

微卫星标记对黑龙江流域大麻哈鱼遗传多样性的研究

陈金平^{1,2} 董崇智³ 孙大江^{2,3} 王树义¹ 张树义¹

(1. 中国科学院动物研究所, 北京 100080; 2. 中国水产科学研究院鲟鱼繁育技术工程中心, 北京 100039;
3. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150080)

摘要:采用12个微卫星标记,对中国3个大麻哈鱼洄游群体(乌苏里江、黑龙江和绥芬河)的遗传多样性进行了检测。计算出各个种群的基因杂合度、遗传多样性和各个座位的多态信息含量。结果表明,3个大麻哈鱼洄游种群的平均基因杂合度分别为:0.6732、0.5995、0.6917,种群遗传多样性分别为0.7082、0.6511、0.7616。这些结果表明大麻哈鱼遗传多样性还比较丰富,其资源的恢复具有良好的前景,说明当前中国大麻哈鱼资源数量下降并非由遗传因素引起,主要原因可能是由于过度捕捞和水域环境污染等人为因素造成。人工增殖放流为恢复中国大麻哈鱼资源起到了重要作用,但目前大麻哈鱼的小种群极易产生遗传瓶颈的现状也应引起人们高度重视。

关键词: 大麻哈鱼; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号: S965.229 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2004)06-0607-06

大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta* Walbaum)是一种重要的世界性的洄游性经济鱼类,在北半球许多国家的渔业捕捞产量中占有很大的比率。在中国,大麻哈鱼仅分布于黑龙江省的黑龙江、乌苏里江、绥芬河和吉林省的图们江,大麻哈鱼捕捞业曾对当地经济发展起到了很大的推动作用。但近些年来,由于过度捕捞,水域环境的恶化和繁殖场所的破坏,大麻哈鱼种群数量急剧下降。虽然分别于20世纪50年代末60年代初对乌苏里江和图们江以及80年代末对黑龙江和绥芬河分别开始了人工增殖放流,对大麻哈鱼资源的恢复起到了一定的积极作用,但图们江的大麻哈鱼仍接近于绝迹的边缘,乌苏里江、黑龙江和绥芬河大麻哈鱼种群数量也已处于历史最低水平^[1-4]。

大麻哈鱼种群内的遗传多样性的研究对指导人工增殖放流,恢复大麻哈鱼种群数量具有重要意义。有关中国大麻哈鱼遗传多样性研究方面的资料相当缺乏,还没有见到相关的文献报道。而国外对大麻哈鱼遗传多样性研究则相对较多,对大麻哈鱼资源增殖起到了很重要的作用^[5,6]。微卫星DNA(Microsatellite DNA)是由2—6个核苷酸组成的核心单元

串联重复形成。微卫星广泛分布于真核生物的整个基因组中,同一座位上,由于核心单元的重复数不同,在群体中表现出多态性。微卫星DNA具有等位基因数目多、重复性好、呈共显性等特点,而且侧翼序列具有保守性,可根据其两侧序列设计引物通过PCR的方法检测其在群体中的多态性,因而已广泛应用于不同群体的划分、亲缘关系鉴定、基因定位、种群遗传多样性分析等方面的研究^[7,8]。本文利用12对微卫星引物分别对黑龙江、绥芬河和乌苏里江大麻哈鱼种群遗传多样性进行研究,为中国大麻哈鱼种群提供遗传学背景资料,同时为大麻哈鱼的人工增殖放流提供参考^[9,10]。

1 材料和方法

1.1 材料 实验所用大麻哈鱼3个不同的生态种群于2002年9—11月分别采自黑龙江、乌苏里江和绥芬河,其中黑龙江9尾,绥芬河31尾,乌苏里江32尾。剪取背鳍5g,保存于95%酒精中带回实验室分析。

1.2 DNA的抽提和PCR扩增 分别取0.5g背鳍组织于50μL水中置室温2h,取出组织放入加有500μL DNA提取液的2.5mL离心管中,充分剪碎组

收稿日期: 2003-05-23; 修订日期: 2003-08-25

基金项目: 中国科学院创新项目(KSCX3-10Z-03)及其重要创新方向项目(KSCX2-1-03); 国家自然科学基金项目(No.30025007, 30270169)资助

作者简介: 陈金平(1973—),男,湖北罗田县人,分子生态学博士,主要从事鱼类遗传学和分子进化方面的研究

通讯作者: 张树义, Tel: 010-62537132, E-mail: zhangsy@zsl.net.cn

织块, 再分别加入 20% 的 SDS 30 μ L 和 10mg/mL 的蛋白酶 K 20 μ L, 缓慢反复倒置 10min 后, 于 55℃的水浴中 12h。加等体积的饱和酚于机械手上缓慢转动抽提 15min, 12000r/min 离心 10min, 吸上清液, 重复一次。酚: 氯仿: 异戊醇(体积比: 25: 24: 1) 500 μ L 重复抽提 2 次, 最后用氯仿: 异戊醇(体积比: 24: 1) 500 μ L 抽提 1 次, 加入 30 μ L 3mol/L NaAc 和 1000 μ L 无水乙醇于上清液中, -20℃沉淀 2h, 12000r/min 离心 20min, 再用 75% 乙醇洗涤两次, 离心干燥机抽干, 加入 200 μ L 的 TE(pH8.0) 缓冲液溶解, 于-20℃保存备用。

所采用的 12 对微卫星引物见表 1。PCR 反应在 PE9700 PCR 仪上进行, 反应体系为 25 μ L, 其中含有: 1×PCR buffer, 1.5mmol/L MgCl₂, 正反向引物(Bioasia 公司合成)各 0.2 μ mol/L, dNTP(TaKaRa 公司)各 0.2mmol/L, 模板 DNA 100ng, TapDNA(TaKaRa 公司)聚合酶 1U, 反应条件为 95℃预变性 3min, 循环设置为: 95℃变性 50s, 退火 40s, 不同引物的退火温度见表 1, 72℃延伸 40s, 共 35 个循环, 然后 72℃延伸 5min。

1.3 电泳

PCR 反应产物先采用 3% 琼脂糖电泳检测, 直到所扩增的 12 对引物获得可重复的清晰的 DNA 带纹后, 采用 20×20cm 10% 非变性聚丙烯酰胺

凝胶恒电压低温下电泳(5V/cm 11h), 电泳缓冲液为 1×TBE。凝胶经银染显色后, 然后用凝胶成像系统对凝胶进行拍摄并保存图片。

1.4 数据的采集和统计分析

PAGE 电泳获得基因指纹图谱后, 用 Bandscan 软件对图片进行分析, 在同一电泳迁移位置上, 按 DNA 带纹所对应的 PBR322/MspI 和 PBR322/Hae III DNA ladder(购于华美公司)的分子量(bp)大小, 统计不同等位基因的分子量大小(bp)。

遗传多样性根据公式 $GD_n = 1 - \sum P_i^2$ 计算^[11], 其中 P_i 是表示第 i 个等位基因出现的频率, n 代表等位基因的数目。用 GENEPOL3 计算基因频率、平均杂合度^[12]。

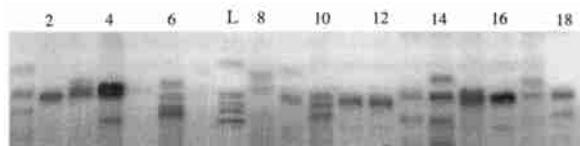


图 1 3% 琼脂糖凝胶检测绥芬河大麻哈鱼种群 Oke2 位点扩增结果

Fig. 1 Photographs of 3% agarose gels showing typical alleles of Sufen River population for Oke2

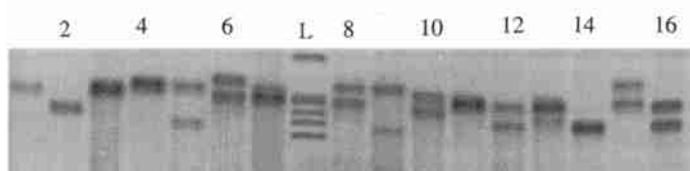


图 2 3% 琼脂糖凝胶检测乌苏里江大麻哈鱼种群 Oke12 位点的扩增结果

Fig. 2 Photographs of 3% agarose gels showing typical alleles of Wusuli River population for Oke12

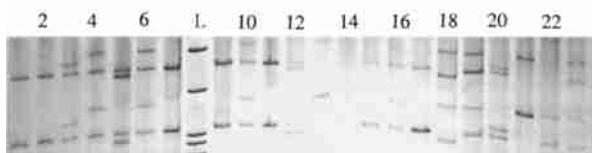


图 3 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶检测 3 个大麻哈鱼种群 Oke3 位点的扩增结果

黑龙江种群(1—7)、乌苏里江种群(9—15)

绥芬河种群(16—23)

Fig. 3 Photographs of 10% nondenaturing polyacrylamide gels showing typical alleles of 3 populations for Oke3 1—7 was from Heilongjiang River, 9—15 was from Wusuli River and 16—23 was from Sufen River

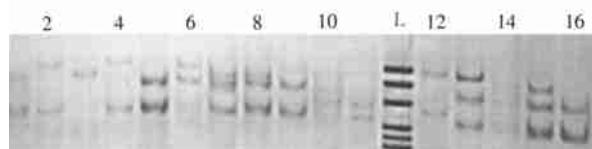


图 4 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶 Oki1 位点检测 3 个大麻哈鱼种群的扩增结果 黑龙江种群(1—5)、乌苏里江种群(6—11)、绥芬河种群(12—16)

Fig. 4 Photographs of 10% nondenaturing polyacrylamide gels showing typical alleles of

3 populations for Oki1

1—5 was from Heilongjiang River, 6—11 was from Wusuli River and 12—16 was from Sufen River

表1 微卫星DNA引物序列、重复序列、扩增温度、等位基因数和等位基因片段大小
Tab.1 Primer sequence, core repetitive sequence, anneal temperature, the number of alleles and size of alleles of microsatellite DNA

微卫星标记 Microsatellite markers	引物序列 Primer sequence	核心重复序列 Core repetitive sequence	退火温度(℃) Anneal temperature	等位基因数 The number of alleles	等位基因片段大小范围 Size of alleles(bp)	基因多样性 Genetic diversity
Oki1	5'-AGGATGCCAGAGLACCAT-3' 5'-CACCCATAATCACATATTACAC-3'	CTGT	58	12	198—254	0.8808
Oki2	5'-ATGTAATATGCAACTGGACAACA-3' 5'-ATCCGGTTAAATACCTTCACAC-3'	CA	52	12	118—240	0.8644
Oki3	5'-CAGCCATCTGCACTCACACT-3' 5'-GCAGACAGAGTGTGAGACATACA-3'	CT	56	3	120—138	0.4685
Oke1	5'-TCACTAATCCTCTAGTGACCCCT-3' 5'-CATTAATCACTATTCATCTGGTTTCC-3'	TG	52	23	168—220	0.9114
Oke2	5'-AGATGGTACCCCTATCTCTCTCTC-3' 5'-ACTTCCTGTTGGTCCCATA-3'	TG	54	12	134—252	0.8248
Oke3	5'-ACCTGAGAGAACATCAC-3' 5'-TCAGGGATAATCGATAATAAGTA-3'	TUCCTCTCTCTC	53	6	223—301	0.7748
Oke4	5'-AGGCCAAAGCTCTAGTAGAACG-3' 5'-GATGAATGCCAGAAATCCCACTGAAT-3'	CA	58	2	275,313	0
Oke7	5'-CAACTCTGCTCTAAATGCTCT-3' 5'-ATCAAAGCTTATACGGCTCA-3'	TG	45	20	182—220	0.8266
Oke8	5'-CATCTGGTCTCTCTCTCTCAA-3' 5'-GGCTACACTCATCATCACACTAC-3'	CA 和 GACA	52	2	205,231	0
Oke9	5'-AGGTGTACACACTCATCATCACACTAC-3'	TG	47	2	254,298	0.7615
Oke11	5'-TCATTTATTCGCTCTTCAAGCC-3' 5'-CAAGGGCATAGTITACAGACAAGA-3'	CA	54	2	111,125	0.4875
Oke12	5'-CCAATCACTGAGTATCATGGACACAC-3' 5'-CACAGGGCATAGTITACAGACAAGA-3'	CA	56	10	132—252	0.7901

2 结果与分析

在所分析的 12 个微卫星标记中, 引物 Oke4 和 Oke8 在 3 个大麻哈鱼种群中没有表现出多态性, 且在 3 个群体中的每一个体均扩增出 2 条带(图 1-4), 它们的分子量大小(bp) 分别为 275、313 和 231、205。其他 10 对引物在 3 个大麻哈鱼种群均表现出多态性, 其中 Oki1、Ots2、Ots3、Oke1、Oke2、Oke3、Oke7、Oke12 等微卫星位点多态性较丰富, 共检测到 102

个多态性条带, 每个座位的等位基因数目差异较大, Oke9、Oke11 位点仅有两个等位基因, 而 Oke1 位点有 23 个等位基因, 平均每个座位等位基因数目为 8.3 个。杂合度的检测值差异较大, Oke1 最高为 0.9066, Oke9 最低为 0.3693, 平均为 0.6309。3 个大麻哈鱼种群每个基因座位等位基因的平均数目为 8.6 个。3 个大麻哈鱼种群平均观察杂合度各不相同, 乌苏里江和绥芬河的差异不大, 分别为 0.6732 和 0.6917, 而黑龙江种群为 0.5995。(表 1, 2)

表 2 3 个种群中所有位点的多态性
Tab. 2 Genetic Variation at all loci in three populations

种群 Population	平均杂合度		每个基因座位 等位基因平均数	遗传多样性 Genetic variation
	观察 Observed	期望 Expected		
乌苏里江	0.6732	0.7750	9.4	0.7082
绥芬河	0.6917	0.7115	10	0.7616
黑龙江	0.5995	0.7172	6.3	0.6511

表 3 微卫星位点实测杂合度、期望杂合度、固定系数(F_{is} 、 F_{st} 、 F_{it})
Tab. 3 Observed heterozygosity, expected heterozygosity and fixation indices(F_{is} , F_{st} , F_{it})

基因位点 Locus	杂合度		F_{is} 值	F_{st} 值	F_{it} 值
	H_o	H_e			
Oki1	0.7033	0.9103	0.2127	0.0041	0.2159
Ots2	0.5213	0.8389	0.3382	0.1041	0.4071
Ots3	0.4690	0.4882	-0.0171	0.0196	0.0028
Oke1	0.9066	0.9080	0.0201	0.0008	0.0209
Oke2	0.5244	0.8484	0.3349	0.0439	0.3641
Oke3	0.4690	0.4882	0.1031	0.0225	0.1233
Oke7	0.8194	0.8561	0.0230	0.0592	0.0808
Oke9	0.3693	0.3365	0.0032	0.0874	0.0903
Oke11	0.7969	0.5046	-0.5993	0.0042	-0.5925
Oke12	0.7305	0.8186	0.1151	0.0202	0.1329

表 4 种群等位基因差异的 Fisher's 检测概率和基因型测试的 G likelihood 检测制概率

Tab. 4 Fisher's exact test probability values of population allelic differentiation and G likelihood test probability values for genotypic differentiation

基因位点 Loci	等位基因差异(Allelic differentiation)		基因型差异(Genotypic differentiation)	
	概率值(P)	标准误($S.E$)	标准误(t)	概率值(P)
Oki1	0.0875	0.0037	0.0016	0.0250
Ots2	0.0001*	0.0001	<0.0001	<0.0001
Ots3	0.1367	0.0022	0.0018	0.0819
Oke1	0.6633	0.0070	0.0073	0.5582
Oke2	<0.0001*	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Oke3	0.3072	0.0048	0.0033	0.1689
Oke7	0.0290	0.0019	0.0002	0.0006
Oke9	0.0045*	0.0003	0.0004	0.0055
Oke11	0.2822	0.0019	0.0019	0.6076
Oke12	0.0087*	0.0008	0.0007	0.00742

* $P < 0.01$ 呈显著性差异

不同种群等位基因和基因型差异分析表明(表4):位点Ots2、Oke2、Oke9、Oke12的等位基因表现出显著性差异,表明这些位点的等位基因在不同种群之间的分布不均衡;而位点Oki1、Ots3、Oke1、Oke3、Oke11的基因型没有表现出显著性差异,表明这些位点的基因型在不同种群间是均衡分布的。每个座位的 H_o 、 H_t 值以及固定系数值(F_{is} 、 F_{it} 、 F_{st})见表3。各基因座位 F_{st} 值表明约有3.66%的遗传变异是由种群分化引起的,而96.34%则来源于个体之间的差异。

3 讨论

3.1 在本研究10个分型的微卫星位点中,有4个座位(Oke7、Ots3、Oke9、Oke3)在3个被检测的大麻哈鱼种群中均偏离哈代-温伯平衡,只有3个座位(Ots2、Oke2、Oki1)在3个大麻哈鱼种群中均符合哈代温伯平衡($P < 0.05$),其他3个座位(Oke1、Oke11、Oke12)至少有1个大麻哈鱼种群偏离哈代-温伯平衡。由于对大麻哈鱼资源利用较早,尤其是20世纪80年代,对大麻哈鱼的捕捞强度加大,水域环境的恶化,使大麻哈鱼产量持续下降。由于与环境长期适应的结果,大麻哈鱼产卵场和幼鱼生长河流环境条件的变化,导致大麻哈鱼发生的基因突变,遗传漂变,以及小种群同型交配和人工增殖放流对自然繁殖种群的影响导致了哈代-温伯平衡的偏离。

3.2 Brykov VA等在运用限制性片段长度多态性(RFLP)分析了俄罗斯境内4个大麻哈鱼种群线粒体的遗传多样性后,认为人工繁殖的大麻哈鱼种群遗传多样性最低,而自然繁殖种群的遗传多样性最高,同时小种群遗传漂变也会使种群遗传多样性偏低,这与本研究结果相似。初步说明了人工孵化放流对大麻哈鱼种群遗传多样性具有一定的影响,由于历史上乌苏里江大麻哈鱼种群数量比绥芬河要大得多^[1-4],而其遗传多样性却比绥芬河大麻哈鱼种群小,这可能和绥芬河进行人工放流时间较晚,对遗传多样性影响相对较小有关,而乌苏里江进行大麻哈鱼人工孵化放流进行时间较早,对其种群遗传多样性产生较大的影响,导致其遗传多样性偏小;此外,绥芬河水源为高山冰雪融水,水质较好,而且捕捞强度也相对较小,产卵场离入海口较近,上游支流多,这些也对于绥芬河大麻哈鱼遗传资源的保护具有一定的作用。黑龙江抚远江段大麻哈鱼种群虽然进行人工繁殖放流的时间较晚,由于近年来其种群数量一直太小^[2],难以避免近亲繁殖,此外过度捕捞

和大麻哈鱼产卵场所的破坏都在一定程度上促使大麻哈鱼遗传多样性的下降。

3.3 遗传多样性是鱼类生物多样性的重要组成部分,它是衡量生物所携带遗传信息的变异程度,而DNA是遗传信息的载体,所以DNA的变化直接反映了物种遗传变异程度。本实验利用12组微卫星引物扩增大麻哈鱼基因组,有8个微卫星座位在群体中表现出多态,而且多态性信息含量丰富:绥芬河种群为76.16%,乌苏里江种群为70.82%,黑龙江种群为65.11%,3个种群的杂合度分别0.6917、0.6732和0.5995。由于鱼类遗传多样性的大小直接反映鱼类对环境适应能力的大小,种内遗传多样性或变异越丰富,物种对环境变化的适应能力越大。大麻哈鱼遗传多态性水平较高,将有助于大麻哈鱼资源种群数量的恢复。实验结果充分说明了近年来大麻哈鱼种群数量急剧下降的原因并非大麻哈鱼种群遗传多样性贫乏。认为水域污染,捕捞强度的加大是造成大麻哈鱼种群数量下降的直接原因。黑龙江水系虽然大麻哈鱼种群数量很少,但遗传多样性均较为丰富,说明每年在这些河流放流的大麻哈鱼幼鱼数量仅占当年大麻哈鱼自然产卵种群数量的极小部分,对大麻哈鱼遗传多样性的影响不很明显。现阶段大麻哈鱼种群数量已处于历史最低水平,不同水域均维持在小的种群,为了避免遗传瓶颈的出现,改善水域环境条件和保护大麻哈鱼的产卵场,严格控制在亲鱼产卵繁殖前捕捞,应加大大麻哈鱼人工增殖放流工作,同时应扩大产卵亲鱼数量,加强对亲鱼的遗传多样性分析,选择等位基因杂合度较高的个体进行此类工作,否则大麻哈鱼遗传多样性的贫乏会加速中国大麻哈鱼资源的枯竭。

3.4 实验结果可以充分说明,微卫星标记作为遗传标记能比较客观地反映3个大麻哈鱼种群的遗传多样性,它应用于大麻哈鱼的种群遗传学研究是可行的。因此,将微卫星标记与传统的生态学研究相结合,进行大麻哈鱼种质和遗传多样性分析必将促进大麻哈鱼资源的保护、合理开发利用和科学的进行资源管理。

参考文献:

- [1] Dong C Z, Li G G. A preliminary study on the population structures of salmonoids migration in Suifen River[J], *Journal of Fisheries of China*. 1989, 13(2): 124—132[董崇智, 李根钢. 绥芬河大麻哈鱼类溯河群体结构的初步研究. 水产学报. 1989, 13(2): 124—132]
- [2] Han Y, Wang Y S. A study on the resources of Chum salmon

- (*Oncorhynchus keta* Walbaum) in Heilongjiang River [J], *Chinese Journal of Fisheries*. 2002, 15(1): 24—34[韩英 王云山. 黑龙江流域大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta* Walbaum)资源现状研究. 水产学杂志. 2002, 15(1): 24—34]
- [3] Dong C Z, Wang J. Migration Population structure of Chum salmon (*Oncorhynchus keta* Walbaum) [J], *Journal of Fishery Sciences of China*, 1999, 6(3): 5—9[董崇智 王金. 乌苏里江大麻哈鱼的溯河生殖群体结构. 中国水产科学. 1999, 6(3): 5—9]
- [4] Dong C Z, Zhang JM. A preliminary study on the population ecology of salmonoids migration in Suifen River[J], *Marine Sciences of China*, 1993, (3): 59—63[董崇智 张觉民. 绥芬河大麻哈鱼类种群生态的初步研究. 海洋科学. 1993, (3): 59—63]
- [5] Efremov V V. . Genetic variability and differentiation of populations of chum salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum) from the southern Russian Far East[J], *Genetika*, 2001, 37(3): 365—372
- [6] Brykov V A, Poliakova N E, Prokhorova A V. . Phylogenetic and geographic analysis of chum salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum) in Asian populations based on mitochondrial DNA variation[J]. *Genetika*, 2003, 39(1): 75—82
- [7] O'Connell M, Wright JM, Microsatellite DNA in fishes[J], *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1997, (7): 331—363
- [8] Zhang W J, Yu Y H, Shen Y F. Advances on genetic analysis of microsatellite DNA in protozoology [J], *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(2): 185—190[张文静 余育和沈韫芬. 微卫星 DNA 遗传分析在原生动物学中的研究进展. 水生生物学报. 2003, 27(2): 185—190]
- [9] Buchholz W G, Miller S J, Spearman W J. . Isolation and characterization of chum salmon microsatellite loci and use across species[J], *Animal Genetics*, 2001, 32(3): 162—165
- [10] Olsen J B, Werburg J K, Bentzen P. Semiautomated multilocus genotyping of Pacific salmon(*Oncorhynchus spp.*) using microsatellites[J], *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1996, 5(4): 259—272
- [11] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J], *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1979, 76: 5269—5273
- [12] Raymond M, Rousset F. Genepop (version1. 2): population genetics software for exact tests and ecumenicism[J], *Journal of Heredity*, 1995 (86): 248—249

GENETIC VARIATION ANALYSIS OF CHUM SALMON POPULATIONS IN HEILONGJIANG RIVER BASED ON MICROSATELLITE MARKERS

CHEN JirPing^{1,2}, DONG ChongZhi³, SUN DaJiang^{2,3}, WANG Zhe¹ and ZHANG ShuYi¹

(1. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080; 2. Engineering and Technology Center of Sturgeon Breeding and Cultivation, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100089; 3. Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150080)

Abstract: The chum salmon populations in China have declined rapidly in recent years, but the genetic variation of chum salmon populations has not been evaluated to manage and restore their populations. In this study we examined 12 microsatellite loci to characterize the level of differentiation and to assess the genetic structure among chum salmon populations across 3 different rivers (Wusuli River, Heilongjiang River and Suifen River) in China. Genetic heterozygosity and genetic variation per population were calculated and showed that mean genetic heterozygosity of three different populations were 0. 6732, 0. 5995, 0. 6917 respectively, and genetic variation were 0. 7082, 0. 6511 and 0. 7616 respectively. Average genetic variation proportion of inter-population subdivisions among chum salmon was 3. 66%. The results of this study showed that the recent decline in chum salmon has not lead to low levels of genetic variability, and supported that the genetic variation of chum salmon in China was still abundant which is helpful to restore the chum salmon resource. The results also explained it's not genetic background that led the chum salmon resource to keeping in a poor state now, but over-harvest and water pollution and so on. Artificial propagation has played an important part in keeping the chum salmon resource, but nowadays little population number is apt to leading to genetic bottleneck worthy of consideration for us.

Key words:Chum salmon; Microsatellite; Genetic variation