

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

鲁双庆¹, 刘臻¹, 刘红玉², 肖调义³, 苏建明³

(1. 长沙大学 生物工程与环境科学系, 湖南 长沙 410003; 2. 湖南大学 环境科学与工程系, 湖南 长沙 410082; 3. 湖南农业大学 动物科技学院, 湖南 长沙 410128)

摘要:采用微卫星技术,用9对微卫星引物对4个鲫鱼群体普通鲫鱼(*C. auratus auratus*)、红鲫(*C. auratus red var.*)、白鲫(*C. auratus cuvieri*)和彭泽鲫(*C. auratus auratus var. Pengze*)的遗传多样性及亲缘关系进行研究。结果表明,4种鲫鱼的平均遗传杂合度值在0.607~0.721,其中白鲫0.721、红鲫0.652、彭泽鲫0.629、鲫鱼0.607;平均多态信息含量值在0.530~0.670,其中白鲫0.670、红鲫0.586、彭泽鲫0.549、鲫鱼0.530。由此可见,4个鲫鱼群体的遗传多样性总体水平较高,但白鲫的遗传多样性最高,鲫鱼的遗传多样性最低。在4种鲫鱼群体间,鲫鱼和白鲫群体间的遗传相似性指数最小(0.714),遗传距离值最大(0.286),说明这两种群体亲缘关系较远;白鲫与红鲫群体间遗传相似性指数最大(0.812),遗传距离值最小(0.188),这可推断白鲫与红鲫亲缘关系较近。聚类分析结果表明,白鲫和红鲫亲缘关系较近,而鲫鱼和彭泽鲫亲缘关系较近。研究鲫鱼遗传多样性对鲫鱼种质资源的保护和遗传改良具有重要意义。

关键词:鲫鱼;遗传多样性;微卫星

中图分类号:Q959.468 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2005)04-0371-06

中国鲫鱼(*Carassius*)共有2个种和1个亚种,普通鲫鱼(*C. auratus*)除西藏外各地均有分布,黑鲫(*C. carassius*)仅分布在新疆额尔齐斯河流域,银鲫(*C. auratus gibelio*)亚种,分布于黑龙江流域^[1]。长期以来,水产科学工作者对鲫鱼进行人工选育和遗传改良^[2],培育出了变异的鲫鱼群体,使中国鲫鱼种质资源呈现丰富的遗传多样性和比较高的环境适应能力,蕴涵着比较大的进化潜能以及比较丰富的育种和遗传改良能力。因此,分析鲫鱼的遗传多样性、群体间的遗传变异及亲缘关系对鲫鱼种质资源的保护和鲫鱼遗传改良具有重要的意义。

与RAPD技术及AFLP技术相比,微卫星技术在分析遗传多样性方面更具有优势,现已被广泛应用于农作物^[3]、畜牧^[4]、家禽^[5]、鱼类^[6]等的分析中。采用分子遗传标记技术研究鲫鱼遗传多样性与亲缘关系,国内外研究报道不多,周莉^[8-7]采用微卫星技术和RAPD技术研究了不同雌核发育系银鲫的遗传多样性,发现不同系间的扩增图谱呈现了高度的遗传异质性。宋平等^[8]用RAPD技术分析出普通鲫鱼具有较为丰富的遗传多样性。此外,还有用线粒体DNA技术分析部分鲫鱼群体间的亲缘关系的

报道^[9-10]。迄今为止,尚未见其他用微卫星技术研究鲫鱼遗传多样性的相关报道。

本研究选用中国具有代表性的养殖群体普通鲫鱼、红鲫、白鲫及彭泽鲫为材料,用微卫星技术分析种内的遗传多样性及种间的亲缘关系,为中国建立和完善水产种质资源数据库提供鲫鱼遗传背景的相关资料,同时也为制订鲫鱼分子生物学种质标准提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

鲫鱼(*C. auratus auratus*,以下简称“J”)取自湖南农大水产养殖场,25尾;红鲫(*C. a. red var.*,以下简称“H”)取自湖南农大水产养殖场,30尾;白鲫(*C. a. cuvier*,以下简称“B”)购于湖南湘云鲫科技公司,25尾;彭泽鲫(*C. a. auratus var. Pengze*,以下简称“P”)购于长沙市综合渔场,30尾。

1.2 微卫星PCR反应仪器及试剂

PCR仪(GeneAmp PCR System 2400)为Bekon ELMer公司生产,高速冷冻离心机(Eppendorf 5417R)为德国Eppendorf公司生产,凝胶成像系统

收稿日期:2004-10-25; 修订日期:2005-01-04。

基金项目:湖南省教育厅青年科研项目(03B001);湖南省自然科学基金(03JJY4010)。

作者简介:鲁双庆(1963-),男,博士,教授。研究方向:鱼类分子生物学。E-mail:lsq4250440@yahoo.com.cn

(pland CA91786, USA) 为美国 UVP 公司生产。TaqDNA 聚合酶、dNTPs 购自上海生物工程公司 (Sangon), pBR322 DNA/Msp I Markers 及上样缓冲液是美国 Promega 公司的产品。

1.3 微卫星引物

微卫星引物由教育部重点实验室湖南师范大学蛋白质与鱼类发育生物学实验室惠赠。

1.4 基因组 DNA 的提取

取鲫鱼血液组织, 用苯酚-氯仿法参考文献 [13] 的程序进行。

1.5 微卫星 PCR 扩增条件及产物检测

PCR 反应体系: 反应体积为 25 μ L, 反应混合液组成为 10 $\times$ PCR buffer (2.5 μ L)、dNTP (0.2 mmol/L)、MgCl₂ (1.2 mmol/L)、Primer⁺ (0.2 μ mol/L)、Primer⁻ (0.2 μ mol/L)、Taq 聚合酶 (1.2 U)、DNA

Template (30~50 ng)、加 ddH₂O 至反应体积为 25 μ L、矿物油 1~2 滴。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 55 s, 50~60 $^{\circ}$ C 退火 (因引物而异) 55 s, 72 $^{\circ}$ C 链延伸 1 min, 32 个循环; 再于 72 $^{\circ}$ C 下延伸 7 min。以上为基本反应条件, 每次 PCR 设置空白对照。筛选特异性强、重复性好及条带明亮的 9 对微卫星引物及 PCR 反应条件见表 1。

PCR 扩增产物检测: 扩增产物经 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染色。将固定后的聚丙烯酰胺凝胶放入凝胶成像系统, 扫描用凝胶分析软件 Labwork (3.0.2 版), 计算各微卫星等位基因大小。

1.6 数据处理

1.6.1 等位基因及频率 微卫星标记基因呈共显性, 直接从表型获知其基因型, 再根据等位基因出现的次数计算其基因频率。

表 1 9 对微卫星引物及 PCR 反应条件

Tab.1 Primers of nine microsatellites DNA and conditions of PCR

微卫星基因座 Microsatellite locus	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer	MgCl ₂ / (mmol·L ⁻¹)	退火温度/ Ann. temp
MFW14	CAGAAGCTTCTGGAAATCTGAG	GCGAGAAGATTGATGGACAAC	1.4	58.0
MFW16	GTCATTGTGTCAAGATAGAC	TCTTCATTTCAGGCTGCAAAG	1.5	52.0
MFW18	GTCCTGGTAGTGAGTGAGT	GCGTTGACTTGTTTTATAGTAG	1.0	55.5
MFW24	GCTCCAGATTGCACATTATAG	CTACACACAAGCAGAGCCTTTC	1.4	52.0
MFW25	ATTGTGAAGCATCGGTAATGC	TACTTGATTGCTATTGGAC	1.4	55.0
MFW26	CCCTGAGATAGAAACCACTG	CACCATGCTTGGATGCAAAAG	1.4	56.0
MFW28	GATCCCTTTTGAATTTTCTAG	ACAGTGAGGTCCAGAAGTCG	1.4	60.5
MFW29	GTTGACCAAGAAACCAACATGC	GAAGCTTTGCTCTAATCCACG	1.3	55.0
MFW32	CACTGACAGTTCACAGGCG	CATTCCTGCATTGCGGAG	1.4	54.0

1.6.2 遗传杂合度 (H) 按公式 (1) (Nei M 等, 1974)^[12] 计算, 多态信息含量 (PIC) 按公式 (2) (Botstein 等, 1980)^[13] 计算:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 \quad (1)$$

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{j=1}^{n-1} \sum_{i=j+1}^n 2P_j P_i^2 \quad (2)$$

1.6.3 遗传相似性指数 (I) 按公式 (3) (Nei M, Li W H, 1979)^[14] 计算, 遗传距离 (D) 按公式 (4) (Nei M, Li W H, 1979)^[14] 计算:

$$I = 2N_{ij} / (N_i + N_j) \quad (3)$$

$$D = 1 - I \quad (4)$$

其中 P_j 和 P_i 分别为第 j 和第 i 个等位基因的频率, n 为等位基因个数, N_{ij} 是材料 i 和 j 之间共同的等位基因, $N_i + N_j$ 是两个材料所有的等位基因数。

1.6.4 聚类分析 参考文献 [15], 根据群体间遗传距离, 采用非加权配对算术平均法 (Unweighted Pair Group Method using arithmetic Average, UPGMA) 构建 4 种鲫鱼群体的系统树, 以分析群体间的亲缘关系。

2 结果与分析

2.1 遗传杂合度和多态信息含量

9 个微卫星位点在 4 种鲫鱼中的等位基因频率、遗传杂合度和多态信息含量统计结果分别见表 2 和表 3。

多态信息含量 (PIC) 是衡量片段多态性的较好指标。Botstein 等^[13] 首先提出了衡量基因变异程度高低的的多态信息含量指标: 当 $PIC > 0.5$ 时, 该位点为高度多态位点; $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态性位点; $PIC < 0.25$ 时为低度多态位点。表 3 显示, 从

表2 4种鲫鱼群体9个微卫星位点等位基因频率

Tab.2 Frequencies of nine microsatellites DNA loci among four populations of *Carassius* sp.

座位/基因 Locus/Allele	J	P	B	H	座位/基因 Locus/Allele	J	P	B	H
MFW14					MFW26				
279	0.667	0.454	0.300	0.112	182	0.124	0.166	0.221	
285			0.200	0.333	190			0.167	
291		0.182	0.100	0.222	204	0.313			0.176
297	0.333	0.364		0.222	210	0.313	0.417	0.278	0.118
305			0.400	0.111	237				0.236
MFW16					242	0.187			
186	0.462	0.500	0.456	0.417	270	0.063	0.417	0.278	0.294
340	0.076	0.200	0.272	0.250					
362	0.462	0.300	0.272	0.333	278			0.056	0.176
MFW18					MFW28				
164	0.240	0.188	0.217	0.142	112		0.040	0.214	
174	0.040		0.132	0.191	116	0.167	0.192	0.072	0.250
184	0.240	0.188	0.217	0.191	129	0.333	0.192	0.357	0.333
224	0.200		0.217	0.238	123	0.056	0.192		
236	0.080	0.312			151	0.333	0.192	0.357	0.417
238		0.312	0.217	0.238	155	0.112	0.192		
240	0.200				MFW29				
MFW24					205			0.214	
254	0.667	0.556	0.333	0.714	216			0.214	
260			0.500		246	0.500	0.500	0.143	0.500
280	0.333	0.444	0.167	0.286	250			0.288	
MFW25					269	0.500	0.500	0.143	0.500
98	0.062	0.09	0.188		MFW32				
114	0.250	0.455	0.250	0.308	203		0.334	0.182	0.230
122	0.188		0.188	0.308	217	0.600	0.333	0.182	0.385
126	0.375	0.455	0.312	0.384	229		0.333	0.364	
130	0.125		0.062		241	0.400		0.272	0.385

注: J—鲫鱼; P—彭泽鲫; B—白鲫; H—红鲫。

Note: J—*C. auratus auratus*; P—*C. auratus auratus* var. Pengze; B—*C. auratus casieri*; H—*C. auratus* red var.

表3 4种鲫鱼的遗传杂合度和多态信息含量

Tab.3 Polymorphism information content and heterozygosity among four populations of *Carassius* sp.

群体 Population	参数 Parameter	微卫星位点 Microsatellites DNA locus									平均 Average
		MFW14	MFW16	MFW18	MFW24	MFW25	MFW26	MFW28	MFW29	MFW32	
J	H	0.444	0.567	0.797	0.444	0.742	0.750	0.735	0.500	0.480	0.607
	PI	0.346	0.471	0.765	0.346	0.701	0.708	0.690	0.375	0.365	0.530
P	H	0.628	0.620	0.735	0.494	0.578	0.625	0.814	0.500	0.667	0.629
	PI	0.551	0.548	0.686	0.372	0.485	0.545	0.786	0.375	0.593	0.549
B	H	0.700	0.644	0.794	0.611	0.766	0.766	0.694	0.785	0.727	0.721
	PI	0.645	0.572	0.761	0.536	0.727	0.726	0.635	0.750	0.678	0.670
H	H	0.766	0.653	0.794	0.408	0.663	0.782	0.653	0.500	0.651	0.652
	PI	0.728	0.579	0.760	0.325	0.589	0.747	0.579	0.375	0.575	0.586

注: J—鲫鱼; P—彭泽鲫; B—白鲫; H—红鲫。

Note: J—*C. auratus auratus*; P—*C. auratus auratus* var. Pengze; B—*C. auratus casieri*; H—*C. auratus* red var.

位点来看,最高 PIC 为彭泽鲫的 MF28 位点(0.786),最低的为红鲫的 MF24 位点(0.325);从群体来看,4 个群体鲫鱼在 9 个微卫星位点上的平均 PIC 为 0.584,其中白鲫平均 PIC 为 0.670,高度多态性位点占总位点的 100%;红鲫平均 PIC 为 0.586,高度多态性位点占总位点的 77.8%,中度多态性位点占总位点的 22.2%,彭泽鲫平均 PIC 为 0.549,高度多态性位点占总位点的 66.7%,中度多态性位点占总位点的 33.33%,鲫鱼平均 PIC 为 0.530,高度多态性位点占总位点的 44.4%,中度多态性位点占总位点的 55.6%。结果显示,本实验所选的 9 个微卫星位点具有丰富的多态性,可作为鲫鱼遗传标记分析有效的微卫星引物,用来分析鲫鱼的遗传多样性及亲缘关系切实可行。

遗传杂合度(H)又称基因多样性,反映各群体在 n 个位点上的遗传变异。它是度量群体遗传变异的参数之一^[18]。表 3 显示,4 种鲫鱼的遗传杂合度在 0.444 至 0.814 间,平均遗传杂合度值在 0.607~0.721,其中平均遗传杂合度最高的是白鲫(0.721),其次是红鲫(0.652),再次为彭泽鲫(0.629),鲫鱼最低(0.607)。王昕等^[17]也认为,微卫星标记比血型、蛋白质位点更具有多态性,由血型、蛋白质位点计算出的遗传杂合度一般在 0.3~0.8。

2.2 遗传相似性指数、遗传距离及聚类分析

研究表明,遗传相似系数是衡量群体间遗传变异程度的可靠参数。群体间亲缘关系越近,则遗传变异性越低,相似系数值越大^[18]。依据 9 个微卫星位点 PCR 扩增结果,计算出 4 种鲫鱼群体间的遗传相似性指数和遗传距离,结果见表 4。4 种鲫鱼中,群体间遗传相似性指数最小的为鲫鱼和白鲫(0.714),其遗传距离最大(0.286),说明这 2 种种群间遗传变异程度最高,亲缘关系最远;白鲫与红鲫的遗传相似性指数最大(0.812),其遗传距离最小(0.188),这可推断白鲫与红鲫亲缘关系较近。

根据群体间的遗传距离矩阵(表 4),用 UPGMA(Unweighted Pair Group Method using arithmetic Average, UPGMA)法分析 4 群体间的亲缘关系(图 1)。根据图 1 结果,本研究中的 4 种鲫鱼可分为 2 组:白鲫和红鲫为一组,鲫鱼和彭泽鲫为另一组。2 组间的遗传距离值为 0.258,这比二者的组内遗传距离值大,说明 4 种鲫鱼变异程度组间比组内高。

表 4 4 种鲫鱼群体间的遗传相似性指数及遗传距离

Tab.4 Genetic similarity indices and genetic distances among four populations of *Carassius* sp.

群体 Population	J	P	B	H
J	—	0.786 9	0.714 3	0.774 2
P	0.213 1	—	0.746 3	0.733 3
B	0.285 7	0.253 7	—	0.811 6
H	0.225 8	0.266 7	0.188 4*	—

注:1)数字矩阵对角线以上的数表示群体间的遗传相似性指数,数字矩阵对角线以下的数表示群体间的遗传距离。其中*为表中的遗传距离的最小值。

2)J—鲫鱼; P—彭泽鲫; B—白鲫; H—红鲫。

Notes: 1) The data above diagonal mean genetic similarity indices and below mean genetic distances. "*" means the smallest genetic distance.

2) J—*C. auratus auratus*; P—*C. auratus auratus* var. Pengze; B—*C. auratus auratus*; H—*C. auratus* red var.



图 1 4 种鲫鱼群体的聚类分析图

Fig.1 Cluster dendrogram of the four breed varieties of *Carassius* sp.

3 讨论

3.1 鲫鱼的遗传多样性及亲缘关系

多态信息含量和遗传杂合度都可用来衡量群体内的遗传多样性,其值的大小反映群体遗传多样性的高低。遗传多样性是每种生物所固有的特性,它是长期适应环境与进化的产物,遗传多样性越高则意味着适应生存能力越强,蕴涵着比较丰富的育种和遗传改良能力。因此,遗传多样性可以为育种材料的选择提供一定的参考。本研究结果显示,4 群体的鲫鱼遗传多样性均较高,其多样性程度由高到低的顺序依次为:白鲫、红鲫、彭泽鲫、鲫鱼。宋平等^[8]认为,普通鲫鱼具有较为丰富的遗传多样性。这与本研究结果一致。白鲫(平均遗传杂合度和多态信息含量分别为 0.721 和 0.670)和红鲫(平均遗传杂合度和多态信息含量分别为 0.652 和 0.586)显示较高的遗传多样性,蕴涵着较丰富的育种和遗传改良能力。陈敏容、杨兴棋等^[19-20]以白鲫(♀)和红鲫(♂)为材料进行群体遗传改良,改良后的群体具有明显的生长优势。刘筠等^[21]用白鲫、红鲫及湘

江野鲤进行群体改良,改良后的群体(湘云鲫)具有明显的优势经济性状。

群体间的遗传距离是遗传变异的尺度,遗传距离越小,预示着彼此间亲缘关系越近。据报道,白鲫与红鲫大约在200万年前从鲫鱼群体中分化出来^[21],而彭泽鲫是鲫鱼的一个地方种群,大约在10多万年前从鲫鱼群体中分化出来^[22]。侯亚义等^[23]从蛋白质水平分析出异育银鲫和鲫的亲缘关系较近,而白鲫与异育银鲫和鲫的亲缘关系较远。张辉等^[22]认为银鲫和鲫同属于一个物种,银鲫和鲫这两个亚种的分化年代大约在11万年前完成,而彭泽鲫属于银鲫的一个地方种群。本实验从遗传相似性指数、遗传距离及聚类分析等方面都为这些推断提供了佐证:白鲫和红鲫从鲫鱼中分化出来,在长期的自然选择下二者可能产生基因渐渗,而导致它们在亲缘关系上较近,而彭泽鲫与鲫鱼亲缘关系较近。越早分化出来的群体,遗传变异度越大。

3.2 关于实验样本大小与实验结果的可靠性

实验样本的大小是衡量样本代表性及实验结果的可靠性的重要依据。根据 Tajima^[24]的DNA序列抽样分布理论,在DNA水平上估计群体变异时,样本数量 $n=10$ (甚至5)就可以了。Mathur^[25]指出,应用DNA指纹标记时,每群体或品系有13~20个个体就可以获得遗传变异的合理估计值。上述理论为较精确地探明自然界DNA水平的变异,并最大限度地控制和节省试验消耗提供了理论依据。周莉、刘静霞等在人工雌核发育的锦鲤^[26-27]和银鲫^[4]的遗传多样性研究中,每种群体取样均在10个个体以下。刘萍等^[28]在不同地理群体的中国对虾微卫星DNA的多态性分析中,每种样本数目也低于20个个体。本研究从样品个体数量上(25~30尾)保证了实验结果的可靠性。

3.3 关于样本的代表性

一般而言,鱼类遗传多样性研究的取材主要集中在野生群体,而养殖群体的取材往往被忽略。鱼类养殖群体相对野生群体而言,虽然由于受瓶颈作用、遗传漂变、近亲繁殖、自交等因素的影响,其遗传多样性有所丧失^[29-30],但只要选用足够量有代表性的亲本群体及合适的繁育策略,依然可以阻碍遗传多样性的降低^[31],因此,养殖群体也可具有较高的遗传多样性。目前,美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[32]、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[33]、鮟鱇状黄姑鱼(*Nibea miichthioides*)^[34]等养殖群体的遗传多样性已有报道,遗传多样性的分析结果对这些主要

的养殖群体的种质资源的保护和人工育种具有重要的意义。长期以来,鲫鱼一直是中国渔业生产的主要传统养殖品种,由于受人工养殖的悠久历史和当前鱼类繁育场片面追求经济效益的影响,遗传育种中的亲本多采用养殖群体。因此,本实验采用了中国具有代表性的4鲫鱼养殖群体:白鲫、彭泽鲫、红鲫及普通鲫鱼。本研究的结果显示4种人工养殖群体的鲫鱼遗传多样性均较高。

参考文献:

- [1] 孟庆闻. 鱼类学(形态分类)[M]. 上海:上海科技出版社, 1989: 24.
- [2] 刘少军, 孙远东, 崔 纯, 等. 三倍体鲫鱼—异源四倍体鲫鲤(♂)×金鱼(♀)[J]. 遗传学报, 2004, 31(1): 31-38.
- [3] 冯宗云, 张义正, 张立立, 等. 应用微卫星标记研究西藏野生二棱大麦的遗传多样性及地理分化[J]. 高技术通讯, 2003, 13(10): 46-53.
- [4] 张桂香, 王志刚, 孙飞舟, 等. 56个中国地方猪种微卫星基因座的遗传多样性[J]. 遗传学报, 2003, 30(3): 225-233.
- [5] 朱 庆, 李 亮. 不同地方乌骨鸡种群遗传多样性的微卫星DNA分析[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(3): 213-216.
- [6] 周 莉, 刘静霞, 桂建芳. 应用微卫星标记对雌核发育银鲫的遗传多样性初探[J]. 动物学研究, 2001, 22(4): 257-264.
- [7] 周 莉, 桂建芳. 银鲫两个雌核发育克隆间两性生殖子的遗传多样性分析[J]. 实验生物学报, 2001, 24(3): 169-175.
- [8] 宋 平, 周 伟, 潘云峰. 普通鲫鱼的RAPD标记及其遗传多样性[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 2000, 46(6): 721-725.
- [9] 黎双飞, 刘少军, 刘 菊, 等. 4个鲫鱼种群线粒体DNA的限制性酶切分析[J]. 动物学研究, 2000, 21(6): 432-436.
- [10] 樊连春, 熊宇鹏, 朱庭丰, 等. 雌核发育银鲫两个不同种群线粒体DNA比较[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(4): 370-377.
- [11] 刘 楠, 鲁双庆, 肖调义, 等. 鲫鱼基因组DNA提取方法的探讨[J]. 水利渔业, 2004, 24(6): 20-22.
- [12] Nei M, Roychoudhury A K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance [J]. Genetics, 1974, 76(2): 379-390.
- [13] Botstein D, White R L, Skolnick M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. Am J Hum genet, 1980, 32: 314-331.
- [14] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [A]. Proceedings of the National Academy of Sciences[C]. 1979, 76: 5 269-5 273.
- [15] 肖调义, 张学文, 李怀云, 等. 洞庭湖四种黄颡鱼基因组DNA遗传多样性的RAPD分析[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(3): 85-89.
- [16] Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations[J]. Evolution, 1975, 29: 1-10.
- [17] 王 昕, 曹红鹤, 耿社民, 等. 利用微卫星标记对中国4种小型鲫的遗传多样性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2002, 33(6): 530-532.
- [18] Pinkey Y, Cahnner A, Haberfeld A. DNA Fingerprint bands applied to linkage analysis with quantitative trait loci in chickens [J]. Animal Genetics, 1993, 24: 105-110.

- [19] 陈敏容, 杨兴棋, 俞小牧, 等. 白鲫(♀)×红鲫(♂)异源四倍体鱼的倍性操作及其生殖力的研究[J]. 水生生物学报, 1997, 21(3): 198-206.
- [20] 杨兴棋, 陈敏容, 俞小牧, 等. 三倍体白鲫的生物学特性[J]. 水生生物学报, 1994, 18(2): 156-163.
- [21] 刘 筠, 刘少军, 孙远东, 等. 多倍体鲫鱼[J]. 中国农业科技导报, 2003, 5(6): 3-6.
- [22] 张 辉, 董新红, 叶玉珍, 等. 三个三倍体鲫鱼种群及野鲫 mtDNA 的比较研究[J]. 遗传学报, 1998, 25(4): 330-336.
- [23] 侯亚义, 袁传南. 异育银鲫、鲫和白鲫的肌原蛋白及同工酶(Est, MDH)的电泳比较研究[J]. 南京师范大学学报(自然科学版), 1989, 12(3): 69-74.
- [24] Tajima F. Evolution Relationship of DNA Sequences in Finite population[J]. Genetics, 1983, 105: 437-460.
- [25] Mathur P K, Perusakilli S, Groen A F, et al. Estimation of genetic variability within and between populations using DNA fingerprints Proc[A]. 5th World Congr Genet Appl Livest Prod [C]. Guelph, 1994, 21: 528.
- [26] 周 莉, 桂建芳. 银鲫两个雌核发育克隆间两性生殖子代的遗传多样性分析[J]. 实验生物学报, 2001, 34(3): 169-176.
- [27] 刘静霞, 周 莉, 赵振山, 等. 锦鲤4个人工雌核发育家系的微卫星标记研究[J]. 动物学研究, 2002, 23(2): 97-105.
- [28] 刘 萍, 孟克红, 孔 杰, 等. 中国对虾微卫星 DNA 多态性分析[J]. 自然科学进展, 2004, 14(3): 3-338.
- [29] 庄志猛, 孔 杰, 石 拓. 日本对虾野生和养殖群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 自然科学进展, 2001, 11(3): 250-255.
- [30] 李星云, 张海琪, 薛良义. 网箱养殖大黄鱼遗传多样性的同工酶和 RAPD 分析[J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 523-525.
- [31] 黄 磊, 王义权. 扬子鳄种群的微卫星 DNA 多态及其遗传多样性保护对策分析[J]. 遗传学报, 2004, 31(2): 143-150.
- [32] 刘世禄, 王 波. 美国红鱼养殖种群的同工酶谱及其生化遗传初步分析[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(3): 10-14.
- [33] 全成干, 王 军, 丁少雄, 等. 大黄鱼养殖群体遗传多样性的同工酶分析[J]. 厦门大学学报(自然科学), 1999, 38(4): 584-588.
- [34] 丁少雄, 王 军. 鮰状黄姑鱼养殖群体的遗传多样性[J]. 科学通报, 1998, 43(21): 2, 294-2, 299.

Microsatellite DNA analysis of genetic diversity and the phylogenetic relationships of four breed varieties of *Carassius* sp.

LU Shuang-qing¹, LIU Zhen¹, LIU Hong-yu², XIAO Tiao-yi³, SU Jian-ming³

1. Department of Biotechnology & Environment Science, Changsha University, Changsha 410003, China;

2. Department of Environmental Science & Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China;

3. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: The genetic diversity and the phylogenetic relationships of four breed varieties of *C. auratus cuvieri*, *C. auratus* red var, *C. auratus auratus* and *C. auratus auratus* var. Pengze were studied by using microsatellite technology and nine pairs of microsatellite DNA primers. The results showed that the average heterozygosity of the four breed varieties of *Carassius* sp. ranged between 0.607 and 0.720, which was 0.720 for *C. auratus cuvieri*, 0.650 for *C. auratus* red var., 0.630 for *C. auratus auratus* var. Pengze, and 0.610 for *C. auratus auratus*. The average polymorphism information contents ranged from 0.530 to 0.650, with 0.650 for *C. auratus cuvieri*, 0.590 for *C. auratus* red var, 0.550 for *C. auratus auratus* var. Pengze, and 0.530 for *C. auratus auratus*. Thus, *C. auratus cuvieri* had the highest genetic diversity, but *C. auratus auratus* had the lowest among the four *Carassius* sp. breed varieties. The genetic similarity index between *C. auratus auratus* and *C. auratus cuvieri* was the lowest (0.714) among the four breed varieties of *Carassius* sp., and their genetic distance was the highest (0.286), which indicated that the phylogenetic relationship between these two breed varieties was quite far. On the other side, the genetic similarity index between *C. auratus cuvieri* and *C. auratus* red var was the highest (0.812), and their genetic distance was the lowest (0.188), which indicated a near phylogenetic relationship between *C. auratus cuvieri* and *C. auratus* red var. Cluster's analysis showed that the phylogenetic relationship of *C. auratus cuvieri* and *C. auratus* red var was quite near, as well as *C. auratus auratus* and *C. auratus auratus* var. Pengze was relatively near. It's very important to study the genetic diversity of *Carassius* sp. on its quality protection and hereditary bases modification.

Key words: *Carassius* sp.; genetic diversity; microsatellite DNA