

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2017.02.007

金草鱼与中国4个草鱼群体的微卫星多态性比较分析

朱冰^{1,2}, 樊佳佳¹, 白俊杰¹, 姜鹏¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东广州510380; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海201306)

摘要: 20世纪90年代, 中国引进了一批体色呈金黄色的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*), 生产上俗称金草鱼。为了解金草鱼群体的遗传结构和遗传多样性, 利用15个微卫星DNA标记对金草鱼群体与中国草鱼群体(长江水系的沅江群体、宁乡群体、洪湖群体和珠江水系的西江群体)进行遗传结构和系统进化分析。结果表明15个微卫星位点均具有较高的多态性, 多态信息含量(PIC)为0.763~0.939。金草鱼群体的遗传多样性水平[期望杂合度(H_E)=0.662]低于中国草鱼群体[H_E =0.852~0.885]。遗传分化指数(F_{ST})分析显示, 金草鱼群体与沅江群体之间的遗传分化属于高度分化($0.15 < F_{ST} < 0.25$), 与其他3个草鱼群体之间属于中度分化($0.05 < F_{ST} < 0.15$)。遗传距离分析显示, 金草鱼群体与西江群体遗传距离(D_A)最小(0.4763), 与沅江群体最大(D_A =0.8107)。基于遗传距离构建的NJ系统进化树显示, 4个中国草鱼群体聚为一支, 金草鱼群体单独为另一支。研究结果显示金草鱼群体的遗传多样性低于中国的草鱼群体, 亲缘关系也较远。

关键词: 草鱼; 遗传结构; 微卫星; 遗传距离; 杂合度

中图分类号: S965.112

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2017)02-0051-08

Gold grass carp microsatellite polymorphism and its comparative analysis with four grass carp populations from China

ZHU Bing^{1,2}, FAN Jiajia¹, BAI Junjie¹, JIANG Peng¹

(1. Key Lab. of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture; Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Gold grass carp is a kind of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) that was introduced from abroad in the 1990s. We used 15 microsatellite markers to analyze the genetic structure and genetic diversity of gold grass carp population and four grass carp populations [Yuanjiang (YJ), Ningxiang (NX), Honghu (HH) and Xijiang (XJ)] from the Yangtze River and the Pearl River of China. The results show that all the 15 microsatellite loci were highly polymorphic, with polymorphism information content (PIC) of 0.763~0.939. The expected heterozygosity (H_E) of gold grass carp population was 0.662, lower than those of the four Chinese grass carp populations (H_E =0.852~0.885). The analysis of genetic differentiation index (F_{ST}) indicates that the F_{ST} between gold grass carp population and YJ, NX, HH, XJ populations were 0.1572, 0.1295, 0.1475 and 0.1144, respectively. Genetic distance analysis shows that the genetic distance between gold grass carp population and XJ population was the shortest (0.4763), and was the longest with YJ population (0.8107). The NJ phylogenetic tree based on genetic distance shows that the four Chinese grass carp populations clustered together as one branch, and gold grass carp population as another. The result shows

收稿日期: 2016-05-27; 修回日期: 2016-06-30

资助项目: “十二五”农村领域国家科技计划项目(2012BAD26B02); 国家大宗淡水鱼产业技术体系建设“华南草鱼选育与分子辅助育种”(CARS-46-03); 广东省海洋渔业科技与产业发展专项(A201401A03); 广东省自然科学基金项目(2016A030313148)

作者简介: 朱冰(1991-), 男, 硕士研究生, 从事水产动物遗传育种研究。E-mail: zhub.tang@foxmail.com

通信作者: 白俊杰(1957-), 男, 研究员, 从事水产生物技术及鱼类遗传育种研究。E-mail: jibai@163.net

that the genetic diversity of gold grass carp population is lower than that of Chinese grass carp population, with relative distant genetic relationship.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; genetic structure; microsatellite; genetic distance; heterozygosity

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 属于鲤形目、鲤科、雅罗鱼亚科、草鱼属, 又名鲩鱼^[1]。金草鱼又名俄罗斯金草鱼、金丝鲩^[2], 形态体型与草鱼相似, 体呈金黄色或黄白色, 20 世纪 90 年代由广东省佛山市顺德区从国外引进, 由于其生长迅速、产量高、肉质肥嫩、味道鲜美、颜色美观, 可以加工为生鱼片, 也可以用于观赏渔业和休闲渔业, 目前已经在广东、福建等地具有一定的养殖规模^[3]。草鱼是中国四大家鱼之一, 广泛分布于中国各大江河水系中^[4], 20 世纪以来, 科研工作者对长江、珠江和黑龙江草鱼种群的形态、生长和生化遗传结构等方面进行系统比较分析, 结果表明不同水系种群间在形态、生长和生化等方面均存在一定程度的差异^[5]。金草鱼自引入中国后, 遗传背景和遗传结构尚不清楚, 金草鱼的分类地位, 种群遗传多样性现状及与中国草鱼的亲缘关系还未见报道。关于不同草鱼群体之间遗传变异及相互关系的研究较多^[6], 研究方法也比较多, 如同工酶^[7-8]、mtDNA-RFLP^[9-10]、RAPD^[11]、SSR^[12-14]和 SNP^[15]分析等。在这些分析方法中, 微卫星 (microsatellite) 又称简单序列重复 (simple sequence repeat, SSR) 标记, 是广泛分布于真核生物基因组中的一种中度重复序列, 具有量大、共显性、多态性高、可重复性好、操作简便等特点^[16-18], 已被广泛用于研究水产动物的遗传多样性和遗传结构^[19-22]。

该研究利用微卫星标记对金草鱼群体和来自中国长江水系与珠江水系的 4 个草鱼群体进行遗传结构比较分析, 旨在从群体遗传结构角度探索金草鱼群体与中国草鱼群体之间的遗传进化关系, 进一步了解金草鱼的分类地位; 并通过遗传多样性分析, 为将来金草鱼良种选育和遗传改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 草鱼样本 该研究共 5 个群体, 金草鱼 (GCC) 群体 30 尾 (图 1), 取自南海通威水产科技



图 1 金草鱼

Fig. 1 Gold grass carp



图 2 普通草鱼

Fig. 2 Grass carp

有限公司。4 个中国草鱼群体分别为西江群体 (XJ) 于 2005 年取自珠江水系西江江段, 宁乡群体 (NX) 于 2004 年取自长江支流湘江江段, 沅江群体 (YJ) 于 2004 年取自长江支流沅江江段, 洪湖群体 (HH) 于 2004 年取自长江主流湖泊洪湖。长江水系和珠江水系样本都是从江或湖里捕捞的野生小草鱼 (图 2), 养殖到 (13.0 ± 2.0) kg 后取鳍条组织用无水乙醇固定, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存于珠江水产研究所, 每个群体取 30 尾用于该研究。

1.1.2 微卫星引物 该研究采用微卫星标记引物序列均来自文献 [23] ~ [25], 通过扩增验证, 共挑选 15 对扩增稳定、多态性高的微卫星引物用于研究。上游引物 5' 端加上 FAM 或 HEX 荧光标记, 引物均由上海捷瑞生物工程有限公司合成, 引物信息见表 1。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 提取 采用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司] 提取鳍条组织的基因组 DNA。提取的基因组 DNA 首先用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测质量, 然后用紫外分光光度计 (Eppendorf 公司 AG22331 型) 检测浓度, 用去离子双蒸水稀释至 $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

表1 草鱼15个微卫星引物序列

Tab. 1 Primer sequences of 15 microsatellite markers for grass carp

位点 locus	重复序列 repeat sequence	引物序列(5'→3') primer sequence	片段大小 allele size	退火温度/℃ annealing temperature	引至 Reference
HLJC118	(GA) ₃₀	F: FAM-AGCACATTCAGGGAGGAC R: AGCAAAGCAGCAAACCTCTC	94 ~ 178	60	周盼
HLJC137	(ATCT) ₆ (TCCA) ₅	F: HEX-CCCGCTGACATTCTGATT R: AGCAATTCATATGGCCTTCG	220 ~ 280	60	李文升
HLJC165	(CTAT) ₂₇	F: FAM-AACTCGCTCTCAAATTCTCA R: AGGCTGTGTGGGCTATGTCT	163 ~ 271	60	李文升
HLJC148	(GGAT) ₇ (GATA) ₁₀	F: HEX-CAGACGGATGGATGGATG R: CTTTCAAATGTGGAGTCTTGC	165 ~ 245	60	李文升
Cid0012	(TG) ₃₁	F: FAM-ACAGTGCTAAACCTGCCAGTCACTG R: ACAGCAGCACCAGTGGACATCAT	130 ~ 192	55	傅建军
Cid0001	(AC) ₃₂	F: HEX-GTGTGTGCTGGATAATGGGA R: TGGTGAATCAAGAGGTGTG	210 ~ 274	57	傅建军
Cid0017	(CA) ₂₄	F: FAM-CTGGCCCCGGAGGAGACG R: AGCAGCCAGCCGAGAAGATGAT	324 ~ 372	58	傅建军
Cid0044	(GT) ₂₉	F: HEX-TTGTGGTGGATCGGCCTGTATTT R: GAGCTGCCCAAGCGTGTGC	362 ~ 420	55	傅建军
Cid0036	(CA) ₂₆	F: FAM-CCAGGGGCAAACACAGACAATACTC R: AGGAAGCCATTCTTTGGATCTCATTAG	102 ~ 154	57	傅建军
Cid0004	(TG) ₂₅	F: HEX-ATCCCCTCTCAATTGACTCACAGTT R: GCTGGCATCTATTTGAATTCCTTATTG	169 ~ 219	55	傅建军
Cid0002	(AC) ₃₃	F: FAM-GCAGGCTGTGAAGAATA R: AACTTACTGACCCCAAACC	246 ~ 312	56	傅建军
Cid1528	(CT) ₁₈	F: HEX-GCTGGTTTAAACAGGCACACCTTC R: TTGGGACGAAAGCTGCTCTG	326 ~ 358	55	遗传图谱
Cid0058	(TG) ₂₈	F: FAM-AAGGGAGAGGGAGAAGGAAGAGA R: AGGCGGAGGACTGAAACGAA	138 ~ 196	56	傅建军
Cid1525	(GA) ₂₆	F: HEX-AAGAGCCCACACTTACGTACTGT R: GTTTTTCCCTTTAACCCTCTCT	227 ~ 271	55	遗传图谱
Cid0909	(CA) ₂₀	F: FAM-CATGTAGTCCACCGCCTGATGAT R: GAAGGGGCAGCTTGAATCCA	312 ~ 352	55	遗传图谱

1.2.2 PCR 扩增 扩增反应体系总体积为 20 μL , 包含 2.0 μL 10 \times buffer、2 μL 氯化镁 (MgCl_2) ($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、0.4 μL dNTP ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、上下游引物 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 0.2 μL 、1 μL 模板 DNA、0.4 μL *Taq* 酶 ($5 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) (Fermentas 公司), 13.8 μL 去离子双蒸水。PCR 扩增反应条件为 94 $^\circ\text{C}$ 预变性 3 min 后进入 35 个循环, 94 $^\circ\text{C}$ 变性 15 s, 退火 15 s, 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 30 s, 循环结束后 72

$^\circ\text{C}$ 再延伸 3 min, 4 $^\circ\text{C}$ 保存。

1.2.3 PCR 产物检测及分型 微卫星基因分型委托上海捷瑞生物工程有限公司完成, PCR 扩增产物经过 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 根据条带亮度, 使用灭菌的去离子双蒸水将 PCR 产物稀释 5 ~ 10 倍后, 与 ROX 500 内标混匀, 用 ABI3730XL 测序仪 (美国 ABI 公司) 进行毛细管电泳检测。通过 Peak Scanner Software V1.0 软件读

取扩增产物的分子量,根据各微卫星在不同个体中的分子量差异确定各个体各基因座的基因型^[26]。

1.3 数据统计与分析

在各个体各位点的基因型确定之后,用 POP-GEN 3.2 软件^[27]计算等位基因数(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)和群体间遗传距离(D_A)。利用 MEGA 5.0 软件根据 Nei 氏遗传距离使用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统树^[28]。用 CERVUS 3.0 软件计算多态信息含量(polymorphism information content, PIC)^[29]。用 ARLEQUIN 3.1 软件计算群体间遗传分化指数(F_{ST})和群体分子方差分析(AMOVA)^[30-31]。使用 STRUCTURE 2.3 软件执行假设 K (1-7), 20 次重复,参考 EVANNO 等^[32]的方法利

用似然值计算 ΔK ,获得群体数 K。

2 结果与分析

2.1 微卫星的 PCR 扩增结果

15 对微卫星引物对金草鱼群体和 4 个中国草鱼群体共 150 个个体基因组 DNA 进行扩增,均获得目的条带。数据统计后发现 15 对微卫星引物在 5 个群体中共获得等位基因 319 个,各位点的 N_A 为 15~37 个,平均 N_A 为 21.27 个。PIC 为 0.763~0.939,均属于高度多态性位点($PIC > 0.5$),具体信息见表 2。15 个微卫星位点在 4 个中国草鱼群体中均属于高度多态性位点($PIC > 0.5$),而在金草鱼群体中有 3 个位点 HLJC118、Cid1528 和 Cid1525 的 PIC 分别为 0.438、0.358 和 0.461,为中度多态位点($0.25 < PIC < 0.5$)。

表 2 草鱼 15 个微卫星位点的遗传多样性信息

Tab. 2 Statistics of five populations of grass carp using 15 microsatellite loci

位点 locus	等位基因数 N_A	有效等位基因数 N_E	观察杂合度 H_O	期望杂合度 H_E	多态信息含量 PIC
HLJC118	37	17.29	0.693	0.945	0.939
HLJC137	15	8.40	0.840	0.884	0.870
HLJC165	26	15.33	0.913	0.938	0.931
HLJC148	19	11.50	0.880	0.916	0.907
Cid0012	24	5.37	0.733	0.817	0.798
Cid0001	23	5.97	0.700	0.835	0.818
Cid0017	18	8.47	0.913	0.885	0.871
Cid0044	18	5.90	0.580	0.833	0.816
Cid0036	18	9.90	0.873	0.902	0.890
Cid0004	19	8.15	0.787	0.880	0.866
Cid0002	24	14.01	0.887	0.932	0.924
Cid1528	18	4.56	0.727	0.783	0.763
Cid0058	23	10.07	0.940	0.904	0.893
Cid1525	19	6.35	0.767	0.845	0.825
Cid0909	18	10.09	0.753	0.904	0.893
均值 mean	21.27	9.42	0.799	0.880	0.867

2.2 群体遗传多样性

4 个中国草鱼群体的遗传多样性整体相差不大,而金草鱼群体遗传多样性明显低于 4 个中国草鱼群体(表 3)。金草鱼群体的平均 N_A 为 6.667,平均 N_E 为 3.138,低于中国草鱼群体的平均 N_A

(12.333~15.400)和平均 N_E (7.417~9.210)。金草鱼群体的平均 H_O 为 0.633,平均 H_E 为 0.662,低于中国草鱼群体的平均 H_O (0.827~0.851)和平均 H_E (0.852~0.885)。金草鱼的平均 PIC 也低于中国草鱼群体。

表3 草鱼群体的遗传多样性信息

Tab. 3 Genetic information for 15 microsatellite loci of five grass carp populations

参数 index	金草鱼 GGC	沅江 YJ	宁乡 NX	洪湖 HH	西江 XJ
等位基因数 N_A	6.667	12.333	14.867	15.333	15.400
有效等位基因数 N_E	3.138	7.417	9.069	8.900	9.210
观察杂合度 H_o	0.633	0.836	0.827	0.849	0.851
期望杂合度 H_E	0.662	0.852	0.885	0.885	0.885
多态信息含量 PIC	0.599	0.822	0.859	0.860	0.857

2.3 群体间的遗传分化

4个中国草鱼群体间的 F_{ST} 为 0.004 1 ~ 0.027 4, 为轻度分化 ($F_{ST} < 0.05$) (表4)。金草鱼群体与宁乡群体、洪湖群体和西江群体之间的 F_{ST} 分别为 0.129 5、0.147 5 和 0.114 4, 为中度分化 ($0.05 < F_{ST} < 0.15$); 与沅江群体之间的 F_{ST} 为 0.157 2, 为高度分化 ($0.15 < F_{ST} < 0.25$)。

在 AMOVA 分析中, 对4个中国草鱼群体进行分析, 结果显示有 1.16% 的遗传变异来自于群体间, 98.39% 的遗传变异来自群体内 (表5); 把4个中国草鱼群体作为一个群体, 金草鱼群体作为另一个群体进行 AMOVA 分析, 结果显示有 11.99%

的遗传变异来自于群体间, 88.01% 的遗传变异来自于群体内 (表6)。

2.4 遗传距离

依据 NEI 和 LI^[33] 计算群体间的 D_A , 结果表明, 4个中国草鱼群体间的遗传距离较小, 其中宁乡群体与西江群体的遗传距离最小 ($D_A = 0.095 3$), 沅江群体与西江群体的遗传距离最大 ($D_A = 0.252 4$) (表4)。金草鱼群体与中国草鱼群体的遗传距离较大, 其中与西江群体的遗传距离最小 ($D_A = 0.476 3$), 与沅江群体间的遗传距离最大 ($D_A = 0.810 7$)。NJ 聚类图显示中国4个草鱼群体先聚为一类, 然后与金草鱼群体聚在一起 (图3)。

表4 5个草鱼群体的遗传距离(对角线下)和遗传分化指数(对角线上)

Tab. 4 Nei's genetic distance (below diagonal) and pairwise F_{ST} (above diagonal) among five populations of grass carp

	金草鱼 GGC	沅江 YJ	宁乡 NX	洪湖 HH	西江 XJ
金草鱼 GGC		0.157 2**	0.129 5**	0.147 5**	0.114 4**
沅江 YJ	0.810 7		0.024 7**	0.016 4**	0.027 4**
宁乡 NX	0.602 5	0.229 3		0.010 7**	0.004 1
洪湖 HH	0.787 4	0.163 4	0.149 7		0.017 8**
西江 XJ	0.476 3	0.252 4	0.095 3	0.213 8	

注: **. 分化达到极显著水平 ($P < 0.01$)

Note: ** indicates very significant difference at $P < 0.01$ level.

表5 4个中国草鱼群体的 AMOVA 分析

Tab. 5 AMOVA analysis among four populations of grass carp

变异来源 source of variation	自由度 DF	平方和 SS	方差组分 variance component	百分率/% percentage
群体间 among populations	3	40.013	0.107 99	1.61
群体内 within populations	236	1 552.033	6.581 11	98.39
总变异 total	239	1 592.046	6.689 10	

表6 金草鱼与中国草鱼群体的 AMOVA 分析

Tab. 6 AMOVA analysis of populations of gold grass carp and grass carp

变异来源 source of variation	自由度 DF	平方和 SS	方差组分 variance component	百分率/% percentage
群体间 among populations	1	89.404	0.861 92	11.99
群体内 within populations	298	1 884.696	6.326 72	88.01
总变异 total	299	1 974.100	7.188 64	

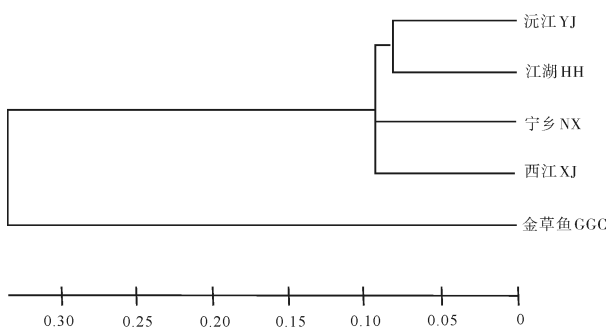


图3 基于 Nei's 遗传距离构建的5个草鱼群体的 NJ 聚类树
Fig. 3 NJ clustering using Nei's unbiased genetic distance (1978) of five populations of grass carp

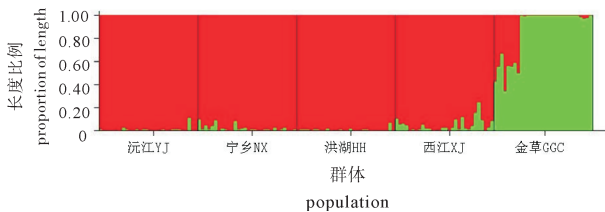


图4 金草鱼和草鱼群体在 K=2 时遗传结构图
Fig. 4 Clustering result of gold grass carp and grass carp populations from STRUCTURE (K=2)

2.5 群体遗传结构分析

根据 STRUCTURE 软件运算结果计算 ΔK , 当 $K=2$ 时, ΔK 出现峰值, 因此把所有分析个体分为 2 个理论群(图 4)。中国 4 个草鱼群体聚为一群, 金草鱼单独为另一群。

3 讨论

3.1 金草鱼的群体多样性

群体遗传多样性是生物进化和分化的基础, 生物为了适应环境的变化会产生不同的基因型。遗传变异越大和杂合度越高的生物对环境的适应能力也越强, 在生长、繁殖、抗病等方面也更具有优势^[34]。等位基因数、杂合度和多态信息含量等遗

传参数均能反映群体的遗传多样性水平, 其数值的大小直接反映群体的基因丰富度和遗传多样性大小^[35]。在这些参数中最常用 H 来描述物种的遗传多样性, 群体 H 是指检测位点上群体杂合子的频率, 反映了群体的杂合程度^[24], 其数值越高, 表明该群体的遗传变异越大, 遗传多样性丰富; 数值越低, 则群体遗传变异越小, 遗传多样性匮乏^[36]。该研究中的草鱼群体的 H_E 为 0.852 ~ 0.885, 与傅建军等^[23] ($H_E = 0.831 \sim 0.885$)、LIU 等^[37] ($H_E = 0.71 \sim 0.82$) 和周盼等^[24] ($H_E = 0.7114 \sim 0.8045$) 研究的草鱼群体的期望杂合度结果相似, 说明中国草鱼群体的杂合度较高, 而金草鱼群体的 H_E 为 0.662, 低于中国草鱼群体。金草鱼的遗传多样性较低的原因可能是由于金草鱼引入中国时的亲本数量偏少, 加上随后的繁殖过程中近交导致遗传多样性下降, 也不排除原产地金草鱼的遗传多样性就比较低的可能性, 具体原因还有待于进一步研究。

3.2 金草鱼的遗传变异

F_{ST} 是衡量群体间遗传分化程度的重要参数, 评判标准一般为轻度分化 $F_{ST} < 0.05$, 中等分化 $0.05 < F_{ST} < 0.15$, 高度分化 $0.15 < F_{ST} < 0.25$, 极高度分化 $0.25 < F_{ST} < 1.00$ ^[38]。金草鱼群体与中国草鱼群体之间的遗传分化程度属于中等分化到高度分化, 表明金草鱼群体与中国草鱼群体之间的遗传分化明显; 而中国草鱼群体之间分化较低, 仅为轻度分化。CHEN 等^[39] 对中国草鱼群体(长江、珠江、黑龙江)和移居草鱼群体(美国、日本、匈牙利)的遗传多样性研究发现: 中国草鱼群体之间的遗传分化较低 ($F_{ST} = 0.0082 \sim 0.0759$, 平均为 0.036), 而移居草鱼群体之间的遗传分化较高 ($F_{ST} = 0.0688 \sim 0.1677$, 平均为 0.121), 其中日本草鱼群体由于移居时间较早而与其他群体有显著的差异 ($F_{ST} = 0.1102 \sim 0.1677$)。移居群体与土著群体的遗传分化往往是由于建群者效应或瓶颈效应, 这

种效应往往会导致遗传多样性的降低^[40-41],草鱼等繁殖周期较长的鱼类,由于世代周期较长使得突变概率相对较低,这种效应会更显著^[42]。由于中国引入金草鱼的时间较短,目前在中国经历的世代还不多,因此这种遗传分化能较好地反映出国外金草鱼群体与中国草鱼的遗传分化。通过 AMOVA 分析也发现金草鱼群体与中国草鱼群体之间的遗传分化有 11.99% 来自群体间,而中国草鱼群体之间的遗传分化只有 1.61% 来自群体间。从 D_A 的数据来看中国草鱼群体之间的遗传距离为 0.095 3 ~ 0.252 4,而金草鱼群体与中国草鱼群体的遗传距离较大($D_A = 0.476 3 \sim 0.810 7$),可见金草鱼群体与中国草鱼群体遗传分化比较大。从 NJ 系统进化树的结果来看,4 个中国草鱼群体先聚为一支,而金草鱼群体单独聚为另一支,说明金草鱼群体与中国草鱼群体存在较大差异。STRUCTURE 软件分析的聚类结果与 NJ 聚类结果类似,同样说明金草鱼与中国草鱼群体之间具有较大的遗传分化。鱼类的体色变异是一种常见现象^[43],中国早在 1975 年就有关于红色草鱼的报道,并且对其形态特征和生长性能作了相应的研究^[44-45],DAVID 等^[46]对白化草鱼、郑国栋等^[47]对红色草鱼也进行过遗传方面的研究,研究显示白化草鱼和红色草鱼遗传多样性均较低,红色草鱼和白化草鱼与金草鱼的亲缘关系有待进一步探讨。通过以上研究可以看出金草鱼与中国草鱼群体之间的遗传结构存在较大差异,遗传距离较大,亲缘关系也较远,因此推测金草鱼是来自国外的一个地方种,而非中国草鱼的变异种。可进一步开展金草鱼种质特性、生长性能和抗病等经济性状的研究。

参考文献:

- [1] 姚根娣. 草, 鲢, 鳙鱼[J]. 水产科技情报, 1973(10): 29-31.
- [2] 徐保. 金丝鲢鱼种培育技术初探[J]. 水产养殖, 2013, 34(11): 20-21.
- [3] 胡大彬. 俄罗斯金草鱼山区池塘养殖技术[J]. 福建农业, 2013(9): 31.
- [4] 李思忠, 方芳. 鲢, 鳙, 青, 草鱼地理分布的研究[J]. 动物学报, 1990, 36(3): 244-250.
- [5] 李思发. 长江, 珠江, 黑龙江鲢, 鳙, 草鱼种质资源研究[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 228.
- [6] 曹婷婷, 白俊杰, 王解香, 等. 草鱼遗传结构和遗传多样性的研究概况[J]. 中国农学通报, 2012, 28(5): 76-80.
- [7] 吴力钊, 王祖. 长江中游草鱼天然种群的生化遗传结构及变异[J]. 遗传学报, 1992, 19(3): 221-227.
- [8] 赵金良, 李思发. 长江中下游鲢, 鳙, 草鱼, 青鱼种群分化的同工酶分析[J]. 水产学报, 1996, 20(2): 104-110.
- [9] 李思发, 吕国庆, 贝纳切滋 L. 长江中下游鲢鳙草青四大家鱼线粒体 DNA 多样性分析[J]. 动物学报, 1998, 44(1): 82-93.
- [10] 吴海防, 董仕, 单淇, 等. 3 个群体草鱼 mtDNA D-Loop 的 PCR-RFLP 分析[J]. 水产科学, 2006, 25(4): 184-188.
- [11] 张四明, 邓怀, 汪登强, 等. 长江水系鲢和草鱼遗传结构及变异性的 RAPD 研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 324-330.
- [12] 廖小林, 俞小牧, 谭德清, 等. 长江水系草鱼遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J]. 水生生物学报, 2005, 29(2): 113-119.
- [13] 王解香, 于凌云, 白俊杰, 等. 草鱼 EST-SSR 标记及 5 个不同地域群体的遗传结构分析[J]. 动物学杂志, 2011, 46(5): 24-32.
- [14] 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): 51-56.
- [15] YU L Y, BAI J J, CAO T T, et al. Genetic variability and relationships among six grass carp *Ctenopharyngodon idella* populations in China estimated using EST-SNP Markers[J]. Fish Sci, 2014, 80(3): 475-481.
- [16] 柳莹, 唐永政, 高丽. 微卫星 DNA 进化特征研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2014, 33(6): 1391-1400.
- [17] 孙效文, 张晓锋, 赵莹莹, 等. 水产生物微卫星标记技术研究进展及其应用[J]. 中国水产科学, 2008, 15(4): 689-703.
- [18] 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.
- [19] 孙立元, 郭华阳, 朱彩艳, 等. 卵形鲳鲹种群遗传多样性分析[J]. 南方水产科学, 2014, 10(2): 67-71.
- [20] SURESH E, REDDY A K, KRISHNA G, et al. Microsatellite DNA analysis of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) from India[J]. Israeli J Aquacult-Bamidgeh, 2015, 67(1): 1-7.
- [21] CRANE P, WALSH P, LEWIS C, et al. Origin and genetic diversity of lake trout in the Togiak National Wildlife Refuge, Alaska [J]. J Fish Wildl Manag, 2015, 6(1): 130-144.
- [22] FERREIRA D G, GALINDO B A, FRANTINE-SILVA W, et al. Genetic structure of a Neotropical sedentary fish revealed by AFLP, microsatellite and mtDNA markers: a case study [J]. Conserv Genet, 2015, 16(1): 151-166.
- [23] 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.
- [24] 周盼, 张研, 徐鹏, 等. 基于 26 个微卫星标记的三江水系草鱼遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2011, 18(5): 1011-1020.
- [25] 李文升, 刘翠, 鲁翠云, 等. 草鱼三、四核苷酸重复微卫星

- 标记的分离与特征分析[J]. 中国水产科学, 2011, 18(4): 742-750.
- [26] 李婷, 李伟, 赵建, 等. 中华鳖(*Trionyx sinensis*)微卫星标记与生长性状的相关分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(1): 63-71.
- [27] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 89(3): 583-590.
- [28] 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.
- [29] KALINOWSKI 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.
- [30] 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.
- [31] 孙成飞, 叶星, 董浚键, 等. 罗氏沼虾6个养殖群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 20-26.
- [32] 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.
- [33] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(10): 5269-5273.
- [34] BEARDMORE J A, MAIR G C, LEWIS R I. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture [J]. *Aquacult Res*, 1997, 28(10): 829-839.
- [35] 郝卓然, 梁利群, 常玉梅, 等. 扁吻鱼微卫星的筛选及群体多样性分析[J]. 水产学杂志, 2012, 25(3): 20-25.
- [36] 王芳, 彭真信, 张金国, 等. 应用微卫星标记分析圈养大熊猫遗传多样性[J]. 生物化学与生物物理进展, 2007, 34(12): 1279-1287.
- [37] 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.
- [38] BALLOUX F, LUGON-MOULIN N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. *Mol Ecol*, 2002, 11(2): 155-165.
- [39] CHEN Q, WANG C, LU G, et al. Microsatellite genetic diversity and differentiation of native and introduced grass carp populations in three continents [J]. *Genetica*, 2012, 140(4/5/6): 115-123.
- [40] 张琼, 吉亚杰, 曾治高, 等. 奠基者效应对海南坡鹿迁地保护种群遗传多样性的影响[J]. 动物学杂志, 2007, 42(3): 54-60.
- [41] LI Q, XU K F, YU R. Genetic variation in Chinese hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopten yessoensis*) inferred from microsatellite data [J]. *Aquaculture*, 2007, 269(1/2/3/4): 211-219.
- [42] HUNTER M E, NICO L G. Genetic analysis of invasive Asian black carp (*Mylopharyngodon piceus*) in the Mississippi River Basin: evidence for multiple introductions [J]. *Biol Invasions*, 2015, 17(1): 99-114.
- [43] 王成辉. 鱼类体色变异的遗传基础研究进展简述[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(5): 737-742.
- [44] 王云祥, 段来祥. 天津市首次发现红草鱼[J]. 淡水渔业, 1983, 13(1): 34.
- [45] 王发枝. 江苏睢宁县水产养殖场发现一种透明红草鱼[J]. 淡水渔业, 1975, 5(11): 31-32.
- [46] 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 Genomics*, 2001, 266(3): 353-362.
- [47] 郑国栋, 陈杰, 蒋霞云, 等. 长江草鱼不同群体 EST-SSR 多态性标记的筛选及其遗传结构分析[J]. 水生生物学报, 2015, 39(5): 1003-1011.