-005)

收稿日期: 2007-09-04; 修订日期: 2008-01-14

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sunxw2002@163.com

**Key Words:** *Gymnocypris przewalski* (Kessler); genetic diversity; microsatellite

青海湖裸鲤 [*Gymnocypris przewalski* (Kessler)] 俗称“湟鱼”, 属鲤形目, 鲤科, 裂腹鱼亚科, 裸鲤属。青海湖裸鲤繁殖力低, 生长缓慢, 但对环境适应力强, 耐高寒, 耐盐碱, 是青海湖中唯一的经济鱼类。由于气候干旱变暖, 青海湖周边 100 余条入湖河流至目前不足 10 条; 河流干涸、断流、产卵场消失以及过度捕捞, 使该鱼种群数量越来越少<sup>[1]</sup>, 青海湖裸鲤资源面临衰竭的危险。2004 年被中国环境发展国际合作委员会在《中国物种红色名录》中, 列为濒危物种。

微卫星 (microsatellite) 作为近年来发展迅速、应用广泛的分子标记之一, 具有种种优点<sup>[2]</sup>, 在鱼类的遗传育种方面有着巨大的应用价值。国内外已有相关报道, 如制备鲤微卫星分子标记<sup>[3,4]</sup>, 建立遗传连锁图谱<sup>[5]</sup>, 群体结构及遗传多样性的分析<sup>[6-8]</sup>。目前, 张春霖等<sup>[9]</sup>报道了青海湖裸鲤的遗传多样性的 RAPD 分析, 许生成等<sup>[10]</sup>报道了青海湖裸鲤线粒体 DNA 多态性研究, 但关于青海湖裸鲤微卫星标记方面的研究未见报道。

本实验采用生物素-磁珠富集法, 获得了 10 个具有多态性的微卫星分子标记, 用以分析 6 个青海湖裸鲤野生群体遗传多样性和种群遗传结构, 为青海湖裸鲤种群的遗传结构特征、种群历史及遗传资源的保护提供相关信息和依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验所用裸鲤群体采自青海湖各分支, 包括布哈河、沙柳河、黑马河、泉吉河、哈尔盖河和淡水系, 每个群体各 30 尾。所有裸鲤样本均为随机取样。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

取新鲜的肝脏, 液氮研磨, 用酚氯仿法提取基因组 DNA, 并利用基因组 DNA 纯化试剂盒 (上海生工) 进一步纯化, 具体步骤参见文献<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.2 引物筛选

经磁珠富集法与放射性探针杂交相结合后, 共获得 636 个阳性克隆, 有 123 个具有适宜的侧翼序列可以设计引物, 引物由软件 Primer Premier 5.0 设计, 共设计 30 对引物, 所设计的引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。其中, 10 对引物扩增稳定 (Table 1), 用于种群分析研究。

#### 1.2.3 PCR 反应程序

PCR 扩增反应总体积为 25  $\mu\text{l}$ , 其中包括 DNA 模板 3  $\mu\text{l}$  (15 ~ 35  $\text{ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ ), 10  $\times$  PCR buffer 18  $\mu\text{l}$  (含  $\text{Mg}^{2+}$  (25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{l}$ 、dNTPs (各 2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{l}$ )、上下游引物各 0.5  $\mu\text{l}$  (10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), Taq DNA 聚合酶 (Promega) 1U, 2.8  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O<sup>[11]</sup>。PCR 循环程序: 94 $^{\circ}\text{C}$  预变性 3min, 94 $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 26 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 10min, 各组反应的具体复性温度见表 1。

#### 1.2.4 扩增产物检测

PCR 扩增反应产物采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离, 电压为 8V/cm, 电泳后用 0.1% 硝酸银染色。利用 Gelpro 软件包 (3.2 版本) 分析每个扩增条带的大小, 将不同大小的条带作为基因座位的一个等位基因。

#### 1.2.5 数据分析

计算各个群体各个座位的等位基因频率 (allele frequency,  $P$ ), 即某一个等位基因占该位上等位基因总数的比率; 平均观测杂合度 (observed value of mean heterozygosity,  $H_o$ , 即实际观测到的杂合子在样本中所占比例的平均值; 平均期望杂合度 (expected value of mean heterozygosity,  $H_e$ ); 有效等位基因数 (effective numbers of allele,  $N_e$ ); 遗传相似系数 (genetic similarity index,  $I$ ); 群体间遗传距离 (genetic distance,  $D_s$ ) (Nei, 1972)。多态信息含量 (polymorphism information content,  $PIC$ ), 根据 Botstein 等<sup>[13]</sup>公式计算:

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \left( \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i p_j^2 \right)$$

式中,  $P_i$ 、 $P_j$  分别为第  $i$  和第  $j$  个等位基因在群体中的频率,  $j = i + 1$ ,  $n$  为某一基因座位上的等位基因数。

Popgene (Version3.2) 软件进行卡方检验估计各个基因座在每个群体中是否偏离 hardy-winberg 平衡。

采用 PHYLIP V3.6<sup>[12]</sup> 软件基于基因频率计算遗传距离, 并进行 1000 次 bootstrap 检验, 再由 MEGA3.0 (<http://www.megasoftware.net/>) 软件绘制系统发生树。

## 2 结果

### 2.1 PCR 扩增结果

10 个微卫星分子标记在 6 个裸鲤群体中扩增片段的片段长度在 161 ~ 486bp 之间, 每个基因座位上的等位基因数目为 2 ~ 8, 平均等位基因数目为 2.95, 信息见表 1。

表 1 青海湖裸鲤微卫星引物及其扩增结果

Table 1 SSR primers and PCR amplification in naked common carp

基因座 Locus	GenBank No	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	重复单元 Repeat motif	复性温度 Annealing temperature $T_a$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	产物大小 Product size (bp)
HLJQL1	EF686215	F:CGAACGCAAAGAAACA R:GTCGGACTCGTAACCC	(CA)29	49	171 ~ 231
HLJQL4	EF686218	F:TCACCCCTCGCCTCGTT R:TTCAGCCCGCCGACAG	(CA)31	49	209 ~ 221
HLJQL14	EF686217	F:TTTTGTCGTTCTGCCTAT R:CAACCCGATGACCTTT	(CA)17	52	240 ~ 486
HLJQL16	EF686221	F:GTAAGAGGGACAGTAGACAG R:CACCCTCAGAACATC	(AG)26	49	252 ~ 285
HLJQL30	EF686223	F:GGCGTCCTGCTGAATGCT R:AGGCCAGAGTTCTCCAAGT	(GT)23 (TC)8	52	330 ~ 385
HLJQL9	EF686216	F:CGAGACACGGATGAGA R:ATCGTTTACAGCACTA	(CA)23CG(CA) 6(TC)28	49	161 ~ 185
HLJQL5	EF686219	F:AGAGCATGCTGGACAA R:TGGCTGCAATGGTGAG	(GT)8 (GT)6 (TG)9 (TG)13(TG)11(TG)72	49	175 ~ 206
HLJQL31	EF686224	F:TAACCCGATGGCTCAGTA R:CAGTTACACTCTTCGCTCTCT	(GT)23	52	326 ~ 384
HLJQL26	EF686222	F:AGGCTCTTTTCGCTGTTAC R:GTCCTTTCCAGGCACTCT	(CA)10	49	300 ~ 360
HLJQL6	EF686220	F:ATCCCGAGGGGTGTCT R:AATGGCTGCCGAAAAT	(TG)8 (TG)6 (GT)22	49	250 ~ 268

### 2.2 群体 hardy-weinberg 平衡检验

采用卡方检验对各群体的多基因座进行检测(multi-locus test)发现,6 个青海湖裸鲤群体 hardy-weinberg 平衡偏离常数均发生了不同程度的偏离(表 2),6 个群体中偏离极显著的座位分别有 3,5,5,5,5,4 个;表明各群体均在一定程度上偏离了 hardy-weinberg 平衡。

### 2.3 稀有等位基因

6 个青海湖裸鲤野生群体在座位 HLJQL4 和 HLJQL6 上的等位基因频率分布见图 1。在座位 HLJQL4 上, 等位基因 B(221bp)在 6 个野生群体的频率分布分别是 0.0370、0.0000、0.0500、0.1000、0.0667、0.0667。在座位 HLJQL6 上, 等位基因 B(268bp)在 6 个野生群体的频率分布分别是 0.0000、0.0617、0.0667、0.0833、0.333、0.0617。

表 2 6 个青海湖裸鲤群体的 hardy-weinberg 平衡卡方检验的 P 值

Table 2 P value of Chi-square test for hardy-weinberg equilibrium in the 6 populations of naked common carp

基因座 Locus	布哈河 BHH	沙柳河 SLH	哈尔盖 HEG	泉吉河 QJH	黑马河 HMH	淡水系 DSX
HLJQL1	0.975029	0.959278	0.097677	0.016485	0.720070	0.736769
HLJQL4	1.000000	0.959278	0.815391	0.581396	0.736769	0.736769
HLJQL14	0.000000	0.000000	0.570727	0.029968	0.001431	0.008336
HLJQL16	0.000002	0.000000	0.000011	0.000011	0.000011	0.001222
HLJQL30	0.158024	0.110311	0.004255	0.037987	0.000471	0.023023
HLJQL9	0.035145	0.000017	0.002022	0.004537	0.013757	0.000365
HLJQL5	0.001443	0.491268	0.605452	0.185164	0.930864	0.433898
HLJQL31	0.015880	0.007864	0.006909	0.000958	0.002164	0.011637
HLJQL26	0.016820	0.003120	0.003312	0.000374	0.001763	0.027398
HLJQL6	-	-	0.815391	0.000013	0.894626	0.000013

- :该座位只有一个等位基因 There is only one allele at the locus

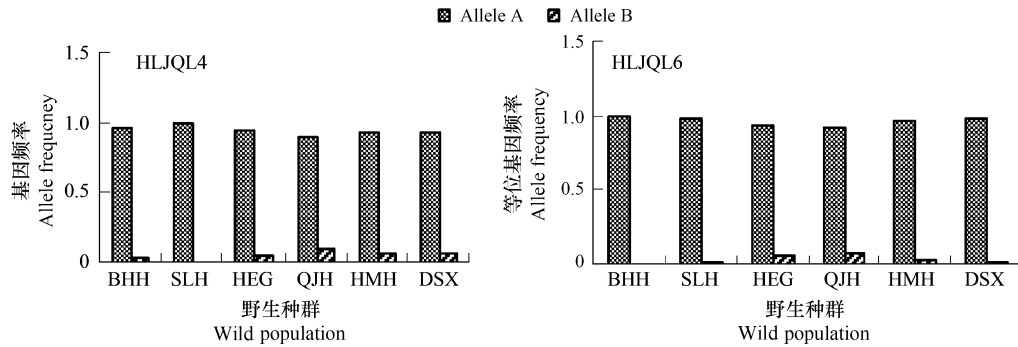


图 1 6 个青海湖裸鲤野生群体在座位 HLJQL4 和 HLJQL6 上的等位基因频率分布

Fig. 1 Distribution of the allele frequency in six wild populations of naked common carp (*Gymnocypris przewalski*) at locus HLJQL4 and HLJQL6

2.4 群体遗传多样性分析

在 6 个裸鲤群体中,利用 10 个微卫星标记检测到各个群体的平均等位基因数分别为 3.0、2.7、3.0、3.1、3.1 和 2.8;无偏观测杂合度平均值在 0.4145 ~0.5105 之间,多态信息含量平均值在 0.383 ~0.4047 之间,说明该 6 个群体为中度多态,遗传多样性水平较高。具体统计指标见表 3。

2.5 群体间遗传相似系数和遗传距离

利用 POPGENE 软件计算了 6 个群体的 Nei 氏遗传距离和遗传相似系数,具体结果见表 4。结果表明布哈河群体与淡水系群体之间的遗传距离最大,哈尔盖河群体与泉吉河群体之间的遗传距离最小。

2.6 聚类分析结果

根据遗传距离运用 UPGMA 法对 6 个青海湖裸鲤群体进行了聚类分析,从图 2 中可以看出布哈河群体和沙柳河群体聚为一类;哈尔盖河群体与泉吉河群体聚为一类,然后又与淡水系群体聚为一类,最终再与黑马河群体聚为一类,经 1000 次 bootstrap 重抽样检验系统树的可靠性,发现各分支的 bootstrap 值在 930 ~ 1000 之间,该系统树的可靠性极高。

3 讨论

3.1 青海湖裸鲤群体中的稀有等位基因

6 个野生裸鲤群体在 2 个基因座位上均发现稀有等位基因的存在(图 1)。其中,座位 HLJQL4 上的等位基因 B(221bp)在沙柳河群体中消失,座位 HLJQL6 上的等位基因 B(268bp)在布哈河群体中消失。由于遗传

漂变或过度捕捞等原因,致使这些等位基因在青海湖裸鲤野生群体中面临逐渐丢失的危机,因此必须采取适当的措施来保护这些野生群体,这包括减少人为过度捕捞以及加强对产卵场的保护力度,以免造成青海湖裸鲤遗传多样性的下降。

表 3 6 个青海湖裸鲤群体在 10 个微卫星基因座的多样性指数

Table 3 The genetic diversity indices of 10 microsatellite loci for 6 naked comon carp populations

基因座 Locus	BHH				SLH				HEG			
	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>
HLJQL1	1.47	0.3277	0.3704	0.3025	1.33	0.1876	0.2000	0.1754	2.45	0.6017	0.7333	0.5142
HLJQLA	1.04	0.0370	0.0370	0.0687	1.00	0.0000	0.0000	0.0000	1.11	0.0966	0.1000	0.0905
HLJQL14	4.81	0.8071	0.8889	0.7664	5.01	0.9667	0.8124	0.7717	3.95	0.9333	0.7593	0.7190
HLJQL16	1.38	0.2830	0.0370	0.2392	1.81	0.5085	0.7326	0.3750	1.98	0.5034	0.9000	0.3725
HLJQL30	1.52	0.3522	0.4444	0.2859	1.54	0.3638	0.4667	0.2937	2.00	0.5079	0.8000	0.3903
HLJQL19	2.09	0.5318	0.7778	0.4427	2.93	0.5079	0.9000	0.3747	1.88	0.4723	0.7333	0.3566
HLJQL5	2.00	0.5087	0.8148	0.3746	1.97	0.4944	0.4333	0.3746	1.92	0.4881	0.5333	0.3648
HLJQL31	1.72	0.4249	0.5926	0.3300	2.48	0.4520	0.6667	0.3456	2.10	0.5333	0.6667	0.4403
HLJQL26	2.16	0.5472	0.7778	0.4682	2.31	0.6028	0.8333	0.5246	2.22	0.5588	0.7000	0.4646
HLJQL6	1.00	0.0000	0.0000	0.0000	1.00	0.0000	0.0000	0.0000	1.14	0.1266	0.1333	0.1168
平均值 Mean	1.92	0.4244	0.5267	0.3642	2.14	0.5105	0.6306	0.4044	2.08	0.4822	0.6059	0.3830
基因座 Locus	QJH				HMH				DSX			
	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>PIC</i>
HLJQL1	2.58	0.6232	0.8333	0.5340	1.14	0.1266	0.1333	0.3892	1.74	0.4750	0.5367	0.4244
HLJQLA	1.22	0.1831	0.2000	0.1638	1.14	0.1266	0.1333	0.1168	1.14	0.1073	0.1019	0.0965
HLJQL14	3.99	0.9843	0.7621	0.7186	5.45	0.9261	0.8305	0.7640	4.82	0.8598	0.9209	0.8412
HLJQL16	1.98	0.5034	0.9000	0.3725	1.99	0.5062	0.8000	0.3725	1.98	0.4870	0.7853	0.3677
HLJQL30	1.87	0.4723	0.6000	0.3832	2.05	0.5203	0.7333	0.4600	2.26	0.5294	0.6780	0.4176
HLJQL19	2.00	0.5079	0.7667	0.3747	1.92	0.4881	0.8000	0.375	2.00	0.4968	0.7458	0.3727
HLJQL5	1.90	0.4808	0.3667	0.3610	1.30	0.2350	0.2667	0.3747	1.99	0.5010	0.5198	0.3748
HLJQL31	2.41	0.5949	0.7333	0.5022	2.15	0.5441	0.7667	0.4722	2.28	0.5645	0.7288	0.4654
HLJQL26	2.54	0.6164	0.8333	0.5224	2.47	0.6051	0.8333	0.4824	2.29	0.5992	0.7571	0.5112
HLJQL6	1.18	0.1000	0.1554	0.1411	1.07	0.0667	0.0655	0.0624	1.18	0.0333	0.1554	0.0682
平均值 Mean	2.17	0.5066	0.6151	0.4074	2.07	0.4145	0.5363	0.3869	2.17	0.4653	0.5930	0.3940

表 4 6 个青海湖裸鲤群体间 Nei 氏标准遗传距离(左下角)与遗传相似系数(右上角)

Table 4 Nei's standard genetic distance (below the diagonal) and genetic identity (above the diagonal) in 6 naked common carp

	布哈河 BHH	沙柳河 SLH	哈尔盖 HEG	泉吉河 QJH	黑马河 HMH	淡水系 DSX
BHH	* * * *	0.9681	0.8945	0.8735	0.9137	0.8516
SLH	0.0325	* * * *	0.8925	0.8805	0.9287	0.8737
HEG	0.1115	0.1137	* * * *	0.9876	0.9666	0.9453
QJH	0.1353	0.1273	0.0125	* * * *	0.9633	0.9464
HMH	0.0902	0.0740	0.0339	0.0374	* * * *	0.9564
DSX	0.1607	0.1350	0.0563	0.0550	0.0445	* * * *

### 3.2 青海湖裸鲤的遗传多样性分析

多态信息含量(*PIC*)是衡量标记多态性较好的指标。Botstein<sup>[13]</sup>等提出了衡量基因变异程度高低的的多态信息含量指标:当  $PIC > 0.5$  时,该座位为高度多态座位;当  $0.25 < PIC < 0.5$  时,该座位为中度多性座位;当  $PIC < 0.25$  时,为低度多态座位。由表 2 可知,在青海湖裸鲤的 6 个野生群体的微卫星座位中,座位 HLJQL14 表现为高度多态,座位 HLJQL1、HLJQL30、HLJQL31、HLJQL26、HLJQL9、HLJQL5、HLJQL16 表现为中度多

态,座位 *HLJQL4*、*HLJQL6* 表现为低度多态。6 个青海湖裸鲤群体都表现为中度多态,这充分说明本研究所利用的微卫星标记能够有效地检验青海湖裸鲤野生群体遗传多样性变异的情况。

杂合度是度量群体变异的一个较适合参数。平均杂合度的大小近似反映出群体遗传结构变异程度的高低。杂合度越高,表明该群体的遗传多样性越高;反之,说明群体的遗传一致性越高<sup>[14]</sup>。研究结果表明:在 6 个青海湖裸鲤群体中,平均观测杂合度最高的是布哈河群体(0.5267),最低的是黑马河群体(0.4145),平均观测杂合度范围在 0.4145 ~ 0.5267 之间,这与 Takezaki 等<sup>[15]</sup>认为微卫星计算出的杂合度范围为 0.3 ~ 0.8 相吻合。通过杂合度的结果说明 6 个裸鲤群体遗传多样性较为丰富,具有一定的遗传变异潜力。

近几年来,青海湖裸鲤的种群规模正在逐渐减小,而有效种群大小是保护生物学中的一个重要问题,是种群进化的主要动力之一,该指标的大小与种群遗传多样性指标密切相关<sup>[16,17]</sup>,因为小种群极易受遗传漂变而造成基因的丢失或固定,从而会导致种群的遗传多样性逐渐丧失,应对环境变化的能力也会降低,因此我们必须加强保护青海湖裸鲤的种群规模并且减少人为的不合理干扰,这些对防止近亲繁殖和保持种群遗传性有着重要的意义。

### 3.3 群体间的亲缘关系与遗传分化

Thorpe J P<sup>[18]</sup>认为:不同物种间遗传相似系数  $I = 0.2 \sim 0.8$  (遗传距离  $D_s = 0.2 \sim 0.8$ ),同科属群体间  $I = 0.1 \sim 0.5$  ( $D_s = 0.5 \sim 0.9$ ),同种群体间  $I = 0.8 \sim 0.97$  ( $D_s = 0.03 \sim 0.2$ )。而这 6 个青海湖裸鲤群体的相似系数在 0.8516 ~ 0.9876 ( $D_s = 0.0325 \sim 0.1607$ ) 之间,与 Thorp J P 的研究结果基本相符,因此分布在不同河流的 6 个群体应属于同一种群。

聚类先后顺序反映了种群间亲缘关系的远近。哈尔盖河群体和泉吉河群体遗传相似度最高,亲缘关系最近;布哈河群体和淡水系群体遗传相似度最低,亲缘关系最远。6 个野生群体聚类为两个分支:哈尔盖河和泉吉河两个群体聚为一个分支,布哈河、沙流河、黑马河和淡水系 4 个群体聚为另一个分支。

在繁殖季节时,裸鲤洄游到入湖的河道,溯河而上寻找产卵场。所以河水的流量大小与流量的稳定性是决定亲鱼群体的数量,受精卵的孵化率以及成活率的主要因子;同时,长期的偷捕使裸鲤产卵群体数量急剧下降。在自然因素和人为因素共同影响下,使得裸鲤群体的遗传结构发生改变。布哈河和泉吉河是青海湖目前仅存几条分支河流中的最大河流,群体数量相对比较稳定,遗传结构还保存着各自的特点,所以在聚类分析中,两个群体聚为两支。泉吉河位于哈尔盖河和沙柳河之间。从地理分布的角度上,泉吉河和哈尔盖河两个群体聚为一支或是泉吉河、哈尔盖河和沙流河 3 个群体聚为一支,但在聚类分析中,泉吉河和黑马河两个群体聚为一支,而沙流河和布哈河聚为一支。这说明由生境变化、种群瓶颈效应等对群体遗传结构所产生的影响远大于地理分布对其的影响<sup>[19]</sup>。

群体间基因流的均值为 3.6687,这在一定程度上可以阻止由遗传漂变所引起的裸鲤群体遗传资源的继续衰退<sup>[20]</sup>。6 个青海湖裸鲤群体间的平均  $F_{st}$  值为 0.0628,说明 6 个群体间表现为中等遗传分化<sup>[21]</sup>,由于裸鲤群体之间遗传分化的存在,使得裸鲤资源具有恢复的可能性,因此,必须科学合理的保育青海湖裸鲤资源,在人工增殖放流的过程中应采用多水系裸鲤亲本。同时要加强对目前仅存的布哈河、黑马河、泉吉河、沙柳河、哈尔盖河和甘子河的保护,监测各种资源恢复措施对青海湖裸鲤遗传多样性所产生的影响,这些都会对保护和恢复青海湖裸鲤资源有积极的推动作用。

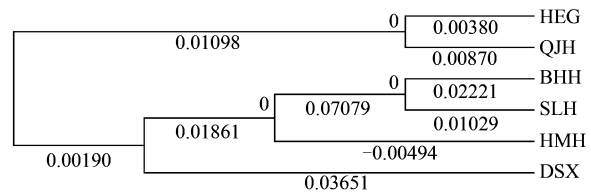


图 2 6 个青海湖裸鲤群体的 UPGMA 聚类分析

Fig. 2 Dendrogram of relationships among 6 naked common carp using UPGMA method of clustering

分支上的数值代表遗传距离;HEG 代表哈尔盖群体,QJH 代表泉吉河群体,BHH 代表布哈河群体,SLH 代表沙流河群体,HMH 代表黑马河群体,DSX 代表淡水系群体 Numbers on the branch stands for genetic distance; HEG: Ha er gai; BHH: Buha river; SLH: Shaliu river; HMH: Heima river; DSX: Dan shui pond

## References:

- [ 1 ] Shi J Q, Qi H F, Yang J X, *et al.* Study on reproductive biology of *Gymnocypris przewalskii*. Qinghai Science and Technology, 2000, 7(2): 12—15.
- [ 2 ] Luo W Y, Hu J, Li X F. The evolution and application of microsatellites. Hereditas(Beijing), 2003, 25(5): 615—619.
- [ 3 ] Crooijmans R P M A, Poel J J, Groenen M A M, *et al.* Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Animal Genetics, 1997, 28: 129—134.
- [ 4 ] Yue G H, Ho M Y, Orban L, Komen J. Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp. Aquaculture, 2004, 234: 85—98.
- [ 5 ] Sun X W, Liang L Q. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. Aquaculture, 2004, 238: 165—172.
- [ 6 ] Zhou J, Wu Q, Wang Z, Ye Y. Genetic variation analysis within and among six varieties of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in China using microsatellite markers. Russian Journal of Genetics, 2004, 40: 1144—1148.
- [ 7 ] Mohindra V, Anshumala, Punia P, *et al.* Microsatellite loci to determine population structure of *Labeo dero* (Cyprinidae). Aquatic Living Resource, 2005, 18: 83—85.
- [ 8 ] Lal K K, Chauhan T, Mandal A, *et al.* Identification of microsatellite DNA markers for population structure analysis in Indian major carp. Journal of Applied Ichthyology, 2004, 20(2): 87—91.
- [ 9 ] Zhang C L, Chen D Q, Shi J Q, *et al.* Genetic diversity analysis of different populations of *Gymnocypris przewalskii* by RAPD. Journal of Fisheries China, 2005, 29(3): 307—312.
- [ 10 ] Xu S C, Li T P, Li J X, *et al.* Mitochondrial DNA Diversity in Naked Carps in Qinghai Lake. Heilongjiang Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2003, (1): 11—12.
- [ 11 ] Geng B, Sun X W, Liang L Q, *et al.* Analysis the genetic diversity of *Aristichthys nobilis* in China with 17 microsatellite markers. Hereditas (Beijing), 2006, 28(6): 683—688.
- [ 12 ] Xiao Z X, Pan X M. The Introduction and Usage of Cladistics Software Phylip. Journal of Anhui Agricultural University, 2001, 28(4): 438—444.
- [ 13 ] Botstein D, White R L, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314—331.
- [ 14 ] Li L, Sun Z X, Yang S D, *et al.* Analysis of Genetic Variation of Abalone (*Haliotis discus hannai*) populations with Microsatellite Markers. Hereditas, 2006, 28(12): 1549—1554.
- [ 15 ] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. Genetics, 1996, 144(1): 389—399.
- [ 16 ] Wang W, Rou F, Gao T X, *et al.* Genetic variations at ten microsatellite loci in natural and cultured stocks of left-eyed Floueder paralicthys olieceus in Shandong coastal waters. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2004: 530—537.
- [ 17 ] Wright S. Evolution in population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. Evolution, 1992, 46: 477—494.
- [ 18 ] Thorp JP. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation, and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 1982, 13(1): 139—168.
- [ 19 ] Quan Y C, Li D Y, Cao D C, *et al.* Population genetic variation and structure analysis on five populations of Mirror Carp *Cyprinus carpio* L Using Microsatellites. Hereditas, 2006, 28(12): 1541—1548.
- [ 20 ] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science, 1987, 236: 787—792.
- [ 21 ] Wright. Evolution and the genetics of populations. Chicago: University of Chicago Press, 1978.

## 参考文献:

- [ 1 ] 史建全, 祁洪芳, 杨建新, 等. 青海湖裸鲤繁殖生物学的研究. 青海科技, 2000, 7(2): 12—15.
- [ 9 ] 张春霖, 陈大庆, 史建全, 等. 青海湖裸鲤繁殖群体遗传多样性的 RAPD 分析. 水产学报, 2005, 29(3): 307—312.
- [ 10 ] 许生成, 李太平, 李均祥, 等. 青海湖裸鲤线粒体 DNA 多态性研究. 黑龙江畜牧兽医, 2002, (1): 11—12.
- [ 11 ] 耿波, 孙效文, 梁利群, 等. 利用 17 个微卫星标记分析鳊鱼的遗传多样性. 遗传, 2006, 28(6): 683—688.
- [ 12 ] 肖中新, 潘孝铭. 分支系统学软件 PHYLIP 及其应用. 安徽农业大学学报, 2001, 28(4): 438—444.
- [ 14 ] 李莉, 孙振兴, 扬树德, 等. 用微卫星标记分析皱纹盘鲍群体的遗传变异. 遗传, 2006, 28(12): 1549—1554.
- [ 16 ] 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. 海洋与湖沼, 2004, 35(6): 530—537.
- [ 19 ] 全迎春, 李大宇, 曹鼎辰, 等. 微卫星 DNA 标记探讨镜鲤的种群结构与遗传变异. 遗传, 2006, 28(12): 1541—1548.