

文章编号: 1674-5566(2012)04-0489-06

黑龙江野鲤与德国镜鲤杂交组合的亲子鉴定分析

葛会争^{1,2}, 贾智英¹, 李池陶¹, 柏盈盈^{1,2}, 武耀^{1,2}, 石连玉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. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 利用微卫星多态性进行鱼类亲子鉴定, 在鱼类选育中具有重要意义。采用 8 个微卫星标记对黑龙江野鲤♀×德国镜鲤♂(正交组合), 及德国镜鲤♀×黑龙江野鲤♂(反交组合)进行亲子鉴定。结果显示: (1) 正交组中父母本和子代观测杂合度分别为 0.607 1、0.714 3 和 0.681 8, 多态信息含量依次为 0.442 1、0.281 3 和 0.553 5; 反交组中父母本和子代观测杂合度分别为 0.708 3、0.538 6 和 0.743 8, 多态信息含量依次为 0.673 5、0.375 9 和 0.624 1, 表明 8 个位点具有较高的多态性。(2) 正交组中, 8 个位点累计排除率为 99.92%, 亲本与子代的配对率为 98.00% (置信度为 95%); 反交组中, 8 个位点累计排除率为 99.99%, 亲本与子代的配对率为 99.00% (置信度为 95%)。(3) 关于使用微卫星标记数与鉴定率的探讨, 对 3、4、5、6、7、8 个微卫星标记时的累计排除率和亲子配对率进行比较, 结果表明, 正反交组分别利用 6 和 8 个多态性良好的引物就能正确鉴定。

研究亮点: (1) 将亲子鉴定技术运用在黑龙江野鲤和德国镜鲤杂交育种过程中, 能够更加准确地构建家系, 有效地避免近亲交配, 防止种质退化; (2) 对微卫星标记数与鉴定率的探讨结果表明, 正反交组分别利用 6 和 8 个多态性良好的引物就能正确鉴定。

关键词: 鲤; 微卫星多态性; 亲子鉴定; 遗传结构

中图分类号: S 917

文献标志码: A

亲子鉴定技术是根据子代和亲代的遗传特征判断亲代与子代是否具有亲缘关系^[1]。目前, 水产中亲子鉴定技术已得到广泛的应用, 关于鉴定准确率、亲子鉴定能力的研究已有很多报道, 如张春雷等^[2]、高焕等^[3]所做的研究。此外, 在水产动物如绿蚌贝 (*Perna canaliculus*)^[4]、鲍鱼 (*Haliotis discus hanna*)^[5]、三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)^[6]、日本对虾 (*Penaeus japonicus*)^[7]、鲢鱼 (*Engraulis encrasicolus*)^[8] 等亲子关系分析中也有应用。但是, 将亲子鉴定技术应用在黑龙江野鲤 (*Cyprinus carpio haematopterus*) 和德国镜鲤 (*Cyprinus carpio*) 杂交育种过程中还未见报道。

在水产遗传育种中, 标记辅助选择育种和家系构建是重要的研究手段^[9], 我们一般采取分池饲养的方法, 然而分池饲养占用空间大, 管理强

度大, 更重要的是不同的养殖环境对性状的影响会导致性状遗传参数的估计偏差。亲子鉴定技术可以根据亲本遗传信息准确鉴定不同的家系或选育组, 这既能减少分池饲养带来的遗传性状的差异又能减少其所占用的饲养池和管理强度。在品种选育和保种过程中, 亲子鉴定技术可以有效地避免近亲交配, 防止种质退化。

黑龙江野鲤抗逆性强、饲养成活率高、含肉率高、繁殖力强, 是黑龙江水系的优质鱼种^[10]。德国镜鲤具有生长快、肉质好、饵料转化率高、体形体色好、起捕率高等优点^[11]。因而将黑龙江野鲤与德国镜鲤杂交, 可以培育出优于双亲性状的新品种。然而在杂交育种研究中经常遇到构建家系或选育组分池饲养占用空间大、管理强度大等问题。因此, 本实验运用微卫星亲子鉴定技术对黑龙江野鲤与德国镜鲤亲本与杂种子代间进

收稿日期: 2011-11-30 修回日期: 2011-12-15

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-46-02); 黑龙江省自然科学基金项目 (C201044); 黑龙江水产研究所本科业务费专项资金 (201005); 国家高技术研究发展计划 (2011AA100402)

作者简介: 葛会争 (1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: hzge402@163.com

通讯作者: 石连玉, E-mail: sly2552@yahoo.com.cn

行了家系的鉴定研究,为黑龙江野鲤与德国镜鲤杂交的选育研究及其亲子鉴定技术在鲤中的应用提供技术支持和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验鱼均采自黑龙江水产研究所松浦试验站,并且经过电子标记。

黑龙江野鲤♀×德国镜鲤♂记为正交组:雌鱼1尾,雄鱼8尾,杂交子代56尾;德国镜鲤♀×黑龙江野鲤♂记为反交组:雌鱼7尾,雄鱼12尾,杂交子代72尾。

样品均剪取鳍条,放入盛有75%乙醇的1.5 mL离心管中,带回实验室放入-20℃冰箱保存。

1.2 方法

1.2.1 配组方法

正反杂交组的亲本配组方法均采用随机交配的方法。

1.2.2 DNA 提取

采用酚-氯仿方法^[12]提取基因组DNA,经琼脂糖凝胶(胶浓度1%)电泳和紫外分光光度法检测其纯度和浓度,稀释成50 ng/μL浓度作为PCR扩增的模板。

1.2.3 微卫星引物

正交组采用8对引物分别为HLJE538、HLJ379、HLJ1120、HLJ1134、HLJ360、MFW24、MFW14和MFW30,反交组采用8对引物分别为HLJE538、HLJ379、HLJ1120、HLJ1134、HLJ360、HLJ693、HLJ400和MFW24,两组共采用10对鲤HLJ^[13]、MFW系列^[14]微卫星DNA引物。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2.4 PCR 扩增

PCR反应体系为25 μL,含模板DNA 30~50 ng,10×buffer 1.5 μL,dNTP 0.3 μL(200 μmol/L),Taq酶0.075 μL(5 U/μL,Takara),上、下游引物各0.5 μL(10 μmol/μL)。反应条件为:95℃预变性5 min;94℃变性30 s,54~66℃退火30 s,72℃延伸30 s,25个循环;72℃后延伸7 min,4℃终止反应。

1.2.5 电泳及结果

PCR扩增产物经2%的琼脂糖凝胶电泳检测后,在8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶上100 V电

泳8 h,银染显色,经Epson perfection V100 photo仪器扫描成像并保存结果。

1.2.6 家系鉴定分析

采用Gel-pro 4.5软件对电泳图谱进行基因分型。采用Popgene软件进行家系的遗传多样性分析,计算群体平均观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、等位基因数(A)、有效等位基因数(N_e)、多态信息含量(C_{PI})。

采用CERVUS 3.0软件重建模拟家系亲缘关系,然后对每一个体的基因型进行亲权分析,根据LOD值对每一个体的父母作出鉴定^[2]。

1.2.7 微卫星标记数与鉴定率关系的探讨

对正反交组的微卫星标记数与鉴定率关系进行了探讨。利用CERVUS 3.0软件分别计算在3、4、5、6、7、8对引物条件下,累计排除率(CPE)及亲本与子代的配对率。

2 结果

2.1 微卫星扩增结果

正反交组合分别所用的8对微卫星引物均能扩增出目的条带,并且条带清晰,引物的多态性较好,等位基因数较多,且等位基因片段大小差异明显,易于基因分型。电泳结果如图1。



图1 HLJ1134引物在正交组的扩增图谱

Fig. 1 Demonstration of primer HLJ1134 in obverse cross combination

P. marker(pBR322/Msp I); M. 母本; F. 父本; Z. 子代。

2.2 遗传多样性指标

在两组杂交试验中,正交组中父母本和子代等位基因数分别为3.714 3、1.714 3和4.428 6;反交组中分别为5.500 0、2.500 0和5.750 0。正交组中父母本和子代有效等位基因数分别为2.717 6、1.714 3和3.381 1;反交组中分别为3.788 4、2.148 1和3.404 1。

正交组中父母本和子代观测杂合度分别为0.607 1、0.714 3和0.681 8;反交组中分别为0.708 3、0.538 6和0.743 8。正交组中父母本和子代期望杂合度分别为0.579 8、0.714 3和0.677 5;反交组中分别为0.748 6、0.477 6和0.673 2。

正交组父母本和子代多态信息含量为 0.442 1、0.281 3 和 0.553 5;反交组中分别为 0.673 5、0.375 9 和 0.624 1(表 1)。

表 1 正反交组群体的遗传多样性指数
Tab.1 The genetic diversity indices of reciprocal hybrid populations

项目	正交组			反交组		
	母本	父本	子代	母本	父本	子代
A	1.714 3	3.714 3	4.428 6	2.500 0	5.500 0	5.750 0
N_e	1.714 3	2.717 6	3.381 1	2.148 1	3.788 4	3.404 1
H_o	0.714 3	0.607 1	0.681 8	0.538 6	0.708 3	0.743 8
H_e	0.714 3	0.579 8	0.667 5	0.477 6	0.748 6	0.673 2
C_{PI}	0.281 3	0.442 1	0.553 5	0.375 9	0.673 5	0.624 1

注:A. 等位基因数; N_e . 有效等位基因数; H_o . 观测杂合度; H_e . 期望杂合度; C_{PI} . 多态信息含量。

2.3 亲子鉴定结果

正交组中,黑龙江野鲤雌鱼 1 尾,德国镜鲤雄鱼 8 尾,黑龙江野鲤雌鱼与德国镜鲤雄鱼杂交子代 56 尾,8 个位点累计排除率为 99.92%,亲本与子代的配对率为 98.00%(置信度为 95%);反交组中,德国镜鲤雌鱼 7 尾,黑龙江野鲤雄鱼 12 尾,德国镜鲤雌鱼与黑龙江野鲤雄鱼杂交子代 72 尾,8 个位点累计排除率为 99.99%,亲本与子代的配对率为 99.00%(置信度为 95%,表 2)。

2.4 微卫星标记数与鉴定率关系

正交组中,按 8 个引物多态信息含量值大小顺序(表 3),由小到大分别取 3、4、5、6、7、8 个微

表 2 正反交组的 8 个位点累计排除率和亲本与子代的配对率

Tab.2 Accumulative exclusion rate of eight sites and assignment rate of two cross combinations

项目	正交组	反交组
累计排除率	99.92%	99.99%
配对率	98.00%	99.00%

卫星标记进行亲子鉴定。在 3 个微卫星标记平均等位基因数为 6,多态信息含量均值为 0.725 7 的情况下,累计排除率(CPE)为 97.95%,亲本与子代的配对率为 14.00%。在 4 个微卫星标记平均等位基因数为 6,多态信息含量均值为 0.734 7 的情况下,累计排除率为 99.53%,亲本与子代的配对率为 26.00%。在 5 个微卫星标记平均等位基因数为 4.8,多态信息含量均值为 0.649 6 的情况下,累计排除率为 99.44%,亲本与子代的配对率为 26.00%。在 6 个微卫星标记平均等位基因数为 5,多态信息含量均值为 0.668 3 的情况下,累计排除率为 99.87%,亲本与子代的配对率为 98.00%。在 7 个微卫星标记平均等位基因数为 4.57,多态信息含量均值为 0.618 3 的情况下,累计排除率为 99.91%,亲本与子代的配对率仍为 98.00%。8 个位点累计排除率为 99.92%,亲本与子代的配对率为 98.00%(表 4、图 2)。以上情况置信度均为 95%。

表 3 正反交组的 8 个位点多态信息含量由大到小顺序

Tab.3 PIC of eight sites in large to small order of two cross combinations

项目	多态信息含量							
正交组	MFW14	HLJ360	HLJ1134	MFW24	HLJE538	HLJ379	HLJ1120	MFW30
	0.762 0	0.750 0	0.745 0	0.683 0	0.584 0	0.487 0	0.318 0	0.162 0
反交组	HLJ1134	HLJ360	HLJ400	MFW24	HLJ1120	HLJE538	HLJ693	HLJ379
	0.832 0	0.817 0	0.759 0	0.725 0	0.615 0	0.539 0	0.487 0	0.460 0

表 4 正交组不同引物数目的累计排除率和亲本与子代的配对率

Tab.4 Accumulative exclusion rate and assignment rate of different primer numbers in obverse cross combinations

引物数目	3	4	5	6	7	8
累计排除率	97.95%	99.53%	99.44%	99.87%	99.91%	99.92%
配对率	14.00%	26.00%	26.00%	98.00%	98.00%	98.00%

反交组中按 8 个引物多态信息含量值大小顺序(表 3),由小到大分别取 3、4、5、6、7、8 个微

卫星标记进行亲子鉴定。在 3 个微卫星标记平均等位基因数为 8,多态信息含量均值为 0.802 6 的情况下,累计排除率为 99.55%,亲本与子代的配对率为 0。在 4 个微卫星标记平均等位基因数为 8,多态信息含量均值为 0.783 1 的情况下,累计排除率为 99.89%,亲本与子代的配对率为 0。在 5 个微卫星标记平均等位基因数为 7.6,多态信息含量均值为 0.749 5 的情况下,累计排除率为 99.95%,亲本与子代的配对率为 1.00%。在 6 个微卫星标记平均等位基因数为 7.33,多态信

息含量均值为 0.714 5 的情况下,累计排除率为 99.98%,亲本与子代的配对率为 44.00%。在 7 个微卫星标记平均等位基因数为 6.86,多态信息含量均值为 0.682 0 的情况下,累计排除率为 99.99%,亲本与子代的配对率为 89.00%。8 个微卫星标记时累计排除率为 99.99%,亲本与子代的配对率为 99.00% (表 5、图 3)。以上情况置信度均为 95.00%。

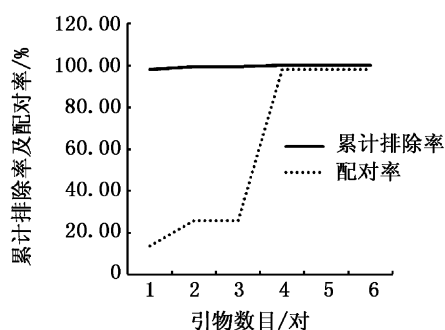


图 2 正交组不同引物数目的累计排除率和亲本与子代的配对率

Fig 2 Accumulative exclusion rate of eight sites and assignment rate of two cross combination in obverse cross combinations

表 5 反交组不同引物数目的累计排除率和亲本与子代的配对率

Tab. 5 Accumulative exclusion rate and assignment rate of different primer numbers in inverse cross combination

引物数目	3	4	5	6	7	8
累计排除率	99.55%	99.89%	99.95%	99.98%	99.99%	99.99%
配对率	0.00%	0.00%	1.00%	44.00%	89.00%	99.00%

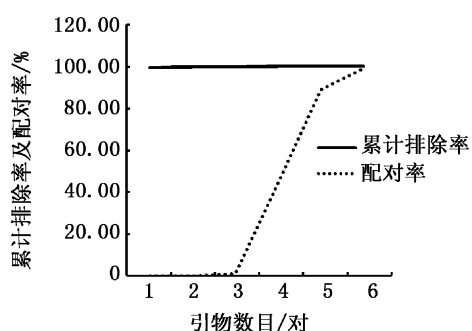


图 3 反交组不同引物数目的累计排除率和亲本与子代的配对率

Fig 3 Accumulative exclusion rate of eight sites and assignment rate of two cross groups in inverse cross combination

3 讨论

3.1 正反杂交组的遗传多样性分析

正交组中子代多态信息含量为 0.553,大于母本 0.281 和父本 0.442;反交组中子代为 0.624,大于母本 0.375 而小于父本 0.673。按照 BOTSEIN 等^[15]提出的衡量基因变异程度高低的多态信息含量指标,本试验中的两组杂交子代群体均大于 0.5,表明正反交组中子代基因变异程度高,具有较高的多态性。

杂合度是度量群体变异的另一个重要参数。它的大小反映群体遗传结构变异程度的高低。杂合度越高,表示该群体的遗传多样性越高;反之,群体的遗传一致性越高^[16]。本试验正交组中子代观测杂合度为 0.681 8,小于母本 0.714 3 而大于父本 0.607 1。反交组中子代观测杂合度为 0.743 8,大于母本 0.538 6 和父本 0.708 3。反交组子代的杂合度明显高于双亲,而正交组在双亲杂交后,子代的杂合度低于母本而高于父本,分析其原因,可能是正交组中的母本只有 1 个个体,因此杂合度会低于母本。本研究通过双亲的杂交,说明子代均获得了较多的亲本遗传信息,遗传多样性更加丰富。本研究结果与陈友明等^[17]所做出的江黄颡与乌苏里拟鳞杂交子代群体内的遗传多样性高于两亲本群体,杂交一代基因杂合性增强的研究结论一致。

3.2 正反杂交组亲子鉴定的分析

VANKAN 和 FADDY^[18]研究表明,当排除率为 99% 时的可靠性为 98% ~ 99%,而当排除率降低到 90% 以下,且有 20% 未知父畜时,可靠性就很低了,需要进一步通过更多的微卫星位点进行检测。根据亲权判定的标准,亲权排除率达到 99.73%,可认定有亲权关系^[19]。LEE 和 CHO^[20]应用 14 对马科微卫星引物对纯种马进行鉴定,结果支持微卫星标记在亲子鉴定中的潜力,排除率为 99.98%。季旭等^[21]应用 17 对微卫星引物对 26 尾家系不清的雌核发育后代进行鉴定,结果累计排除率为 99.85%,完全可用于牙鲆雌核发育家系的鉴定分析。本研究中,正反交组的 8 个位点累计排除率分别为 99.92% 和 99.99%,效果较好,鉴定结果分别达到 98.00% 和 99.00%。这与 VANKAN 和 FADDY^[18]及 LEE 和 CHO^[20]研究结论相一致。

3.3 微卫星标记数与鉴定准确率的关系

使用微卫星分析,一般检测的遗传座位越多,得到正确鉴定结果的概率越大;同时,每个座位在群体中含有的等位基因数越多,得到正确鉴定结果的概率也会更高。ELLEGRÉN 等^[22]研究表明,组合 5 个微卫星位点(每个有 6 个以上的等位基因)可使排除率达 98% 以上,使用 10 个微卫星位点排除率可达 99.99%。在本研究中,对母子关系已知情况下的微卫星标记数与鉴定率关系的探讨结果表明,在 6 个微卫星标记,平均等位基因数为 5,多态信息含量均值为 0.668 3 的情况下,累计排除率为 99.87%,亲本与子代的配对率就可以达到 98.00%,与 7、8 个引物条件下的结果基本一致。这与钱林东等^[23]的对于母子关系已知,候选父本较少一类的黄牛亲子关系检测选用 5~9 个标记比较合适的结论相一致。在反交组中,父母本均未知,84 种可能父母对的情况下,在 6 个微卫星标记时,累计排除率为 99.98%,亲本与子代的配对率为 44.00%。在 7 个微卫星标记时,累计排除率为 99.99%,亲本与子代的配对率为 89.00%。在 8 个微卫星标记时累计排除率为 99.99%,亲本与子代的配对率为 99.00%。结果表明,候选亲本群体较大时,需要更多及多态性更丰富的微卫星标记才能达到较高的鉴定准确率。本试验中正反交组利用 6~8 个多态性良好的引物就能正确鉴定。结果和张春雷等^[2]的在个体父母双方基因型都未知的情况下,在哲罗鱼中要达到 95% 以上的排除率,至少需要 6 个有效的多态性微卫星引物的结论一致,并与 MACAVOY 和 WOOD^[4]在 16 个父母本,124 个子代情况下得出的微卫星标记数与鉴定准确率关系的结论相符。通过本试验得出的结论是,亲子鉴定若达到较高的鉴定准确率,需要 9 个或 9 个以上的微卫星标记。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 张春雷,佟广香,匡友谊. 哲罗鱼微卫星亲子鉴定中的应用 [J]. 动物学研究, 2010, 31(4): 395-400.
- [3] 高焕,孔杰,于飞. 人工控制自然交尾条件下中国对虾父本的微卫星识别 [J]. 海洋水产研究, 2007, 28(1): 1-5.
- [4] MACAVOY E S, WOOD A R. Development and evaluation of microsatellite markers for identification of individual Greenshell mussels (*Perna canaliculus*) in a selective breeding programme [J]. Aquaculture, 2008, 274: 41-48.
- [5] HARA M, SEKINO M. Parentage testing for hatchery-produced abalone *Haliotis discus hannai* based on microsatellite markers: preliminary evaluation of early growth of selected strains in mixed family farming [J]. Japanese Society of Fisheries Science, 2007, 73: 831-836.
- [6] 刘磊,李健,刘萍. 微卫星 DNA 标记用于三疣梭子蟹家系亲子关系的鉴定 [J]. 渔业科学进展, 2010, 31(5): 76-82.
- [7] MOORE S S, VHAN W, DAVIS G P. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. Aquaculture, 1999, 173: 19-32.
- [8] BORRELL Y J, ALVAREZ J, BLANCO G. A parentage study using microsatellite loci in a pilot project for aquaculture of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* L [J]. Aquaculture, 2011, 310: 305-311.
- [9] 孙昭宁,刘萍,李健. 微卫星 DNA 技术用于中国对虾家系构建中的系谱认证 [J]. 中国水产科学, 2005, 12(6): 694-701.
- [10] 张觉民. 黑龙江省鱼类志 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995: 171-173.
- [11] 沈俊宝,刘明华. 鲤鱼育种研究 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2000: 132-139.
- [12] SAMBROOK J, DAVID W. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001: 26-137.
- [13] 侯宁,张研,鲁翠云,等. 微卫星 DNA 标记分析德国镜鲤的遗传潜力 [J]. 遗传, 2007, 29(12): 1509-1518.
- [14] CROOIJMANS R, POEL J J, GROENEN M. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Animal Genetics, 1997, 28: 129-134.
- [15] BOTSEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [16] 范兆延. 水产动物育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 25-26.
- [17] 陈友明,陈校辉,潘莹. 江黄颡(♀)和乌苏里拟鲮(♂)及其杂交子代遗传变异的 RAPD 分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(1): 12-17.
- [18] VANKAN D M, FADDY M J. Estimations of the efficacy and reliability assignments from DNA microsatellite analysis of multiple sire mating [J]. Animal Genetics, 1999, 30(5): 355-361.
- [19] 王杰,王永,许期树,等. 微卫星 DNA 在高原型藏山羊亲子鉴定中的应用研究 [J]. 西南民族大学学报, 2010, 36(1): 74-79.
- [20] LEE S, CHO G. Parentage testing of thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing [J]. Journal of Veterinary Science, 2006, 71: 63-67.

- [21] 季旭, 孙效文, 杨立更, 等. 微卫星标记对牙鲆有丝分裂雌核发育家系的亲子鉴定 [J]. 动物学研究, 2008, 29 (1): 25 - 30.
- [22] ELLEGREN H, JOHANSSON M, SANDBERG K. Cloning of highly polymorphic micro satellite in the horse [J]. *Animal Genetics*, 1992, 23: 133 - 142.
- [23] 钱林东, 张自芳, 田应华. 利用微卫星 DNA 标记进行黄牛的亲子鉴定 [J]. 云南农业大学学报, 2010, 25 (1): 69 - 73.

Parentage identification of Heilongjiang wild carp and German mirror carp cross combinations on microsatellite DNA markers

GE Hui-zheng^{1,2}, JIA Zhi-ying¹, LI Chi-tao¹, BAI Ying-ying^{1,2}, WU Yao^{1,2}, SHI Lian-yu¹

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

2. *College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China*)

Abstract: A set of 8 microsatellite markers were used for parentage identification in obverse cross group of Heilongjiang carp ♀ × German mirror carp ♂, and inverse cross group of German mirror carp ♀ × Heilongjiang carp ♂. The results showed that: (1) observed heterozygosity values of parents and offspring were 0.607 1, 0.714 3, 0.681 8 and 0.708 3, 0.538 6, 0.743 8, and polymorphism information content were 0.442 1, 0.281 3, 0.553 5 and 0.673 5, 0.375 9, 0.624 1 in two groups, indicating that all 8 microsatellite loci showed polymorphism. (2) In the obverse cross group, the accumulative exclusion rate using 8 microsatellite loci was 99.92% and the appraisal ability was 98.00% while confidence was 95%. In the inverse cross group, the accumulative exclusion rate was 99.99% and the appraisal ability was 99.00%. (3) about relation between microsatellite markers and appraisal ability, we compared the accumulative exclusion rates and the appraisal ability using 3, 4, 5, 6, 7, 8 microsatellite markers. 6 and 8 high polymorphism markers were successfully applied in paternity determination of two cross groups.

Key words: common carp; microsatellite polymorphism; paternity identification; genetic structure