

太湖中大银鱼、太湖新银鱼和寡齿新银鱼 群体的遗传结构

夏德全 曹 莹 吴婷婷 杨 弘

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

摘 要 利用 RAPD 技术对太湖中的大银鱼、太湖新银鱼、寡齿新银鱼的遗传结构进行了研究。共在太湖中的 6 个采样片采到大银鱼和太湖新银鱼样品, 在两个采样片得到了寡齿新银鱼的样品。结果表明, 太湖中不同水域的三种银鱼没有明显的遗传差异。三种银鱼中, 大银鱼的遗传相似性指数显示最大, 太湖新银鱼的次之, 寡齿新银鱼的最小, 说明大银鱼的遗传变异性最小, 寡齿新银鱼的最大, 太湖新银鱼的遗传变异性介于两者之间。

关键词 大银鱼, 太湖新银鱼, 寡齿新银鱼, 遗传结构, 太湖

银鱼是小型名贵鱼类, 太湖是长江中下游银鱼的主要分布区域之一。一般认为在太湖中存在四种银鱼: 大银鱼(*Protosalanx chinensis*)、太湖新银鱼(*Neosalanx taihuensis*)、寡齿新银鱼(*N. oligodontis*)和雷氏银鱼(*N. reganius*) [朱成德和钟暄世 1980]。在太湖渔业中, 银鱼占有非常重要的地位, 创造了巨大的经济效益。太湖银鱼的产量主要由大银鱼和太湖新银鱼组成, 寡齿新银鱼仅占很小的比例, 雷氏银鱼极其稀少。大银鱼和太湖新银鱼在太湖的湖湾及敞水区广泛分布, 寡齿新银鱼分布在一些水草较多的湖湾, 但不见于大太湖的敞水带; 雷氏银鱼虽然数量极少, 但在太湖中的分布区也相当广泛 [朱成德和钟暄世 1980]。根据统计资料, 太湖银鱼的产量自五十到八十年代初期一直呈现上升趋势, 之后则呈现大幅度波动。其中大银鱼的产量急剧降低, 以至于只占银鱼总产的很小部分。为了解太湖中银鱼的种群遗传结构和生产活动等因素对它们产生的影响, 以期更好地保护和利用太湖银鱼资源, 实现太湖银鱼业的可持续发展, 我们利用随机扩增多态 DNA (RAPD) 技术对银鱼的群体遗传结构进行研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本研究分别在 1996 年和 1997 年三次在太湖东西山银鱼繁保区、太湖西北部的宜兴滩、三山湖、贡湖、太湖南部和太湖东部 6 个区域采集银鱼样品, 分别得到大银鱼、太湖新银鱼和寡齿新银鱼, 但未采到雷氏银鱼。所采样品都根据外部形态将其分类, 并依据太湖新银鱼个体的大小将其归为春群和秋群, 而后将银鱼样品全部置于液氮中运回实验室, 并在液氮中保存直至提取 DNA。采样日期和采样片列于表 1。各采样片在太湖中的位置如图 1 所示, 可以看出所选取的采样片基本上代表了银鱼在太湖的主要分布区域。

表 1 采样详细情况

Tab. 1 Detailed information on sample collection

日期	采样区域	银鱼种类
1996 年 11 月	太湖东西山银鱼繁保区	大银鱼、太湖新银鱼(秋群)
1997 年 5 月	大太湖的西部和北部	
	宜兴滩	大银鱼、太湖新银鱼(春群、秋群)
	三山湖	大银鱼、太湖新银鱼(春群、秋群)
	贡湖	大银鱼、太湖新银鱼(春群、秋群)
1997 年 9 月	大太湖东部漫山水域	大银鱼、寡齿新银鱼、太湖新银鱼(秋群)
	大太湖南部小雷山与西山之间水域	大银鱼、寡齿新银鱼、太湖新银鱼(秋群)

1.2 实验方法

试剂和仪器: 研究所用随机引物试剂盒 (Kit Z) 是美国 Operon 公司产品; Taq DNA 聚合酶、dNTPs 等是华美生物工程公司产品。PCR 仪系美国 PE 公司的 Perkin Elmer Cetus DNA Thermal Cycler 480。

银鱼 DNA 的制备: 每尾银鱼各取约 100mg 肌肉组织, 按《分子克隆》的方法提取 DNA [金冬雁和黎孟枫 1996], 并用紫外分光光度计测量 DNA 样品的浓度和纯度, 再稀释至 10ng/μL。置于 4 °C 保存备用。

RAPD 反应: 按 Williams 等 [1990] 的方法进行。

1.3 分析方法

根据 RAPD 产物的电泳带型, 进行群体内和群体间的比较分析。在相同的迁移率上, 出现的带记为 1, 未出现的带记为 0, 按公式 $S_{xy} = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$ 计算个体间遗传相似性指数, 式中 n_{xy} 是个体 x 和 y 的共有带数, n_x 和 n_y 分别是个体 x 和 y 的扩增带数 [Bardakci 和 Skibinski 1994, Lynch 1990]。

群体内的遗传相似性指数 (S) 是群体内所有的两个个体间相似指数的平均值。群体间的遗传相似性指数 (S_{ij}) 为群体 i 中的个体和群体 j 中的个体随机组合所得相似指数的平均值 [Bardakci 和 Skibinski 1994, Lynch 1990]。用公式 $D = 1 - S$ 计算群体间的遗传距离。统计时仅记录清晰稳定的扩增带。

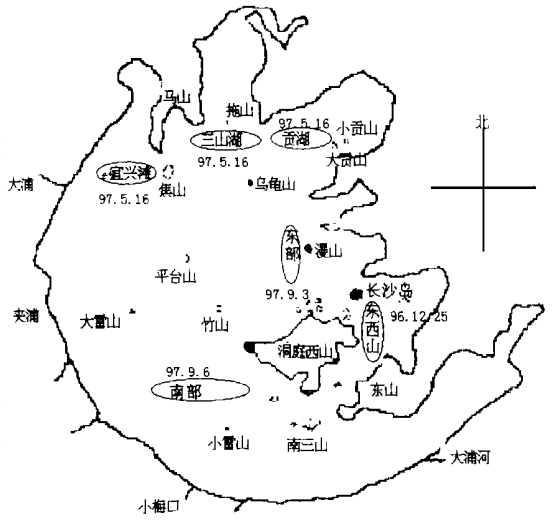


图 1 银鱼采样片分布图及采样日期

Fig1. Sample collection sites in Lake Taihu

2 结果

2.1 大银鱼

本文首先对于 97 年 5 月在太湖西北部三个距离较近的采样片宜兴滩、三山湖和贡湖采到的大银鱼进行群体分析。20 个引物中,除了 OPZ02 和 OPZ18 两引物没有扩增产物以外,其余 18 个引物具有扩增产物,但其中只有 7 个引物:OPZ05、OPZ06、OPZ08、OPZ10、OPZ13、OPZ19 和 OPZ20,它们的扩增产物在三个采样片的大银鱼群体内和群体间呈现出多态现象。从表 2 中可以看到,宜兴滩、三山湖和贡湖这三个采样片大银鱼群体之间的遗传相似性指数和遗传距离都非常接近,因此将它们作为同一群体(合称“西北群体”)共同和东西山、漫山附近东部群体以及小雷山附近的南部群体大银鱼做比较分析。

表 2 宜兴滩、三山湖、贡湖三个采样片的大银鱼群体内和群体间的遗传相似性指数以及群体间遗传距离

Tab. 2 Inter- and intrapopulation genetic similarity indices and interpopulation genetic distances

群体	宜兴滩	三山湖	贡湖
宜兴滩	0.937	0.918	0.929
三山湖	0.082	0.915	0.907
贡湖	0.071	0.098	0.922

注:表中对角线上的数字表示群体内的相似性指数;对角线以上的数字表示群体间的相似性指数;对角线以下的数字表示遗传距离。下同。

表 3 东西山、西北部、东部和南部四个群体的大银鱼群体内和群体间的遗传相似性指数及群体间遗传距离

Tab. 3 Inter- and intrapopulation genetic similarity indices and interpopulation genetic distances of four populations of *P. chinensis*

群体	东西山	西北部	东部	南部
东西山	0.905	0.905	0.910	0.893
西北部	0.095	0.921	0.923	0.901
东部	0.090	0.077	0.916	0.917
南部	0.107	0.099	0.083	0.896

以上述筛选到的 7 个引物对东西山、西北部、东部、南部四个群体的大银鱼进行比较分析,呈现出群体内或群体间的 DNA 多态现象。图 2 是引物 OPZ13 的扩增图谱,显示了扩增产物在四个大银鱼群体间呈现多态性。值得注意的是,图中的第 9 号样品的所有引物的扩增产物都与其它样品的产物有显著差异,似不应视作种内群体间的差异(此现象另文讨论)。根据扩增结果,计算出四个采样片的大银鱼群体内和群体间的遗传相似性指数和遗传距离(表 3),从表 3 可以看出各群体间的遗传相似性指数和遗传距离也十分接近。

2.2 太湖新银鱼

和大银鱼的情形类似,首先将宜兴滩、三山湖和贡湖取到的春群及秋群太湖新银鱼进行 RAPD 分析。20 个引物中,OPZ02 和 OPZ18 两引物没有扩增产物,其余 18 个引物具有扩增产物,但其中只有 7 个引物:OPZ01、OPZ06、OPZ07、OPZ13、OPZ15、OPZ17 和 OPZ19,在这三个采样片太湖新银鱼的群体内或群体间产生了多态片断。计算结果表明这三个取样片的太湖新银鱼之间的遗传距离和遗传相似性指数十分接近,而且在太湖新银鱼的春群和秋群之间也没有差异。因此在进一步的研究中,将这三个片的短吻银鱼合并当做“西北部群体”与东西山、东部以及南部的太湖新银鱼予以比较研究。上述筛选到的 7 个引物对此四群体太湖新银鱼的扩增产物也呈现出群体内或群体间的多态性。图 3 是引物 OPZ01 的扩增图谱,显示了扩增产物在四个太湖新银鱼群体间呈现多态性。表 4 中的计算结果表明:东西山、西北部、东部、南部四群

体太湖新银鱼群体内和群体间的遗传相似性指数和遗传距离无显著差异。

无独有偶, 图 3 中 8 号样品的扩增结果与其它样品也有较显著不同, 也将和前述大银鱼的 9 号样品一起另文讨论。

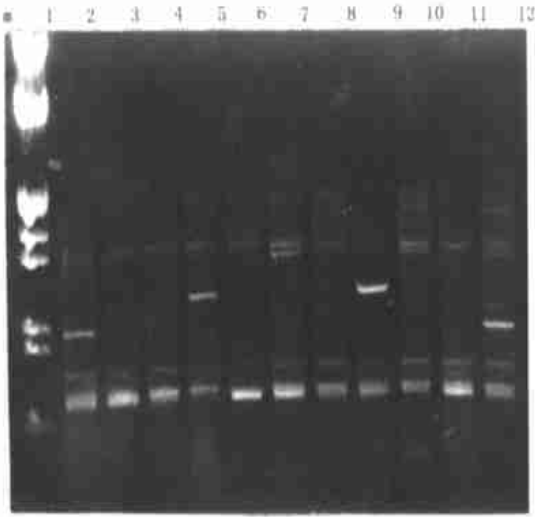


图 2 引物 OPZ13 对四群体大银鱼的扩增图谱
 Fig. 2 RAPD pattern of four populations of *P. chinensis* generated with primer OPZ13.
 (m; λ DNA /EcoRI + Hind III
 1~4: 东西山样品, 5~8: 西北部样品,
 9~12: 东部样品, 13~16: 南部样品。)

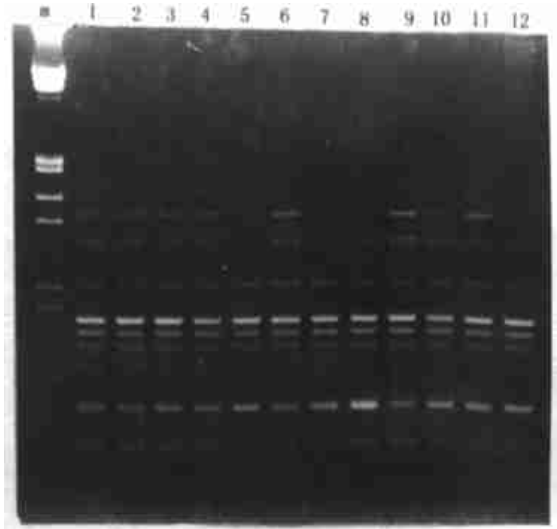


图 3 用引物 OPZ01 对四群体太湖新银鱼的扩增图谱
 Fig. 3 RAPD pattern of four populations of *N. taihuensis*
 (m; λ DNA /EcoRI + Hind III
 1~4: 东西山样品, 5~8: 西北部样品,
 9~12: 东部样品, 13~16: 南部样品。)

2.3 寡齿新银鱼

仅在东部和南部两个片采到少量寡齿新银鱼样品。根据形态分类法, 在接近尾鳍基部有两个黑色斑片是寡齿新银鱼的最显著特征。然而在东部附近我们也得到几尾黑色斑片不明显的银鱼样品(图 4), 此处与已确认为寡齿新银鱼的样品一同作 RAPD 分析。20 个引物中有 OPZ01、OPZ03、OPZ05、OPZ06、OPZ07、OPZ12、OPZ14 和 OPZ19 共 8 个引物产生多态性的获得不确定样品(9~12)和南部寡齿新银鱼及东部寡齿新银鱼的遗传相似性指数和遗传距离(表 5), 表 5 显示了这些样品间不存在显著差异。图 5a 显示了寡齿新银鱼扩增片段的多态性, 图 5b 显示了未定样品和寡齿新银鱼的图谱完全相同。因此从这些样品的 RAPD 图谱以及表 5 中的数据可以判断未定样品实际上就是寡齿新银鱼。

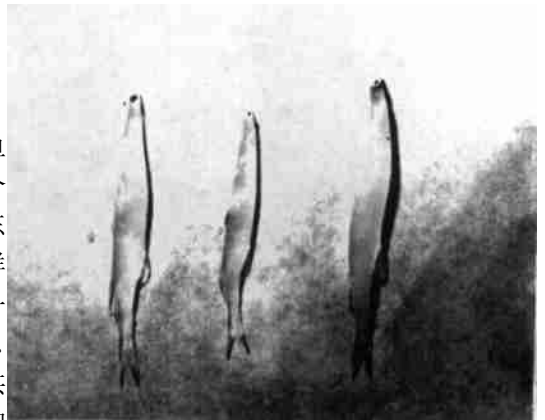


图 4 采到的太湖新银鱼(左)、寡齿新银鱼(右)和不确定样品(中)
 Fig. 4 Samples of *N. taihuensis* (left), *N. oligodontis* (right), and unidentified sample (middle)

表 4 太湖新银鱼群体内和群体间的遗传相似性指数及群体间遗传距离

Tab. 4 Inter and intrapopulation genetic similarity indices and interpopulation genetic distances of *N. taihuensis*

群体	东西山	西北部	东部	南部
东西山	0.884	0.886	0.842	0.871
西北部	0.114	0.893	0.836	0.874
东部	0.158	0.164	0.908	0.866
南部	0.129	0.126	0.134	0.914

表 5 东部和南部两个群体的寡齿新银鱼以及未定样品间群体内和群体间的遗传相似性指数及群体间遗传距离

Tab. 5 Inter and intrapopulation genetic similarity indices and genetic distances of *N. oligodontis*

群体	东部	南部	未定样品
东部	0.868	0.863	0.856
南部	0.137	0.829	0.843
未定样品	0.144	0.157	0.850

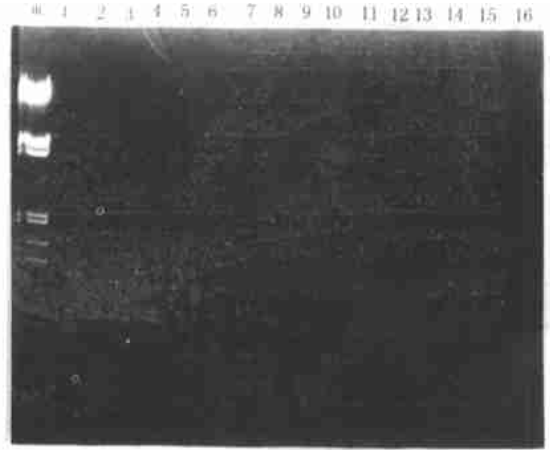
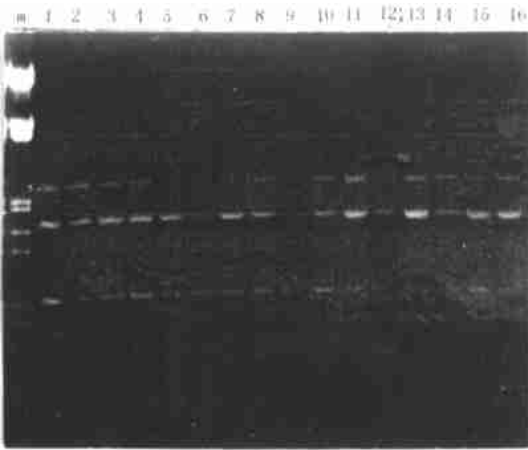


图 5 用引物 OPZ06(a)和 OPZ15(b)对东部、南部寡齿新银鱼以及未定样品的扩增图谱

Fig. 5 RAPD pattern of *N. oligodontis* and unidentified sample generated

with *P. primers* OPZ06 and OPZ15

(m; λ DNA/EcoRI + Hind III 1~4; 东部样品, 5~8; 南部样品, 9~12; 未定样品)

3 讨论

我们在六个采样片分别采到了大银鱼和太湖新银鱼,在两个片(东部和南部)采到了寡齿新银鱼,它们基本代表了银鱼在太湖中的主要分布情况。表 3、4、5 表明在不同时间在太湖中六个不同区域的采样片采到的大银鱼和太湖新银鱼各自种内群体间的遗传相似性指数以及遗传距离都十分接近,群体间的遗传差异很小,表明这两种银鱼在太湖中没有呈现出明显的群体分化。寡齿新银鱼的情形也是如此。一般地,一物种在两群体间长期缺乏基因流动的时候才可能导致遗传差异,形成一定的群体遗传结构。阻碍群体分化所需的基因流动的量取决于选择压力、遗传漂变等因素的强度[Allendorf 等 1987]。生活在不同条件下的群体将会由于不同的选择压力形成对当地条件的适应,从而形成群体间的遗传差异。太湖虽然是一个大型的湖泊,但不同区域的环境状况没有变化,十分均一,因此不会由于选择压力的影响导致不同区域的银鱼产生显著的遗传差异。在太湖存在相当数量的小山散布其中,但它们的规模都不大,也不足以形成地理屏障,阻碍不同区域的银鱼进行基因交流。其它的一些因素比如每年进行的生产捕捞、水流的影响可能促进银鱼的运动,从而促进不同区域的银鱼间的基因流动。

太湖中的太湖新银鱼历来有春季产卵群体(春群)和秋季产卵群体(秋群)之分。我们在不同的取样片分别得到了春群和秋群太湖新银鱼。实验分析表明这两种群体的短吻银鱼并无遗

传差异。产卵群体的分化可以使后代更好地获得食物,缓和了与其它鱼类的食物竞争,有利于种群的延续。

从表 3~5 中可以发现,在总体上大银鱼的遗传相似指数最大(>0.9),太湖新银鱼次之(<0.9),寡齿新银鱼最小。这说明在太湖中,大银鱼的遗传变异程度最小,太湖新银鱼的稍高,寡齿新银鱼的遗传变异程度最大。这一情况只能说明在历史上大银鱼可能受到较为严重的遗传瓶颈效应的影响。大银鱼和太湖新银鱼是太湖中银鱼的主要捕捞对象。据朱成德和钟暄世[1980]报道,七十年代太湖银鱼产量中大银鱼个体数量占约 50%,太湖新银鱼约占 50%(其中春、秋两个产卵群体各占 25%)。但到 1997 年,太湖银鱼产量主要由太湖新银鱼组成,大银鱼仅占很小的比例。可见大银鱼曾经承受了相对较大的捕捞压力,群体数量在短期内的急剧减少使大银鱼的遗传变异程度减小,即所谓遗传瓶颈效应的影响。太湖新银鱼个体比大银鱼小,其群体数量比大银鱼多,它所承受的捕捞压力相对比大银鱼所承受的小,因而太湖新银鱼所保留的遗传变异要大一些。对于寡齿新银鱼,它个体小,仅局部分布在少数湖湾,银鱼春汛中产卵亲鱼已部分死亡,幼鱼远未达到起捕长度,因而使其大部分可以逃避春汛捕捞的厄运,这是寡齿新银鱼能够保持较大遗传变异的主要原因。可见捕捞强度越大,银鱼的遗传变异性丢失也越大,银鱼的基因库受到破坏。如果说银鱼资源在数量上的减少可以通过人工增殖等手段恢复的话,银鱼遗传基因库的破坏则是无法恢复的。因此,为保护和合理地利用银鱼资源,我们建议渔业生产和管理部门严格实施禁渔期、禁渔区等措施,控制银鱼的捕捞强度,缩短汛期,以实现太湖银鱼渔业的可持续发展。

参 考 文 献

- 朱成德,钟暄世. 1980. 太湖银鱼种群结构与数量变动的调查.《太湖水产资源调查资料汇编(1980~1981年)》
- 金冬雁,黎孟枫(译). 1996. 分子克隆实验指南(第二版),北京:科学出版社.464~467
- Allendorf F W, Ryman N, Utter F M. 1987. Genetics and fishery management. In: Ryman N, Utter F. eds. Population Genetics and Fishery Management, Seattle: University of Washington Press. 1~19
- Bardacki F, Skibinski D O F. 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. Heredity, 73: 117~123.
- Lynch M. 1990. The similarity index and DNA fingerprinting. Mol Biol Evol, 7: 478~484
- Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, et al. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531~6535

GENETIC STRUCTURES OF POPULATION OF *PROTOSALANX CHINENSIS*, *NEOSALANX TAIHUENSIS* AND *NEOSALANX OLIGODONTIS* IN LAKE TAIHU

XIA De-Quan, CAO Ying, WU Ting-Ting, YANG Hong

(Freshwater Fishery Research Center, CAFS, Wuxi 214081)

ABSTRACT Genetic population structures of *Protosalanx chinensis*, *Neosalanx taihuensis*, and *N. oligodontis* in Lake Taihu were assayed using RAPD method. *P. chinensis* and *N. taihuensis* were

collected in six regions throughout the whole lake, and *N. oligodontis* was collected in two of the six regions. Results demonstrated that these three Salangid fishes did not reveal any structural differentiation. Genetic similarity indices suggested that *P. chinensis* has to lost genetic variation a greater degree because in history it suffered a greater loss in population quantity than *N. taihuensis* and *N. oligodontis* resulted from fishing pressure, while *N. taihuensis* and *N. oligodontis* have maintained somewhat larger genetic variation.

KEYWORDS *Protosalanx chinensis*, *Neosalanx taihuensis*, *Neosalanx oligodontis*, Genetic structure, Lake Taihu