

新疆伊犁河鲫鱼遗传多样性初步研究

周秋白^{1,2} 郑宇¹ 周莉² 桂建芳²

(1. 江西农业大学动物科技学院,南昌 330045; 2. 中国科学院水生生物研究所,武汉 430072)

摘要:为了解我国西北地区野生鲫鱼的遗传多样性,鲫鱼样品从新疆伊犁河中采用小型拖网捕获。通过解剖观察性腺鉴定性别;采用碘化丙啶(PD)染色,经流式细胞仪测定血细胞核DNA含量;采用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,考马斯亮蓝染色分析血清转铁蛋白多态性。结果表明:新疆伊犁河鲫鱼群体为具雌、雄的两性个体的群体;伊犁河鲫鱼血细胞核DNA平均含量为 (5.315 ± 0.215) pg/个细胞核,血细胞核DNA含量约为二倍体彩鲫DNA含量的1.53倍,与银鲫血细胞核DNA含量相当;在所采集的鲫鱼样品中共发现9种转铁蛋白表现型,由7个等位基因调控,等位基因频率依次为 Tf^a 0.063、 Tf^b 0.063、 Tf^c 0.095、 Tf^d 0.169、 Tf^e 0.174、 Tf^f 0.175和 Tf^g 0.270。基因型频率分别为 Tf^{cd} 0.043、 Tf^{df} 0.043、 Tf^{abdg} 0.043、 Tf^{def} 0.087、 Tf^{ce} 0.13、 Tf^{de} 0.13、 Tf^{df} 0.13、 Tf^{abeg} 0.13和 Tf^{dg} 0.26。综合分析,伊犁河现存野生鲫鱼为银鲫,且具有两性融合生殖能力。伊犁河鲫鱼表现出的遗传特性可能与该特定水环境有关。

关键词:伊犁河;鲫鱼;性比;DNA含量;转铁蛋白;遗传多样性

中图分类号: Q173 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)04-0690-06

鲫属(*Carassius*)在欧亚大陆上有两个种,两个亚种。二个种是黑鲫(*Carassius carassius* Linnaeus)和鲫(*Carassius auratus* Linnaeus)。黑鲫主要分布在中欧、东欧,在亚洲西伯利亚则分布在勒那河和我国新疆;鲫主要分布在中国、日本、朝鲜半岛,后移植驯化于印度、北美和世界各地。鲫有两个亚种:普通鲫(*Carassius auratus* L.)和银鲫(*Carassius auratus gibelio* Bloch)。普通鲫其分布同鲫;银鲫主要分布在中欧、东欧,亚洲的西伯利亚、黑龙江水系、朝鲜半岛和日本^[1-5]。银鲫区别于其他鲫的一个生物学特点是具天然雌核发育特性^[6-8]。

近年的研究发现许多地方鲫鱼种群的染色体倍性比较复杂,染色体数量有的为100左右的二倍体,有的为156、162左右的三倍体或212左右的复合四倍体^[2,4,7,10];其生殖方式也有差异,通常二倍体为两性生殖,三倍体、四倍体为雌核发育^[6-8]。天然雌核发育鱼类群体中往往缺少雄性鲫鱼,近年来也发现三倍体鲫鱼中也存在一定比例雄性鲫鱼,且可行两性生殖^[9,10]。

朱蓝菲等最初研究了雌核生殖银鲫种群中8种

蛋白质的电泳图谱,发现银鲫个体间存在血清蛋白的遗传多样性^[5],后来进一步研究证实血清蛋白多态性区段条带是转铁蛋白(Transferrin, Tf)^[3]。Tf又称为铁传递蛋白,是一类能结合并运输铁的单一肽链糖蛋白,其主要功能是将肠道吸收的铁与血红蛋白分解的铁运至需铁或贮铁细胞,Tf可与细菌竞争铁原子有抗感染能力,抑制细菌生长与繁殖。Tf基因序列中单个核苷酸易受外源因素影响而突变,导致某个氨基酸被取代,从而引起各种表型差异,决定了Tf是一种具有高度遗传多态性的蛋白质。不同种的鱼因其不同的生存环境及生活习性,都有各自的Tf区的特定位置,基因频率和基因型频率分布亦各不相同^[11-14]。因此Tf可选作为抗逆性选育标记^[15],在遗传改良和个体识别与亲子鉴定中具有重要意义。

多年来,对于鲫鱼遗传多样性分析多采用我国东北的黑龙江流域和中原的长江、黄河流域的样本,而对我国西北部新疆地区的鲫鱼研究则鲜见报道。本研究从新疆伊犁河中采集鲫鱼样本进行性比、倍性和转铁蛋白多态性分析,旨在了解我国西北水系

收稿日期: 2008-11-10;修订日期: 2009-04-19

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2004CB117405);淡水生态与生物技术国家重点实验室开放基金项目(2006FB01)资助

作者简介: 周秋白(1965—),男,汉族,江西修水人;在读博士;主要从事鱼类遗传与营养方面的研究。E-mail: zhouqiubai@163.com

通讯作者: 桂建芳, E-mail: jfgui@ihb.ac.cn

鲫鱼的遗传多样性,为寻找鲫鱼某些性状的遗传标记积累资料。

1 材料与方法

1.1 材料来源及处理 野生鲫鱼样品 2006年7月从伊犁河惠远古城(E 80°56'3",N 43°56'14")、伊犁河三桥(E 80°40'37",N 43°50'23")和三道河子码头(E 80°32'18",N 43°29'43")捕获,共28尾。捕获后采取血样和依据普通生物学特征分类、解剖观察性腺确定性别,剪取鱼鳍酒精固定,带回中国科学院水生生物研究所备用。人工养殖鲫鱼样品为从伊宁市农贸市场采购的随机个体,共18尾,源自天山养殖场,处理同上。对照组彩鲫与银鲫(A系、D系)均取自中国科学院水生生物研究所人工选育的个体,处理同上。

1.2 仪器、试剂 仪器:台式高速离心机 5417R型(Eppendorf)、电泳仪 Power/PAC1000 (Bio-Rad)、流式细胞仪 Phoenix Flow Systems (Beckman and Coulter Co.)。

试剂:聚丙烯酰胺 PAGE (29%丙烯酰胺 (SIGMA)/1%甲叉双丙烯酰胺 (FLUKA));染色液:0.25%考马斯亮蓝 R250 (SIGMA);其余试剂均为国产。脱色液 甲醇:冰乙酸:水 = 45:10:45;保存液:8.7%甘油加于脱色液中。

1.3 血细胞核 DNA 含量分析 采用外定标方法:分别取 1μL 待测样品,彩鲫、银鲫和鸡血细胞用 4 预冷 1×PBS 1mL 洗 1 次,1000r/min 离心 5min,吸除上清液,重复一次。再用 70%预冷酒精重悬 4 固定过夜后,1000r/min 离心 5min,沉淀按上述方法用 1×PBS 洗 2 次。离心沉淀后加 0.5mL (0.5% pepsin, 0.1mol HCl)重悬。室温温育并轻轻摇动消化蛋白 30min,取 100μL 加 1mL 40μg/mL PI(propidium iodide)、1μL 10mg/mL Dnase-free Rnase 室温避光染色 2—3h。用流式细胞仪分析,上样量每个样品测定至少 3000 个细胞。样品进入流式细胞仪分析仪腔堂前用 100μm 尼龙筛绢过滤细胞悬液,测定鸡血细胞核 DNA 含量的 PI 荧光密度值 (PI fluorescence),按鸡血细胞核 DNA 含量 2.5 pg/个细胞核,计算 1pgDNA 含量相当的平均值荧光密度值,然后每个样品分别测定血细胞核 DNA 的 PI 荧光密度值,转换为每个血细胞核平均 DNA 含量。

$$\text{DNA (pg/个细胞核)} = (\text{鱼血细胞核荧光密度值} / \text{鸡血细胞核荧光密度值}) \times 2.5 (\text{pg/个细胞核})$$

1.4 转铁蛋白分析

1.4.1 样品处理 将 1mL 注射器用 0.1%肝素润湿,从鱼体尾静脉取血约 0.2—1mL,4℃静置数小时,吸取上层血清,将血清用硫酸亚铁铵调整 Fe^{2+} 浓度至 12μg/mL,在 4℃静置 1h。Rivanol (2-乙氧-6,9-二氨基吡啶乳酸)沉淀血清中的清蛋白及大部分 γ 球蛋白,使 Tf 保留在上清液中。Rivanol 浓度为 0.4% (溶于 0.005mol/L Tris-HCl, pH 8.8 缓冲液中)。Rivanol 溶液与血清的比例为 4:1,4℃静置 1h,4℃、1000r/min 离心 5min,吸取上层纯化转铁蛋白清液置 -20℃保存备用。

1.4.2 电泳条件 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,聚丙烯酰胺浓缩胶浓度为 5%,用 pH 6.8 的 Tris-HCl 配制;分离胶浓度为 10%,用 pH 8.8 的 Tris-HCl 配制;电极缓冲液 Tris-Gly (每升加 8.8g Gly,3.4g Tris, pH 8.3),在 150V 恒压下进样 30min,待适量样品进入分离胶后,将电压调至 180V,在恒压下电泳 4.5h 结束。将凝胶放至染色缸中,用 0.25%考马斯亮蓝 G250 染色 30min 左右,然后用脱色液脱色至凝胶无蛋白区基本无色时转至甘油保存溶液中浸泡 2h 以上保存,待作凝胶板扫描用。

1.4.3 转铁蛋白及其基因表示方法 转铁蛋白的命名参照文献 [16] 用大写正立字母缩写来表示 (如 Tf),其对应的基因和座位用斜写字母表示 (如 Tf^a),多个等位基因依其电泳迁移速度的减少依次用小写字母表示。

基因型频率 = 特定基因型个体数 / 测定个体总数

基因频率 = 特定等位基因出现数 / 测定个体所有等位基因出现总数

2 结果

2.1 形态特征和性比

鱼体侧扁,腹部圆,头短小,吻钝。体色多数呈银灰色背部颜色较深,腹部颜色较浅近白色。体长为体高的 1.92—2.54 倍。背鳍条:3,16—19;胸鳍条:1,16;腹鳍 1,8;臀鳍条 3,5。胸鳍末端多数不达腹鳍,侧线鳞数 28—32。解剖鉴定性别,28 尾从新疆伊犁河直接捕获的鲫鱼个体,雄性 3 尾,雌性 25 尾。雌:雄为 1:0.12。18 尾人工养殖鲫鱼个体,雄性为 1 尾,雌性为 17 尾,雌:雄为 1:0.06。按伍献文等 [11] 分类方法属银鲫。

2.2 血细胞核 DNA 含量

采用外标法共测定了 22 尾伊犁河鲫鱼,18 尾

伊犁当地人工养殖鲫鱼和对照组鲫鱼血细胞核 DNA 含量结果 (表 1)。

表 1 各群体鲫鱼血细胞核 DNA 含量 (pg/个细胞核)

Tab. 1 The DNA contents of blood copuscle among four types of crucian caps

伊犁河鲫鱼	养殖鲫鱼	彩鲫	银鲫
Yili River	Breeds group	Colour variety	Carassius
<i>Carassius auratus</i>	of <i>Carassius</i>	<i>Carassius auratus</i>	<i>auratus</i>
(<i>n</i> = 22)	<i>auratus</i> in	(<i>n</i> = 4)	<i>gibelio</i> (<i>n</i> = 4)
	Yili (<i>n</i> = 18)		
5. 315 ±0. 215 ^B	5. 392 ±0. 182 ^B	3. 475 ±0. 079 ^A	5. 323 ±0. 144 ^B

注:均值具有不同上标者为差异极显著 ($p < 0. 01$)
Note: mean values with different superscript letter are significantly different($p < 0. 01$)

其中,伊犁河鲫鱼血细胞核 DNA 平均含量,雌性为 (5. 311 ±0. 219) pg/个细胞核,雄性为 (5. 408 ±0. 043) pg/个细胞核;人工养殖鲫鱼群体血细胞核 DNA 平均含量,雌性为 (5. 385 ±0. 185) pg/个细胞核,雄性为 (5. 315 ±0. 042) pg/个细胞核。各

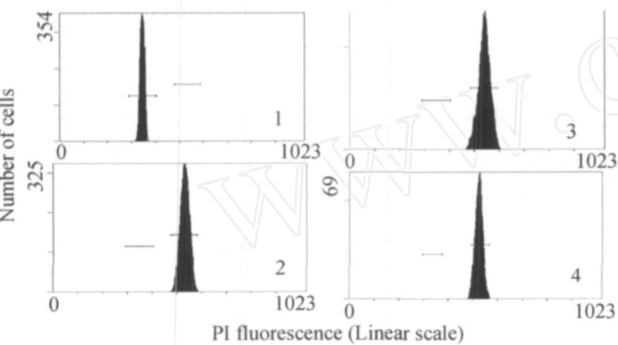


图 1 四类鲫鱼个体血细胞 DNA 含量
Fig. 1 Comparisons of the DNA contents of blood copuscle among four types of crucian caps
1. 彩鲫; 2. 伊犁河鲫鱼; 3. 伊犁人工养殖鲫鱼; 4. 银鲫
1. Colour variety *Carassius auratus*; 2. Yili River *Carassius auratus*;
3. Breeds group of *Carassius auratus* in Yili; 4. *Carassius auratus gibelio*

群体内个体间和性别间血细胞核 DNA 平均含量,差异均不显著 ($p > 0. 05$)。伊犁河鲫鱼与养殖鲫鱼及对照组银鲫血细胞核 DNA 平均含量差异不显著 ($p > 0. 05$),与对照组彩鲫血细胞核 DNA 平均含量差异极显著 ($p < 0. 01$, 图 1)。将单个体彩鲫血细胞核加入单个体新疆伊犁河鲫鱼血细胞核中再测定也明显分为两种不同的峰值 (图 2)。

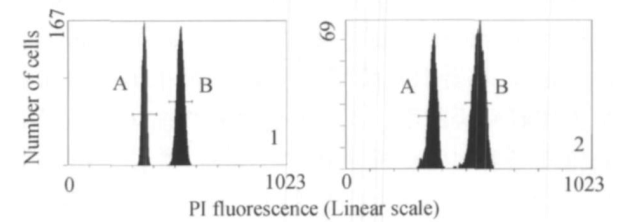


图 2 彩鲫与伊犁鲫鱼血细胞核 DNA 含量比较
Fig. 2 Comparisons on the DNA contents of blood copuscle between color variety *Carassius auratus* and Yili 's *Carassius auratus*
1. 雌性 A. 彩鲫; B. 伊犁河鲫鱼; 2. 雄性 A. 彩鲫; B. 伊犁河鲫鱼
1. Female A. color variety *Carassius auratus*; B. *Carassius auratus*;
2. Male A. color variety *Carassius auratus*; B. *Carassius auratus*

2. 3 血清转铁蛋白带型和基因型频率及基因频率
从 23 尾伊犁河野生鲫鱼血清纯化的转铁蛋白电泳结果中分析鉴定出 9 种 Tf 表型 (图 3)。电泳条带按泳动速度不同从快到慢依次编为 a、b、c、d、e、f、g, 其中显示 2 条带的 4 种表型 Tf^{de} 、 Tf^{cd} 、 Tf^{df} 、 Tf^{fe} (图 3-10、3-11、3-5、3-7); 显示 3 条带的 3 种表型 Tf^{cdg} 、 Tf^{cdf} 、 Tf^{def} (图 3-4、3-9、3-3); 显示 4 条带型 2 类表型 Tf^{abeg} 、 Tf^{abdg} (图 3-6、3-8)。其中 Tf^{de} 表型占 13%、 Tf^{cd} 表型占 4. 3%、 Tf^{fe} 表型占 13%、 Tf^{dg} 表型占 13%、 Tf^{cdg} 表型占 26%、 Tf^{cdf} 表型占 4. 3%、 Tf^{def} 表型占 8. 7%、 Tf^{abeg} 表型占 13%和 Tf^{abdg} 表型占 4. 3%。人工养殖群体 Tf 表型 1 种类型 (图 4), 所有个体均为 Tf^{df} 表型与野生个体 (图 3-5) 带型相同。

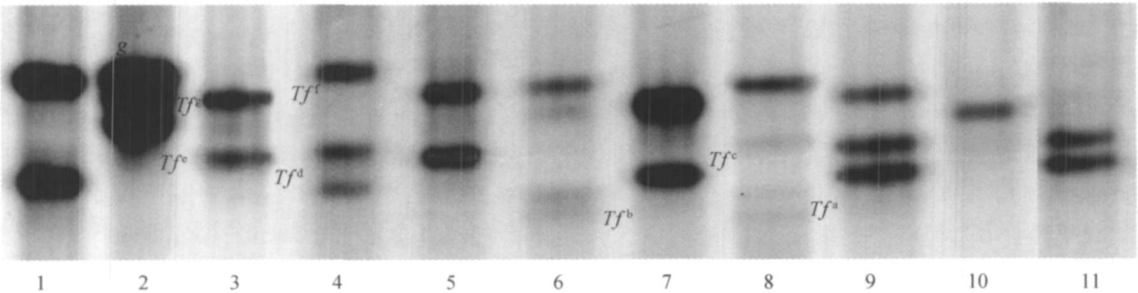


图 3 伊犁河鲫鱼血清 Tf 多态性
Fig. 3 PAGE patterns of serum transferrins of *Carassius auratus* of Yili River
1. 银鲫 A 系; 2. 银鲫 D 系; 3—11. 野生个体
1. Gibel Cap (Clones A); 2. Gibel Cap (Clones D); 3—11. Wild groups

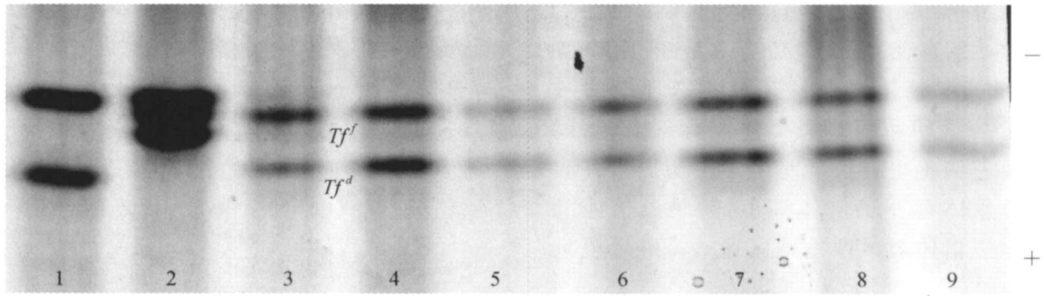


图 4 人工养殖鲫鱼群体血清 Tf 表型

Fig. 4 PAGE patterns of serum transferrins of breeds group of *Carassius auratus*

1. 银鲫 (A系); 2. 银鲫 (D系); 3—9. 人工养殖群体

1. Gibel Cap (Clone A); 2. Gibel Cap (Clone D); 3—9. Breeds group

基因型频率分别为 Tf^{de} 0.13、 Tf^{cd} 0.043、 Tf^e 0.13、 Tf^{df} 0.13、 Tf^{dg} 0.26、 Tf^{cd} 0.043、 Tf^{def} 0.087、 Tf^{abeg} 0.13和 Tf^{bdg} 0.043。等位基因频率分别为: Tf^a 0.063; Tf^b 0.063; Tf^c 0.174; Tf^d 0.270; Tf^e 0.175; Tf^f 0.095和 Tf^g 0.169。

3 讨论

3.1 伊犁河鲫鱼的分类地位

本文采集的伊犁河野生鲫鱼标本借助血细胞DNA含量分析推算倍性结果为三倍体,采集的标本雌雄为 1 0.12,侧线鳞数目 28—32,按伍献文等^[1]分类方法类属银鲫。

伊犁河中鲫鱼种群中发现存在一定比例(雌雄为 1 0.12)雄性个体,在天山养殖场的人工养殖群体中也同样发现有雄性个体与沈俊宝等^[1,3]研究发现栖息在黑龙江水系镜泊湖、兴凯湖、达赖湖、双凤水库和龙凤山水库等大型湖泊和水库的银鲫具有雌、雄两种性别的种群相似,与欧洲(包括前苏联)和日本的三倍体、四倍体银鲫只有雌性的单性型银鲫种群不同^[2]。

银鲫具有天然雌核发育特性和与其婚配(或刺激雌核发育)的雄鱼的亲缘关系可以影响它们子代的性比。蒋一珪等^[17]认为,银鲫与不同亲缘关系的雄鱼婚配,后代具有不同比例的雄鱼。亲缘关系越远,雄性比例越少,如方正银鲫子代中雄鱼约占 18.2%,与雄银鲫和雄红鲫婚配所得后代的雄鱼分别占 15.6%和 2.5%,而与雄红鲤婚配所得子代中未发现雄性个体。范兆廷等观察到黑龙江水系的银鲫雄性个体约占群体的 5%—15%,栖息在扎龙湖的二倍体鲫自交后代的当年鱼的雄性有 35%左右^[18—21]。伊犁河中鲫鱼种群雌雄为 1 0.12,雄性约占 10.7%显示与行两性繁殖的二倍体普通鲫鱼

性比差异较大,与方正银鲫子代中雄性比例接近。伊犁河野生鲫鱼性比与黑龙江水系银鲫类似,雄性比例较低。

3.2 伊犁河鲫鱼遗传多样性

银鲫是具有雌核发育单性生殖和两性生殖的鱼类,引种的银鲫能够在新的生境中迅速繁殖,很可能与其能利用多种鱼类精子经济有效的单性生殖方式有关,受精时入卵的精子只起刺激卵子发育的作用,通常雌核发育是完全的雌核单性生殖,子代不具有父本性状,实验证实对于同一克隆表现遗传同质性,个体间仍然保留有完全一致的 Tf 表型^[4,12,22]。某个克隆经过多代的雌核生殖,银鲫群体中出现了一定比例的雄性。其后代中出现雄性个体时,个体间可行两性生殖,其后代个体也可能保持有完全一致的 Tf 表型^[21,22]。天山养殖场的养殖群体显示转铁蛋白的同一性,这些个体可能来源于同一克隆。

伊犁河鲫鱼转铁蛋白具有丰富的多样性与养殖群体的单态形成鲜明对比。通过 12 对微卫星引物扩增该伊犁河鲫鱼群体,27 个个体共发现 10 个克隆系 108 个等位基因^[23]与转铁蛋白所表现的基因型数目接近。伊犁河鲫鱼转铁蛋白呈现多态性,主要是伊犁河中的鲫鱼具有不同的克隆系。另外可能是由于 Tf 是一种具有高度遗传多态性的蛋白质, Tf 基因序列中单个核苷酸突变会导致某个氨基酸变化,从而引起 Tf 表型差异。不同的 Tf 等位基因,产生不同编码产物,因而表达出不同的谱带,反映在复杂多变的环境中生存的调控能力^[24]。本研究仅获得 28 尾个体很可能未展现出全部的基因类型,就表现出丰富的转铁蛋白多态性,因此可以推断该水体鲫鱼具有较为丰富的遗传多样性。

从目前的调查资料来看,多数水体存在三倍体和二倍体鲫鱼^[23],二倍体和三倍体有较近的亲缘关

系^[19,25]。长江水系,鄱阳湖鲫鱼群体也同时存在二倍体和三倍体,且自然水体鲫鱼存在三倍化趋势(待发表资料)。三倍体鲫鱼是其对特殊环境的一种适应结果^[24,25]。伊犁河鲫鱼群体仅有三倍体,因此伊犁河鲫鱼三倍化也有可能是经多次历史事件演化的结果。该水体存在三倍体鲫鱼,缺乏二倍体鲫鱼原因可能是三倍体对该寒冷地区这一特殊环境具有更好的适应性。

伊利河中采集的鲫鱼群体为银鲫三倍体两性种群。伊犁河鲫鱼个体 DNA 含量和当地人工养殖鲫鱼群体的 DNA 含量接近,同时均未表现出性别差异。这些伊犁河中鲫鱼个体血细胞核 DNA 含量与二倍体彩鲫个体差异大,约为二倍体彩鲫的 1.53 倍,接近银鲫 A 系和黑龙江水域中方正银鲫血细胞核 DNA 含量^[26]。同时野生群体具有丰富的遗传多样性,而养殖群体表现出出于同一克隆,推断这样的种群应为具有雌核生殖和两性融合生殖能力的种群;即伊犁河现存的鲫鱼繁殖类型应为雌核生殖或两性繁殖类型。

参考文献:

- [1] Wu X W. The Cypriniformes fish of China (part) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1982, 430—435 [伍献文. 中国鲤科鱼类志, 下卷. 上海: 上海科技出版社, 1982, 430—435]
- [2] Shen J B. The ploidy of crucian carp and its geographical distribution in heilongjiang main river [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1983, 7(2): 87—91 [沈俊宝. 黑龙江主要水域鲫鱼倍性及其地理分布. 水产学报, 1983, 7(2): 87—91]
- [3] Yang L. Genetic diversity among silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* revealed by transferrin and its molecular markers [D]. Thesis for Doctor of Science. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 2000 [杨林. 银鲫转铁蛋白及其相关分子标记的遗传多样性研究. 博士学位论文. 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 2000]
- [4] Shen J B, Fan Z T, Wang G R. Karyotype Studies of Male Triploid Crucian Carp (Fangzheng Crucian Carp) in Heilongjiang [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 1983, 10(2): 133—136 [沈俊宝, 范兆廷, 王国瑞. 黑龙江一种银鲫(方正银鲫)群体三倍体雄鱼的核型研究. 遗传学报, 1983, 10(2): 133—136]
- [5] Zhu L F, Jiang Y G. Intraspecific genetic markers of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) and their application to selective breeding [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1987, 12(2): 105—111 [朱蓝菲, 蒋一珪. 银鲫种内的遗传标记及其在选种中的作用. 水生生物学报, 1987, 12(2): 105—111]
- [6] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays [J]. *J. Mol. Evol.*, 2000, 51: 498—506
- [7] Gui J F, Zhou L F, Liang S C, et al. Genetic evidences for gynogenetic reproductive mode in embryogenesis of the multiple tetraploid crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1992, 37(9): 836—838 [桂建芳, 朱蓝菲, 梁绍昌, 等. 人工复合四倍体异育银鲫雌核发育生殖方式的初步证明. 科学通报, 1992, 37(9): 836—838]
- [8] Gui J F, Liang S C, Zhu L F, et al. Discovery of two different reproductive development modes of the eggs of artificial multiple tetraploid allogynogenetic silver crucian carp [J]. *Chinese Science Bull* 1993, 38(4): 332—337
- [9] Zhou L, Gui J F. Studies on genetic diversity in gonochoristic offspring produced from mating between two different gynogenetic clones of silver crucian carp [J]. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*, 2001, 34(3): 169—176 [周莉, 桂建芳. 两个银鲫克隆间两性生殖子代的遗传多样性分析. 实验生物学报, 2001, 34(3): 169—176]
- [10] Zhou L, Gui J F. Karyotypic diversity in polyploid gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch [J]. *Genetica*, 2002, 115: 223—232
- [11] Yang L, Yang S T, Wei X H, et al. Genetic diversity among different clones of the gynogenetic silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* revealed by transferrin and isozyme markers [J]. *Biochemical Genetics*, 2001, 39: 213—225
- [12] Herschberger W K. Some physicochemical properties of transferrins in brook trout [J]. *Trans Amer Fish Soc*, 1970, 1: 207—218
- [13] Verspoor E. Spatial correlations of transferrin allele frequencies in atlantic salmon (*Salmo salar*) populations from North America [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1986, 43: 1074—1078
- [14] Yang L, Gui J F. Genetic analysis on diversity of reproductive modes of silver crucian carp inferred by transferrin and isozyme markers [J]. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*, 2002, 35(4): 263—269 [杨林, 桂建芳. 银鲫生殖方式多样性的转铁蛋白和同工酶标记的遗传分析. 实验生态学报, 2002, 35(4): 263—269]
- [15] Long H, Zeng Y, Li G. Present status of studies on fish serum transferrin and perspective of its application [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 25(2): 181—186 [龙华, 曾勇, 李谷. 鱼类血清转铁蛋白的研究现状与应用前景. 水产学报, 2001, 25(2): 181—186]
- [16] Zhang X Z, Qiu Q R, Chen Z L. Fish genetics and selective breeding [M]. Beijing: Agriculture Press, 1988, 108—109 [张兴忠, 仇潜如, 陈曾龙. 鱼类遗传与育种. 北京: 农业出版社. 1988, 108—109]
- [17] Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, et al. Biological effect of heterologous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1983, 8(1): 1—13 [蒋一珪, 梁绍昌, 陈本德, 等. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应. 水生生物学报, 1983, 8(1): 1—13]
- [18] Fan Z T, Han Y, Ma X Z. Studies on the sperm biology of crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) in Heilongjiang waters [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2003, 34(4): 414—418 [范兆廷, 韩英, 马旭洲. 黑龙江银鲫 (*Carassius auratus gibelio* Bloch) 精子生物学研究. 东北农业大学学报,

- 2003, **34** (4): 414—418]
- [19] Li Y C. Comparative investigation of the genetic diversity between *C. auratus gibelio* (Bloch) and *C. auratus auratus* (L.) [D]. Thesis for Master of Science, Northeast Agricultural University, Heilongjiang 2001 [李因传. 黑龙江银鲫与普通鲫鱼遗传多样性比较研究. 硕士学位论文, 东北农业大学, 黑龙江. 2001]
- [20] Liu M H, Shen J B. A histological study on hermaphroditism of crucian carp [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1998, **5** (2): 6—7 [刘明华, 沈俊宝. 黑龙江银鲫雌雄同体的组织学. 中国水产科学, 1998, **5** (2): 6—7]
- [21] Li M Y, Zhou L, Yang L, et al. Molecular genetic analysis on Pengze crucian carp and comparison with strain A of gynogenetic silver crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26** (5): 472—476 [李名友, 周莉, 杨林, 等. 彭泽鲫的分子遗传分析及其与方正银鲫 A 系的比较. 水产学报, 2002, **26** (5): 472—476]
- [22] Guo W, Gui J F. Microsatellite marker isolation and cultured strain identification in *Carassius auratus gibelio* [J]. *Aquacult Int*, 2009, **16** (6): 497—510
- [23] Guo W. Isolation of microsatellite markers and population genetic analysis in large yellow croaker and gibel carp [D]. Thesis for Doctor of Science. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 2007 [郭葳. 大黄鱼与银鲫微卫星标记的分离及其群体遗传分析. 博士学位论文. 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 2007]
- [24] Yang L, Gui J F. Positive selection on multiple antique allelic lineages of transferrin in the polyploid *Carassius auratus* [J]. *Mol Biol Evol*, 2004, **21**: 1264—1277
- [25] Lu C Y, Yang Y H, Tong G X, et al. Comparative studies of genetic diversity between *C. auratus gibelio* (Bloch) and *C. auratus auratus* (L.) in the same reservoir [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2006, **19** (2): 42—50 [鲁翠云, 杨彦豪, 佟广香, 等. 同水体银鲫与普通鲫遗传多样性的比较研究, 水产学杂志, 2006, **19** (2): 42—50]
- [26] Li S F. Study on genetic resources of major freshwater fishes of China [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press 1998, 111—113 [李思发. 中国淡水主要养殖鱼类种质研究. 上海: 上海科技出版社. 1998, 111—113]

GENETIC DIVERSITY OF CRUCIAN CARP (*CARASSIUS AURATUS*) FROM YILI RIVER OF SINKIANG DISTRICT

ZHOU Qiu-Bai^{1,2}, ZHENG Yu¹, ZHOU Li² and GUI Jian-Fang²

(1. Department of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045 China;

2. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072 China)

Abstract: Studies about genetic diversity of crucian carp (*Carassius auratus*) have been executed for many years. However, the samples usually come from the area of Heilong River in northeast, Yangtze River and Yellow River in the middle part of China, rarely from the district of Sinkiang District in northwest of China. This study aim at accumulating evidences for realizing genetic diversity and finding some characteristic marks of genetic diversity of crucian carp in the district of Sinkiang District in northwest of China. The sampled crucian carps (*Carassius auratus*) captured with tow net from Yili River of Sinkiang district. Their sex was identified according to the gland at the anatomical level. DNA content of blood corpuscle was mensurated with Phoenix Flow Systems after blood corpuscle was dyed with propidium iodide (PI) solution. Transferrin (Tf) in blood serum was measured with non-denaturalization polyacrylamide gel electrophoresis. It was stained with coomassie brilliant blue G-250. The result indicates that there are both of male and female among the crucian carp groups. DNA content of blood corpuscle of crucian carp is about 1.53 times of the color diploid crucian carp (actual 5.315 ± 0.215 pg/nucleus; 3.475 ± 0.079 pg/nucleus, respectively). The quantity is matching with that of the gibel carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch). Nine phenotype of Tf have been discovered among those crucian carps, controlled by seven alleles. Its genic frequency is Tf^a 0.063, Tf^b 0.063, Tf^c 0.095, Tf^d 0.169, Tf^e 0.174, Tf^f 0.175 and Tf^g 0.270. Genotype frequency is Tf^{de} 0.13, Tf^{cd} 0.043, Tf^{ce} 0.13, Tf^{df} 0.13, Tf^{cdg} 0.26, Tf^{df} 0.043, Tf^{def} 0.087, Tf^{abeg} 0.013 and Tf^{abdg} 0.043, respectively, presenting a very plentiful genetic diversity. These indicate that there are two kinds of reproductive modes of sexual reproduction and clonal reproduction of gynogenesis among this group of Crucian Carp (*Carassius auratus*) from Yili River of Sinkiang District. The crucian carps (*Carassius auratus*) are silver Crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch). Diversity in reproductive modes may play an important role in ecological adaptation of crucian carps. They may have evolved over several undiscovered event in history.

Key words: Yili River; Crucian Carp; Sexual Rate; DNA content; Transferrin (Tf); Genetic Diversity