

DOI: 10.1360/yc-006-1541

# 微卫星 DNA 标记探讨镜鲤的种群结构与遗传变异

全迎春<sup>1,2</sup>, 李大宇<sup>1,3</sup>, 曹鼎辰<sup>1</sup>, 孙效文<sup>1</sup>, 梁利群<sup>1</sup>

(1. 黑龙江水产研究所北方鱼类生物工程育种重点开放实验室, 哈尔滨 150070; 2. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090; 3. 大连水产学院生命科学与技术学院, 大连 116023)

**摘要:** 采用 30 个微卫星分子标记, 对 5 个镜鲤群体的观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、多态信息含量( $PIC$ )和有效等位基因数( $A_e$ )等进行了遗传检测, 根据基因频率计算遗传相似系数和 Nei 氏标准遗传距离, 以  $\chi^2$  检验估计 Hardy-Weinberg 平衡, 以近交系数( $F_{ST}$ )和基因流( $N_m$ )分析群体的遗传分化。同时, 使用 PHYLIP3.63 软件绘制基于 Nei 氏标准遗传距离的 UPGMA 聚类图, 并进行 bootstrap 自举检验验证进化树的可靠性。在德国镜鲤选育系 (*Scattered Cyprinus carpio* L.) 和来自 4 个不同养殖场(松浦、东岗、奉城和辽中)的德国镜鲤群体中共检测到 7 083 个扩增片段, 长度在 102 ~ 446 bp 之间, 在群体内扩增出等位基因 1~16 个不等, 共计 356 个等位基因。结果表明: (1) 5 个群体检测的有效等位基因数在 1.07~12.30 个不等, 平均多态信息含量为 0.74、0.74、0.69、0.75 和 0.75, 无偏期望杂合度的平均值为 0.74、0.78、0.70、0.76 和 0.78, 说明这几个群体属于高度多态, 遗传多样性水平较高。(2) 群体间相似系数在 0.52 以上, 相似性较高。聚类分析显示, 东岗、奉城和辽中 3 个养殖场的德国镜鲤群体聚类成一个分支, 而德国镜鲤选育系与松浦群体聚类成另一分支。聚类的先后与它们在地理分布上距离远近有一定的相关性。(3) 在与功能基因相关的多个微卫星基因座位上, 扩增产物呈现不同程度的缺失现象, 这些无效等位基因的产生可能与结构基因在育种中受到人工选择的影响较大有关。

**关键词:** 微卫星; 群体多样性; 镜鲤; 分子标记

中图分类号: Q953 文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2006)12-1541-08

## Population Genetic Variation and Structure Analysis on Five Populations of Mirror Carp *Cyprinus carpio* L. Using Microsatellites

QUAN Ying-Chun<sup>1,2</sup>, LI Da-Yu<sup>1,3</sup>, CAO Ding-Chen<sup>1</sup>, SUN Xiao-Wen<sup>1</sup>, LIANG Li-Qun<sup>1</sup>

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

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

3. College of Aqua-life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 1160023, China)

**Abstract:** In this paper, population genetic variability and genetic structure of five populations of an important cultivation species, mirror carp (*Cyprinus carpio* L.) were analyzed using 30 microsatellite loci. The observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosity values, polymorphic information content ( $PIC$ ) and number of effective alleles ( $A_e$ ) were all determined. The genetic similarity coefficient and Nei's standard genetic distance were computed based on the allele frequencies. The Hardy-Weinberg equilibrium was checked by  $\chi^2$  test. Genetic differentiation and hierarchical partition of genetic

收稿日期: 2006-03-22; 修回日期: 2006-04-10

基金项目: 国家重大基础研究计划资助项目(编号: 2004CB117405)资助[Supported by Key Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development (No. 2004CB117405)]

作者简介: 全迎春(1981—), 女, 湖北人, 硕士研究生, 专业方向: 水产动物遗传与育种。E-mail: [quan\\_928@163.com](mailto:quan_928@163.com)通讯作者: 孙效文(1955—), 男, 吉林人, 研究员, 博士生导师, 从事水产动物基因工程育种研究。Tel: 0451-84862646; E-mail: [sunxw2002@163.com](mailto:sunxw2002@163.com)

致谢: 本研究镜鲤样品由石连玉研究员提供, 并得到了鲁翠云、朱晓东与李勇的帮助, 在此一并表示感谢。

diversity were evaluated by  $F_{ST}$  and  $N_m$ . A dendrogram was constructed based on UPGMA methods using PHYLIP software package supported by a bootstrap value of 91.0%. Totally 7 083 fragments were procured. Their lengths were from 102 bp to 446 bp. For each locus, 1–16 alleles were amplified, adding up to 356 alleles in all the 5 populations. We found the genetic variability level was relatively high in all five populations, as shown by  $A_e = 1.07–2.30$ ,  $H_e = 0.70–0.78$  and  $PI_C = 0.69–0.75$ , respectively. The genetic similarity coefficients were all above 0.52, indicating their close genetic relationships. The UPGMA phylogenetic tree showed mirror carps sampled from Donggang, Fengcheng and Liaozhong were clustered into one group and the other two populations, both collected from Songpu, were grouped together. There were obvious relations between genetic distances and geographical distributions of the five populations. No fragments were amplified from some loci of EST-SSRs, which may suggest the loss of these loci in mirror carp genome or sequence divergence at the primer binding sites. These null alleles may result from selection because functional genes are under more selection pressure than non-encoding loci. Overall, population genetic variation is high for each of the five mirror carp, and the differentiations are also significant among populations.

**Key words:** microsatellite; population variety; genetic structure; mirror carp

鲤鱼是我国境内分布范围最广的重要淡水经济鱼类之一。其养殖历史悠久, 养殖产量在水产养殖业中占相当大的比重, 因此鲤鱼丰富的遗传学资源的研究和保护显得尤为重要。散鳞镜鲤是由欧洲野鲤中选育出来的, 德国镜鲤(*Cyprinus carpio* L.)是散鳞镜鲤的变种经人工选育成高度驯化和生长快的养殖品种, 是德国等欧洲国家池塘的主养品种。80 年代引入我国, 经过黑龙江水产研究所 20 多年的系统选育, 培育出抗寒、抗病, 适于我国大部分地区养殖的德国镜鲤选育系。镜鲤生长速度快, 肉质好, 有一定的出口创汇能力, 是近年来池塘养殖鲤的主要更新换代品种, 现已成为东北地区主要的鲤鱼养殖品种之一。但随着养殖面的扩大, 发病率增加, 性成熟个体变小等衰退现象的出现, 镜鲤良种和养殖群体的遗传变异研究, 将有利于抑制养殖群体的遗传退化, 有利于这一优异种质资源的开发、利用与保护。

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>[1]</sup>, 在鲤鱼的遗传与育种方面有广阔的应用空间。国内外已有一些相关报道, 如制备鲤微卫星分子标记<sup>[2-5]</sup>, 建立遗传连锁图谱<sup>[6]</sup>, 并定位抗寒有关标记<sup>[7]</sup>, 微卫星在鲤鱼群体遗传上的研究报道也很多<sup>[2,5,8-11]</sup>, 但迄今鲜见有关遗传标记分析镜鲤种群遗传变异的研究报道。本文针对这一情况, 选取了 30 个微卫星标记进行 5 个镜鲤群体遗传多样性的分析, 检测其遗传多样性参数, 为镜鲤种群的遗传结构特征、选育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

#### 1.1.1 实验用鱼

实验所用德国镜鲤选育系(DJ, 30 尾)与松浦群体(SJ, 30 尾)采自黑龙江水产研究所松浦实验站(黑龙江省哈尔滨市); 其余德国镜鲤群体采自 3 个不同地区的养殖场, 分别为辽宁省东岗县(DG, 25 尾)、辽宁省奉城县(FC, 34 尾)和辽宁省辽中县(LZ, 32 尾)。所有镜鲤样本均为随机取样。

#### 1.1.2 引物与试剂

本研究共使用 30 个微卫星DNA标记。其中选用 12 对斑马鱼EST-SSR引物(以HLJZ标识), 其序列信息见文献<sup>[12]</sup>。12 对来自磁珠富集法获得的鲤鱼微卫星序列, (以HLJ标识)其序列信息见文献<sup>[12]</sup>; 6 对 EST-SSR引自文献<sup>[5]</sup>(以Cca标识)。所有引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成, 生化试剂均购自美国Promega公司, 分子量标准为宝生物工程(大连)有限公司的DL 2000, 其他试剂为国产分析纯。

#### 1.1.3 仪器

PCR 反应所用 DNA 扩增仪为美国 PE 公司 Gene Amp PCR System 9700; 离心机为美国 BECKMAN 公司的 GS-15R 型超速冷冻离心机; 电泳采用北京六一仪器厂 DYY-III 型电泳仪槽, 美国 Bio-Rad 公司 164-5070 电泳仪; 凝胶成像系统为美国 UVP 公司的 GDS 8000 凝胶成像仪。

## 1.2 方法

### 1.2.1 基因组 DNA 的提取和纯化

剪取新鲜的尾鳍条, 酚氯仿法抽提基因组 DNA 并纯化, 具体步骤参考文献[13]。

### 1.2.2 PCR 反应程序

PCR 扩增反应总体积为 25  $\mu$ L, 成分参考文献[13]。PCR 反应程序: 预变性 94 $^{\circ}$ C, 3 min; PCR 循环程序为变性 94 $^{\circ}$ C, 30 s; 复性 50 $^{\circ}$ C~56 $^{\circ}$ C, 30 s; 延伸 72 $^{\circ}$ C, 30 s; 总计 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

### 1.2.3 扩增产物检测

PCR 扩增反应产物采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 5 V/cm 电泳 2 h 左右, Gold View 染色, 紫外检测记录电泳结果, Gel works 软件包(3.0 版本)分析每个扩增条带的分子量与产物量的差异性。

### 1.2.4 数据分析

微卫星属共显性遗传, 可从琼脂糖电泳图上直接判断出个体的基因型。使用 PopGene (Version 3.2) 软件统计微卫星基因座的等位基因频率 (Allele Frequency,  $P$ )、等位基因数 (Observed number of alleles,  $A$ )、有效等位基因数 (Effective number of alleles,  $A_e$ )、观测杂合度 (Observed heterozygosity,  $H_o$ )、期望杂合度 (Expected heterozygosity,  $H_e$ )、遗传相似系数 (Genetic similarity index,  $I$ )、群体间遗传距离 (Genetic Distance,  $D_s$ )。多态信息含量 (Polymorphism Information Content,  $PIC$ ), 根据 Botstein 等[14] 公式计算:  $PIC = 1 - (\sum_{i=1}^n P_i^2) - (\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2)$  式中  $P_i$ 、 $P_j$  分别为群体中第  $i$  和第  $j$  个等位基因频率,  $n$  为某一基因座上等位基因数。

Genepop (Version 3.4) 软件进行基因座间连锁不平衡分析,  $\chi^2$  检验估计群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离。群体间近交系数 ( $F_{ST}$ ) 和基因流 ( $N_m$ ) 等遗传分化指标由 PopGene 给出。

用 PHYLIP v3.6 软件包 (Phylogeny Inference Package) gendist 程序计算 Nei 氏遗传距离, 再以 UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means, 类平均法) 算法进行聚类分析。利用 1 000 次 bootstrap 抽样检验所得聚类图的可靠性。用 TreeView (Win32) 软件读取所生成的系统发生树。

## 2 结果

### 2.1 PCR 扩增结果

30 对微卫星分子标记, 分别能在至少一个群体扩增出多态性条带。斑马鱼 EST-SSR 基因座 HLJZ09、HLJZ12、HLJZ13 和 HLJZ16, 鲤鱼 EST-SSR 基因座 Cca09、Cca12、Cca13、Cca14、Cca15、Cca16 和 Cca80 在几个群体中均有不同程度的条带缺失 (表 1)。这些分子标记在 5 个镜鲤群体中共检测到 7 083 个扩增片段, 长度在 102~446 bp 之间, 每个基因基因座的等位基因数为 1~16 不等, 平均等位基因 7.94 个。部分琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。

### 2.2 连锁分析

30 个基因座在 5 个镜鲤群体中, 检测到的多态基因座数依次为 28、20、20、29 和 28 个; 计算各个多态基因座在相应群体中的两两配对的基因型不平衡值 (genotypic disequilibrium value), 除基因座 Cca07 与 Cca09, HLJ019、HLJ041 与 Cca16, HLJ129 与 Cca16, HLJZ15 与 Cca15, Cca13 与 Cca80 可能存在一定程度的连锁 ( $P < 0.05$ ), 其余基因座间连锁关系不显著。所用的斑马鱼微卫星基因座, 在斑马鱼的基因组中位于不同染色体上, 连锁分析的结果与之相符。

### 2.3 群体遗传多样性分析

在 5 个镜鲤群体中, 利用 30 个微卫星 DNA 标记检测到有效等位基因数在 1.07~12.30 之间, 各个群体中平均值依次为 4.75、5.72、4.78、5.33 和 5.62; 无偏期望杂合度在 0.06~0.92 之间, 平均值为 0.74、0.78、0.70、0.76 和 0.78; 平均多态信息含量在 0.06~0.92 之间, 平均值为 0.74、0.74、0.69、0.75 和 0.75, 说明这几个群体属于高度多态, 遗传多样性水平高。部分统计数据见表 1。几种统计参数在 5 个群体间具有一定的差异, 但方差分析发现并未达到显著水平 ( $P > 0.05$ , 结果未列出)。

### 2.4 群体 Hardy-Weinberg 平衡检验

用基于马尔可夫链模型 (Markov chain method) 的 Hardy-Weinberg 检验精确  $P$  值的无偏估测对各群体的多基因座检测 (multi-locus test) 发现, DJ、SJ、DG、FC 和 LZ 5 个镜鲤群体都处于遗传平衡状态; 对各基因座进行的多群体检测 (multi-group test) 发现, 镜鲤种群处于遗传平衡状态的; 但单群体单基因座检测

表 1 5 个镜鲤群体在 30 个微卫星基因座的多样性指数  
Table 1 The genetic diversity indices of 30 microsatellite loci for five mirror carp populations

基因座 Locus	DG				FC				LZ				DJ				SJ			
	$A_e$	$H_o$	$H_e$	PIC	$A_e$	$H_o$	$H_e$	PIC	$A_e$	$H_o$	$H_e$	PIC	$A_e$	$H_o$	$H_e$	PIC	$A_e$	$H_o$	$H_e$	PIC
HLJ019	8.01	0.72	0.88	0.87	8.93	0.85	0.89	0.89	6.80	0.81	0.85	0.85	6.04	1.00	0.83	0.83	6.36	0.90	0.84	0.84
HLJ030	4.63	0.12	0.78	0.78	6.78	0.41	0.85	0.85	4.03	0.00	0.75	0.75	5.71	0.23	0.83	0.81	3.56	0.23	0.72	0.72
HLJ037	7.62	0.48	0.87	0.87	8.47	0.32	0.88	0.88	4.75	0.03	0.79	0.79	7.32	0.07	0.86	0.86	7.79	0.20	0.87	0.80
HLJ038	9.19	0.24	0.89	0.89	12.3	0.50	0.92	0.92	11.1	0.38	0.91	0.91	11.3	0.33	0.91	0.91	7.73	0.20	0.87	0.84
HLJ041	2.65	0.32	0.62	0.61	4.71	0.32	0.79	0.77	2.63	0.06	0.62	0.57	4.65	0.07	0.79	0.77	6.45	0.30	0.85	0.84
HLJ044	6.54	0.12	0.85	0.84	8.79	0.56	0.89	0.88	8.33	0.66	0.88	0.88	3.36	0.00	0.70	0.66	5.84	0.27	0.83	0.82
HLJ046	3.50	0.44	0.71	0.69	5.72	0.47	0.83	0.81	5.55	0.41	0.82	0.81	2.47	0.37	0.59	0.58	7.17	0.83	0.86	0.85
HLJ058	4.24	0.40	0.76	0.76	5.68	0.68	0.82	0.82	9.44	0.63	0.89	0.89	6.25	0.97	0.84	0.84	6.69	0.97	0.85	0.85
HLJ076	2.20	0.20	0.55	0.48	3.33	0.26	0.70	0.68	5.15	0.34	0.81	0.79	5.77	0.90	0.83	0.82	7.23	0.87	0.86	0.86
HLJ129	7.91	0.32	0.87	0.87	6.07	0.65	0.84	0.83	7.04	0.16	0.86	0.85	6.19	0.57	0.84	0.83	6.90	0.60	0.86	0.85
HLJ133	7.31	0.76	0.86	0.86	5.68	0.53	0.82	0.82	3.26	0.31	0.69	0.68	8.45	0.63	0.88	0.88	7.32	0.80	0.86	0.86
HLJ163	6.31	0.76	0.84	0.83	7.76	0.62	0.87	0.87	4.67	0.13	0.79	0.78	6.32	0.53	0.84	0.83	6.02	0.83	0.83	0.83
HLJ190	4.77	0.32	0.79	0.79	4.39	0.21	0.77	0.75	4.59	0.53	0.78	0.78	6.23	0.47	0.84	0.83	8.04	0.47	0.88	0.87
HLJZ01	2.53	0.00	0.60	0.53	3.42	0.00	0.71	0.67	3.14	0.03	0.68	0.67	3.22	0.03	0.69	0.64	2.60	0.03	0.62	0.54
HLJZ02	2.23	0.12	0.55	0.82	5.85	0.24	0.83	0.23	1.30	0.00	0.23	0.22	6.29	0.20	0.84	0.84	6.47	0.10	0.85	0.44
HLJZ04	2.32	0.00	0.57	0.48	1.87	0.00	0.47	0.43	2.47	0.00	0.60	0.56	2.09	0.00	0.52	0.47	4.13	0.00	0.76	0.73
HLJZ09	2.62	0.16	0.62	0.62	2.08	0.03	0.52	0.52	1.62	0.00	0.38	0.38								
HLJZ12	3.02	0.00	0.67	0.63									1.07	0.00	0.06	0.06				
HLJZ13	—	—	—	—									4.59	0.00	0.78	0.78	7.09	0.57	0.86	0.85
HLJZ15	2.78	0.00	0.64	0.63	2.27	0.00	0.56	0.56	1.14	0.00	0.12	0.12	3.00	0.00	0.67	0.61	2.65	0.00	0.62	0.59
HLJZ16													2.56	0.20	0.61	0.61	3.36	0.40	0.70	0.69
HLJZ23	6.83	0.04	0.85	0.85	6.51	0.03	0.85	0.84	5.58	0.03	0.82	0.81	7.96	0.27	0.87	0.87	3.57	0.00	0.72	0.72
Cca07	4.39	0.80	0.77	0.77	3.81	0.50	0.74	0.73	2.96	0.38	0.66	0.66	6.00	0.53	0.83	0.83	4.19	0.57	0.76	0.74
Cca09	6.54	0.80	0.85	0.84									6.43	0.87	0.84	0.84	9.23	0.70	0.89	0.89
Cca12	4.94	0.40	0.80	0.79									5.59	0.60	0.82	0.81	5.63	0.60	0.82	0.82
Cca13	2.68	0.20	0.63	0.60									3.05	0.57	0.67	0.67	4.22	0.73	0.76	0.76
Cca14	3.67	0.48	0.73	0.73									4.69	0.53	0.79	0.78	1.07	0.03	0.07	0.06
Cca15	5.36	0.88	0.81	0.81									6.45	0.97	0.85	0.84	5.57	0.93	0.82	0.81
Cca16	2.07	0.12	0.52	0.52									7.53	0.93	0.87	0.86	6.41	0.27	0.84	0.84
Cca80	6.07	0.84	0.84	0.83									4.06	0.93	0.75	0.74	4.20	0.97	0.76	0.74

(HW test for each locus in each population)发现, DJ 群体在 HLJ019 基因座( $P=0.004$ )表现出极显著的不平衡, 在 HLJ058 基因座( $P=0.033$ )表现出显著的不平衡, 其余 4 个养殖群体在各个基因座均处于遗传平衡状态( $P>0.05$ , 表 2)。

## 2.5 群体间遗传分化分析结果

由配子间相关系数或称近交系数( $F_{ST}$ )与基因流( $N_m$ )分析这几个群体间的遗传分化情况, 发现镜鲤种群除了 HLJ019、HLJ038 与 HLJ044 等 3 个基因座

近交系数小于 0.05, 其余均大于种群间无遗传分化的标准( $F_{ST} = 0\sim 0.05$ )<sup>[15]</sup>, 各基因座的近交系数的均值为 0.2024, 基因流的均值为 2.3227, 基因流可能是群体间遗传分化的主要因素。

## 2.6 聚类分析结果

根据 5 个群体在 19 个基因座(去除存在条带缺失的基因座)的等位基因频率, 进行聚类分析表明, FC 与 LZ 两个群体的遗传相似度最高, 相似系数为 0.873(遗传距离 $D_s=0.136$ ); DJ 与 LZ 两个群体的遗传

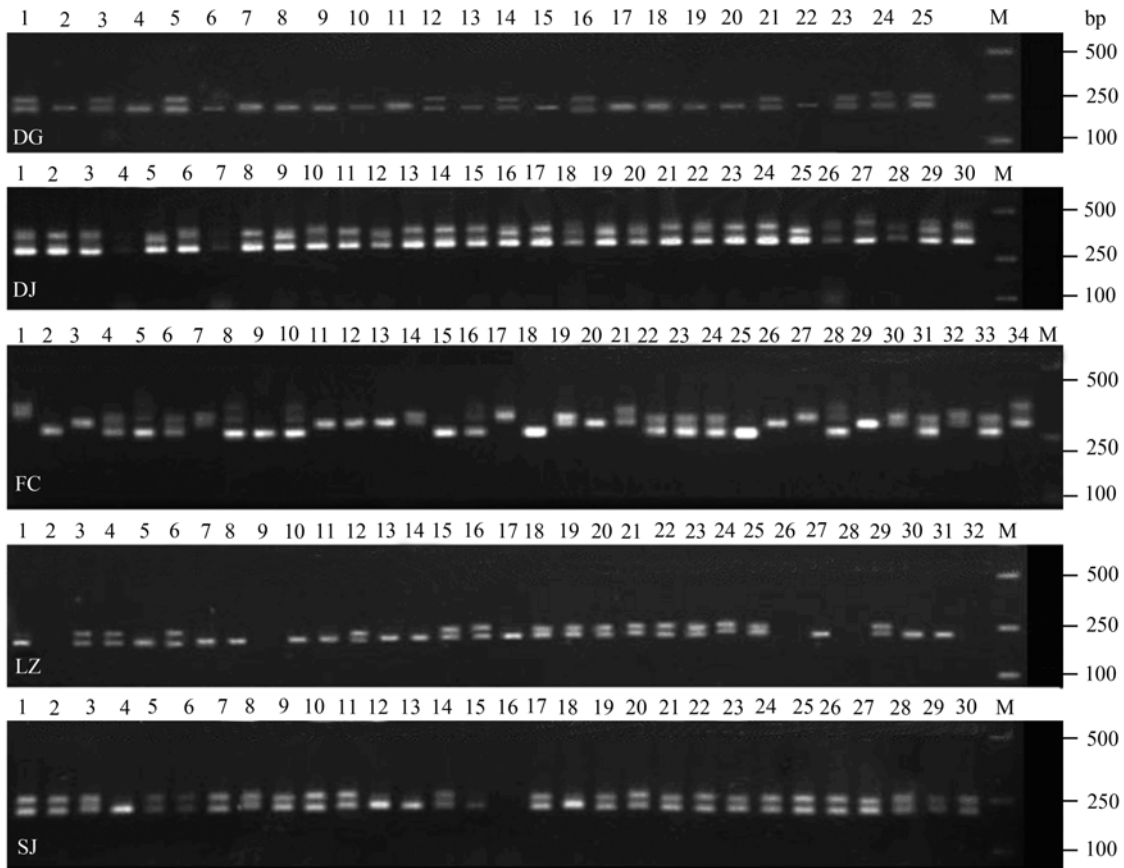


图 1 镜鲤种群在 HLJ046 基因座的遗传差异

DG: 东岗群体; DJ: 德国镜鲤选育系; FC: 奉城群体; LZ: 辽中群体; SJ: 松浦镜鲤群体; M: 分子量标准 DL 2000。

Fig. 1 The genetic variation of HLJ046 among five mirror carp populations

DG: Indicates the population sampled from Donggang; DJ: German mirror carp selected line; FC: Fengcheng mirror carp population; LZ: Liaozhong mirror carp population; SJ: Songpu mirror carp population; M: Standard base pair ladder, DL 2000.

相似度最低, 相似系数仅为 0.516( $D_s=0.661$ ), 几个种群的平均遗传相似度为 0.632( $D_s=0.472$ )。

用 TreeView 转换的 UPGMA 聚类图显示(图 2), DG、FC 与 LZ3 个群体聚类在一起, 而 DJ 与 SJ2 个群体聚类在一起。经 1 000 次 bootstrap 重抽样检验系统树的可靠性, 发现各分支的 bootstrap 值在 910~1 000 之间, 该系统树可靠性极高。

### 3 讨论

#### 3.1 微卫星基因座的保守性及特异性分析

所用微卫星引物曾在黑龙江鲤、散鳞镜鲤、荷包红鲤抗寒品系和松浦鲤中检测出特异产物, 在镜鲤种群中大多亦可扩增出特异产物, 说明这些基因座在鲤鱼种间具有较高的保守性。斑马鱼与鲤鱼同科, 其 EST-SSR 引物 HLJZ01~HLJZ23 在镜鲤群体中

也能得到相应的产物, 说明微卫星基因座具有一定的保守性。

本研究中基因座 HLJZ09、HLJZ12、HLJZ13 等在不同群体的扩增情况差异较大, 如: 基因座 HLJZ09 在 DJ 和 SJ 两个群体中没有扩增产物, 可作为群体间的特异性标记, 用来与另外 3 个群体相区分。这些群体特异性基因座, 对于这几个群体的鉴定及相关研究有重要的应用价值。

#### 3.2 镜鲤种群的遗传多样性水平分析

最大限度地维持种内遗传多样性水平, 是持续利用种质资源的前提和基础。 $N_e$ 、 $H_o$  和  $H_e$  等都是反映群体遗传多样性的度量, 其数值越大, 说明基因丰富度越高。从研究结果来看, 镜鲤多样性水平较高,  $H_e=0.63$ ,  $A=7.94$ 。Bártfai 等<sup>[16]</sup>报道匈牙利鲤鱼, Attala 群体  $A=9$ ,  $H_e=0.83$ ; Dinnyes 群体  $A=9.5$ ,  $H_e=0.81$ ,

表 2 镜鲤种群遗传平衡分析  
Table 2 Genotypic equilibrium analysis of mirror carp populations

基因座 Locus	群体 Group					多群体 Multi-group
	DG	FC	LZ	DJ	SJ	
HLJ019	0.960	0.956	0.972	0.004**	0.845	0.991
HLJ030	1	1	1	1	1	1
HLJ037	1	1	1	1	1	1
HLJ038	1	1	1	1	1	1
HLJ041	0.999	1	1	1	1	1
HLJ044	1	1	0.999	1	1	1
HLJ046	0.999	1	1	0.997	0.509	1
HLJ058	1	0.823	1	0.033*	0.717	1
HLJ076	0.993	1	1	0.389	0.515	1
HLJ129	1	0.993	1	0.997	1	1
HLJ133	0.835	1	1	1	0.960	1
HLJ163	0.900	1	1	1	0.938	1
HLJ190	1	1	0.981	1	1	1
HLJZ01	1	1	1	1	1	1
HLJZ02	1	1	1	1	1	1
HLJZ04	1	1	1	1	1	1
HLJZ09	1	1	1	—	—	1
HLJZ12	1	—	—	1	—	1
HLJZ13	—	—	—	1	1	1
HLJZ15	1	1	1	1	1	1
HLJZ16	—	—	—	1	1	1
HLJZ23	1	1	1	1	1	1
Cca07	0.906	0.917	0.980	0.998	0.996	1
Cca09	0.923	—	—	0.763	0.978	1
Cca12	0.996	—	—	1	0.999	1
Cca13	1	—	—	0.998	0.993	1
Cca14	0.927	—	—	0.999	1	0.999
Cca15	0.611	—	—	0.651	0.778	0.745
Cca16	1	—	—	0.843	1	1
Cca80	0.802	—	—	0.614	0.618	0.770
多基因座 Multi-locus	1	1	1	1	1	1

—: 该基因座等位基因缺失。\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ 。

—: There is null allele at this locus. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

表 3 五个镜鲤群体间 Nei 氏标准遗传距离(左下)与遗传相似系数(右上)  
Table 3 Nei's standard genetic distance (below the diagonal) and genetic similarity coefficient (above the diagonal) among five mirror carp populations

	DG	FC	LZ	DJ	SJ
DG	—	0.715	0.674	0.652	0.599
FC	0.335	—	0.873	0.563	0.539
LZ	0.395	0.136	—	0.516	0.524
DJ	0.427	0.574	0.661	—	0.664
SJ	0.512	0.618	0.647	0.410	—

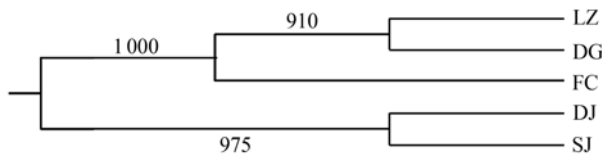


图2 5个鲤鱼群体的UPGMA聚类分析

分支上的数值代表数据经1000次bootstrap抽样检验的重复百分比; DG表示东岗群体; DJ表示德国镜鲤选育系; FC表示奉城群体; LZ表示辽中群体; SJ表示松浦镜鲤群体。

**Fig. 2 UPGMA cluster analysis of five mirror carp populations**

Numbers on the branches are the percent occurrence in 1000 bootstrap replicates using UPGMA method. DG: Donggang mirror carp population; DJ: German mirror carp selected line; FC: Fengcheng mirror carp population; LZ: Liaozhong mirror carp population; SJ: Songpu mirror carp population.

与之相比,本次实验得出的多态性并不算高。但比David等<sup>[17]</sup>应用47个SSR标记研究观赏鲤鱼与普通鲤鱼种间差异时,报道的 $H_e=0.442$ ,  $A=4.02$ 却要高很多。与De Woody等<sup>[18]</sup>统计了78个物种的524个微卫星近40000个个体数据后,得出淡水鱼类 $H_e=0.46$ ,  $A=7.5$ 相比,镜鲤种群的 $H_e$ 和 $A$ 略偏高。由此可知,镜鲤种群的遗传多样性处于较高水平。

为了更好的维持镜鲤群体的遗传多样性水平,我们应该保证天然水域或者养殖池塘的镜鲤种群大小在最小有效群体数目之上。Taniguchi<sup>[19]</sup>指出对于大多数所研究的鱼类来说, $N_e=50$ 是最小的群体大小。 $N_e$ 与 $H_e$ 或者 $A_e$ 有关:  $N_e=(H_e/(1-H_e))/4\mu$ <sup>[20]</sup>,其中 $\mu$ 为微卫星的突变率,在这里取近似地参考值 $\mu=4\times 10^{-4}$ <sup>[21]</sup>。据此可推算出,德国镜鲤选育系的 $N_e=1985$ ,5个镜鲤群体有效群体大小的均值为1917。通常镜鲤的养殖群体并未达到我们研究得出的有效群体大小,小种群极易受遗传漂变而造成基因的丧失和固定,今后我们在进行镜鲤种群种质资源保护和遗传育种研究时,应该考虑维持其遗传多样性水平所需的有效群体数目。

### 3.3 五个群体的亲缘关系与遗传分化

5个镜鲤群体之间遗传相似系数 $I=0.516\sim 0.873$ (遗传距离 $D_s=0.136\sim 0.661$ ),低于种内不同群体间的遗传相似性水平(同种群体内 $I=0.8\sim 0.97$ ,遗传距离 $D_s=0.03\sim 0.2$ )<sup>[22]</sup>。比邹曙明等<sup>[23]</sup>报道的德国镜鲤、荷包红鲤、黑龙江鲤和柏氏鲤的种间水平的遗传距离( $D_s=0.094\sim 0.429$ )大,亦比常玉梅等<sup>[24]</sup>报道的江西三红与黑龙江鲤的种间水平的遗传距离

( $D_s=0.17\sim 0.23$ )大。同一物种的不同地理或养殖群体间的遗传相似性应该很高,但我们研究的5个镜鲤群体间遗传相似性水平却相对过低,这一方面可能是由于实验操作与统计方法的差异,另一方面很可能是系统选育对遗传特性的影响。

聚类先后顺序反映了种群间亲缘关系的远近。FC与LZ两个群体的遗传相似性最高,亲缘关系最近;DJ与LZ两个群体的遗传相似性最低,亲缘关系最远。几个养殖种群聚类为两个可靠性极高的分支:DG、FC与LZ3个群体聚为一个分支,DJ与SJ二个群体聚为一个分支,这与它们在地理上的分布距离的远近具有显著的相关性。生境、地理隔离、种群瓶颈、基因流、选择等因素对种群遗传结构的影响是很大的,遗传变异是适应未来的变化环境所必需的,对广布种的种群遗传研究常可以发现种群的遗传隔离和潜在的种的分化。镜鲤群体间遗传分化很大,各基因座的近交系数的均值为0.202,远大于群体间无分化的尺度<sup>[15]</sup>;群体间基因流的均值为2.323,基因流大于1时,就可以阻止由遗传漂变而引起的种群间的分化,基因流是群体间遗传分化的主要因素<sup>[25]</sup>,异质环境导致了镜鲤种群遗传结构的改变。但Ehrlich和Raven<sup>[26]</sup>认为有些种群虽然有基因流存在且有明显分化,但有时基因流可能是种群相对不分化的重要因素,在大多数情况下,选择才是进化中联结和中断的主要力量。镜鲤经过了多年的人工选育,种群间存在的大量基因流可能与维持镜鲤相对稳定有关,人工选择是比基因流更大的进化和遗传变异的驱动力。

### 3.4 微卫星遗传标记在鲤科鱼类的遗传与育种研究中的应用前景

种群间存在繁殖隔离,加上生境差异,且扩散不易,则会导致新物种形成。也正是鲤鱼的广泛分布,生境差异及人工选择等原因才会使其形成如此众多的品种(系)与地理种群。鲤科为现生鱼类中最大的科,拥有210属2100种<sup>[27]</sup>,除一些疑似种外,在我国目前共有122属600多种和亚种,其数量巨大且分布范围广泛。开发在鲤鱼上有利用价值的遗传标记,能促进鲤鱼的分子遗传学研究。

### 参考文献(References):

- [1] LUO Wen-Yong, HU Jun, LI Xiao-Fang. The evolution and

- application of microsatellites. *Hereditas*(Beijing), 2003, 25(5): 615~619.
- 罗文永, 胡 骏, 李晓方. 微卫星序列及其应用. *遗传*, 2003, 25(5): 615~619.
- [2] Aliah R S, Takagi M, Dong S, Teoh C T, Taniguchi N. Isolation and inheritance of microsatellite markers in the common carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science*, 1999, 65(2): 235~239.
- [3] WEI Dong-Wang, LOU Yun-Dong, SUN Xiao-Wen, SHEN Jun-Bao. Isolation of microsatellite markers in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Zoological Research*, 2001, 22(3): 238~241.
- 魏东旺, 楼允东, 孙效文, 沈俊宝. 鲤鱼微卫星分子标记的筛选. *动物学研究*, 2001, 22(3): 238~241.
- [4] Crooijmans R P M A, Poel J J, Groenen M A M, Bierbooms V A F, Komen J. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal Genetics*, 1997, 28: 129~134. [\[DOI\]](#)
- [5] 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. [\[DOI\]](#)
- [6] 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. [\[DOI\]](#)
- [7] LIANG Li-Qun, SUN Xiao-Wen. Mapping cold tolerance strain on genetic linkage map of common carp. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2003, 18(4): 278~281.
- 梁利群, 孙效文. 鲤耐寒性状分子标记在遗传连锁图上的定位. *大连水产学院学报*, 2003, 18(4): 278~281.
- [8] 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. [\[DOI\]](#)
- [9] Mohindra V, Anshumala, Punia P, Narain L, Kapoor D, Lal K K. Microsatellite loci to determine population structure of Labeo dero (*Cyprinidae*). *Aquatic Living Resource*, 2005, 18: 83~85. [\[DOI\]](#)
- [10] Lal K K, Chauhan T, Mandal A, Singh R K, Khulbe L, Ponniah A G, Mohindra V. Identification of microsatellite DNA markers for population structure analysis in Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton-Buchanan, 1882). *Journal of Applied Ichthyology*, 2004, 20(2): 87~91. [\[DOI\]](#)
- [11] Kohlmann K, Gross R, Murakaeva A, Kersten P. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living Resources*, 2003, 16: 421~431. [\[DOI\]](#)
- [12] QUAN Ying-Chun, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun. Microsatellite variation among four breeding populations of common carps. *Zoological Research*, 2005, 26(6): 595~602.
- 全迎春, 孙效文, 梁利群. 应用微卫星多态分析四个鲤鱼群体的遗传多样性. *动物学研究*, 2005, 26(6): 595~602.
- [13] GENG Bo, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun, OUYANG Hong-Sheng, TONG Jin-Gou. Analysis the genetic diversity of *Aristichthys nobilis* in China with 17 microsatellite markers. *Hereditas*(Beijing), 2006, 28(6): 683~688.
- 耿 波, 孙效文, 梁利群, 欧阳红生, 童金苟. 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.
- [14] Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32: 314~331.
- [15] Wright. Evolution and the genetics of populations. *University of Chicago Press*, 1978.
- [16] Bartfai R, Egedi S, Yue G H, Kovacs B, Urbanyi B, Tamas G, Horvath L, Orban L. Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. *Aquaculture*, 2003, 219: 157~167. [\[DOI\]](#)
- [17] David L, Rajasekaran P, Fang J, Hillel J, Lavi U. Polymorphism in ornamental and common carp strains (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by AFLP analysis and a new set of microsatellite markers. *Molecule Genetic Genomics*, 2001, 266(3): 353~362. [\[DOI\]](#)
- [18] DeWoody J A, Avise J C. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 2000, 56: 461~473. [\[DOI\]](#)
- [19] Taniguchi N. Genetic factors in bloodstock management for seed production. *Fish Biology and Fisheries*, 2003, 13: 177~185. [\[DOI\]](#)
- [20] Kimura M, Crow J F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 1964, 49: 725~738.
- [21] Garcia F J, Chikhi L, Bonhomme F. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Molecular Biology*, 1997, 6: 51~62.
- [22] Thorp JP. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation, and systematic. *Annual Review of Ecology Systematic*, 1982, 13(1): 139~168. [\[DOI\]](#)
- [23] ZOU Shu-ming, LOU Yun-Dong, SUN Xiao-Wen, SHEN Jun-Bao. Study on phylogeny relationship of grass carp, Boshi carp and 3 populations of common carp by RAPD fingerprints. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2000, 7(1): 6~11.
- 邹曙明, 楼允东, 孙效文, 沈俊宝. 用 RAPD 方法研究草鱼、柏氏鲤和 3 个地理种群鲤的亲缘关系. *中国水产科学*, 2000, 7(1): 6~11.
- [24] CHANG Yu-Mei, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun. Genetic diversity analysis of genomic DNAs of several representative populations of common carp in China. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(5): 481~486.
- 常玉梅, 孙效文, 梁利群. 中国鲤几个代表种群基因组 DNA 遗传多样性分析. *水产学报*, 2004, 28(5): 481~486.
- [25] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 1987, 236: 787~792. [\[DOI\]](#)
- [26] Ehrlich R, Raven P H. Differentiation of populations. *Science*, 1969, 165: 1228~1232. [\[DOI\]](#)
- [27] HE Shun-Ping, LIU Huan-Zhang, CHEN Yi-Yu, Kuwahara M, Nakajima T, ZHONG Yang. Phylogeny analysis of *Cyprinidae* based on the gene sequences of Cytochrome *b* (*Osteichthye: Cypriniformes*). *Science in China Series C*, 2004, 34(1): 96~104.
- 何舜平, 刘焕章, 陈宜瑜, Kuwahara M, Nakajima T, 钟 扬. 基于细胞色素 *b* 基因序列的鲤科鱼类系统发育研究(鱼纲: 鲤形目). *中国科学 C 辑*, 2004, 34(1): 96~104.