

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2018.04.006

6个野生与选育鲤群体的微卫星遗传分析

董在杰¹, 刘念², 傅建军¹, 朱文彬¹, 王兰梅¹, 苏胜彦¹

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081;
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 利用12个微卫星标记对鲤 (*Cyprinus carpio*) 的4个野生群体 [清水江鲤、太湖鲤、黄河鲤 (*C. carpio haematopterus*) 和黑龙江鲤 (*C. carpio amurensis*)] 和2个选育群体 [福瑞鲤 (*C. carpio* var. FFRC) 和松浦镜鲤 (*C. carpio* var. *specularis* 'Song-pu')] 共208尾个体进行遗传分析。结果显示, 12个位点共检测到341个等位基因, 平均等位基因数为28.67, 其中1个位点 (*HLJ1127*) 检测到正向选择压力; 选育群体的遗传多样性参数普遍低于野生群体, 其中松浦镜鲤群体的各项参数均值最低 ($N_a=6.82$, $H_o=0.54$, $PIC=0.50$), 清水江鲤群体的各项参数均值最高 ($N_a=21.25$, $H_o=0.80$, $PIC=0.91$); 分子方差分析显示, 整体遗传变异主要来自群体内, 但群体间呈极显著遗传分化 ($P<0.01$); 基于群体 Nei's 遗传距离的UPGMA聚类树和PCoA分析表明, 鲤4个野生群体间遗传距离较近, 而与2个人工选育群体间遗传距离较远; 基于个体遗传结构及PCoA分析显示部分野生个体遗传结构比较混杂, 而选育个体的遗传结构则相对单一。研究表明, 中国鲤野生资源具有较高的遗传多态性, 而人工选育群体维持着较纯的遗传种质。

关键词: 鲤; 群体; 选育; 微卫星; 遗传变异

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2018)04-0046-10

Genetic analysis for six wild and selection populations of common carp (*Cyprinus carpio*) using microsatellites

DONG Zaijie¹, LIU Nian², FU Jianjun¹, ZHU Wenbin¹, WANG Lanmei¹, SU Shengyan¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: We genotyped a total of 208 individuals of common carp (*Cyprinus carpio*) from four wild populations [Qingshuijiang (QSJ), Taihu (TH), *C. carpio haematopterus* (Huangheli, HHL) and *C. carpio amurensis* (Heilongjiang, HLJ)] and two selected strains [*C. carpio* var. FFRC (FRL) and *C. carpio* var. *specularis* 'Song-pu' (SPJ)] by using 12 microsatellite markers. Altogether 341 alleles were detected in 12 loci, with an average of 28.67 alleles per locus, and one locus (*HLJ1127*) was under strong selection pressure. Two selection strains showed lower genetic diversity parameters values than four wild populations. Strain SPJ showed the lowest genetic diversity parameters values ($N_a=6.82$, $H_o=0.54$ and $PIC=0.50$), whereas Strain QSJ presented the highest parameters values ($N_a=21.25$, $H_o=0.80$ and $PIC=0.91$). The analysis of molecular variance indicates that most of the genetic variance was within populations; however, significant genetic divergence among populations was detected ($P<0.01$). Similar results had been found by UPGMA dendrogram and PCoA plots using Nei's genetic distances among six populations. The wild populations had closer genetic dis-

收稿日期: 2018-01-19; 修回日期: 2018-03-23

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-45-05)

作者简介: 董在杰 (1967—), 男, 博士, 研究员, 从事水产动物遗传育种研究。E-mail: dongzaijie@ffrc.cn

tance and clustered together earlier, but were clearly separated from two selection strains. The PCoA plots and genetic structure analysis reveal the distinct genetic structure of individuals from selection individuals and partial complexity genetic structure of wild individuals. In brief, wild *C. carpio* populations in China have high genetic diversity and good genetic purity in their selection strains.

Key words: *Cyprinus carpio*; population; selection; microsatellite; genetic diversity

鲤 (*Cyprinus carpio*) 作为中国主要的大宗淡水鱼之一, 具有重要的经济价值。鲤在中国拥有丰富的野生资源, 并在悠久的养殖历史中培育了诸多人工培育品种。然而, 受自然环境破坏等影响, 其野生种质资源不断减少; 人工选育的鲤品种 (品系) 在缺乏科学规划和盲目利用的情况下, 在推广应用中也存在优良性状退化的风险。当前, 针对中国鲤的野生和选育群体开展遗传研究, 是其种质保护和遗传改良的一项基础工作。

微卫星标记以其高度多态性、稳定性和共显性遗传等特点, 被广泛应用于鲤的群体遗传变异^[1-3]、性状关联性^[4-5]、遗传连锁图和 QTL 定位^[6]等研究。基于微卫星标记对中国鲤群体的遗传变异研究一直在开展。其中常玉梅等^[7]和全迎春等^[8]较早利用微卫星标记对野生群体和育成品种开展了遗传多样性和遗传距离等研究; Xu 等^[9]基于线粒体 DNA 序列和微卫星标记对 4 个选育群体和 2 个野生群体进行了选择压力和遗传分化等分析。此外, 相关学者基于微卫星标记分别开展了对野生群体^[10-11]、福瑞鲤 (*C. carpio* var. FFRC) 与豫选黄河鲤 (*C. carpio haematopterus*)^[12] 及 3 个耐寒鲤品种 [松荷鲤 (*C. carpio* 'Songhe')、荷包红鲤抗寒品系 (*C. carpio* var. *wuyuanensis*) 与松浦鲤 (*C. carpio* var. *Songpu*)]^[13] 等选育群体的遗传变异研究, 分别解析了特定选育群体 (品种) 的遗传多样性和遗传结构等信息。诸多研究为中国鲤的种质资源保护和开发利用提供了丰富的遗传数据和背景知识, 也为遗传选育品系的种质评估提供了研究参考数据。然而, 诸多的研究涉及的群体或品种和分子标记的检测手段存在差别, 存在进一步补充和更新的研究空间。

近年来中国的鲤养殖业中良种覆盖率不断提高。福瑞鲤 (水产新品种编号 GS01-003-2010)^[14] 和松浦镜鲤 (*C. carpio* var. *specularis*' Song-pu') (水产新品种编号 GS01-001-2008)^[15] 作为新近的育成品种, 在鲤主养区获得广泛推广。目前, 对上述 2 个选育品种的遗传变异研究也有少量开展^[12,16-17], 但所用分子标记和群体有所不同, 尤其是基于微卫星分子标记与野生群体的遗传比较研究尚未见报道。

因此, 本研究分别收集了中国 4 个主要水系 (珠江、长江、黄河和黑龙江) 的清水江鲤、太湖鲤、黄河鲤和黑龙江鲤 (*C. carpio amurensis*) 4 个野生群体, 并利用 12 个微卫星标记对 4 个野生群体以及福瑞鲤和松浦镜鲤 2 个选育群体开展遗传变异分析, 旨在加深对中国鲤群体的遗传变异现状的了解, 丰富鲤群体遗传学基础数据, 为鲤野生资源保护和种质改良提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集和 DNA 提取

鲤 6 个群体的样本采集信息见表 1。由南向北收集了 4 个野生群体, 清水江群体是由贵州省水产研究所采自清水江流域的野生个体, 太湖群体是由淡水渔业研究中心采自太湖水域的野生个体, 黄河鲤群体是由河南省水产科学研究院采自黄河流域的野生个体, 黑龙江群体是由黑龙江水产研究所采自黑龙江流域的野生个体; 福瑞鲤和松浦镜鲤 2 个人工培育品种分别采自其培育单位淡水渔业研究中心和黑龙江水产研究所。剪取鲤个体的尾鳍下叶组织, 固定于 90% 乙醇中待用。基因组 DNA 的提取采用传统苯酚-氯仿法。提取的 DNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 浓度及纯度由 NANO-DROP 2000 分光光度仪测定, 而后用 TE Buffer (pH=8.0) 稀释成约为 60 ng·μL⁻¹ 的终质量浓度, 于 -20 °C 储存备用。

表1 鲤6个群体样本采集信息

Tab.1 Sample information of six populations of *C. carpio*

群体 population	群体来源 source	经纬度 longitude, latitude	样本数 number of sample
清水江鲤 QSJ	贵州凯里	107.97°E, 26.58°N	35
太湖鲤 TH	江苏无锡	120.29°E, 31.59°N	36
黄河鲤 HHL	河南郑州	114.08°E, 32.13°N	30
黑龙江鲤 HLJ	黑龙江抚远	134.28°E, 48.37°N	23
福瑞鲤 FRL	淡水渔业研究中心	119.82°E, 31.36°N	36
松浦镜鲤 SPJ	黑龙江水产研究所	126.63°E, 45.75°N	48

1.2 微卫星引物获取及 PCR

实验所用 12 对微卫星引物来自相关文献[18]~[20], 并通过聚丙烯酰胺凝胶电泳筛选获得。所用引物均由生工生物工程(上海)有限公司合成, 并利用荧光修饰标记(HEX 或 6-FAM)对上游引物的 5' 端进行修饰, 引物序列及荧光修饰信息见表 2。

PCR 反应体系为 25 μL , 具体包括 dNTP Mixture ($2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 2 μL 、去镁离子 $10\times\text{PCR buffer}$ 2.5 μL 、氯化镁 (MgCl_2 , $25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 1.5 μL 、基因组 DNA ($40\sim 80 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 1 μL 、上游和下游引物 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 1 μL 、*Taq* 酶 ($5 \text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.2 μL 、

其余由双蒸水补齐, 所需试剂购自宝日生物科技公司(北京)有限公司。PCR 扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 退火 30 s(退火温度见表 2), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s(本阶段进行 30 个循环); 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 送往上海美吉生物医药科技有限公司进行 STR 分型检测 (ABI3730 全自动测序仪毛细管电泳检测技术), 利用 GeneMapper 4.0 软件读取各位点的等位基因条带大小。

1.3 数据处理

利用 Excel 2010 软件整理个体对应微卫星位点的等位基因型数据, 通过 Popgene 3.2 软件^[21]检测

表2 鲤群体遗传研究所用12个微卫星位点的基本信息

Tab.2 Basic information of 12 microsatellite loci used in genetic analysis for *C. carpio* populations

位点 locus	重复单元 repeat unit	荧光修饰 fluorescent dye	引物序列 (5'-3') primer sequence	产物大小/bp size range	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ annealing temperature
<i>Koi53</i>	CA	6-FAM	AGGTCACTGAAACAATACA CTGATGCTTCTGGATAAA	167~209	55
<i>Koi87</i>	GT	HEX	ATGCTTTTTTCTCGGATTC GCAATCAGTCAAACATCAC	284~330	55
<i>Koi95</i>	CA	HEX	TGTATTGCTTATTGTTAGTT AGTCTGTCTGTTCCGCTCTT	157~223	46
<i>Koi113</i>	CA	6-FAM	CACTTTGCCATTTTCCTATC TTCATTCGCTCTTTTTTTAT	119~201	55
<i>Koi115</i>	GT	HEX	GAGGAAATGATGGAATAAAT TAAGAGGGTTTTGTAGTGTA	232~292	55
<i>MFW18</i>	CA	6-FAM	GTCCCTGGTAGTGAGTGAGT GCGTTGACTTGTTTTATACTAG	131~219	55
<i>MFW20</i>	CA	HEX	CAGTGAGACGATTACCTTGG GTGAGCAGCCCACATTGAAC	162~264	55
<i>HLJ307</i>	AC	6-FAM	ATCATTTGTATTCGTGCTTG GATCCACTGGGTCCTTTT	180~246	55
<i>HLJ308</i>	GT	6-FAM	TGACAGGAAGAGCAGGAC TCTCGAAGAACAGACACCC	107~195	55
<i>HLJ316</i>	AC	HEX	TGCTAATCGGTGTTTCAT TTCTGCTTCACAGCCATA	173~249	55
<i>HLJ322</i>	AC	6-FAM	GGGAGATGGGATGGATGA GAGGGAGTATTTGTGAGTGTTG	183~261	55
<i>HLJ1127</i>	AC	HEX	GTTACGTCTTTGCCCTGAGC TGCCCTTCAATAAACGCTTC	205~289	55

等位基因数 (N_a)、有效等位基因 (N_e)、观测杂合度 (H_o) 和期望杂合度 (H_e) 等遗传多样性参数, 对各位点的哈-温平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) 进行似然比检验, 并计算群体间的 Nei's 遗传距离; 利用 CERVUS 3.0 软件^[22]统计各微卫星位点的多态信息含量 (PIC); 利用 Bayescan 2.1 软件^[23]分析各位点的选择压力, 当贝叶斯因子对数值 $\log_{10}(\text{BF})$ 大于 1 时, 认为位点受到强烈的正向选择^[24]。

利用 Arlequin 3.5 软件^[25]开展分子方差分析 (AMOVA) 并统计群体间遗传分化指数 (F_{ST}); 基于群体间 Nei's 遗传距离利用 MEGA 5.0 软件^[26]构建群体间的 UPGMA 遗传进化树; 利用 GENALEX 6.5 软件^[27]基于群体和个体间遗传距离进行主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA); 利用 STRUCTURE 2.3.4 软件^[28]对 6 个鲤群体参试个体的遗传结构作图, 最佳 K 值根据 Evanno 等^[29]的方法确定。

2 结果

2.1 位点多态性和群体遗传多样性水平

对微卫星位点的分型结果见图 1。对各位点的多态性参数的统计结果见表 3。12 个微卫星位点在 6 个鲤群体内共检测到 341 个等位基因, 平均 N_a 为 28.67 个, 平均 N_e 为 11.88 个; H_o 和 H_e 分别为 0.48~0.95 和 0.83~0.95; PIC 为 0.81~0.95, 12 个位点均为高度多态性位点 (PIC>0.5); 12 个位

点在野生群体中均符合哈-温平衡, 而在选育群体中除 HLJ308 位点外, 其余 11 个位点均极显著偏离哈-温平衡 ($P<0.01$)。

在对 12 个微卫星位点进行选择压力分析前, 对 6 个群体依据选育/野生进行分组, 即清水江鲤、太湖鲤、黄河鲤和黑龙江鲤为野生组, 福瑞鲤和松浦镜鲤为选育组; 对位点的选择压力分析结果显示 (图 2), 在 HLJ1127 位点显示出强烈的正向选择压力。再分别对 4 个野生群体和 2 个选育群体进行选择压力分析, 未检测到受强烈选择压力的位点。

鲤 6 个群体的遗传多样性分析结果见表 4。群体的平均 N_a 由高到低依次为清水江鲤、太湖鲤、黄河鲤、黑龙江鲤、福瑞鲤和松浦镜鲤。平均 H_o 最高的为黑龙江鲤群体, 最低的是松浦镜鲤群体; 清水江鲤群体的平均 H_e 及 PIC 均为最高, 太湖鲤群体次之, 松浦镜鲤群体亦为最低。整体而言, 6 个鲤群体具有较高的遗传多样性水平, 且野生群体的遗传多样性水平普遍高于选育群体。

2.2 鲤群体间的遗传分化水平

根据分子方差分析结果 (表 5), 在不分组和分组情况下, 鲤群体的遗传变异均来自群体内的个体间, 分别占比 87.81% 和 86.33%; 未分组的群体间、野生组和选育组间、组内群体间的遗传分化均极显著 ($P<0.01$)。

鲤群体间遗传分化指数 (F_{ST}) 见表 6。参考 Balloux 和 Lugon-moulin^[30]对遗传分化等级的划分

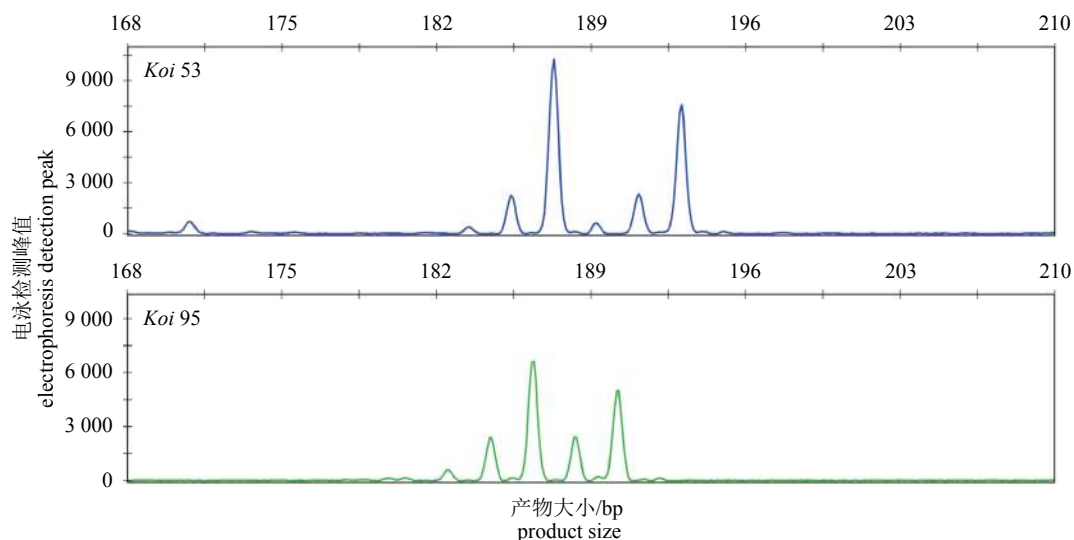


图1 鲤微卫星位点的毛细电泳分型结果图

Fig.1 Genotyping results of *C. carpio* microsatellites using capillary electrophoresis

表3 12个微卫星对6个鲤群体遗传多样性的检测结果

Tab.3 Statistics for genetic variation at 12 microsatellite loci in six populations of *C. carpio*

位点 locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC	哈-温平衡 HWE	
						野生群体 wild population	选育群体 selected population
<i>Koi53</i>	18	5.86	0.48	0.83	0.81	NS	**
<i>Koi87</i>	23	12.70	0.68	0.92	0.92	NS	**
<i>Koi95</i>	28	13.85	0.69	0.93	0.92	NS	**
<i>Koi113</i>	35	18.89	0.66	0.95	0.94	NS	**
<i>Koi115</i>	23	7.68	0.48	0.87	0.86	NS	**
<i>MFW18</i>	28	8.50	0.79	0.88	0.87	NS	**
<i>MFW20</i>	35	18.89	0.75	0.95	0.95	NS	**
<i>HLJ307</i>	30	14.99	0.85	0.94	0.93	NS	**
<i>HLJ308</i>	30	8.83	0.83	0.89	0.88	NS	NS
<i>HLJ316</i>	28	7.08	0.73	0.86	0.85	NS	**
<i>HLJ322</i>	32	9.42	0.87	0.89	0.89	NS	**
<i>HLJ1127</i>	31	16.18	0.95	0.94	0.94	NS	**
平均 mean	28.67	11.88	0.73	0.91	0.90	-	-

注: NS. 不显著 ($P>0.05$); **. 极显著偏离哈-温平衡 ($P<0.01$)

Note: NS. insignificant difference ($P>0.05$); **. very significant deviation from HWE ($P<0.01$)

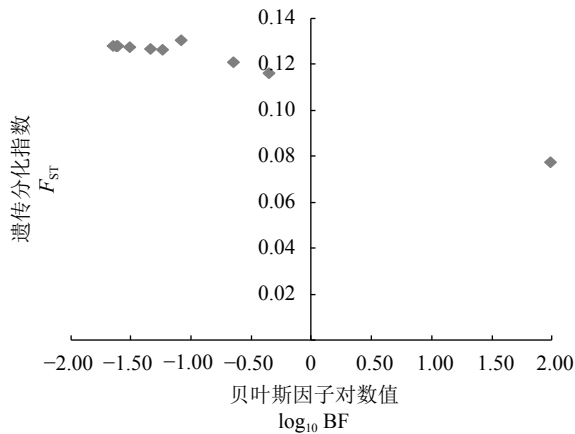


图2 鲤群体中选择压力位点分析结果

Fig.2 Detection of loci under selection in populations of *C. carpio*

依据, 判定野生群体间分化程度较低 ($0 < F_{ST} < 0.05$); 选育群体中福瑞鲤群体与野生群体间呈中度遗传分化 ($0.05 < F_{ST} < 0.15$), 而松浦镜鲤群体与其他鲤群体间均呈现高度遗传分化 ($F_{ST} > 0.15$)。

鲤群体间 Nei's 遗传距离见表 6。野生群体间的遗传距离普遍小于选育群体与野生群体间的遗传距离。基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类树 (图 3)

及主坐标分析 PCoA 结果 (图 4) 类似, 4 个野生群体首先聚类, 并与 2 个选育群体存在明显的遗传差异。

2.3 鲤群体的遗传结构分析

基于个体间遗传距离的主坐标分析 (PCoA) 结果显示 (图 5), 2 个选育群体内的个体与野生个体存在较明显的差异, 其中福瑞鲤与野生个体遗传差异相对更小; 4 个野生群体内的个体间遗传差异较小。

对鲤群体遗传结构分析, 通过假设 K 为 1~6, 结合各 K 假设的似然对数值 (图 6-a) 及 δK 值 (图 6-b) 的计算比较^[29], 认为当理论群体 $K=4$ 时, 接近真实假设 (图 7)。2 个选育群体的个体遗传结构相对单一, 并与野生群体的个体明显区分; 野生群体中清水江、太湖群体和黑龙江群体中的个体遗传结构也存在较高遗传相似度, 而黄河鲤个体的遗传结构存在一定程度的混杂。

3 讨论

研究中所用的 12 个微卫星标记, 在 6 个鲤群体的 N_a (6.82~21.25) 要比 Li 等^[11]的报道更丰富; 除了松浦镜鲤群体外, 其他鲤群体的 H_o 相对 Liao 等^[10]研究中长江流域及湖泊的鲤野生群体更

表4 鲤6个群体遗传多样性参数

Tab.4 Genetic diversity parameters of six populations of *C. carpio*

参数 index	清水江鲤 QSJ	太湖鲤 TH	黄河鲤 HHL	黑龙江鲤 HLJ	福瑞鲤 FRL	松浦镜鲤 SPJ
等位基因数 N_a	21.25	19.42	12.50	12.83	7.41	6.82
有效等位基因数 N_e	13.06	11.76	7.83	7.68	4.77	3.41
观测杂合度 H_o	0.80	0.78	0.79	0.83	0.73	0.54
期望杂合度 H_e	0.93	0.92	0.88	0.87	0.78	0.60
多态信息含量 PIC	0.91	0.90	0.85	0.84	0.73	0.50

表5 鲤群体基于微卫星标记的分子方差分析

Tab.5 Analysis results of molecular variance of microsatellites in *C. carpio* populations

变异来源 source of variation	平方和 sum of squares	方差组分 variance component	百分率/% percentage of variation	分化指数 fixation index
不分组 ungrouped				
群体间 among populations	218.48	0.62	12.19	$F_{ST}=0.12^{**}$
群体内 within populations	1 691.64	4.45	87.81	
总体 total	1 910.12	5.06		
区分组 (选育和野生) grouped (selection and wild)				
不同组间 among groups	78.86	0.21	4.04	$F_{CT}=0.04^{**}$
组内不同群体间 among populations within groups	139.62	0.50	9.63	$F_{SC}=0.10^{**}$
群体内 within populations	1 691.64	4.45	86.33	$F_{ST}=0.14^{**}$
总体 total	1 910.12	5.15		

注: **. 差异极显著 ($P<0.01$); 后表同此

Note: **. very significant difference ($P<0.01$); the same case in the following table.

表6 鲤群体间的遗传分化指数 (F_{ST} , 对角线以上) 和Nei's遗传距离 (D_A , 对角线以下)

Tab.6 Pair-wise F_{ST} (above diagonal) and Nei's genetic distance (below diagonal) among *C. carpio* populations

	清水江鲤 QSJ	太湖鲤 TH	黄河鲤 HHL	黑龙江鲤 HLJ	福瑞鲤 FRL	松浦镜鲤 SPJ
清水江鲤 QSJ		0.018**	0.023**	0.032**	0.094**	0.185**
太湖鲤 TH	0.328		0.011**	0.027**	0.074**	0.182**
黄河鲤 HHL	0.595	0.533		0.035**	0.076**	0.211**
黑龙江鲤 HLJ	0.650	0.437	0.783		0.087**	0.193**
福瑞鲤 FRL	1.054	0.895	0.807	0.821		0.212**
松浦镜鲤 SPJ	0.901	0.966	1.183	1.105	1.152	

高。研究中所用 12 个微卫星标记, 均呈现高度多态性 ($PIC>0.5$)^[31], 且在野生群体中均符合哈-温平衡, 说明较适用于鲤群体的遗传变异分析。研究中表现出较高的位点多态性及群体多样性水平, 反映了研究所用位点和群体本身的基本信息, 推测也与

实验中的样本量^[32]和使用的检测方法有关^[33]; 相比其他研究, 本研究所用样本量并没有太大的差异, 在微卫星的等位基因分型方法上采用了当前较为先进的毛细管电泳技术。Ren 等^[2]就基于微卫星标记的鲤群体研究进行了比较, 发现传统的丙烯酰

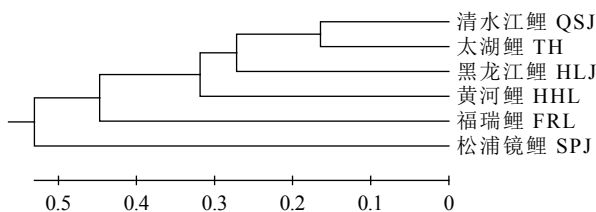


图3 鲤群体基于Nei's遗传距离构建的UPGMA聚类图

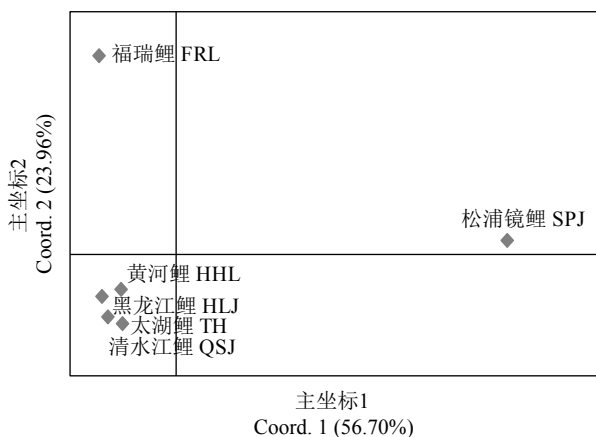
Fig.3 UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance among *C. carpio* populations

图4 鲤群体基于Nei's遗传距离的主坐标分析

Fig.4 Principal coordinates analysis results based on Nei's genetic distance among *C. Carpio* populations

胺凝胶电泳 (PAGE) 检测获得的平均 N_a 为 2.40~9.25, 而采用 ABI 测序仪毛细管电泳检测技术检测获得的平均 N_a 为 3.00~11.75; 本研究所用的多数位点曾被董在杰等^[3]用于对清水江鲤群体内部的遗传分化分析, 其基于 PAGE 的检测结果 (平均 N_a 为 10) 明显低于本研究中的水平。此外, 毛细管电泳技术在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[33-35]和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*)^[36]等水产动物的微卫星研究中也发现较高的 N_a (21.27~32.52)。因此, 认为更先进的检测技术能有效提高等位基因的检测分辨率和准确性。本研究中发现所有群体的 H_e 均高于 H_o , 说明它们存在杂合子缺失现象。而位点杂合子的缺失推测与无效等位基因的存在有关, 可反映近交、华伦德效应 (Wahlund effects) 和选择等生物学进程^[37]。此外, 研究发现在选育群体中多数位点表现出极显著偏离哈-温平衡, 这与 Xu 等^[9]和 Singh 等^[38]对鲤品种 (群体) 的研究结果类似, 推测这种现象是由于人工选育中固定交配设计和定向选择造成。本研究在对选育和未选育群体进行分组的选择压力分析中检测到 1 个位点呈现正

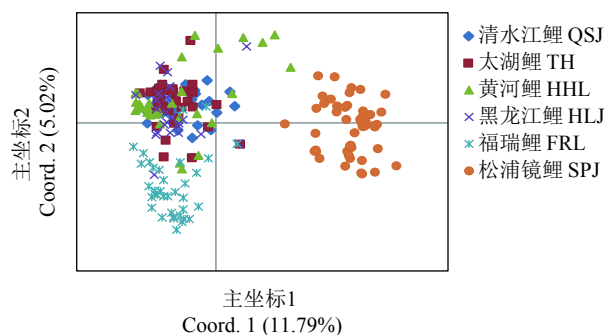


图5 鲤个体基于遗传距离的主坐标分析

Fig.5 Principal coordinate analysis based on genetic distance among *C. Carpio* individuals

向选择压力, 这种选择压力也曾在鲤的功能基因^[39]和分子标记位点^[9]中检测到, 推测在人工定向选择过程中, 部分个体所携带的遗传信息被淘汰, 导致种群原有的部分等位基因缺失, 进而引起杂合子缺失和偏离哈-温平衡等现象。

鲤在中国作为最早被驯化养殖的鱼类, 其野生资源被广泛用于品种选育和改良等工作。相比野生群体, 本研究中 2 个选育群体在等位基因位点、杂合度等参数上均呈现更低数值, 与 Lehoczky 等^[40]和 Xu 等^[9]在鲤群体中的研究结果相似。本研究中清水江鲤和太湖鲤群体表现出较高的遗传多样性水平, 可能与其受开发利用程度较低有关; 而另外 2 个野生群体 (黄河鲤和黑龙江鲤) 曾被当作育种材料用于品种选育^[12,15], 期间可能会对其遗传多样性造成一定程度的影响, 如鲁翠云等^[12]曾报道黄河鲤有出现资源萎缩和种质退化的现象。而 2 个选育品种表现出更低的遗传多样性水平, 与多代人工选择造成较高种质纯度有关, 符合本文中对位点选择压力及遗传结构的分析结果。此外, 2 个选育品种表现出遗传多样性水平的差异, 推测与育种基础群和育种技术有关; 其中松浦镜鲤由德国镜鲤经多代群体选育培育而成, 福瑞鲤为建鲤和黄河鲤杂交后多代 BLUP 家系选育培育而成^[14], 后者的杂交来源和家系选育有助于其遗传多样性的维持; 福瑞鲤相对于其他选育群体和原始亲本群体呈现较高的遗传多样性水平分别在鲁翠云等^[12]和曲疆奇等^[41]基于不同分子标记的研究中均有发现。

本研究 6 个鲤群体间呈现出不同程度的遗传分化水平, F_{ST} 为 0.011~0.212; 与其他鲤群体研究结果类似, 如 Singh 等^[38] (0.028~0.207)、Lehoczky 等^[40] (0.013~0.161)、Kohlmann 等^[42] (0.002~0.343) 和 Hu-

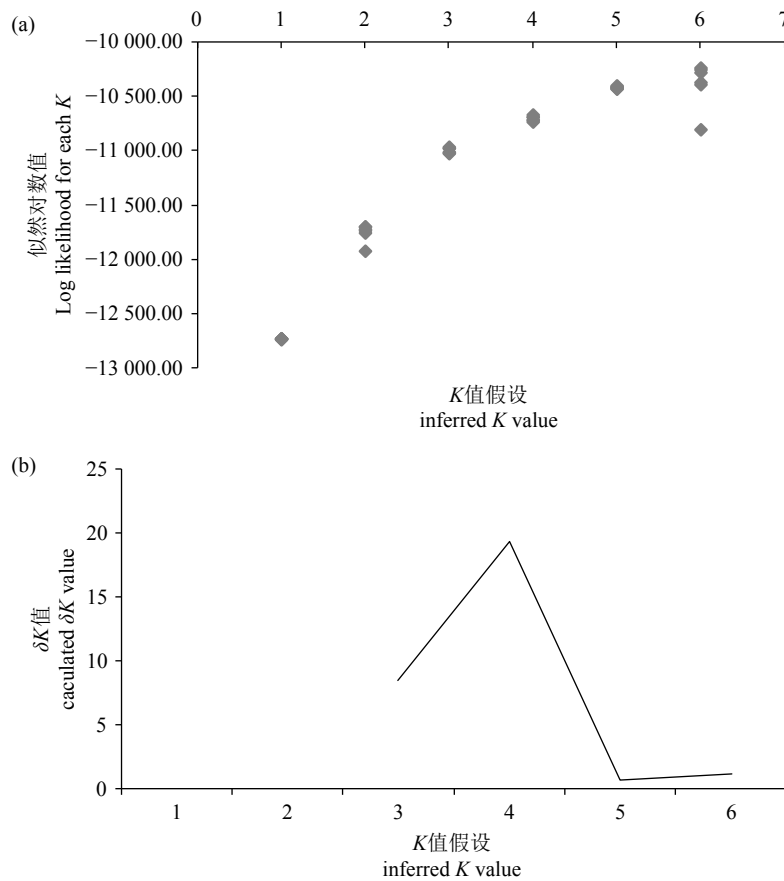


图6 基于不同K值假设的似然对数值(a)和 δK 计算结果(b)

Fig.6 Likelihood logarithmic value (a) and δK (b) calculated based on different K values

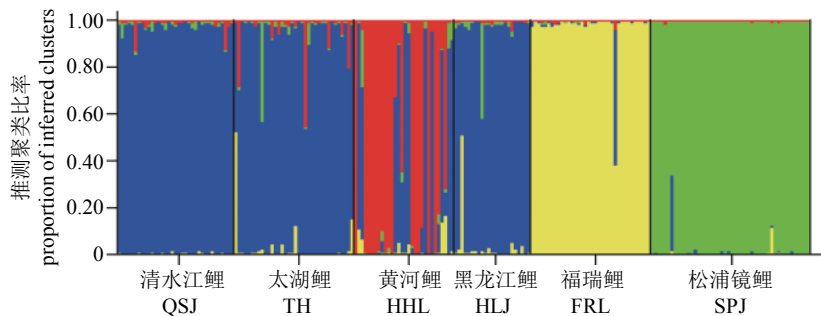


图7 在K=4假设下鲤6个群体中个体的遗传结构图

Fig.7 Genetic structure of individuals from six populations of *C. carpio* (K=4)

lak 等^[1](0.064~0.189)。其中由 4 个野生鲤群体间的 F_{ST} 范围, 认为它们之间的分化程度较低 ($F_{ST}<0.05$), 但显著性分析表明各野生群体间的遗传分化极其显著 ($P<0.01$)。鲤野生群体间这种较低水平的遗传分化与岳兴建等^[43](元江 5 个鲤群体间 F_{ST} 为 0.010 5~0.026 1)、Liao 等^[10](长江流域 3 个野生群体间的 F_{ST} 为 0.030 0~0.043 9) 和 Xu 等^[9](长江流域 2 个野生鲤群体间的 F_{ST} 仅为 0.001 4) 的研究结果类似, 推测这可能受基因流和地理隔离

两方面因素影响。鲤易于运输且具有悠久的养殖历史, 难免存在群体间的遗传渐渗; 而其广泛的资源分布, 相对的地理隔离又一定程度维持着群体间的遗传分化。对于选育群体来说, 福瑞鲤和松浦镜鲤群体, 与其他鲤群体间均表现高度遗传分化 ($F_{ST}>0.05$, $P<0.01$); 类似结果在 Xu 等^[9]的研究中也有发现, 其中 2 个养殖品种与野生群体的遗传分化水平最高 (F_{ST} 为 0.050 9~0.083 8)。这种遗传改良群体表现出来较高的遗传分化水平推测与选育群

体在逐代选育中不断积累优势基因型有关,且相对封闭的选育环境更限制了其他种质间的基因交流,从而容易形成各自稳定的遗传结构。本研究中群体间的 Nei's 遗传距离差异较大(0.328~1.125),与 Singh 等^[38](0.316~1.485)、Kohlmann 等^[42](0.124~0.975)和 Hulak 等^[1](0.622~2.759)在鲤群体的研究结果相似。其中部分选育群体与野生群体间的遗传距离(0.807~1.152)相对有些种间遗传距离还大,如张倩倩等^[44]对鳊属(*Parabramis*)和鲂属(*Megalobrama*)鱼类研究中的遗传距离(0.560 6~1.581 5);这种种内较大的遗传距离在大眼鳊(*Siniperca kneri*)野生群体间^[45]和团头鲂(*M.amblycephala*)选育群体间也有发现^[46],可能由地理隔离或人工封闭选育造成。结合对群体遗传聚类及遗传结构等分析不难看出,选育群体的遗传结构相对独立,与野生群体呈现出明显的差异。正如唐首杰等^[47]认为种群(群体)在选择压力下可能经历更快的遗传进化;相对自然选择过程,推测人工干预程度对位点等位基因频率存在重要的影响,尤其人工选择过程对其位点等位基因频率改变和群体遗传结构纯化的影响更大。

参考文献:

- [1] HULAK M, KASPAR V, KOHLMANN K, et al. Microsatellite-based genetic diversity and differentiation of foreign common carp (*Cyprinus carpio*) strains farmed in the Czech Republic[J]. *Aquaculture*, 2010, 298(3/4): 194-201.
- [2] REN W, HU L, GUO L, et al. Preservation of the genetic diversity of a local common carp in the agricultural heritage rice-fish system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(3): E546-E554.
- [3] 董在杰, 刘念, 朱文彬, 等. 清水江鲤基于微卫星标记和形态指标的遗传分析[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(1): 1-8.
- [4] XIAO T, LU C, XU Y, et al. Screening of SSR markers associated with scale cover pattern and mapped to a genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *J Appl Genet*, 2015, 56(2): 261-269.
- [5] 刘伟, 苏胜彦, 董在杰, 等. 3个鲤群体的微卫星标记与生长性状相关性分析[J]. *南方水产科学*, 2012, 8(3): 17-24.
- [6] ZHENG X, KUANG Y, LV W, et al. Quantitative trait loci for morphometric traits in multiple families of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 60(3): 287-297.
- [7] 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[J]. *水产学报*, 2004, 28(5): 481-486.
- [8] 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[J]. *动物学研究*, 2005, 26(6): 595-602.
- [9] XU L H, WANG C H, WANG J, et al. Selection pressures have driven population differentiation of domesticated and wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Genet Mol Res*, 2012, 11(3): 3222-3235.
- [10] LIAO X L, YU X M, TONG J O. Genetic diversity of common carp from two largest Chinese lakes and the Yangtze River revealed by microsatellite markers[J]. *Hydrobiologia*, 2006, 568(1): 445-453.
- [11] LI D, KANG D, YIN Q, et al. Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations[J]. *J Genet Genom*, 2007, 34(11): 984-993.
- [12] 鲁翠云, 张晓丽, 顾颖, 等. 福瑞鲤与豫选黄河鲤选育群体的遗传结构及亲本间遗传距离分布[J]. *中国水产科学*, 2016, 23(5): 1091-1098.
- [13] 桑滨, 鲁翠云, 李超, 等. 微卫星标记分析3个耐寒鲤品种的遗传多样性[J]. *生物学杂志*, 2017, 34(3): 24-32, 56.
- [14] 董在杰. 福瑞鲤选育技术和养殖对比试验[J]. *科学养鱼*, 2011(6): 41-42.
- [15] 石连玉, 李池陶, 葛彦龙, 等. 黑龙江水产研究所鲤育种概要[J]. *水产学杂志*, 2016, 29(3): 1-8.
- [16] 单云晶, 鲁翠云, 李超, 等. 基于线粒体 COI 基因序列的5种鲤养殖品种遗传多样性研究[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(5): 931-938.
- [17] 刘念, 傅建军, 董在杰, 等. 中国6个鲤群体的 mtDNA D-loop 序列遗传变异分析[J]. *水生态学杂志*, 2017, 38(3): 75-82.
- [18] DAVID L, RAJASEKARAN P, FANG J, et al. Polymorphism in ornamental and common carp strains (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by AFLP analysis and a new set of microsatellite markers[J]. *Mol Genet Genom*, 2001, 266(3): 353-362.
- [19] CROOIJMANS R P M A, van der POEL J J, GROENEN M, et al. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Anim Genet*, 1997, 28(2): 129-134.
- [20] 孙效文, 贾智英, 魏东旺, 等. 磁珠富集法与小片段克隆法筛选鲤微卫星的比较研究[J]. *中国水产科学*, 2005, 12(2): 126-132.
- [21] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. *Genetics*, 1978, 89(3): 583-590.
- [22] KALINOWSKI S T, TAPER M L, MARSHALL T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment[J]. *Mol Ecol*, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [23] FOLL M, GAGGIOTTI O. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective[J]. *Genetics*, 2008, 180(2): 977-993.
- [24] JEFFREY H. Some tests of significance, treated by the theory of probability[J]. *Math Proc Cambridge Philos Soc*, 1935, 31(2): 203-222.
- [25] EXCOFFIER L, LISCHER H E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. *Mol Ecol Resour*, 2010, 10(3): 564-567.

- [26] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [27] PEAKALL R, SMOUSE P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research[J]. *Mol Ecol Notes*, 2006, 6(1): 288-295.
- [28] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945-959.
- [29] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. *Mol Ecol*, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [30] BALLOUX F, LUGON-MOULIN N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers[J]. *Mol Ecol*, 2002, 11(2): 155-165.
- [31] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3): 314-331.
- [32] 高雅, 李生斌. STR 遗传多态性研究中样本数量对等位基因检出数量的影响[J]. *遗传*, 2008, 30(3): 313-320.
- [33] 傅建军, 李家乐, 沈玉帮, 等. 草鱼野生群体遗传变异的微卫星分析[J]. *遗传*, 2013, 35(2): 192-201.
- [34] LIU F, XIA J H, BAI Z Y, et al. High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis[J]. *Aquaculture*, 2009, 297(1/2/3/4): 51-56.
- [35] 朱冰, 樊佳佳, 白俊杰, 等. 金草鱼与中国4个草鱼群体的微卫星多态性比较分析[J]. *南方水产科学*, 2017, 13(2): 51-58.
- [36] 刘青, 刘皓, 吴旭干, 等. 长江、黄河和辽河水系中华绒螯蟹野生和养殖群体遗传变异的微卫星分析[J]. *海洋与湖沼*, 2015, 46(4): 958-968.
- [37] DANISH M, SINGH I J. Genetic diversity analysis of common carp (*Cyprinus carpio* var. *communis*) and *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) collected from hatchery by using microsatellite markers[J]. *Int J Chem Stud*, 2017, 5(3): 513-518.
- [38] SINGH E, SHARMA O P, JAIN H K, et al. Microsatellite based genetic diversity and differentiation of common carp, *Cyprinus carpio* in Rajasthan (India)[J]. *Nat Acad Sci Lett*, 2015, 38(3): 193-196.
- [39] 古珍珠, 杨新鑫, 胡建尊, 等. 瓯江彩鲤酪氨酸酶 (TYR) 基因的选择压力分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2016, 25(3): 329-336.
- [40] LEHOCZKY I, MAGYARY I, HANCZ C, et al. Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers[J]. *Hydrobiologia*, 2005, 533(1/2/3): 223-228.
- [41] 曲疆奇, 毕滢佳, 董在杰, 等. 应用 SRAP 标记分析福瑞鲤及其原始亲本的遗传结构[J]. *动物学杂志*, 2011, 46(5): 120-125.
- [42] KOHLMANN K, KERSTEN P, FLAJSHANS M. Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations[J]. *Aquaculture*, 2005, 247(1/2/3/4): 253-266.
- [43] 岳兴建, 邹远超, 王永明, 等. 元江鲤种群遗传多样性[J]. *生态学报*, 2013, 33(13): 4068-4077.
- [44] 张倩倩, 陈杰, 蒋霞云, 等. 不同鮰鱼类群体微卫星 DNA 指纹图谱的构建和遗传结构分析[J]. *水产学报*, 2014, 38(1): 15-22.
- [45] 杨慧荣, 欧阳徘徊, 李桂峰, 等. 用微卫星技术研究珠江流域三个野生大眼鳊群体的遗传多样性[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2015, 54(1): 103-109.
- [46] 唐首杰, 毕详, 王成辉, 等. 团头鲂3个选育群体遗传潜力的微卫星分析[J]. *南方水产科学*, 2017, 13(2): 59-68.
- [47] 唐首杰, 杨洁, 王成辉, 等. 驯养、选育条件下尼罗罗非鱼群体的选择压力分析[J]. *中国水产科学*, 2016, 23(4): 900-913.