

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15447

## 黄河鲤全同胞家系的微卫星标记亲子鉴定

王新华<sup>1,2</sup>, 俞小牧<sup>1</sup>, 冯建新<sup>3</sup>, 童金苟<sup>1</sup>

1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072;
2. 中国科学院大学, 北京 100039;
3. 河南省水产科学研究院, 河南 郑州 450044

**摘要:** 本研究利用 11 个高度多态的微卫星标记对 26 个黄河鲤(*Cyprinus carpio haematoperus*)全同胞家系中的 417 尾体重较大的正常体色个体(黄河鲤较大个体)和 52 尾红色个体(红鲤表型个体)进行了亲子鉴定。11 个微卫星座位的平均等位基因数、平均观测杂合度( $H_o$ )、平均期望杂合度( $H_e$ )和平均多态信息含量(PIC)分别为 8.2、0.792、0.792 和 0.76。当双亲未知且置信度为 95%时, 11 个座位的累积排除概率达 99.79%。除 29 尾黄河鲤较大个体以外, 388 尾黄河鲤较大个体和 52 尾红鲤表型个体准确地找到了其父母本, 实际鉴定率为 93.82%。通过对子代数超过 20 尾的 7 个黄河鲤家系生长性状的比较分析, 本研究成功鉴定出子代生长性状优良的黄河鲤亲本组合及其家系, 同时也鉴定出包含隐性红色基因的黄河鲤杂合亲本, 为进一步选育表型和体色纯正且生长快速的黄河鲤新品种提供了理论依据和技术手段。

**关键词:** 黄河鲤; 亲子鉴定; 微卫星; 鉴定率

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)05-1023-09

黄河鲤(*Cyprinus carpio haematoperus*)是我国黄河流域重要的经济鱼种, 也是我国历史上四大淡水名鱼(松江鲈、黄河鲤、兴凯湖鲌和松花江鲑)之一, 其肉质细嫩鲜美, 肌肉中蛋白质含量高于镜鲤、红鲤和其他水系的鲤鱼<sup>[1]</sup>。近年来, 由于人类活动的影响, 使黄河鲤野生资源量急剧下降, 纯正的野生黄河鲤已很难捕捞到<sup>[2]</sup>。为满足市场需求, 河南省水产科学研究院经过多代选育, 培育出了优良品种“豫选黄河鲤”。然而, 随着时间的推移, 现有的黄河鲤养殖品种已出现生长性状衰退及种质混杂等现象, 限制了黄河鲤养殖业的发展。可能的原因是在传统的黄河鲤选择育种中, 系谱信息不清, 易出现累代养殖与近交衰退现象。因此, 有必要在“豫选黄河鲤”的基础上开展进一步的遗传选育研究, 努力培育生长性状优良

的黄河鲤新品种。

亲子鉴定(parentage assignment)是利用生物学、分子遗传学及医学的理论和技術, 从子代和亲代的形态构造或生理机能、遗传的物质基础等方面的相似特点, 分析遗传特征, 判断亲代与子代是否有亲缘关系的方法<sup>[3]</sup>。在动植物选择育种过程中, 保持完整准确的系谱信息可以有效地指导亲本选留, 从而避免累代养殖和近交衰退现象。随着分子遗传学的发展, 多种 DNA 分子标记已应用到亲子鉴定中<sup>[4]</sup>, 而微卫星(microsatellite)标记, 即简单重复序列(simple sequence repeats, SSR), 凭借其数量多、分布广、多态性丰富、共显性遗传等优点<sup>[5-6]</sup>, 为亲子鉴定提供了新的途径和方法, 已被广泛应用于动植物的亲子鉴定中<sup>[6-8]</sup>。目前, 在水产动物中也有许多利用微卫星标记进

收稿日期: 2015-11-26; 修订日期: 2016-02-15.

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项项目(200903045); 淡水生态与生物技术国家重点实验室课题(2011FBZ20).

作者简介: 王新华(1988-), 女, 博士研究生, 研究方向为鱼类遗传学与分子育种. E-mail: xinhua wang123@163.com

通信作者: 童金苟, 研究员. E-mail: jgtong@ihb.ac.cn

行亲子鉴定研究。Vandeputte 等<sup>[9]</sup>利用 8 个微卫星标记在 10 个母本和 24 个父本杂交产生的混合家系中,为 95.3%的鲤鱼子代准确找到亲本;张春雷等<sup>[10]</sup>利用 7 个微卫星标记对 9 个哲罗鱼(*Hucho taimen*)混合家系(3 对真实亲本)的 90 尾个体进行亲子鉴定,在父母性别未知的情况下鉴定率便可达 92.2%;Wang 等<sup>[11]</sup>采用 16 个微卫星位点并结合荧光标记,对 81 个混合家系的 160 个牡蛎(*Crassostrea virginica*)子代进行亲子鉴定,结果所有子代均能对应到相应家系中。

本研究以同池养殖的 26 个黄河鲤全同胞家系中体重较大且体色正常的 417 尾个体(简称为黄河鲤较大个体)以及体色为红色的 52 尾个体(简称为红鲤表型个体)为材料,用高度多态的 11 个微卫星标记对其进行亲子鉴定,旨在从中鉴定出具有优良表型和生长性状的黄河鲤亲本和家系,从而为黄河鲤经济性状的遗传改良提供种质和技术基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

在 2011 年 4 月底通过人工授精技术对 52 尾黄河鲤亲本进行一对一随机交配,获得 26 个黄河鲤全同胞家系(依次命名为 1~26 号家系),每个家系孵化出膜的鱼苗数目为 500~1000 尾。7 日龄后,从每个家系随机选取 400 尾鱼苗放置于一个约 5000 m<sup>2</sup>的池塘中进行养殖,投喂商品颗粒饲料。当年 12 月干塘后,随机挑选 2000 尾子代进行性状测量。根据表型数据,选取体重值位居前 25%且体色无变异的 417 尾子代(简称黄河鲤较大个体)和体色为全红色的 52 尾子代(简称红鲤表型个体)用于亲子鉴定分析。剪取 26 组亲本(其中 25 号家系的父本和 26 号家系的母本样品缺失)及 469 尾子代的部分尾鳍并置于无水乙醇中保存备用。采用标准的酚-氯仿法提取基因组 DNA<sup>[12]</sup>。

### 1.2 微卫星位点的筛选

用随机挑选的 10 个黄河鲤亲本作为筛选材料,对本实验室已有的 522 个鲤微卫星位点的引物进行多态性筛选。PCR 扩增反应总体系为 12.5 μL:

含 50 ng 的基因组 DNA, 0.5 μL 引物(5 μmol/L), 0.4 μL dNTP (25 mmol/L), 0.1 μL *Taq* DNA 聚合酶(2.5 U/μL, Tiangen), 1.25 μL 10×Buffer 和 10 μL 超纯水。PCR 反应条件如下: 94℃ 预变性 4 min; 扩增 38 个循环, 每个循环 94℃ 变性 35 s、退火温度 35 s、72℃ 延伸 40 s; 72℃ 终延伸 10 min。PCR 扩增产物上样于 10%的聚丙烯酰胺凝胶中电泳分型。

### 1.3 微卫星位点分型

共选取多态性高且易于分型的 11 个微卫星位点用于 50 尾亲本和 469 尾子代的亲子鉴定分析,这 11 个位点的详细信息见表 1 (*XG*\*位点从兴国红鲤基因组序列中分离得到<sup>[13]</sup>; *Koi*\*位点来自日本锦鲤<sup>[14]</sup>; *HLJ*\*位点来自黑龙江鲤<sup>[15]</sup>; *CCE*\*位点从 GenBank 鲤 EST 序列中分离得到<sup>[16]</sup>)。11 个微卫星位点均在上游引物加接了荧光接头,用 Licor 4300 DNA Analyzer 进行分型。Licor 4300 DNA Analyzer 是利用红外染料技术及两个独立的红外荧光通道来检测荧光信号,其荧光染料分为 IR700 和 IR800 两种(Licor, USA)。荧光引物 PCR 反应体系总体积 12.5 μL, 含 50 ng 的基因组 DNA, 0.5 μL 荧光染料(5 μmol/L; 5'-CACGACGTTGT-AAAACGAC-3'; IR700 or IR800), 0.5 μL 上游引物(5 μmol/L), 0.5 μL 下游引物(5 μmol/L), 0.4 μL dNTP (25 mmol/L), 0.1 μL *Taq* DNA 聚合酶(2.5 U/μL, Tiangen), 1.25 μL 10×Buffer 和 9 μL 超纯水。PCR 反应条件如下: 94℃ 预变性 4 min; 扩增 20~21 个循环, 每个循环 94℃ 变性 35 s、退火温度 35 s、72℃ 延伸 40 s; 72℃ 终延伸 10 min。PCR 扩增产物 95℃ 变性 10 min 后立即置入冰水混合物中,待冷却后即可上样于 8%聚丙烯酰胺凝胶中电泳。电泳过程在一个全封闭式的 Licor 4300 DNA Analyzer 中进行,通过仪器内的两个高灵敏度的光电二极管检测器检测凝胶下端的荧光信号,同时把条带信息输出至电脑系统中。Licor 4300 标配的 Marker 上样于每块胶两侧的梳子孔内,用于系统自动读取每个等位基因的片段大小。为确保等位基因片段大小的准确性,电泳结束后需进行人工核对,最终确定等位基因大小。

表 1 微卫星引物信息表  
Tab. 1 Information of microsatellite markers

座位 locus	片段大小/bp size range	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	循环数 no. of cycling
<i>HLJ011</i>	202-240	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACTTAGCCAGCCAGAGACAAGC R: CACTGCCACAAACCCATCTA	20
<i>HLJ048</i>	151-183	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACGGGGTCTGTGTGTTGGTCTT R: CGGGGGAAATGTGTTTAAAGT	20
<i>CCE633</i>	242-300	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACCCAGTGTCTAAAATGTGTGCGC R: ACCAGCATCTCTCTGAAAAG	20
<i>Koi21</i>	217-245	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACTGTCCTTATTGCTCAGAAC R: CCACCACATTCATCACAT	20
<i>Koi12</i>	236-278	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACCTGACCCTGAAGAGAACAAC R: GCCTCATCAAAGACATCAAG	21
<i>HLJ009</i>	210-236	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACGGGGTCTGTGTGTTGGTCTT R: CGGGGGAAATGTGTTTAAAGT	20
<i>CCE547</i>	221-273	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACAGCCTTGTGTTCTGCTCTGGA R: GCCTCTGGTGGCAATGATTAT	21
<i>CCE621</i>	221-273	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACCACTCCTTGAAACCACAGA R: CACCTGAAGCCACAATCTA	20
<i>XG389</i>	161-217	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACTTTGCGGTCAGTTGTATTTG R: TGTGAGTGCTTTGGTTATGC	21
<i>XG238</i>	280-316	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACTACACCAAACCTCACAAC R: ATCACAGGCATCTGAACAC	21
<i>XG211</i>	276-336	F: <i>CACGACGTTG</i> TAAAACGACGAACAGTAGCAGACAGTGAGAG R: GTAGAAGCACCAATACAAAGAC	21

注: 引物序列中斜体部分是与荧光引物结合的接头。

Note: The italic in primer sequence was the adapter connected with the fluorescent primer.

### 1.4 数据统计与分析

测量得到 417 尾黄河鲤较大个体的体重(BW, g)、体长(BL, cm)和全长(TL, cm)3 个生长性状指标, 利用公式计算得到了鱼体肥满度  $K(K=100 \times BW/BL^3)$ 。52 尾红鲤表型个体只剪鳍条用于微卫星 DNA 分析, 未测量其他表型性状。统计所有亲本及 469 尾子代在 11 个微卫星位点的基因分型数据, 然后利用亲子鉴定软件 Cervus 3.0 进行分析。利用广义线性模型(general linear model, GLM: SPSS19.0)对亲子鉴定得到的不同黄河鲤家系间的生长性状进行比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 生长性状分析

417 尾黄河鲤较大个体的体重测量值为 111.5~186 g, 平均为 146.27 g; 体长测量值为 17.5~21.2 cm, 平均为 18.98 cm; 全长测量值 21.1~25.4 cm, 平均为 22.45 cm; 鱼体肥满度为 1.77~2.47, 平均为 2.13。

### 2.2 微卫星位点信息参数及排除率分析

通过对 522 个鲤微卫星位点的筛选, 共得到 391 个多态位点, 选取其中 11 个等位基因数目大于 5 且条带清晰的微卫星标记用于亲子鉴定分型(表 1), 部分电泳结果见图 1。

这 11 个微卫星位点共检测到 90 个等位基因(表 2), 每个位点的等位基因数为 5~12 个(平均 8.2 个); 观测杂合度为 0.642~0.876(平均 0.792); 期望杂合度为 0.702~0.857(平均 0.792); 多态信息含量(PIC)为 0.676~0.84(平均 0.76)。Hardy-Weinberg 平衡检验显示, 11 个位点均显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡。

在双亲基因型都未知的情况下, 11 个微卫星位点的多态信息含量与其排除概率成正比, 每个位点的单独排除概率范围为 30.3%~55.0%, 累积排除概率为 99.79%。微卫星位点的数量与累计排除概率之间的关系如图 2 所示: 微卫星位点数目增多, 排除率也随之增大; 当微卫星标记数量为 8 时, 累积排除概率达到 99.3%以上。

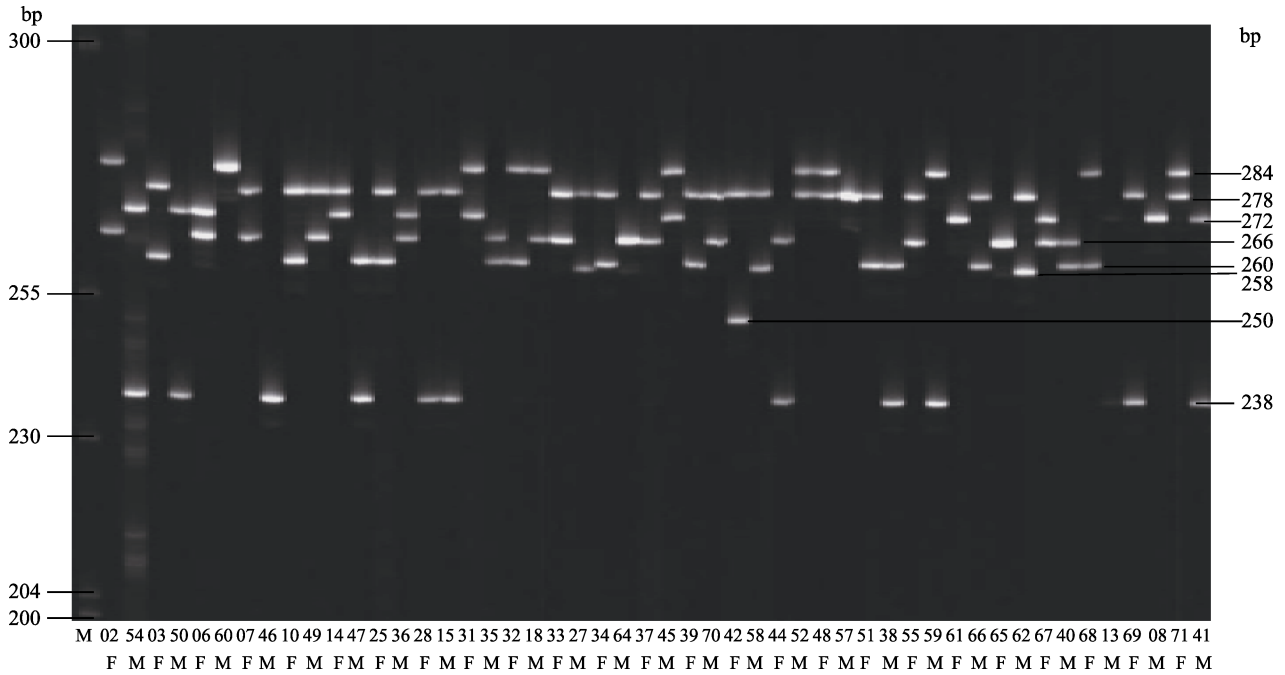


图 1 50 尾黄河鲤亲本在 *Koi12* 位点上的等位基因

Fig. 1 The alleles in 50 *Cyprinus carpio haematoperus* parents on *Koi12* locus

表 2 11 个微卫星位点在黄河鲤混合家系中的参数值

Tab. 2 Parameter values of the 11 microsatellite loci in *Cyprinus carpio haematoperus* mixed family

座位 locus	等位基 因数 $N_a$	观测杂 合度 $H_o$	期望杂 合度 $H_e$	多态信 息含量 PIC	零等位 基因频 率 $F_{null}$	亲本基因型 未知的排除 概率 E-1P	已知一亲本 基因型的排 除概率 E-2P	父母对的排 除概率 E-PP	两个无关个 体的排除概 率 E-I	同一家系两个 随机个体排除 概率 E-SI
<i>HLJ011</i>	6	0.790	0.790	0.756	+0.002	0.402	0.581	0.761	0.922	0.625
<i>HLJ048</i>	9	0.805	0.702	0.665	-0.083	0.303	0.484	0.680	0.875	0.569
<i>CCE633</i>	9	0.758	0.784	0.763	+0.023	0.431	0.612	0.810	0.933	0.625
<i>Koi21</i>	7	0.642	0.795	0.763	+0.107	0.416	0.594	0.775	0.927	0.629
<i>Koi12</i>	8	0.839	0.837	0.815	-0.001	0.499	0.670	0.842	0.952	0.656
<i>HLJ009</i>	6	0.777	0.796	0.766	+0.010	0.422	0.600	0.783	0.929	0.63
<i>CCE547</i>	9	0.851	0.834	0.725	-0.066	0.375	0.554	0.747	0.909	0.606
<i>CCE621</i>	11	0.876	0.725	0.814	-0.029	0.504	0.673	0.849	0.952	0.655
<i>XG389</i>	5	0.805	0.857	0.676	-0.058	0.304	0.477	0.654	0.876	0.581
<i>XG238</i>	12	0.791	0.811	0.840	+0.039	0.550	0.712	0.878	0.963	0.669
<i>XG211</i>	8	0.783	0.777	0.782	+0.017	0.443	0.620	0.798	0.936	0.639
平均值 mean	8.2	0.792	0.792	0.760	-0.004	0.423	0.598	0.780	0.925	0.626
累积排除率 accumulating probability of exclusion	-	-	-	-	-	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999

2.3 亲子鉴定结果分析

亲本性别已知的情况下, 通过模拟 10000 个子代和 26 对亲本, 置信度为 95%时, 11 个微卫星位点的理论鉴定率达 100%。根据黄河鲤子代的实际基因分型数据, 在置信度为 95%时, 所有 469

尾子代均能找到亲本; 然而通过核对亲本对应关系的实验记录, 发现有 29 尾黄河鲤较大个体的鉴定结果与已知的亲本组合有偏差, 其余 440 尾的鉴定结果与已知的亲本组合完全吻合。因此, 本文的实际鉴定率为 93.82%(表 3)。

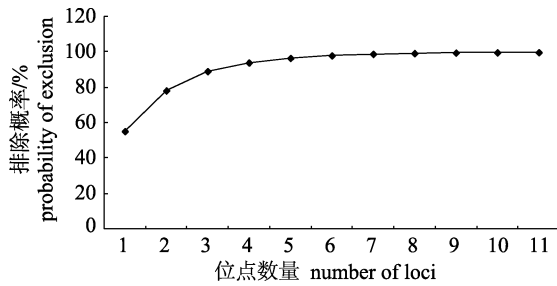


图 2 微卫星位点的数量与排除概率之间的关系

Fig. 2 Relationship between the number of microsatellite loci and exclusion probability

排除 29 尾未能正确找到亲本的黄河鲤较大个体后, 其余 440 尾子代在 26 个家系中的分布情况见表 3。在 388 尾黄河鲤较大个体的鉴定结果中, 共有 7 个家系的子代数大于 20 尾, 其中 2 号家系的子代数最多(共 71 尾, 占黄河鲤较大个体总数的 18.3%); 而 15 号、20 号和 23 号家系中没有鉴定到黄河鲤较大个体。鉴定结果还表明, 52 尾红鲤表型个体只来源于 5 号和 13 号两个家系, 其他家系的子代中没有发现红鲤表型个体。

表 3 黄河鲤子代在 26 个全同胞家系中的分布

Tab. 3 The distribution of progeny in 26 full-sib families of *Cyprinus carpio haematoperus*

家系 family	亲本组合 parental pair		黄河鲤较大个体 larger progeny of Yellow River carp		红鲤表型个体 red color progeny	
	母本 female	父本 male	子代个数 number of progeny	百分比/% percentage	子代个数 number of progeny	百分比/% percentage
1	HHP02F	HHP54M	11	2.84	0	0.00
2	HHP03F	HHP50M	71	18.30	0	0.00
3	HHP06F	HHP60M	13	3.35	0	0.00
4	HHP07F	HHP46M	11	2.84	0	0.00
5	HHP10F	HHP49M	6	1.55	50	96.15
6	HHP14F	HHP47M	2	0.52	0	0.00
7	HHP25F	HHP36M	23	5.93	0	0.00
8	HHP28F	HHP15M	3	0.77	0	0.00
9	HHP31F	HHP35M	6	1.55	0	0.00
10	HHP32F	HHP18M	41	10.57	0	0.00
11	HHP33F	HHP27M	9	2.32	0	0.00
12	HHP34F	HHP64M	25	6.44	0	0.00
13	HHP37F	HHP45M	41	10.57	2	3.85
14	HHP39F	HHP70M	4	1.03	0	0.00
15	HHP42F	HHP58M	0	0.00	0	0.00
16	HHP44F	HHP52M	35	9.02	0	0.00
17	HHP48F	HHP57M	1	0.26	0	0.00
18	HHP51F	HHP38M	42	10.83	0	0.00
19	HHP55F	HHP59M	2	0.52	0	0.00
20	HHP61F	HHP66M	0	0.00	0	0.00
21	HHP65F	HHP62M	11	2.84	0	0.00
22	HHP67F	HHP40M	3	0.77	0	0.00
23	HHP68F	HHP13M	0	0.00	0	0.00
24	HHP69F	HHP08M	9	2.32	0	0.00
25	HHP71F	-	18	4.64	0	0.00
26	-	HHP41M	1	0.29	0	0.00

注: “-”代表样本缺失。

Note: “-” represents the missing sample.

### 2.4 家系间生长差异分析

利用广义线性模型对上述 7 个子代数大于 20 尾的黄河鲤家系的体重、体长、全长及肥满度

4 个生长性状进行比较分析。其他家系由于个体数目较少, 在此不作比较分析。统计分析结果表明, 2 号家系子代的体重和肥满度最大, 且该家系

子代体重与 7 号和 16 号家系子代体重的差异达到了极显著水平( $P<0.01$ , 表 4); 13 号家系子代的全长和体长最大, 肥满度最低, 其全长、体长和肥满度与其他个别家系子代的相应性状的差异达到了显著性水平( $P<0.05$ , 表 4)。

### 3 讨论

选育过程中为保持正确的系谱信息, 必须选择合适的标记, 而微卫星标记凭借其优势, 已被广泛应用于亲子鉴定研究<sup>[6-11]</sup>。微卫星标记的数量及其多态性是影响亲子鉴定效率的重要因素。例如, Wang 等<sup>[11]</sup>采用 16 个微卫星位点并结合荧光标记, 对 81 个牡蛎混合家系的亲子鉴定率达 100%, 而 Gheyas 等<sup>[17]</sup>利用 10 个多态微卫星位点对 24 个白鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)亲本(12♀和 12♂)组合产生的 330 个子代的鉴定率为 96.3%。Ellegren<sup>[18]</sup>研究表明, 组合使用 5 个微卫星位点(每个位点有 6 个以上的等位基因)时亲子鉴定排除概率为 98%, 而使用 10 个这样的微卫星时排除概率可高达 99.99%。本研究所使用的 11 个微卫星位点排除概率, 也证实了微卫星位点的数目与排除概率的正比关系。Botstein 等<sup>[19]</sup>把微卫星标记的多态性分为高、中、低三个等级, 所对应的多态信息含量范围分别为  $PIC>0.5$ 、 $0.25<PIC<0.5$  和  $PIC<0.25$ 。本研究中的 11 个微卫星位点均属于高度多态性的位点, 在一定程度上保证了亲子鉴定的效率。此外, 由于本研究的测试样本主要由体重偏大的极端个体和体色为红鲤表型的个体所组成, 不是完全随机挑选的材料, 故 11 个微卫星位

点均显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡( $P<0.01$ )。

在亲本性别已知的情况下, 通过模拟 10000 个子代和 26 对亲本, 本研究中 11 个微卫星位点的理论鉴定率达 100%; 然而仍有 29 尾黄河鲤较大个体未能准确找到亲本, 实际鉴定率为 93.82%。影响本研究鉴定效率的因素可能有: (1) 基因分型错误。本研究所使用的微卫星位点多态性较高, 等位基因的统计可能存在少量误差, 不排除出现基因分型错误的可能。O'Reilly 等<sup>[20]</sup>在大西洋鲑(*Salmo salar*)的亲子鉴定研究中发现, 平均每个基因座位存在 2%~3%的基因分型错误。Marshall 等<sup>[21]</sup>认为如果某一个体在多个基因座位上出现错误的分型结果, 就会导致该个体与亲本产生错配现象。(2) 候选亲本规模。张春雷等<sup>[10]</sup>在哲罗鱼亲子鉴定研究中发现: 当微卫星标记数量以及位点多态性相近时, 候选亲本越少, 亲子鉴定效率越高; 反之, 亲子鉴定效率越低。本研究亲本组合为 26 个, 并且有 2 个亲本的分型数据缺失, 可能直接影响了亲子鉴定的效率。(3) 亲本之间的亲缘关系。亲本的亲缘关系过近也会导致亲子鉴定准确率的下降<sup>[22]</sup>。本研究的亲本是经过多代选育得到的“预选黄河鲤”, 遗传距离相对较近, 可能对亲子鉴定效率也有一定影响。(4) 无效等位基因。在群体遗传分析中无效等位基因的出现会导致杂合子的缺失, 从而降低鉴定的准确性, 理论上无效等位基因频率高于 5%的位点不可用于家系分析<sup>[21]</sup>。本研究所用的 11 个微卫星位点中, 有 1 个位点(*Koi21*)的无效等位基因频率高于 5%, 可能也会在一定程度上影响鉴定效率。

表 4 7 个黄河鲤鱼系的生长性状  
Tab. 4 Growth traits of 7 *Cyprinus carpio haematoperus* families

生长性状 growth trait	家系 family							$\bar{x} \pm SD$
	2	7	10	12	13	16	18	
全长/cm total length	22.63±0.69	22.29±0.44 <sup>b</sup>	22.42±0.59 <sup>b</sup>	22.29±0.56 <sup>b</sup>	22.84±0.79 <sup>a</sup>	22.31±0.45 <sup>b</sup>	22.60±0.51	
体重/g body weight	152.53±13.54 <sup>Aa</sup>	141.94±6.44 <sup>B</sup>	148.85±9.97	146.64±10.28 <sup>b</sup>	145.75±9.73 <sup>b</sup>	145.07±8.74 <sup>B</sup>	146.85±9.75	
体长/cm body length	19.05±0.78	18.84±0.35 <sup>B</sup>	18.99±0.57	18.90±0.56	19.23±0.56 <sup>Aa</sup>	18.76±0.39 <sup>b</sup>	18.98±0.53	
肥满度 relative fatness	2.21±0.276 <sup>B</sup>	2.12±0.088	2.17±0.101 <sup>B</sup>	2.17±0.113 <sup>B</sup>	2.05±0.091 <sup>A</sup>	2.20±0.105 <sup>B</sup>	2.15±0.11 <sup>B</sup>	

注: 同一行不同小写字母表示在 0.05 水平上有差异; 同一行不同大写字母表示在 0.01 水平上有差异; 同一行相同字母表示无显著差异( $P>0.05$ ) (双尾检验)。

Note: The different lowercase letters within the same line mean significant difference ( $P<0.05$ ); the different capital letters within the same line mean extremely significant difference ( $P<0.01$ ); the same letter within the same line means no significant difference ( $P>0.05$ ) (2-tailed).

本研究中每个家系的鱼苗放养数量是相同的, 但根据 417 尾黄河鲤较大个体的亲子鉴定结果, 子代数超过 20 尾的黄河鲤家系只有 7 个, 其他家系的子代数目为 0~18 个。不同黄河鲤交配组合具有不同的遗传效应, 导致它们的子代在摄食、代谢、发育和生存能力(抗逆、抗病等)等生物学性状上有所不同。在同池养殖这种完全相同的生长环境下, 我们推测: 家系子代生长性状差和存活率低都可能导致该家系鉴定得到的子代数目过少。董世瑞等<sup>[23]</sup>通过对 13 个中国对虾家系的形态性状与 WSSV 抗病力的研究发现, 不同家系间的 WSSV 抗病力有显著差异。罗坤等<sup>[24]</sup>发现近交群体的生长性状及存活率均低于选育群体。秦钦等<sup>[25]</sup>通过对斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)不同家系的生长性能的研究, 发现生长最快家系的平均体重是最慢家系的 3.53 倍。与其他报道类似, 黄河鲤不同家系间表型性状的差异性正是家系选育的意义所在。通过这种亲子鉴定研究, 可以将具有优势基因型的亲本及其家系选择出来。例如, 在黄河鲤的生长性状上, 以 2 号家系为代表的子代体重和肥满度较大; 在体型性状上, 以 13 号家系为代表的子代全长和体长较大(表 4)。自古以来, 金鳞赤尾、体型修长是黄河鲤的一个典型的体型特征, 因此, 在选育中选留体型长且生长也较快的家系也是恢复黄河鲤种质的应有之义。在体色性状上, 本研究中的 52 尾红鲤表型子代经过鉴定全部出自 5 号和 13 号家系。20 世纪 80 年代以兴国红鲤(或荷包红鲤)作为亲本的杂交鲤的养殖曾遍布中国各地, 黄河鲤可能也难以避免受到了这些杂交鲤的遗传污染, 本研究结果也证实了这种猜测。由于鲤体色的红色等位基因是隐性遗传, 只有隐性纯合个体才会表现出红色表型<sup>[26]</sup>, 这表明 5 号和 13 号这两个家系中都含有红色等位基因。因此, 尽管 13 号家系所产生的子代的体型特征最为优美修长, 但由于其在体色基因型中混杂了红色等位基因, 选择育种时也必须舍弃掉 13 号家系。这种筛选淘汰亲本的过程还将不断进行, 以保证将来的养殖新品种不仅有优良的生长性状, 也具有符合黄河鲤特质的体型和体色性状。

本研究利用 11 个微卫星标记对 469 尾黄河鲤子代进行了亲子鉴定, 成功地鉴定出子代生长优良的黄河鲤亲本及其家系, 同时也鉴定出包含隐性红色基因的黄河鲤杂合亲本, 为进一步选育体型和体色纯正且生长快速的黄河鲤新品种提供了理论依据和技术手段。

#### 参考文献:

- [1] Yang T Y, Wang L, Li Z H, et al. The ratio of muscle to body and analysis of the nutrition components of the muscle of *Cyprinus carpio* bred in pool[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 1996(4): 55-59. [杨太有, 王琳, 李仲辉, 等. 池养黄河鲤鱼含肉率及其肌肉营养成分的分析[J]. 海洋湖沼通报, 1996(4): 55-59.]
- [2] Shao C X, Li Z G. A survey of germ plasm resources of the yellow river carp in Yiluo River[J]. Henan Aquatic Products, 2004(1): 9-25. [邵翠霞, 李治国. 伊洛河黄河鲤鱼种质资源保护区的调查报告[J]. 河南水产, 2004(1): 9-25.]
- [3] Lv D J, Lu H L. DNA Parentage Assignment[M]. Guangzhou: Jinan University Press, 2005: 1. [吕德坚, 陆惠玲. DNA 亲权鉴定[M]. 广州: 暨南大学出版社, 2005: 1.]
- [4] Han C M, Zhang J B, Gao Q H. Studies and application of DNA polymorphism on animal parentage testing[J]. Grass-Feeding Livestock, 2004(1): 11-13. [韩春梅, 张嘉保, 高庆华. DNA 多态在动物亲子鉴定中的应用[J]. 草食家畜, 2004(1): 11-13.]
- [5] Jewell E, Robinson A, Savage D, et al. SSRPrimer and SSR taxonomy tree: biome SSR discovery[J]. Nucl Acids Res, 2006, 34(S2): W656-W659.
- [6] O'Connell M, Wright J M. Microsatellite DNA in fishes[J]. Rev Fish Biol Fish, 1997, 7(3): 331-363.
- [7] Wu J F, Wu D J. The application and research development of microsatellite DNA in livestock parentage testing[J]. Animal Science Abroad, 2001, 28(5): 28-29. [吴继法, 吴登俊. 微卫星 DNA 在家畜亲子鉴定中的应用及研究进展[J]. 国外畜牧科技, 2001, 28(5): 28-29.]
- [8] Zhan S X, Wang J F. Advances in plant SSR molecular mark and its applicabilty in forensic science[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2012, 27(1): 45-47. [詹世雄, 王江峰. 植物 SSR 标记的研究现状及其在法庭科学中的应用[J]. 中国法医学杂志, 2012, 27(1): 45-47.]
- [9] Vandeputte M, Kocour M, Mauger S, et al. Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Aquaculture, 2004, 235(1-4): 223-236.
- [10] Zhang C L, Tong G X, Kuang Y Y, et al. Applicability of

- microsatellite DNA markers to the parental identification of *Hucho taimen* (Pallas)[J]. Zoological Research, 2010, 31(4): 395–400. [张春雷, 佟广香, 匡友谊, 等. 哲罗鱼微卫星亲子鉴定的应用[J]. 动物学研究, 2010, 31(4): 395–400.]
- [11] Wang Y, Wang X X, Wang A M, et al. A 16-microsatellite multiplex assay for parentage assignment in the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin)[J]. Aquaculture, 2010, 308(S1): S28–S33.
- [12] Sambrook J, Russell D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual Volume one[M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2002: 483–485. [萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D. 分子克隆实验指南上册[M]. 第三版. 北京: 科学出版社, 2002: 483–485.]
- [13] Zeng F Z, Yu X M, Tong J G. Abundance of microsatellites and genetic diversity analysis among three strains of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Acta Hydrobiological Sinica, 2013, 37(5): 967–973. [曾繁振, 俞小牧, 童金苟. 三个鲤品种微卫星丰度与遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2013, 37(5): 967–973.]
- [14] 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.
- [15] Sun X W, Jia Z Y, Wei D W, et al. Comparison between magnetic beads enriched and small inserted fragment library for microsatellite sequences of common carp[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(2): 126–132. [孙效文, 贾志英, 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.]
- [16] Wang D, Liao X L, Cheng L, et al. Development of novel EST-SSR markers in common carp by data mining from public EST sequences[J]. Aquaculture, 2007, 271(1–4): 558–574.
- [17] Gheyas A, Woolliams J, Taggart J, et al. Heritability estimation of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) harvest traits using microsatellite based parentage assignment[J]. Aquaculture, 2009, 294(3–4): 187–193.
- [18] Ellegren H. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference[J]. Trends Genet, 2000, 16(12): 551–558.
- [19] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. Am J Hum Genet, 1980, 32(3): 314–331.
- [20] O'Reilly P, Herbinger C, Wright J. Analysis of parentage determination in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellites[J]. Anim Genet, 1998, 29(5): 363–370.
- [21] Marshall T, Slate J, Kruuk L, et al. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations[J]. Mol Ecol, 1998, 7(5): 639–655.
- [22] Jones A, Ardren W. Methods of parentage analysis in natural populations[J]. Mol Ecol, 2003, 12(10): 2511–2523.
- [23] Dong S R, Lv Y F. Path analysis of effects of morphometric traits on resistance to WSSV among different families in *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2015, 5(2): 15–21. [董世瑞, 吕瑜峰. 不同家系中国对虾形态性状与抗病力的关系[J]. 中国渔业质量与标准, 2015, 5(2): 15–21.]
- [24] Luo K, Kong J, Luan S, et al. Comparison of growth and survival between selected population and inbreeding population at different growing stage in *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2014, 44(7): 51–57. [罗坤, 孔杰, 孛生, 等. 中国对虾选育群体与近交群体不同生长时期的生长性状和存活率的比较[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2014, 44(7): 51–57.]
- [25] Qin Q, Bian W J, Cai Y X, et al. Study of growth performance of nucleus herd of family breeding in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and selection of parents with good trait[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(1): 63–70. [秦钦, 边文冀, 蔡永祥, 等. 斑点叉尾鮰家系育种核心群生长性能研究及优良亲本选择[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(1): 63–70.]
- [26] Zhang J S, Pan G B. Body form and body colour in hybrids of *Cyprinus carpio*[J]. Journal of Fisheries of China, 1983, 7(4): 301–312. [张建森, 潘光碧. 鲤鱼体色体型遗传的研究[J]. 水产学报, 1983, 7(4): 301–312.]



## Parentage assignment for full-sib families of the Yellow River carp *Cyprinus carpio haematoperus* based on microsatellites

WANG Xinhua<sup>1,2</sup>, YU Xiaomu<sup>1</sup>, FENG Jianxin<sup>3</sup>, TONG Jingou<sup>1</sup>

1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;
3. Henan Academy of Fishery Sciences, Zhengzhou 450044, China.

**Abstract:** Parentage assignment is a powerful tool for pedigree analysis and family selection in aquatic animals. Eleven polymorphic microsatellite markers were used to perform a parentage assignment for 417 fast-growth progeny with normal color and 52 red progeny from 26 full-sib families of Yellow River carp, *Cyprinus carpio haematoperus*. The average number of alleles for the 11 microsatellites was 8.2, and the mean values of observed heterozygosity, expected heterozygosity, and polymorphism information content were 0.792, 0.792, and 0.76, respectively. The combined probability of exclusion reached 99.79% when both parents were unknown (confidence level, 95%). Among the carp progeny, 29 were not assigned, but 388 fast-growth progeny and 52 red progeny were accurately assigned parental pairs, resulting in an identification rate of 93.82%. By comparison of growth performance among seven families with 20 or more progeny, we identified several favorable parents and families that should be kept for further selection. For body color, two parents with recessive alleles for the red color were identified. These results provide the basis and molecular tools for further selection towards breeding new varieties of fast-growing Yellow River carp with the typical slim body shape and golden color.

**Key words:** *Cyprinus carpio haematoperus*; parentage assignment; microsatellite; identification rate

**Corresponding author:** TONG Jingou. E-mail: jgtong@ihb.ac.cn