

基于微卫星标记的洞庭青鲫与三个鲫品系 群体遗传多样性分析*

刘良国 陈海康 许 倩 杨品红^① 谢春华 李梦军

(水产高效健康生产湖南省协同创新中心 动物学湖南省高校重点实验室 湖南文理学院生命科学院 常德 415000)

摘要 选取 12 个微卫星标记对洞庭青鲫(*Carassius auratus* var. *Dongtingking*)、野生二倍体和三倍体鲫(*C. auratus*)、彭泽鲫(*C. auratus* var. *pengzesis*) 4 个鲫品系群体进行遗传多样性检测。在 12 个基因座位中, 共检测出 78 个等位基因, 其中 14 个为共有等位基因; 每个座位检测到等位基因 4—12 个, 平均等位基因数 6.58 个; 4 个鲫品系群体的平均观测杂合度(H_o)分别为 0.633、0.750、0.800、0.717; 平均期望杂合度(H_e)分别为 0.502、0.713、0.757、0.602; 平均多态信息含量(PIC)分别为 0.364、0.599、0.637、0.470。上述结果表明, 野生二倍体和三倍体鲫的遗传多样性较为丰富, 以三倍体鲫的遗传多样性为最高; 而洞庭青鲫和彭泽鲫养殖群体存在杂合度降低, 遗传多样性下降的现象, 以洞庭青鲫的遗传多样性为最低。基于遗传距离构建的 UPGMA 聚类树表明, 洞庭青鲫与彭泽鲫两个养殖群体聚为一支, 而二倍体与三倍体野鲫群体聚为另一支, 说明洞庭青鲫与彭泽鲫之间亲缘关系较近, 野生二倍体与三倍体鲫之间的亲缘关系较近。研究不同倍性鲫品系的遗传多样性, 对于探讨鲫的多倍体起源演化以及鲫品系的种质资源保护和选育种实践具有重要意义。

关键词 洞庭青鲫; 鲫品系; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号 Q953; S917

doi: 10.11693/hyhz20160300059

洞庭青鲫(Dongtingking crucian carp, *Carassius auratus* var. *Dongtingking*)是近年来本文作者在洞庭湖水系澧水北民湖水域发现的一个具有两性繁殖方式的天然二倍体鲫鱼新品系(杨品红等, 2005, 2007; 吴珊等, 2006)。由于其在经济性状上具有生长快、产量高、抗逆性强、味道鲜美等特点, 受到养殖户和广大消费者喜爱, 发展前景广阔。在生物学特性上, 与国内已报道的其它鲫品系性状相比, 洞庭青鲫与彭泽鲫和普通野鲫尤为相似: 彭泽鲫原产于江西省彭泽县一带, 最初的研究结果表明, 彭泽鲫也是一种二倍体两性生殖鱼类(傅永进, 1996), 但随后报道的彭泽鲫均为染色体数目在 150 条左右的雌核发育鱼(Zhou *et al*, 2002; 刘良国等, 2004), 在染色体倍性和生殖方式上, 洞庭青鲫均与最初报道的彭泽鲫相似;

同时, 我们采用核型分析方法对洞庭湖水系普通野鲫群体进行批量的染色体数目统计, 发现在洞庭湖水系中, 同时存在两种在形态上极为相似、染色体数为 100 和 150 ± 的不同倍性野鲫群体, 而对洞庭青鲫染色体组型分析(杨品红等, 2007)表明它与洞庭湖水系野生二倍体鲫倍性一致。洞庭青鲫作为一个新型的鲫鱼品系, 它与彭泽鲫、二倍体和三倍体野鲫到底存在怎样的遗传关系, 这将是本论文重点关注的问题。

微卫星(Simple Sequence Repeat, SSR, 单一的序列重复)分子标记在真核生物基因组中广泛存在, 因其具有多态性高、共显性遗传、可重复性强和高度特异性等优点, 现已广泛应用于群体遗传多样性(周盼等, 2011; 宋春妮等, 2011)、基因连锁与遗传图谱构建(Miyao *et al*, 1996)、品种鉴定、亲本分析、纯系检验

* 国家自然科学基金项目, 31372519 号, 31572619 号; 湖南省高校创新平台基金项目, 13K103 号; 动物学湖南省高校重点学科, 2016—2020。刘良国, E-mail: llg1818@126.com

^① 通讯作者: 杨品红, 教授, E-mail: yph588@163.com

收稿日期: 2016-03-17, 收修改稿日期: 2016-04-07

等(Stockburge *et al*, 2000; 刘静霞等, 2003; Bessert *et al*, 2003; 文萍等, 2015)研究领域。为了了解洞庭青鲫与彭泽鲫、二倍体和三倍体野鲫的分子遗传多样性, 揭示它们之间的遗传关系, 本实验选用 12 个微卫星标记对洞庭青鲫与彭泽鲫、二倍体和三倍体野鲫的遗传多样性进行检测分析, 实验结果对于鲫的多倍体起源演化研究, 以及二倍体鲫的种质资源保护与选育种实践具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

洞庭青鲫(*F₀*)和彭泽鲫取自大湖股份湖南省水产工程研究中心实验基地, 野生二倍体和三倍体鲫采自洞庭湖水系的沅水和澧水。实验鱼采回后, 首先通过活体染色体制片的方法, 进一步批量确定不同鲫品系的染色体倍性, 然后, 每个鲫品系群体各取样 30 尾, 分别剪其背部肌肉用无水乙醇保存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

每尾鲫样品分别取 1.0g 肌肉用于基因组 DNA 提

取, 提取方法参照常规的酚-氯仿抽提程序进行。DNA 提取后, 用 0.8%琼脂糖凝胶电泳进行质量检测, 同时用紫外分光光度计估算其浓度, 调整浓度至 40ng/μL, 4°C 冰箱保存备用。

1.3 微卫星引物

本实验选用在银鲫(周莉等, 2001; 孙效文等, 2009)和红鲫(李建中等, 2005; 鲁双庆等, 2005)中均能扩增出清晰的 DNA 谱带, 且重复稳定性好的 12 对微卫星引物序列(表 1), 由北京鼎国昌盛生物技术有限公司合成为蓝色(FAM)荧光标记引物。

1.4 微卫星扩增

PCR 反应体系为 25μL, 其中 40ng/μL DNA 模板 2.0μL, 10mmol/L 引物各 0.5μL, 10mmol/L dNTPs 0.5μL, 10×PCR buffer 2.5μL, Taq DNA polymease 0.5μL (2U/μL), ddH₂O 18.5μL。PCR 扩增程序为: 95°C 5min, 接着 94°C 30s, 退火 30s (退火温度见表 1), 72°C 30s, 共 35 个循环, 最后 72°C 10min。将带有蓝色(FAM)荧光标记的 PCR 产物与红色分子量内标 ROX 500 混合, 采用 ABI3730X Genetic Analyzer 对

表 1 微卫星引物序列、退火温度及等位基因大小

Tab.1 Primer sequences, annealing temperature, and alleles size of the microsatellite markers

引物名称	引物序列(5'→3')	退火温度(°C)	等位基因大小(bp)
MFW4	F: TCCAAGTCAGTTTAATCACCG R: GGGAAGCGTTGACAACAAGC	54	160-200
MFW16	F: GTCCATTGTGTCAAGATAGAC R: TCTTCATTTTCAGGCT GCAAAG	52	350-366
MFW18	F: GTCCCTGGTAGTGAGTGAGT R: GCGTTGACTTGTTTTATAGTAG	56	272-286
MFW19	F: GAATCCTCCATCATGCAAAC R: GCACAACTCCACATTGTGCC	58	186-224
MFW20	F: CAGTGAGACGATTACCTTGG R: GTGAGCAGCCACATTGAAG	55	145-216
MFW23	F: GTATAATTGGGAGTTTTAGGG R: CAGGTTTATCTCCCTTCTAG	57	100-120
SCM4	F: TTCACTAGAACAGCAGGAGT R: ACAATGGTAACAGGGACAC	52	98-138
SCM8	F: GCTGTTTGCTCAGGGAC R: TGGAGGAGGGTTAGGGT	51	246-258
SCM10	F: GAGCCGCTCTTACCTTGATG R: GTCTCATCCGCTCCAACTG	60	142-160
SCM12	F: AAGCACCGGAGATCATTCTG R: GGGGCCTCTCTGTTATTCCT	60	238-250
SCM13	F: ACCGTTTGTGAGAGCGAGTGT R: AACCAGGTGTGACACAATGC	60	160-172
SCM17	F:TGAATCAGTCACCAAGTCAGAG R: CGACAGACGCATGAGGTAGA	59	108-146

F. 正向引物; R. 反向引物

其进行毛细管电泳检测, 得到扩增片段大小、峰图等原始实验数据; 同时, 将扩增产物在 4% 的变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳(50W 恒功率 2.5h), ABI PRISM 377 测序仪扫描, 得到电泳图。

1.5 数据统计与分析

对毛细管电泳测序仪检测得到的原始扩增条带进行统计, 将每一条带视为该位点的 1 个等位基因, 利用 Genepop V4.0 和 EXCEL MS TK-2007 软件进行分析, 计算并统计 12 个微卫星基因座位的等位基因数和等位基因频率、观测杂合度(observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度(expected heterozygosity, H_e)和多态信息含量(polymorphism information content, PIC)。

通过 Lynch(1990)的方法计算群体间的遗传相似性系数和遗传距离, 根据遗传距离, 再以 MEGA 4.0 软件包中的非加权配对算术平均法(unweighted pair group methods using arithmetic average, UPGMA)对四个鲫品系群体进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 微卫星 PCR 扩增结果及等位基因频率

12 对微卫星引物在 4 个鲫品系群体中均得到较好的扩增结果, 图 1 为引物 MFW4 和 MFW20 在 4 个群体中的部分变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱。在 12 个基因座位中, 每个座位检测到的等位基因数 4—12 个, 平均等位基因数 6.58, 共检测出 78 个等位基因, 其中洞庭青鲫群体有 27 个, 二倍体野鲫群体 49 个, 三倍体野鲫群体 54 个, 彭泽鲫群体 34 个, 78 个等位基因中有 14 个等位基因为 4 个群体所共有。与二倍体和三倍体野鲫群体相比, 洞庭青鲫、彭泽鲫等养殖群体的等位基因数明显偏少, 基因座位 MFW4 的 1, MFW19 的 2, MFW23 的 3, SCM4 的 5、7, SCM8 的 1, SCM10 的 3、5、7, SCM13 的 5, SCM17 的 1、2、

8 等一些等位基因在两个野生鲫群体中均有出现, 而在洞庭青鲫和彭泽鲫养殖群体中缺失。12 个基因座位在 4 个鲫品系群体中的等位基因频率见表 2。

2.2 4 个鲫品系群体的遗传多样性

12 个微卫星位点在同一鲫品系群体, 以及同一个微卫星位点在不同鲫品系群体的遗传变异程度均存在较大差异(表 3)。洞庭青鲫、野生二倍体和三倍体鲫、彭泽鲫群体的平均观测杂合度分别为 0.633、0.750、0.800、0.717, 平均期望杂合度分别为 0.502、0.713、0.757、0.602, 平均多态信息含量分别为 0.364、0.599、0.637、0.470, 其中野生二倍体和三倍体鲫群体的平均观测杂合度、期望杂合度和多态信息含量均高于洞庭青鲫和彭泽鲫养殖群体, 表现为高度多态, 而洞庭青鲫和彭泽鲫养殖群体表现为中度多态, 部分座位如洞庭青鲫的 MFW19 和 SCM13 两个位点 PIC 值为 0, 遗传多态性消失。

2.3 群体间的遗传相似性系数、遗传距离及聚类分析

根据等位基因频率计算得到不同鲫品系群体之间的遗传相似性系数和遗传距离(表 4), 计算结果表明, 4 个鲫品系群体间的平均遗传相似系数在 0.421—0.787, 平均遗传距离为 0.213—0.579。其中洞庭青鲫与彭泽鲫群体之间、野生二倍体和三倍体鲫群体之间的遗传相似性系数较高, 分别为 0.787、0.621, 遗传距离较小, 分别为 0.213、0.379; 而洞庭青鲫、彭泽鲫与野生二倍体鲫的遗传相似性系数较低, 分别为 0.421、0.482, 遗传距离较大, 分别为 0.579、0.518。

根据群体间的遗传距离矩阵(表 4), 采用 MEGA 4.0 软件包中的 UPGMA 聚类法分析 4 个鲫品系群体间的亲缘关系(图 2), 图 2 显示, 4 个鲫品系群体明显分为两个大支, 其中, 洞庭青鲫与彭泽鲫聚为一支,

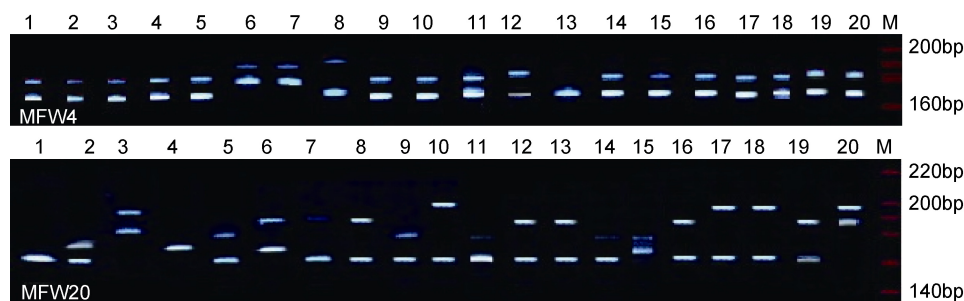


图 1 引物 MFW4 和 MFW20 在 4 个鲫品系群体中的部分扩增图谱

Fig.1 The SSR amplified results for the populations of 4 strains of crucian carp by the primer MFW4 and MFW20

M: ROX500 Ladder marker; 1—5: 洞庭青鲫; 6—10: 野生二倍体鲫; 11—15: 野生三倍体鲫; 16—20: 彭泽鲫

表 2 4 个鲫品系群体 12 个微卫星基因座位的等位基因频率
Tab.2 Frequency of 12 microsatellites DNA loci among the populations of 4 strains of crucian carp

座 位	等位基因	群 体				座 位	等位基因	群 体			
		DCC	2nCC	3nCC	PCC			DCC	2nCC	3nCC	PCC
MFW4	1		0.200	0.100		SCM4	1	0.500	0.300	0.400	0.800
	2	0.500	0.100	0.500	0.500		2	0.100			0.100
	3		0.200	0.300	0.300		3			0.200	
	4	0.500	0.200		0.200		4		0.100		
	5			0.100			5		0.200	0.100	
	6		0.200				6		0.100		
	7		0.100				7		0.200	0.200	
MFW16	1	0.600		0.200	0.300	SCM10	8	0.400	0.100	0.100	0.100
	2	0.200					1			0.100	
	3	0.200	1.000	0.800	0.600		2	0.500	0.200	0.100	0.200
	4				0.100		3		0.400	0.300	
MFW18	1			0.100		SCM12	4			0.300	0.300
	2		0.400	0.100	0.100		5		0.300	0.100	
	3			0.100			6	0.500			0.500
	4	0.600	0.400	0.300	0.500		7		0.100	0.100	
	5	0.400	0.200	0.400	0.400		1			0.100	
MFW19	1		0.200	0.100	0.300	SCM13	2		0.300	0.300	0.300
	2		0.200	0.300			3	0.500	0.300	0.500	0.200
	3			0.300			4		0.400		
	4		0.200				5	0.500		0.100	0.500
	5	1.000	0.200	0.100	0.700		1	1.000		0.200	0.600
	6			0.100			2		0.100		
	7		0.200				3		0.200	0.300	0.400
	8			0.100			4		0.400		
MFW20	1	0.200	0.400	0.300	0.100	SCM17	5		0.300	0.200	
	2	0.200		0.100	0.300		6			0.300	
	3	0.200		0.100			1		0.200	0.100	
	4		0.100				2		0.200	0.100	
	5	0.200	0.100	0.300			3		0.100		
	6	0.200	0.300	0.200	0.300		4			0.100	
	7		0.100		0.300		5	0.500	0.100	0.100	0.500
MFW23	1	0.500		0.100	0.200		6		0.200		
	2	0.500	0.800	0.600	0.500		7			0.200	
	3		0.200	0.200			8		0.200	0.100	
	4				0.300		9			0.100	
	5			0.100			10			0.200	
SCM8	1		0.200	0.200			11	0.500			0.200
	2		0.200				12				0.300
	3	0.500	0.400	0.300	0.200						
	4		0.200								
	5	0.500		0.500	0.800						

表 3 4 个鲫品系群体 12 个微卫星座位的观测杂合度、期望杂合度和多态信息含量
Tab.3 Observed heterozygosity, expected heterozygosity, and polymorphism information content at 12 microsatellite loci assessed for the populations of 4 strains of crucian carp

群体	参数	微卫星座位												平均值
		MFW4	MFW16	MFW18	MFW19	MFW20	MFW23	SCM4	SCM8	SCM10	SCM12	SCM13	SCM17	
DCC	H_o	1.000	0.400	0.400	0.000	0.800	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	1.000	0.750±0.056
	H_e	0.556	0.622	0.533	0.000	0.889	0.556	0.644	0.556	0.556	0.556	0.000	0.556	0.502±0.073
	PIC	0.375	0.499	0.365	0.000	0.768	0.375	0.492	0.375	0.375	0.375	0.000	0.375	0.364±0.023
2nCC	H_o	1.000	0.000	0.800	0.800	1.000	0.400	1.000	0.400	1.000	0.600	0.600	1.000	0.717±0.058
	H_e	0.911	0.000	0.711	0.889	0.800	0.356	0.889	0.800	0.778	0.733	0.778	0.911	0.713±0.078
	PIC	0.794	0.000	0.563	0.768	0.676	0.269	0.772	0.672	0.645	0.586	0.645	0.794	0.599±0.053
3nCC	H_o	0.800	0.000	0.800	0.600	1.000	0.400	0.200	0.200	0.800	0.800	1.000	1.000	0.633±0.062
	H_e	0.711	0.356	0.800	0.867	0.844	0.644	0.822	0.689	0.867	0.711	0.822	0.956	0.757±0.045
	PIC	0.581	0.269	0.676	0.748	0.720	0.535	0.701	0.548	0.748	0.581	0.692	0.844	0.637±0.033
PCC	H_o	1.000	0.400	1.000	0.600	1.000	1.000	0.400	0.400	1.000	1.000	0.800	1.000	0.800±0.052
	H_e	0.689	0.600	0.644	0.467	0.800	0.689	0.378	0.356	0.689	0.689	0.533	0.689	0.602±0.040
	PIC	0.548	0.466	0.492	0.332	0.666	0.548	0.314	0.269	0.548	0.548	0.365	0.548	0.470±0.027

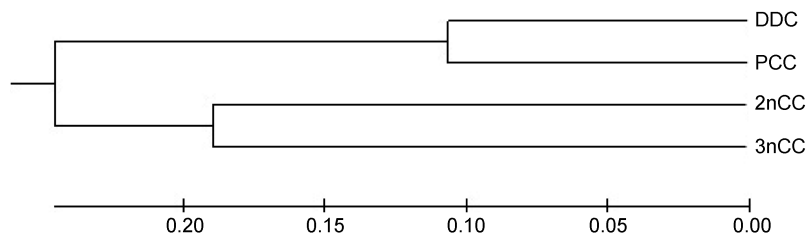


图 2 4 个鲫品系群体的 UPGMA 聚类图
Fig.2 UPGMA dendrogram for the populations of 4 strains of crucian carp
DCC: 洞庭青鲫, PCC: 彭泽鲫, 2nCC: 野生二倍体鲫, 3nCC: 野生三倍体鲫

表 4 4 个鲫品系群体间的遗传距离(对角线下方)及遗传相似性系数(对角线上方)
Tab. 4 The genetic distances (below diagonal) and genetic similarities (above diagonal) among the populations of 4 strains of crucian carp

群体	DCC	2nCC	3nCC	PCC
DCC		0.421	0.543	0.787
2nCC	0.579		0.621	0.482
3nCC	0.457	0.379		0.591
PCC	0.213	0.518	0.409	

野生二倍体与三倍体鲫聚为另一支, 表明洞庭青鲫与彭泽鲫养殖群体的亲缘关系较近, 野生二倍体与三倍体鲫的亲缘关系较近。

3 讨论

遗传多样性是指地球上生物所携带的各种遗传信息的总和, 它包括生物遗传变异大小和遗传变异分布格局(即群体遗传结构)等内容。它是物种适应多变的环境条件、维持生存和进化的基础, 物种的遗传

多样性越丰富, 其对环境的生存适应能力和进化潜力就越强(O’Connell *et al*, 1997; 张文静等, 2003; 朱晓东等, 2007)。由于微卫星标记遵循孟德尔定律呈共显性遗传, 在检测种群异质性方面有明显优势(Bártfai *et al*, 2003), 因而能更多的揭示群体的遗传变异水平。本研究利用 12 对微卫星标记对洞庭青鲫等 4 个鲫品系群体进行了比较分析, 12 个微卫星位点共检测到 78 个等位基因, 其中有 14 个等位基因为 4 个鲫品系群体所共有, 这些共有等位基因频率相对较高, 推测是鲫进化过程中最原始、最保守的一部分, 对于维持鲫物种的繁衍和稳定有着重要作用。其余等位基因, 如在野生鲫群体中存在而在养殖鲫群体中丢失, 或只在洞庭青鲫和彭泽鲫养殖鲫群体中出现而野生鲫群体中未见, 或只在某一个鲫品系群体中出现等情况(表 2), 可能是进化过程中由于基因的插入、缺失等突变机制所造成。

群体平均基因杂合度表示被检测位点上群体中杂合子的频率, 它是衡量群体杂合程度的指标(周盼

等, 2011)。群体平均基因杂合度越低, 反映该群体的遗传一致性越高, 即群体的遗传变异越少, 遗传多样性越低(Leberg, 2002; 张燕萍等, 2013)。张志伟等(2006)报道了江苏境内草鱼 1 个野生群体和 2 个养殖群体的平均观测杂合度为 0.5286—0.7000, 平均期望杂合度为 0.5235—0.6939; 周盼等(2011)报道了三江水系 4 个野生草鱼群体的平均观测杂合度为 0.7114—0.8045, 平均期望杂合度为 0.6245—0.6739。本研究结果表明 4 个鲫鱼品系群体的平均观测杂合度(H_o)介于 0.633—0.800, 平均期望杂合度(H_e)介于 0.502—0.757, 与以上两个报道的结果相近, 说明本实验选用的微卫星标记适合鲫鱼品系群体的遗传多样性研究。从表 3 可见, 4 个鲫鱼品系群体的平均观测杂合度与期望杂合度分析结果较为一致, 其中, 三倍体野鲫的平均观测杂合度最高, 为 0.800, 二倍体野鲫次之, 为 0.750, 这说明洞庭湖水系野鲫群体的遗传多态性丰富, 选育种潜力较大; 洞庭青鲫群体的平均观测杂合度最低, 为 0.633, 说明洞庭青鲫养殖群体的遗传多样性水平较低, 这与洞庭青鲫这一优良鲫鱼品系的多代的选育纯化有关, 这一结果也与吴珊等(2006)对洞庭青鲫形态性状的分析结果一致: 即洞庭青鲫子代与亲代不仅没有性状分离现象, 而且基因有进一步纯化的趋势。

多态信息含量(PIC)是群体内遗传变异的量度, 可以作为微卫星位点变异程度指标(周盼等, 2011)。依据 Botstein 等(1980)的划分标准: 当 $PIC > 0.5$ 时, 该位点为高度多态位点; 当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时, 为中度多态位点; 当 $PIC < 0.25$ 时, 为低度多态位点。从本研究 12 个微卫星位点来看(表 3), 高度多态位点主要集中在二倍体和三倍体野鲫群体, 二倍体野鲫平均 PIC 为 0.599, 高度多态位点占总位点的 83.3%, 三倍体野鲫平均 PIC 为 0.637, 高度多态位点占总位点的 91.7%, 说明洞庭湖水系二倍体和三倍体野鲫群体的遗传多样性丰富; 而中、低度多态位点主要集中于洞庭青鲫和彭泽鲫养殖群体, 洞庭青鲫平均 PIC 为 0.364, 中度多态位点占总位点的 75.0%, MFW19 和 SCM13 两个位点的 PIC 值为 0, 彭泽鲫平均 PIC 为 0.470, 中度和高度多态位点占总位点的比例各占 50.0%, 以上情况说明, 与基因杂合度分析的结果一致, 相比于野生鲫群体, 洞庭青鲫和彭泽鲫养殖群体的遗传多样性降低, 尤以洞庭青鲫遗传多样性下降为甚。

群体间的遗传距离是遗传变异的尺度, 遗传距

离的大小预示着亲缘关系的远近。本研究用微卫星实验数据分析得到的遗传距离和树状图与先前 ISSR 的分析结果(刘良国等, 2015)基本一致, 即洞庭青鲫与彭泽鲫的遗传距离最小, 树状图上聚为一支, 二者亲缘关系较近, 主要原因可能是洞庭青鲫与彭泽鲫均起源于天然水域, 因其都具有优良的生产性状而被多代选育, 在相似的人工养殖环境下, 选择压力相近所致; 二倍体和三倍体野鲫在树状图上聚为另一支, 表明二者亲缘关系也较近, 其原因可能要追溯到三倍体野鲫的起源上, 洞庭湖水系二倍体和三倍体野鲫生活于同一水体, 二者在形态上极为相似(刘良国等, 2012), 在极端环境(如温度的剧变等)条件下, 二倍体鲫有可能产生二倍体卵子, 这些二倍体卵子再与正常的单倍体精子杂交形成三倍体, 因而在基因座位上, 三倍体野鲫表现出与二倍体野鲫的相似性。

据沈俊宝等(1983)和王蕊芳等(1988)报道, 由于环境急剧变化和天然杂交等因素, 自然水体中的二倍体鲫可以演化成三倍体, 而三倍体鲫具有雌核发育生殖特性, 繁殖力和适应性强, 种群优势明显, 这可能是当前天然水域中二倍体鲫数量远少于三倍体鲫的重要原因。洞庭青鲫是近年来发现并选育出的生长速度快、营养价值高、遗传性状稳定的二倍体鲫品系, 是自然界中十分珍贵的鲫鱼种质资源, 具有很高的经济价值和科研价值。由于洞庭青鲫选育的时间较短, 至今才经过 6 代, 将来能否保持其二倍体稳定的遗传性状还未为可知。根据上述三倍体鲫的遗传起源推测, 二倍体洞庭青鲫亦有可能在遭遇极端环境条件和杂交因素影响下, 部分个体特化为行雌核发育方式的三倍体, 因三倍体鲫的雌核发育生殖方式比二倍体鲫两性生殖方式具有明显的繁殖优势, 在人工选育的条件下, 新的洞庭青鲫三倍体种群将会越来越多, 而二倍体洞庭青鲫种群将会逐渐消失。因此, 加强对洞庭湖水系二倍体野鲫和洞庭青鲫种质资源的保护已经越来越迫切, 笔者认为, 可以从以下几方面来加强保护: (1) 建立洞庭湖水系二倍体鲫种质资源保护区, 如在洞庭青鲫的原产地澧水北民湖等水域建立洞庭青鲫省级及以上水产种质资源保护区, 加强二倍体鲫种质资源管理; (2) 设置洞庭湖水系禁渔期, 加强渔业资源管理, 杜绝电鱼、毒鱼等毁灭性的捕捞; (3) 通过增殖放流进行洞庭青鲫和野生二倍体鲫种群的恢复; (4) 加强对三倍体雌核发育鲫如银鲫、彭泽鲫的人工饲养管理, 以防三倍体鲫逃逸到天然水体, 导致二倍体鲫种群的减少或消失。

参 考 文 献

- 王蕊芳, 施立明, 贺维顺, 1988. 不同地理区域鲫鱼染色体银染核仁组织者的比较研究. 动物学研究, 9(2): 165—169
- 文 萍, 赵 建, 李 伟等, 2015. 基于微卫星多重 PCR 技术的黄喉拟水龟亲子鉴定. 水生生物学报, 39(6): 1134—1141
- 朱晓东, 耿 波, 李 娇等, 2007. 利用 30 个微卫星标记分析长江中下游鲢群体的遗传多样性. 遗传, 29(6): 705—713
- 刘良国, 杨春英, 杨品红等, 2012. 洞庭湖水系沅水和澧水野鲫的染色体组型及资源保护. 动物学杂志, 47(2): 112—119
- 刘良国, 杨品红, 谢春华等, 2015. 洞庭青鲫 (*Carassius auratus* var. *Dongtingking*) 与三个鲫品系群体遗传多样性的 ISSR 分析. 海洋与湖沼, 46(2): 426—431
- 刘良国, 赵 俊, 陈湘舜等, 2004. 彭泽鲫两个雌核发育克隆的染色体组型分析. 遗传学报, 31(8): 780—786
- 刘静霞, 周 莉, 魏丽华等, 2003. 红白锦鲤人工雌核发育纯系的微卫星标记分析. 水生生物学报, 27(6): 557—562
- 孙效文, 杨彦豪, 鲁翠云等, 2009. 银鲫与普通鲫群体遗传结构的比较分析. 淡水渔业, 39(4): 34—39
- 李建中, 刘少军, 张轩杰等, 2005. 异源四倍体鲤鲫及其原始亲本遗传变异的微卫星标记分析. 遗传学报, 32(4): 378—383
- 杨品红, 王晓艳, 吴维新等, 2007. 洞庭青鲫的染色体核型分析及品种鉴定. 淡水渔业, 37(3): 3—7
- 杨品红, 吴维新, 王晓艳等, 2005. 洞庭青鲫增、养殖技术讲座 (一)——洞庭青鲫的生物学特性. 内陆水产, 30(3): 44—45
- 吴 珊, 吴维新, 2006. 洞庭青鲫形态性状遗传分析. 激光生物学报, 15(1): 90—93
- 沈俊宝, 王国瑞, 范兆廷, 1983. 黑龙江主要水域鲫鱼倍性及其地理分布. 水产学报, 7(2): 87—94
- 宋春妮, 李 健, 刘 萍等, 2011. 日本鳊 4 个野生群体遗传多样性的微卫星分析. 水产学报, 35(7): 985—991
- 张文静, 余育和, 沈韞芬, 2003. 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, 27(2): 185—190
- 张志伟, 曹哲明, 杨 弘等, 2006. 草鱼野生和养殖群体间遗传变异的微卫星分析. 动物学研究, 27(2): 189—196
- 张燕萍, 陈文静, 汪登强等, 2013. 鄱阳湖水系草鱼野生及增殖放流群体遗传多样性分析. 江苏农业科学, 41(9): 207—211
- 周 盼, 张 研, 徐 鹏等, 2011. 基于 26 个微卫星标记的三江水系草鱼遗传多样性分析. 中国水产科学, 18(5): 1011—1020
- 周 莉, 刘静霞, 桂建芳, 2001. 应用微卫星标记对雌核发育银鲫的遗传多样性初探. 动物学研究, 22(4): 257—264
- 傅永进, 1996. 彭泽鲫的生物学性状及养殖技术. 淡水渔业, 26(2): 25—26, 34
- 鲁双庆, 刘 臻, 刘红玉等, 2005. 鲫鱼 4 群体基因组 DNA 遗传多样性及亲缘关系的微卫星分析. 中国水产科学, 12(4): 371—376
- Bárfai R, Egedi S, Yue G H *et al*, 2003. Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. Aquaculture, 219(1—4): 157—167
- Bessert M L, Ortí G, 2003. Microsatellite loci for paternity analysis in the fathead minnow, *Pimephales promelas* (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Ecology Notes, 3(4): 532—534
- Botstein D, White R L, Skolnick M *et al*, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 32(3): 314—331
- Leberg P L, 2002. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. Molecular Ecology, 11(11): 2445—2449
- Lynch M, 1990. The similarity index and DNA fingerprinting. Molecular Biology and Evolution, 7(5): 478—484
- Miyao A, Zhong H S, Monna L *et al*, 1996. Characterization and genetic mapping of simple sequence repeats in the rice genome. DNA Research, 3(4): 233—238
- O'Connell M, Wright J M, 1997. Microsatellite DNA in fishes. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 7(3): 331—363
- Stockburge E M, Green R D, Wood W O *et al*, 2000. Determination of the stringency of DNA microsatellite marker genotypes for use in individual animal identification. Animal Genetics, 53: 345—348
- Zhou L, Gui J F, 2002. Karyotypic diversity in polyploid gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch. Genetica, 115(2): 223—232

GENETIC ANALYSIS OF DONGTINGKING CRUCIAN CARP AND OTHER THREE STRAINS OF CRUCIAN CARP BASED ON MICROSATELLITE MARKERS

LIU Liang-Guo, CHEN Hai-Kang, XU Qian, YANG Pin-Hong, XIE Chun-Hua, LI Meng-Jun

(Collaborative Innovation Center of the Aquatic Efficient Health Production in Hunan Province, Key Laboratory of Zoology in Hunan Higher Education, College of Life Science, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China)

Abstract We studied the genetic diversity of different strains of *Carassius auratus* by using microsatellite DNA markers for the Dongtingking crucian carps, the diploid and triploid wild crucian carps, and Pengze crucian carps. Twelve microsatellite markers were selected to analyze the four strains of *Carassius auratus*. A total of 78 alleles were identified in the four populations, of which 14 were in common. The number of alleles generated from each locus ranged 2—12, average 6.58. Results shows that the genetic diversity of the diploid and triploid wilds was richer than those in the bred ones as indicated in observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and polymorphism information contents (PIC). Analysis based on genetic distance showed that Dongtingking crucian carp and Pengze crucian carp populations cluster in one group and the diploid and triploid crucian carps in another in UPGMA tress (unweighted pair-group methods with arithmetic means). This study may serve as a reference for understanding their evolution to guild better breeding practice.

Key words *Carassius auratus* var. Dongtingking; strains of crucian carp; SSR; genetic diversity