

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15458

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

鲁翠云¹, 张晓丽¹, 顾颖¹, 李超¹, 董在杰², 冯建新³, 程磊¹, 孙效文¹

1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;

3. 河南省水产科学研究院, 河南 郑州 450044

摘要: 用微卫星标记分析了鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)的 2 个品种福瑞鲤和豫选黄河鲤选育群体的遗传结构, 并揭示了雌雄个体间遗传距离的分布规律。结果表明, 23 个微卫星标记在福瑞鲤(FR, $n=192$)和豫选黄河鲤(YX, $n=96$)中各检测到 160 个和 131 个等位基因。福瑞鲤的平均有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)和多态信息含量(PIC)分别为 4.559、0.695、0.741 和 0.702, 群体处于高度多态水平(PIC > 0.5); 豫选黄河鲤的 4 项遗传多样性参数分别为 3.620、0.665、0.642 和 0.600。虽然豫选黄河鲤同样处于高度多态水平(PIC > 0.5), 但是 N_e 、 H_e 和 PIC 均极显著低于福瑞鲤($P<0.01$), 说明福瑞鲤的杂交选育背景决定了其较系统选育的豫选黄河鲤具有较多的来源于不同亲本的等位基因; 而两者 H_o 差异不显著($P>0.05$), 说明豫选黄河鲤种内也保持了较高的遗传杂合度。分别统计福瑞鲤与豫选黄河鲤雌雄个体间的遗传距离, 结果表明两两雌雄个体间遗传距离呈正态分布。福瑞鲤个体间遗传距离的中间值位于 0.8~1.0, 占 37.39%; 而豫选黄河鲤个体间遗传距离中间值位于 0.5~0.7, 占 49.33%。建议福瑞鲤和豫选黄河鲤在家系配组时, 选择亲本间遗传距离阈值范围在 0.8~1.0 和 0.5~0.7 为宜。

关键词: 福瑞鲤; 豫选黄河鲤; 微卫星; 遗传结构; 遗传距离

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)05-1091-08

建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)是中国早期杂交选育的代表品种, 亲本分别为荷包红鲤(*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis*)和元江鲤(*Cyprinus carpio* var. *yuankiang*), 具有生长速度快、体型偏长等特点, 一度在全国广泛养殖。经过多年的自繁自育, 建鲤良种出现了生长速度减缓、体型渐高的趋势。中国水产科学研究院淡水渔业研究中心选择了体型和品质优良的黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus* Teminck et Schlegel)作为另一杂交亲本, 与建鲤进行了双列杂交试验, 并对不同杂交组合的生长^[1-2]、遗传基础^[3-4]进行了研究, 经过杂交后的系统选育, 育成福瑞鲤新品种, 该品种生长速度较建鲤提高 26.9%, 体形好且成活率高^[5-6], 2013—2015 年福瑞鲤连续成为农业部推介鲤鱼养殖主导品种^[7]。同时,

黄河鲤野生资源萎缩, 并且出现散鳞、红色等种质污染, 为了保护黄河鲤这一优良种质, 河南省水产科学研究院对黄河鲤野生种质进行了提纯和复壮, 育成豫选黄河鲤新品种, 散鳞和红色比例降至 1% 以下, 生长速度较选育前提高了 12%, 饲料转化效率提高 10%, 并且保持了黄河鲤原种的遗传多样性水平, 在黄河流域广泛推广养殖^[8]。

最大限度地避免近亲繁殖、维持种群内的遗传多样性水平, 是保持良种遗传潜力及持续利用的前提和基础。曲疆奇等^[9]利用 SRAP 标记分析的结果表明, 福瑞鲤群体遗传多样性水平高于原始亲本的建鲤和黄河鲤群体; 而丁敬波等^[10]利用 TRAP 标记分析的结果表明, 福瑞鲤家系间遗传多样性差异不显著。微卫星标记(microsatellite)以

收稿日期: 2015-12-08; 修订日期: 2016-02-24.

基金项目: 中央公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2014A05CG01, HSY201502).

作者简介: 鲁翠云(1980-), 女, 博士, 专业方向为鱼类遗传育种与繁殖. E-mail: xtlcly_123@163.com

通信作者: 孙效文, 研究员, 博士生导师. E-mail: sunxw2002@163.com

其高度的多态性、稳定性及共显性遗传等特点, 成为开展群体遗传评价及分子育种研究的首选标记。虽然有多项研究用微卫星标记评估了建鲤和黄河鲤群体的遗传多样性水平^[11-14], 但是对福瑞鲤和豫选黄河鲤的遗传评估则较少。另外, 利用亲本间遗传距离指导配组, 既能够避免近亲繁殖造成的性状衰退, 又能够避免远亲繁殖造成的性状分化, 获得性状优良的苗种, 这已经在镜鲤选育和苗种生产中得到了证实和应用^[15-16]。鲁翠云等^[17]的研究结果确定镜鲤配组的最佳遗传距离范围是 0.5~0.7, 此时子代的经济性状最佳。由于鲤鱼品种间遗传背景差异较大, 这一遗传距离范围在用于指导其他鲤鱼品种的苗种生产时是否需要调整尚存在疑问。因此, 本研究以杂交品种福瑞鲤和系统选育品种豫选黄河鲤选育群体为对象, 在评估群体遗传结构的基础上, 分析了两两雌雄个体间遗传距离的分布规律, 找出既符合遗传规律又便于生产

操作的遗传距离阈值, 为两品种在苗种生产中使用基于亲本遗传背景的分子育种技术提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

福瑞鲤样本取自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心繁殖基地, 从 3 龄选育核心群体中随机选取雌雄个体各 96 尾; 豫选黄河鲤样本取自河南省水产科学研究院繁殖基地, 从 4 龄选育核心群体中随机选取雌雄个体各 48 尾。记录每个样本的电子标记号, 并剪取部分鳍条组织, 编号后置于滤纸晾干^[18], 以备提取基因组 DNA。

1.2 引物与试剂

23 个多态微卫星标记来源于本实验室用磁珠富集^[19]、BAC 末端序列^[20]等方法筛选的鲤鱼微卫星标记库。引物由上海生工生物工程公司合成, 引物信息见表 1。实验所用 *Taq* DNA 聚合酶、dNTP

表 1 23 个微卫星标记引物序列及其在福瑞鲤(FR)和豫选黄河鲤(YX)中的扩增情况
Tab. 1 Sequences and amplified results of 23 microsatellite markers in FFRC strain common carp (FR) and Yuxuan Yellow River carp (YX)

标记 marker	正向引物(5'-3') forward primer(5'-3')	反向引物(5'-3') reverse primer(5'-3')	核心序列 motif sequence	片段长度/bp fragment size	等位基因数 N _a		多态信息含量 PIC
					FR	YX	
HLJ231	ctgctgtcaagccaaaaaca	aaccatttcaacctggcaac	-	188~197	3	3	0.350
HLJ401	aatgtgaggcgataaagggg	agtctgagggtgagcggt	(ca) ₉	173~235	6	5	0.775
HLJ486	ccattgtaaagccagcat	acatcgtgtacggaggg	(gt) ₁₉	112~165	6	6	0.745
HLJ526	cttcgtctatacggtttc	acggcggtcggtgtggat	(ca) ₂₅	164~292	10	10	0.894
HLJ617	aggtgactaatgttgcgatac	aaccctgtgaaccatccatc	(gt) ₁₁ (gt) ₁₅	261~344	8	5	0.823
HLJ639	aatagaccgagggtcaaac	gaatacaaaggcaggaag	(ca) ₃₅	247~300	6	5	0.747
HLJ665	tactgtcgagccatgcta	ggcaggatgtacaagag	(ca) ₁₂	209~232	4	4	0.674
HLJ723	tgagccaatccatcgtc	taagcaaaccctccatct	(ga) ₁₄	130~147	4	2	0.638
HLJ1113	tcgacgatcagccagataga	agtggccagggtggattt	(agat) ₇	163~200	9	8	0.865
HLJ1170	tcaactgcgtctgctggac	tgcacgatcactctcaaatg	(cat) ₁₀	172~196	9	6	0.784
HLJ1254	tcgatgaggatgttgttga	cagacaggatgtgcagaa	(gat) ₇	194~206	3	4	0.585
HLJ1306	cagttgtacggtgccctt	ccagaactgaccgtggagt	(atg) ₁₂	188~218	5	4	0.620
HLJ2772	gaggcagaggcagaacaaag	tcactcataaaaacagtcctt	(att) ₅	233~248	3	2	0.526
HLJ3770	atgacgagaaaccccccattc	aggctgtgaaactctgtgc	(atc) ₁₂	155~199	9	10	0.845
HLJ3939	cagtggccaacggcacata	ctgaggatgaaagcaacacc	(aaata) ₁₅	195~320	8	8	0.831
CA905	attccccctaagcaagacct	gggccacttacaacccctt	(ac) ₉	160~189	5	3	0.588
CA1115	attactgcgtgcacgggt	cgacataacattccccactac	(tatc) ₁₀	262~335	8	6	0.804
CA1846	atccccattccatagaacc	acaaggcaccatagttt	(tcta) ₁₄	272~345	11	7	0.846
CA2181	tccaaatgaaggcagggt	tgcataatcacaatcaaccag	(agaaa) ₃₇	230~274	8	6	0.807
CA2260	tggaaaatcacttcttc	attaattcacatgtgttc	(ctat) ₁₈	198~389	13	9	0.868
CA2263	tcttttgcacacgcatac	taacaactagccgttaaccg	(ac) ₁₄	159~211	7	6	0.766
CA2278	tagccacactaaatagacg	atcaaagctctgttagtctg	(atata) ₁₇	151~218	11	9	0.834
CA2409	ctcgctcgtgaaccatctg	gtggcctcttaatgtctg	(gt) ₈	257~277	4	3	0.454

及生化试剂均购自上海生工生物工程公司。

1.3 DNA 提取及 PCR 扩增

用组织基因组 DNA 提取试剂盒(天根生物)从鳍条组织中提取基因组 DNA, 紫外分光光度计定量后稀释成 50 ng/μL。建立 15 μL PCR 反应体系, 含有终浓度 10 mmol/L Tris-Cl (pH 8.0)、50 mmol/L KCl、1.5 mmol/L MgCl₂、200 μmol/L dNTP、0.5 μmol/L 上下游引物, 以及 1 U *Taq* DNA 聚合酶和 100 ng DNA 模板。反应程序为: 94℃预变性 3 min; 94℃变性 30 s, 56℃复性 30 s, 72℃延伸 30 s, 27 个循环; 最后 72℃延伸 5 min。扩增产物用 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 银染显带。以 DL1000(大连宝生物)作为分子量标准, 用软件 Gel-Pro Analyzer (Version 4.5)分析电泳条带的片段长度, 建立基因型数据。

1.4 数据分析

使用软件“鱼类种质资源遗传分析装置 (ZL200710144749.3)”进行数据转换, 用 PopGene32 (Version 3.2)软件计算每个微卫星标记的等位基因频率(allele frequency, *P*)、等位基因数(observed number of alleles, *N_a*)、有效等位基因数(effective number of alleles, *N_e*)、观测杂合度(observed heterozygosity, *H_o*)和期望杂合度(expected heterozygosity, *H_e*)。标记的多态性信息含量(polymorphism information content, PIC)按照 Botstein 等^[21]的方法计算, 公式如下:

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

其中, *n* 为某一位点上等位基因数, *P_i*、*P_j* 分别为第 *i* 和第 *j* 个等位基因在群体中的频率, *j*=*i*+1。

用 GenePop (Version 3.4)软件进行 χ^2 检验估计群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离。

运行 PHYLIP (version3.695)软件的 GENDIST 程序, 计算两两雌雄个体间的遗传距离。

2 结果与分析

2.1 扩增情况

23 对微卫星引物在福瑞鲤和豫选黄河鲤 2 个选育群体共 288 个个体均获得了稳定、清晰的 DNA 条带, 并在个体间表现出不同程度的多态性。扩增片段大小为 112~345 bp, 各标记在福瑞鲤中检测到的等位基因数(*N_a*)为 3~11 个, 平均为 6.956; 在豫选黄河鲤中检测到 2~10 个等位基因, 平均为 5.696。各标记的多态信息含量在 0.350~0.894, 91.30% (21 个)的标记处于高度多态水平 (*PIC*≥0.5)^[21]。福瑞鲤(FR)和豫选黄河鲤(YX)部分个体在 CA2260 和 HLJ1170 的电泳图见图 1。

2.2 选育群体的遗传结构

用 23 个微卫星标记计算的福瑞鲤选育群体的有效等位基因数(*N_e*)为 1.875~9.073, 平均为 4.559; 观测杂合度(*H_o*)为 0.281~0.969, 平均为 0.695; 期望杂合度(*H_e*)为 0.478~0.892, 平均为 0.741; 多态信息含量(*PIC*)为 0.42~0.88, 平均为 0.702, 结果显示福瑞鲤选育群体处于高度多态水平(*PIC* 0.5)。豫选黄河鲤的 *N_e* 为 1.064~7.551, 平均为 3.620; *H_o* 为 0.062~0.917, 平均为 0.665; *H_e* 为 0.061~

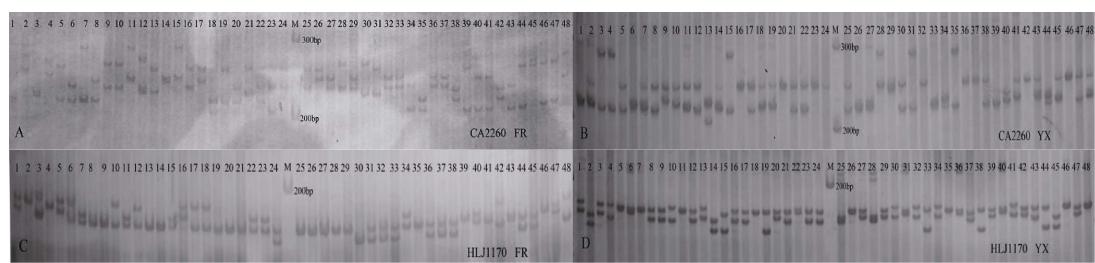


图 1 微卫星标记 CA2260 和 HLJ1170 在福瑞鲤(A 和 C)和豫选黄河鲤(B 和 D)部分个体中的扩增结果
1~48 表示不同的个体; M 表示分子量标准(DL1000); FR 表示福瑞鲤, YX 表示豫选黄河鲤。

Fig. 1 Amplification results in partial samples of FFRC strain common carp (A, C) and Yuxuan Yellow River carp (B, D) with microsatellite markers of CA2260 and HLJ1170
Numbers of 1~48 represent different individuals; M is DNA molecular weight standards of DL1000; FR and YX are FFRC strain common carp and Yuxuan Yellow River carp, respectively.

0.872, 平均为 0.642; PIC 为 0.059~0.853, 平均为 0.600, 结果显示豫选黄河鲤选育群体同样处于高度多态水平($PIC \geq 0.5$)。对福瑞鲤和豫选黄河鲤的 5 项遗传多样性参数进行成对样本 T 检验, 结果显示, 福瑞鲤的 N_a 、 N_e 、 H_e 和 PIC 均极显著高于豫选黄河鲤($P < 0.01$), 而 H_o 差异不显著($P = 0.508$)。一方面说明福瑞鲤的杂交选育背景决定了其较系统选育的豫选黄河鲤具有较多的等位基因, 部分标记如 HLJ617、HLJ639、CA1115、CA1836、CA2260 等计算的遗传参数差异较大(图 1), 可用于福瑞鲤与豫选黄河鲤种质混杂的鉴定研究; 另一方面也说明豫选黄河鲤种内保持了较高的遗传

杂合度。

用 GenePop (Version 3.4) 软件分析了群体的 Hardy-Weinberg 遗传偏离。结果表明福瑞鲤选育群体 15 个标记偏离了平衡, HLJ231、HLJ486 和 HLJ665 等 11 个微卫星标记(占 47.83%)均表现为杂合子极显著缺失($P < 0.01$), 仅 HLJ526、HLJ617 和 CA905 等 4 个标记(占 17.39%)表现为杂合子显著或极显著过剩; 而豫选黄河鲤选育群体 6 个标记偏离了平衡, HLJ665 和 CA1846 (8.70%) 表现为杂合子极显著缺失($P < 0.01$), HLJ617、HLJ639 和 CA1115 等 4 个标记(占 17.39%)表现为杂合子极显著过剩。详细统计数据见表 2。

表 2 福瑞鲤和豫选黄河鲤选育群体在 23 个微卫星标记的遗传多样性参数
Tab. 2 Genetic diversity indexes of 23 microsatellite markers for FFRC strain common carp (FR) and Yuxuan Yellow River carp (YX)

标记 marker	福瑞鲤 FR						豫选黄河鲤 YX					
	N_e	H_o	H_e	PIC	P_{HWE-D}	P_{HWE-E}	N_e	H_o	H_e	PIC	P_{HWE-D}	P_{HWE-E}
HLJ231	2.022	0.453	0.507	0.420	0.000**	0.999	1.076	0.073	0.071	0.069	1.000	0.893
HLJ401	4.030	0.760	0.754	0.717	0.882	0.118	4.062	0.719	0.758	0.711	0.362	0.638
HLJ486	3.860	0.578	0.743	0.703	0.000**	1.000	4.168	0.729	0.764	0.721	0.568	0.432
HLJ526	7.952	0.938	0.876	0.861	0.960	0.040*	6.358	0.917	0.847	0.826	0.677	0.323
HLJ617	5.751	0.948	0.828	0.804	1.000	0.000**	3.740	0.896	0.736	0.685	0.998	0.002**
HLJ639	5.020	0.838	0.803	0.770	0.814	0.186	2.630	0.781	0.623	0.572	0.998	0.002**
HLJ665	3.386	0.281	0.706	0.650	0.000**	1.000	3.828	0.615	0.743	0.690	0.002**	0.998
HLJ723	3.535	0.729	0.719	0.666	0.481	0.519	1.653	0.333	0.397	0.317	0.094	0.966
HLJ1113	6.194	0.760	0.841	0.820	0.000**	1.000	5.829	0.833	0.833	0.807	0.396	0.605
HLJ1170	3.031	0.609	0.672	0.649	0.008**	0.992	4.881	0.865	0.799	0.766	0.946	0.054
HLJ1254	2.510	0.542	0.603	0.534	0.060	0.940	2.095	0.479	0.526	0.440	0.081	0.919
HLJ1306	2.534	0.536	0.607	0.543	0.160	0.840	3.043	0.677	0.675	0.614	0.328	0.673
HLJ2772	2.796	0.703	0.644	0.569	0.944	0.056	1.064	0.062	0.061	0.059	1.000	0.923
HLJ3770	5.771	0.708	0.829	0.805	0.000**	0.999	7.551	0.917	0.872	0.853	0.667	0.333
HLJ3939	4.892	0.672	0.798	0.770	0.001**	0.999	5.668	0.812	0.828	0.801	0.130	0.8702
CA905	2.888	0.823	0.655	0.594	1.000	0.000**	1.998	0.531	0.502	0.413	0.865	0.135
CA1115	6.339	0.781	0.844	0.823	0.005**	0.995	2.824	0.760	0.649	0.617	0.995	0.005**
CA1846	6.100	0.818	0.838	0.816	0.180	0.820	3.107	0.479	0.682	0.642	0.000**	1.000
CA2181	4.622	0.714	0.786	0.752	0.005**	0.995	3.632	0.708	0.728	0.686	0.436	0.564
CA2260	9.073	0.901	0.892	0.880	0.411	0.589	3.342	0.677	0.704	0.663	0.226	0.776
CA2263	4.566	0.969	0.783	0.748	1.000	0.000**	3.302	0.917	0.701	0.646	0.997	0.003**
CA2278	6.114	0.630	0.839	0.819	0.000**	1.000	5.633	0.906	0.827	0.798	0.940	0.060
CA2409	1.875	0.297	0.478	0.431	0.000**	1.000	1.781	0.500	0.441	0.391	0.956	0.056
均值 mean	4.559	0.695	0.741	0.702	-	-	3.620	0.665	0.642	0.600	-	-

注: PHWE-D 表示 Hardy-Weinberg 平衡检验中接受杂合子不足的概率, * 表示群体杂合子显著不足($P < 0.05$), ** 表示杂合子极显著不足($P < 0.01$); PHWE-E 表示 Hardy-Weinberg 平衡检验中接受杂合子过剩的概率, * 表示群体杂合子显著过剩($P < 0.05$), ** 表示杂合子极显著过剩($P < 0.01$)。

Note: PHWE-D and PHWE-E are the probability of heterozygote deficiency and excess in Hardy-Weinberg equilibrium test, respectively. * denotes heterozygote significant deficiency or excess ($P < 0.05$) and ** denotes heterozygote extremely significant deficiency or excess ($P < 0.01$).

2.3 雌雄个体间遗传距离

依据23个微卫星标记的基因型数据,用PHYLIP软件的GENDIST程序分别计算福瑞鲤与豫选黄河鲤选育群体雌雄个体两两间的遗传距离。福瑞鲤雌雄个体间的遗传距离为0.226~1.998,平均值为0.953;豫选黄河鲤雌雄个体间的遗传距离为0.169~1.321,平均值为0.640。两两雌雄个体间不

同遗传距离范围的频率呈正态分布。根据镜鲤中利用亲本遗传距离中间值配组繁殖获得的子代经济性状最佳的结论^[17],选择正态分布曲线峰值两侧的2个遗传距离范围作为繁殖配组时亲本间遗传距离的阈值,其中福瑞鲤的配组阈值为0.8~1.0,占37.39%(图2A);而豫选黄河鲤的配组遗传距离阈值为0.5~0.7,占49.33%(图2B)。

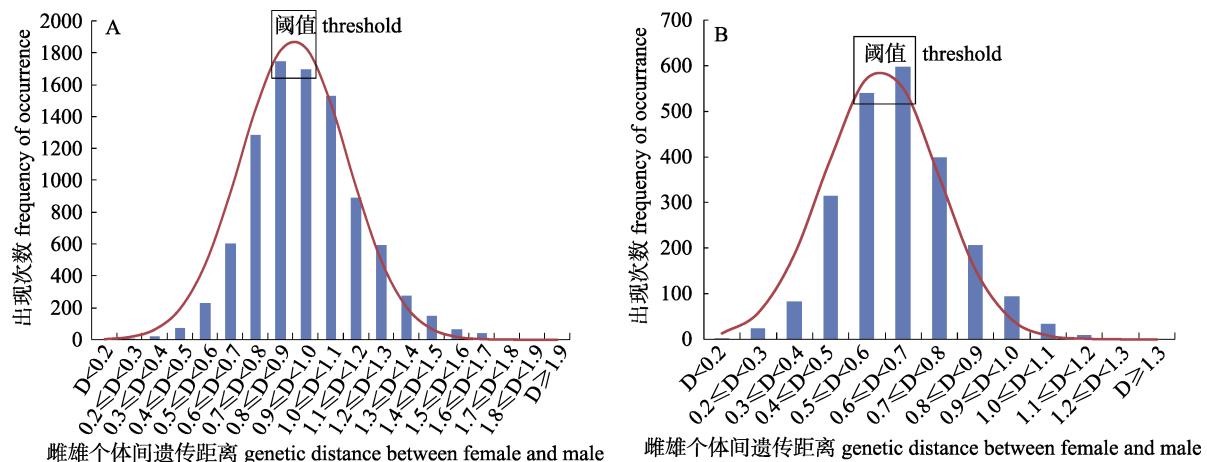


图2 福瑞鲤(A)与豫选黄河鲤(B)选育群体雌、雄个体间遗传距离分布图

Fig. 2 Distribution of genetic distance between female and male in FFRC strain common carp (A) and Yuxuan Yellow River carp (B)

3 讨论

3.1 福瑞鲤和豫选黄河鲤的遗传结构

福瑞鲤与豫选黄河鲤选育成功后,分别于中国水产科学研究院淡水渔业研究中心及河南省水科院建立了选育种中心,负责亲本保种及扩繁。随着繁殖规模的扩大,对选育群体的遗传结构进行评估必不可少。群体的遗传多样性一般由等位基因数(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)及多态信息含量(PIC)来度量,遗传参数越大,说明群体的遗传多样性越高,能够满足进一步的生产及选育的需求。本研究用23个微卫星标记分析的福瑞鲤选育群体的 N_a 、 N_e 、 H_e 、PIC分别为6.956、4.559、0.741和0.702,高于苏胜彦等^[4]用25个微卫星标记统计的建鲤与黄河鲤F₁杂交组合的遗传参数($N_a=5.08\sim6.08$ 、 $N_e=2.30\sim2.39$ 、 $H_e=0.52\sim0.55$ 、PIC=0.47~0.49),略低于李建林等^[11]用20个微卫星标

记分析的建鲤种质的统计结果($N_a=7.800$ 、 $H_e=0.757$ 、PIC=0.725),但是 $H_o(0.695)$ 却低于2个杂交组合的统计结果($H_o=0.70\sim0.77$)^[4],而高于建鲤的统计结果($H_o=0.643$)^[11]。一方面说明福瑞鲤选育群体保持了较高的遗传多样性水平(PIC≥0.5),另一方面也揭示出福瑞鲤作为建鲤和黄河鲤的杂交种,观测杂合度虽然高于建鲤种质,但是经过选育后杂合度还是有下降的趋势。本研究分析的豫选黄河鲤选育群体的 N_a 、 N_e 、 H_o 、 H_e 、PIC分别为5.696、3.620、0.665、0.642和0.600,与李超等^[14]统计的黄河鲤原种遗传参数相近($N_e=3.3706$ 、 $H_o=0.5893$ 、 $H_e=0.6578$ 、PIC=0.6108),而低于李建林等^[13]用13个微卫星标记的统计结果($N_a=8.615$ 、 $H_o=0.699$ 、 $H_e=0.776$ 、PIC=0.749)。豫选黄河鲤的 N_a 、 N_e 、 H_e 和PIC均极显著低于福瑞鲤($P<0.01$),说明福瑞鲤的杂交选育背景决定了其较系统选育的豫选黄河鲤具有较多来源于不同亲本的等位基因,部分标记如HLJ617、HLJ639

和 CA1115 等计算的遗传参数差异较大, 可作为种质鉴别的标记; 而两者 H_o 差异不显著 ($P=0.508$), 也说明豫选黄河鲤种内保持了较高的遗传杂合度。研究表明, 群体遗传参数受样本量、标记数目及标记的多态性影响较大, 样本量大于 40、标记数大于 20 时统计的遗传参数更为准确^[22]。本研究使用 23 个微卫星标记统计的福瑞鲤 ($n=192$) 和豫选黄河鲤 ($n=96$) 选育群体较大样本的遗传参数, 能够真实地反映现存福瑞鲤和豫选黄河鲤的遗传多样性水平, 为优良品种的选育及保持提供参考。

3.2 雌雄个体间遗传距离分布规律

鱼类分子育种近几年发展迅速, 其中, 结合传统育种方法开发出的基于亲本遗传背景的分子育种技术方案, 在避免近亲繁殖、优化群体遗传结构、维持群体遗传多样性等方面效果显著, 已应用于镜鲤、大黄鱼等鱼类的选育中^[16, 23]。基于亲本遗传背景的分子育种技术能够最大限度地避免近亲交配, 其中最核心的技术要点就是确定最佳雌雄亲本间配组的遗传距离“阈值”^[15]。鲁翠云等^[17]的研究发现, 随着镜鲤亲本间遗传距离的增加, 家系的生长性状呈现出先升高后下降的趋势, 结合表型性状确定镜鲤配组的最佳遗传距离范围在 0.5~0.7 时, 子代的经济性状最佳。毕金贞等^[24]在牙鲆的研究中得到了相似的结果, 随着亲本间遗传距离的增大, 遗传距离与性状的关系呈现显著正相关 ($D=0.2578\sim0.5958$)、无显著相关性 ($D=0.6099\sim0.6604$) 到显著负相关 ($D=0.6640\sim0.9773$) 的变化。可见, 在家系配组时, 选择遗传距离中等水平的一对亲本, 既能够避免近交衰退又能够获得较好的选育效果。

鲤鱼是经全国原、良种委员会审定品种最多的水产养殖种, 至今审定的原种、选育种、杂交种及引进种达到 20 个以上。这些品种的体型、体色、鳞被等性状具有广泛的遗传变异, 遗传背景差异巨大的鲤鱼品种在繁殖配组中如何选择一个适宜的遗传距离是需要重点考虑的问题。本研究利用 23 个微卫星标记揭示了福瑞鲤和豫选黄河鲤 2 个品种雌雄个体间的遗传距离的分布规律,

发现不同范围的遗传距离呈正态分布。根据镜鲤中利用亲本遗传距离中间值配组繁殖获得的子代经济性状最佳的结论^[17], 选择正态分布曲线峰值两侧的 2 个遗传距离范围作为繁殖配组时亲本间遗传距离的阈值, 其中杂交品种福瑞鲤的配组阈值较高, 为 0.8~1.0; 而豫选黄河鲤的配组遗传距离阈值较低, 为 0.5~0.7, 与镜鲤相同^[17]。另外, 以最高比例的中间值作为遗传距离阈值, 也便于在育种实践中获得较多的配组组合。品种个体间遗传距离的分析结果符合其选育背景, 福瑞鲤作为建鲤与黄河鲤的杂交品种, 同时包含了来源于不同水系的荷包红鲤、元江鲤及黄河鲤的遗传成分, 遗传杂合度较高, 个体间遗传距离也较大; 而黄河鲤作为系统选育种, 其遗传杂合度与松浦红镜鲤^[25]、散鳞镜鲤^[26]等相近, 个体间遗传距离的中间值也相近。结合本研究结果, 建议福瑞鲤和豫选黄河鲤在家系配组及苗种生产时, 选择亲本间遗传距离阈值分别位于 0.8~1.0 和 0.5~0.7 范围之内为宜, 也表明对于特定的品种, 选择合适的遗传距离阈值是必需的。

参考文献:

- [1] Tong X H, Dong Z J, Miao W M, et al. The heterosis of F_1 hybrids (jian carp×huanghe carp) and path analysis of main growth traits[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2007, 22(3): 159~163. [佟雪虹, 董在杰, 缪为民, 等. 建鲤与黄河鲤的杂交优势研究及主要生长性状的通径分析[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(3): 159~163.]
- [2] Tong X H, Yuan X H, Dong Z J, et al. Growth comparison and path analysis of selfing of Jian carp and reciprocal crosses hybrids between Jian carp and Huanghe carp[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(2): 182~189. [佟雪虹, 袁新华, 董在杰, 等. 建鲤自交及与黄河鲤正反杂交子代的生长比较和通径分析[J]. 水产学报, 2008, 32(2): 182~189.]
- [3] Tong X H, Dong Z J, Miao W M, et al. RAPD molecular markers between jian carp and huanghe carp and genetic analysis of heterosis[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2007, 27(1): 1~6. [佟雪虹, 董在杰, 缪为民. 建鲤与黄河鲤的 RAPD 分子标记及其杂交优势的遗传分析[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(1): 1~6.]
- [4] Su S Y, Dong Z J, Qu J Q, et al. Microsatellite-based genetic diversity of 2×2 full diallel cross of Jian carp and Huanghe carp and related bodyweight correlation[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(5): 1032~1042. [苏胜彦, 董在杰, 阚菊清, 等. 建鲤与黄河鲤 2×2 全双列杂交后代的微卫星遗传多样性和体重相关性[J]. 中国渔业科学, 2011, 18(5): 1032~1042.]

- [在杰, 曲疆奇, 等. 建鲤、黄河鲤杂交后代微卫星标记多样性及其与体质量的关联性[J]. 中国水产科学, 2011, 18(5): 1032–1042.]
- [5] Dong Z J. Breeding technology and culture contrast test of FFRC strain common carp[J]. Scientific Fish Farming, 2011(6): 41–42. [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.]
- [6] Kui H G. Culture contrast experiment of adult fish between FFRC strain common carp and jian carp[J]. Journal of Aquaculture, 2014(3): 5–7. [魁海刚. 福瑞鲤与建鲤成鱼养殖对比试验[J]. 水产养殖, 2014(3): 5–7.]
- [7] Notice of General Office of the Ministry of Agriculture on the recommendation issued leading varieties and main technology (2013~2015)[EB/OL]. <http://www.moa.gov.cn/>. [农业部办公厅关于推介发布农业主导品种和主推技术的通知(2013~2015)[EB/OL]. <http://www.moa.gov.cn/>.]
- [8] Guan J Y, Zhang Q, Qu C Y, et al. Genetic diversity of wild and artificial selecting *Cyprinus carpio haematopterus* by ISSR analysis[J]. Journal of Henan Normal University: Natural Science, 2010, 38(4): 128–131. [关建义, 张芹, 屈长义, 等. 野生和人工选育黄河鲤遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 38(4): 128–131.]
- [9] Qu J Q, Bi Y J, Dong Z J, et al. Analysis of genetic structure of FFRC strain common carp (*Cyprinus carpio*) and its original parents by SRAP markers[J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(5): 120–125. [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.]
- [10] Ding J B, Dong Z J, Zhu W B, et al. Genetic diversity of eight FFRC strain common carp families revealed by target region amplified polymorphism markers[J]. Jiangsu Journal of Agriculture Sciences, 2014, 30(5): 1077–1086. [丁敬波, 董在杰, 朱文彬, 等. 利用 TRAP 标记分析 8 个福瑞鲤家系的遗传多样性[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(5): 1077–1086.]
- [11] Li J L, Tang Y K, Li H X, et al. Germplasm resources analysis in *Cyprinus carpio* var. *jian* by microsatellite markers[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 38(32): 107–112. [李建林, 唐永凯, 李红霞, 等. 利用微卫星标记分析建鲤种质资源的研究[J]. 中国农学通报, 2012, 38(32): 107–112.]
- [12] Li J L, Tang Y K, Li H X, et al. Genetic structure and identification of six families of *Cyprinus carpio* var. *jian* by microsatellite markers[J]. Jiangsu Journal of Agriculture Sciences, 2012, 28(4): 917–920. [李建林, 唐永凯, 李红霞, 等. 利用微卫星标记进行 6 个建鲤家系遗传结构分析和家系鉴定[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(4): 917–920.]
- [13] Li J L, Li H X, Tang Y K, et al. Genetic diversity analysis of six populations of common carp by microsatellite markers[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 27(9): 936–940. [李建林, 李红霞, 唐永凯, 等. 利用微卫星标记分析 6 个鲤鱼群体的遗传差异[J]. 福建农业学报, 2012, 27(9): 936–940.]
- [14] Li C, Lu C Y, Feng J X, et al. Genetic potential of huanghecarp (*Cyprinus carpio haematopterus*) by microsatellite markers associated to economic traits[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2012, 25(4): 1–7. [李超, 鲁翠云, 冯建新, 等. 性状相关微卫星标记分析黄河鲤群体的遗传潜力[J]. 水产学杂志, 2012, 25(4): 1–7.]
- [15] Sun X W, Lu C Y, Jia Z Y, et al. The progress of molecular marker-based breeding for aquatic species[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16(6): 981–990. [孙效文, 鲁翠云, 贾智英, 等. 水产动物分子育种研究进展[J]. 中国水产科学, 2009, 16(6): 981–990.]
- [16] Lu C Y, Jin W K, Li C, et al. Population selection in mirror carp *Cyprinus carpio* L. assisted by microsatellite markers[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2011, 24(3): 29–34. [鲁翠云, 金万昆, 李超, 等. 微卫星分子标记指导镜鲤群体选育[J]. 水产学杂志, 2011, 24(3): 29–34.]
- [17] Lu C Y, Cao D C, Sun X W, et al. Families construction assisted by microsatellite markers in mirror carp *Cyprinus carpio* L.[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(6): 893–901. [鲁翠云, 曹顶臣, 孙效文, 等. 微卫星分子标记辅助镜鲤家系构建[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 893–901.]
- [18] Li C, Lu C Y, Zheng X H, et al. A simple and efficient method for preserving fish fins[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2014, 27(1): 22–24. [李超, 鲁翠云, 郑先虎, 等. 一种保存鱼类鳍条的便捷方法[J]. 水产学杂志, 2014, 27(1): 22–24.]
- [19] 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.]
- [20] Lu C Y, Xu H, Zhang M Z, et al. Identification of significant correlation microsatellite markers with eye diameter and eye cross of mirror carp, *Cyprinus carpio* L.[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(3): 490–498. [鲁翠云, 徐浩, 张明昭, 等. 镜鲤眼径及眼间距性状显著相关的微卫星标记筛选[J]. 中国水产科学, 2013, 20(3): 490–498.]
- [21] 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 Gen, 1980, 32(3): 31–34.
- [22] Lu C Y, Jin W K, Sun X W, et al. Effects of sample size on various genetic structure parameter in cultured population genetic study[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(5): 674–683. [鲁翠云, 金万昆, 孙效文, 等. 样本容量对养殖群体内主要遗传结构分析参数的影响[J]. 水产学报, 2008, 32(5): 674–683.]

- [23] Chang Y M. Development and application of microsatellite markers in common carp, Chinese mitten crab and large yellow croaker[D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2008. [常玉梅. 鲤鱼、中华绒螯蟹和大黄鱼微卫星标记的开发与应用研究[D]. 广州: 中山大学, 2008.]
- [24] Bi J Z, Chen S L. Correlation between genetic distance among parents and growth rate of offspring in *Paralichthys olivaceus*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(15): 395–401. [毕金贞, 陈松林. 牙鲆亲本间遗传距离与其后代生长速度的相关性分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(15): 395–401.]
- [25] Li S W, Jia Z Y, Bai Y Y, et al. The genetic diversity of a conservation population of *Cyprinus carpio* var. *songpu* red mirror carp[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(1): 67–74. [李盛文, 贾智英, 柏盈盈, 等. 松浦红镜鲤保种群体的遗传结构[J]. 中国水产科学, 2014, 21(1): 67–74.]
- [26] Li S W, Jia Z Y, Bai Y Y, et al. Microsatellite marker analysis of genetic diversity in two scattered scale mirror carp populations[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2014, 27(2): 1–8. [李盛文, 贾智英, 柏盈盈, 等. 散鳞镜鲤两个保种群体的遗传多样性[J]. 水产学杂志, 2014, 27(2): 1–8.]

Genetic structure and genetic distance distribution between females and males in conservation populations of two common carp varieties using microsatellite markers

LU Cuiyun¹, ZHANG Xiaoli¹, GU Ying¹, LI Chao¹, DONG Zaijie², FENG Jianxin³, CHENG Lei¹, SUN Xiaowen¹

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

2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

3. Henan Academy of Fishery Science, Zhengzhou 450044, China

Abstract: Common carp (*Cyprinus carpio* L.) is an important economic fish species with very rich genetic resources, and it has been used to develop many carp varieties in China. The FFRC strain (FR) and the Yuxuan Yellow River (YX) strains of common carp have higher growth performance and improved body shape, and have been certified by the National Certification Committee for Aquatic Varieties. Currently, these two carp varieties occupy a pivotal position in fresh water aquaculture because they are farmed in most provinces of China and have brought significant economic profits. Therefore, it is important to evaluate the genetic diversity of the conservation populations of these strains to maintain growth performance and make further genetic improvements. The objective of this study was to analyze the genetic structure of the breeding populations, and to evaluate the genetic distance between female and male individuals using microsatellite markers. A total of 160 and 131 alleles were detected with 23 microsatellite markers in FR ($n=192$) and YX ($n=96$), respectively. For FR, the average values of number of effective alleles (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and polymorphism information content (PIC) were 4.559, 0.695, 0.741, and 0.702, respectively, suggesting that there is a high level of polymorphism in this strain. For YX, the mean values of N_e , H_e , and PIC were 3.620, 0.665, 0.642, and 0.600, respectively, indicating a high level of diversity in this strain. The significantly lower N_e , H_e , and PIC values in YX than in FR ($P<0.01$) suggested that more alleles were derived from different parents in FR with its hybrid breeding background than in YX with its systematic selection background. There was no significant difference in H_o between FR (0.695) and YX (0.665), which indicated that YX maintains high genetic heterozygosity. The genetic distance(GD) between females and males in each population showed a normal distribution. The GD ranged from 0.8 to 1.0 and accounted for 37.39% of variability in FR, and ranged from 0.5 to 0.7 and accounted for 49.33% of variability in YX. Therefore, to construct families in breeding programs, the GD threshold is 0.8–1.0 for FR and 0.5–0.7 for YX.

Key words: FFRC common carp; Yuxuan Yellow River carp; microsatellite; genetic structure; genetic distance

Corresponding author: SUN Xiaowen. E-mail: sunxw2002@163.com