DOI:10.15928/j.1674-3075.2017.03.011

中国6个鲤群体的mtDNA D-loop序列遗传变异分析

刘 念[1,2],傅建军[2],董在杰[1,2,3],朱文彬[2],王兰梅[2],苏胜彦[2],宋飞彪[3],陈兴婷[3]

(1.上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306;
2.中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,农业部淡水渔业与种质资源利用重点实验室,无锡 214081;
3.南京农业大学无锡渔业学院,无锡 214081)

摘要:探讨当前中国鲤(*Cyprinus carpio*)野生群体和育成品种的遗传结构及变异情况,以期丰富鲤种质资源的研究数据,为后期鲤的种质挖掘和遗传育种提供更多参考。收集了鲤的4个野生群体(清水江鲤、太湖鲤、黄河鲤和黑龙江鲤)和2个育成品种(福瑞鲤和松浦鲤)共计185尾个体,进行mtDNA D-loop序列测序分析。全长927~930 bp的D-loop序列有36个变异位点。所有个体呈27个单倍型,其中清水江鲤和太湖鲤的单倍型数量较多(分别为18和9个),而福瑞鲤和松浦鲤各存在1个优势单倍型(占有率分别为93%和80%)。F_{ST}值检验发现,松浦鲤与黑龙江鲤间遗传分化不显著($P>0.05$),其余群体间均呈极显著遗传分化($P<0.01$)。基于群体间K2P遗传距离(0.005~0.013)的NJ树显示,福瑞鲤和黄河鲤首先聚类,然后依次与清水江鲤和太湖鲤聚类;最后与松浦鲤和黑龙江鲤所在的另一支聚类。分子方差分析显示,群体间遗传变异极显著($P<0.01$),占总变异的35.59%。研究表明,鲤的野生群体(清水江鲤和太湖鲤)存在较高的遗传多样性,具有进一步选育利用的潜力;而2个育成品种(福瑞鲤和松浦鲤)在选育过程中积累了较高的遗传纯度。

关键词:鲤;群体;线粒体DNA;D-环序列;遗传变异

中图分类号:Q31,S917 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2017)03-0075-08

鲤(*Cyprinus carpio*)是中国重要的淡水经济鱼类之一,2014年中国养殖产量为317.2万t,列鱼类养殖产量的第4位(农业部渔业渔政管理局,2015)。中国拥有丰富的鲤野生群体及人工培育品种,但是由于不合理的开发利用等原因,致使诸多鲤的种质资源遭到破坏,导致优良经济性状的退化(常玉梅等,2004)。近年来,水产工作者基于多种DNA分子标记,如微卫星标记(全迎春等,2005;许丽花等,2012)、SRAP标记(曲疆奇等,2011)、TRAP标记(董在杰等,2011)和线粒体DNA(单云晶 等,2013)等,对中国野生和养殖群体(或品种)开展了群体遗传变异研究,但所用研究群体和手段存在差异。因此,从研究方法和群体资源的角度,丰富对中国鲤种质资源现状的研究,对加强其种质保护和育种利用具有重要意义。

线粒体DNA(Mitochondria DNA,mtDNA)具快速突变、单倍型随机缺失等特性,被广泛用于分析群体遗传结构、系统发育以及构建物种间的亲缘关系等研究(Imsiridou等,2009)。而其D-loop区属于非编码区,具有突变率高、进化速度快等特点,现已成为mtDNA遗传变异研究的热点之一(梁宏伟等,2009)。目前,基于mtDNA基因序列及D-loop区变异较多应用于不同鲤亚种(品种)的遗传起源和亲缘关系等研究。如对德国镜鲤和俄罗斯镜鲤(Zhou等,2003)、星云湖鲤(Yang 等,2011)、松浦镜鲤和锦鲤(Dong等,2015)等自然种群或选育品种的起源归属等研究及对欧洲鲤和亚洲鲤(Thai 等,2005;Kohlmann 等,2013)亲缘关系等研究。在遗传变异研究中,Wang等(2010)基于COII和D-loop序列分析中国鲤野生群体的遗传多样性和基因流水平,发现水系间群体的遗传分化水平较低、基因流明显。此外,针对养殖品种的遗传变异研究也有开展,如Xu等(2012)基于D-loop序列和微卫星标记探讨2个野生群体4个养殖品种的选择压力问题;单云晶等(2013)基于COI基因序列对5个养殖品种的遗传多样性进行分析。就鲤在中国的广泛分布和养殖规模大的现实状况而言,当前研究所涉及群体和品种还有补充的空间。

本文针对中国4个鲤野生群体(清水江鲤、太

收稿日期:2016-04-14

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-46-06);"十二五"国家科技支撑计划项目(2012BAD26B02);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2015JBFR01)。

作者简介:刘念,1990年生,男,硕士研究生,研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: ln090111@sina.com

通信作者:董在杰。E-mail: dongzj@ffrc.cn

湖鲤、黄河鲤和黑龙江鲤)和2个育成品种(福瑞鲤和松浦鲤)开展遗传变异研究。其中,清水江鲤是西南地区重要的渔业种质资源,近年来逐渐受到重视,其生物学特性和遗传多样性水平也有少量研究(向燕等,2013;胡世然等,2014);太湖流域作为古时吴越属地,春秋战国时期已有鲤的蓄养历史(陆廷龙,2005),但对其野生鲤资源的研究开展还较少(Wang 等,2010);黄河鲤和黑龙江鲤被开发利用较早,并被当做选育基础群体,开展了较多研究(常玉梅等,2004;董在杰等,2011)。本研究挑选2个目前在中国推广应用较广的育成品种——福瑞鲤(董在杰,2011)和松浦鲤(石连玉等,2016),分别是基于生长和抗寒2种经济性状选育而成,其亲本来源分别有黄河鲤和黑龙江鲤的成分。本实验基于 mtDNA D-loop 序列变异,探讨当前中国鲤野生群体和育成品种的遗传结构及变异情况,以期丰富鲤种质资源的研究数据,为后期鲤的种质挖掘和遗传育种提供更多参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与 DNA 提取

鲤6个群体的样本采集信息见表1。4个野生群体采自各分布地;2个育成品种采自品种选育单位。

样本采集中通过剪取鲤个体的尾鳍下叶组织,固定于90%的酒精中待用。基因组 DNA 的提取参照改良苯酚 SDS 法(张锐等,2006)。提取的 DNA 经1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,浓度及纯度由 NANODROP 2000 分光光度仪测定,而后用 TE Buffer (pH=8.0)稀释为终浓度60 ng/μL 于 -20℃储存备用。

表1 鲤6个群体样本采集信息

Tab.1 Sampling information on the six *C. carpio* populations

群体	采样地	经纬度	样本数/尾
清水江鲤 QSJ	贵州 凯里	107.97°E, 26.58°N	47
太湖鲤 TH	江苏 无锡	120.29°E,31.59°N	34
黄河鲤 HH	河南水产研究所	114.08°E,32.13°N	30
黑龙江鲤 HLJ	黑龙江 抚远	134.28°E,48.37°N	16
福瑞鲤 FRL	江苏 宜兴	119.82°E,31.36°N	43
松浦鲤 SPL	黑龙江水产研究所	126.63°E,45.75°N	15

1.2 PCR 扩增及测序

本研究中 D-loop 区的引物序列为 DL1: 5′-ACCCCTGGCTCCCAAAGC-3′, DL2: 5′-ATCTTAGCATCTTCAGTG-3′(朱成科等,2008)。引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系为50μL:12 μL PCR MasterMIX[所含成分:10mM Tris-HCl (pH 8.3)、50 mM KCl、1.5 mM $MgCl_2$、20 μM dNTP each、0.05 U Ploymerase/μL、ddH_2O、其他稳定剂和增强剂]、上下游引物(10 μmol/L)各1 μL、DNA 模板(60 ng/μL)2 μL,34 μL ddH_2O。所用 PCR 试剂购自天根生化科技(北京)有限公司。

PCR 扩增程序:94℃预变性5min;之后进行30个循环扩增(94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 50 s);接着72℃延伸10 min;最后4℃保存。PCR 扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测,由上海美吉生物医药科技有限公司通过 ABI3730 XL 测序仪进行双向测序。

1.3 序列数据的整理及分析

利用 BioEdit7.0 软件(Hall,2015)进行序列编辑处理,并使用软件 Clustal X 1.81(Thompson 等,1997)对序列进行同源比和长度确定。利用 DnaSP 5.0(Rozas 等,2003)对多态性位点数(S)、单倍型数(H)、单倍型多样性(H_d)、核苷酸多样性(π)、平均核苷酸差异数(K)和 Tajima's D 值等遗传多样性参数进行统计。利用 Arlequin 3.5(Excoffier 等,2010)进行核苷酸组成统计、分子方差分析(AMOVA)和遗传分化指数(F-statistics,F_{ST})计算。采用 MEGA 5.1(Tamura 等,2011)计算群体间的 Kimura 双参数模型(Kimura 2 parameter,K2P)遗传距离,并构建邻接(Neighbor-Joining,NJ)进化树。基于突变位点信息,利用 Network 4.6(Polzin 等,2003)构建单倍型的简约中介(Reduced-Median,MJ) 网络图。

2 结果与分析

2.1 鲤群体 D-loop 序列变异特征

经测序共得到185尾鲤个体的 D-loop 序列(全长927~930 bp)。核苷酸组成显示:A、T、G 和 C 的含量依次为33.3%、32.9%、14.1%和19.7%,其中 G 的含量最低。通过序列比对,185尾个体中共检测到36个核苷酸变异位点(忽略6个插入/缺失位点)和27个单倍型(表2)。在27个单倍型中,Hap3、Hap8 和 Hap21 为优势单倍型,分别占个体数的15.68%、41.62%和16.22%;其中,清水江鲤(QSJ)、太湖鲤(TH)、福瑞鲤(FRL)和松浦鲤(SPL)群体分别有14、5、1和1个群体特有的单倍型。福瑞鲤(FRL)和松浦鲤(SPL)群体中各存在1个优势单倍型,占有率分别为93%和80%。

2.2 鲤群体遗传多样性及群体间遗传距离

6个鲤群体整体单倍型多样性均值为0.785(表

3)。各群体的单倍型多样性(H_d)0.136~0.961,核苷酸多样性(π)0.002~0.010。其中福瑞鲤群体(FRL)的遗传多样性水平最低(H_d = 0.136, π = 0.002),清水江鲤群体(QSJ)单倍型多样性最高(H_d = 0.961),而太湖鲤群体(TH)的核苷酸多样性最高(π = 0.010)。中性检验表明,清水江鲤(QSJ)、福瑞鲤(FRL)及松浦鲤(SPL)等 3 个群体的 Tajima's *D* 值均为负值,其他群体均为正值;其中福瑞鲤群体(FRL)显著偏离中性(P < 0.05)。

表 2　鲤群体中 mtDNA D-loop 单倍型分布情况

Tab. 2　Distribution of the mtDNA D-loop haplotypes in *C. carpio* populations

单倍型	GenBank 收录号	各群体中不同单倍型个体数					
		清水江鲤 QSJ	太湖鲤 TH	黄河鲤 HH	黑龙江鲤 HLJ	福瑞鲤 FRL	松浦鲤 SPL
Hap1	KX576688	4	–	–	–	–	–
Hap2	KX576689	1	–	–	–	–	–
Hap3	KX576690	8	10	3	6	–	2
Hap4	KX576691	2	–	–	–	–	–
Hap5	KX576692	9	–	–	–	–	–
Hap6	KX576693	2	–	–	–	–	–
Hap7	KX576694	2	–	4	–	1	–
Hap8	KX576695	6	10	19	2	40	–
Hap9	KX576696	1	1	–	–	–	–
Hap10	KX576697	1	–	–	–	–	–
Hap11	KX576698	2	–	–	–	–	–
Hap12	KX576699	2	–	–	–	–	–
Hap13	KX576700	1	–	–	–	–	–
Hap14	KX576701	1	–	–	–	–	–
Hap15	KX576702	1	–	–	–	–	–
Hap16	KX576703	1	–	–	–	–	–
Hap17	KX576704	2	–	–	–	–	–
Hap18	KX576705	1	–	–	–		–
Hap19	KX576706	–	–	–	–		–
Hap20	KX576707	–	–	4	–		–
Hap21	KX576708	–	–	–	8		12
Hap22	KX576709	–	–	–	–		1
Hap23	KX576710	–	2	–	–		–
Hap24	KX576711	–	1	–	–		–
Hap25	KX576712	–	1	–	–		–
Hap26	KX576713	–	1	–	–		–
Hap27	KX576714	–	1	–	–		–

表 3　鲤群体 mtDNA D-loop 区序列遗传多样性参数

Tab. 3　Genetic diversity parameters in the mtDNA D-loop sequence of *C. carpio* populations

群　体	多态性位点数 *S*	单倍型数 *H*	单倍型多样性 H_d	核苷酸多样性 π	平均核苷酸差异数 *K*	Tajima's *D*
清水江鲤 QSJ	33	18	0.961	0.007	6.463	-0.457
太湖鲤 TH	29	9	0.800	0.010	0.898	8.898
黄河鲤 HH	21	4	0.572	0.007	6.407	0.731
黑龙江鲤 HLJ	18	3	0.633	0.008	7.633	1.623
福瑞鲤 FRL	19	4	0.136	0.002	1.451	-2.175*
松浦鲤 SPL	18	3	0.362	0.005	3.343	-0.875
总　体 Total	138	41	0.785	0.009	7.863	0.773

注:* 表示显著性水平(P < 0.05)。

Note: * indicates a significant difference(P < 0.05).

6 个鲤群体间的 K2P 遗传距离 0.005~0.013(表 4,左下角),其中福瑞鲤(FRL)与黄河鲤(HH)群体遗传距离最近,松浦鲤(SPL)与福瑞鲤(FRL)群体遗传距离最远。基于 K2P 遗传距离构建的 NJ 进化树(图 1)显示,6 个鲤群体聚为 2 大支。其中 1 支由福瑞鲤(FRL)、黄河鲤(HH)群体首先聚类,再与清水江鲤(QSJ)和太湖鲤(TH)群体依次聚类;另 1 支由黑龙江鲤(HLJ)和松浦鲤(SPL)群体聚类。

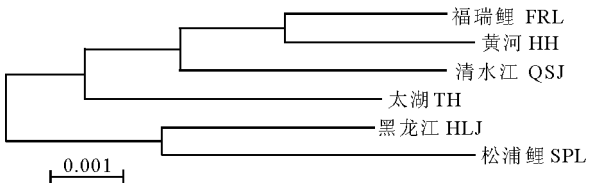

图1 基于K2P遗传距离的鲤群体的NJ进化树

Fig.1 NJ phylogenetic tree based on the K2P genetic distance of *C. carpio* populations

2.3 鲤群体间遗传分化

6个鲤群体的遗传分化指数(表4,右上角)表明,除了松浦鲤(SPL)和黑龙江(HLJ)群体遗传分化不显著外($P>0.05$),其余各群体间遗传分化均达极显著水平($P<0.01$)。

分子方差分析(AMOVA)结果如表5。基于不分组的情况下,参试鲤群体的遗传变异中来源于群体间和群体内的比率分别为35.59%和64.41%,群体间遗传分化指数为0.356,达极显著分化水平($P<0.01$);在将野生群体和选育群体分别设组的情况下,组间的方差组分和遗传分化指数均为负值(分别为-0.321和-0.068),未达到显著水平($P>0.05$),因此分析结果参照不分组的情况。

2.4 鲤单倍型的发生关系

基于单倍型构建的鲤MJ网络图见图2。群体间分享单倍型现象明显,而且27个单倍型的优势单倍型明显,且每个分支均有1个优势单倍型;其中2个为4个野生群体所共有,另1个为黑龙江鲤(HLJ)及松浦鲤(SPL)群体共有。

表4 鲤群体间的K2P遗传距离(左下角)和遗传分化指数FST(右上角)

Tab.4 Pairwise K2P genetic distances (below diagonal) and fixation indexes (F_{ST}, above diagonal) among *C. carpio* populations

群体	清水江 QSJ	太湖 TH	黄河 HH	黑龙江 HLJ	福瑞鲤 FRL	松浦鲤 SPL
清水江 QSJ	-	0.114**	0.145**	0.308**	0.422**	0.541**
太湖 TH	0.010	-	0.089**	0.168**	0.380**	0.415**
黄河 HH	0.008	0.009	-	0.367**	0.140**	0.585**
黑龙江 HLJ	0.011	0.010	0.012	-	0.667**	0.109
福瑞鲤 FRL	0.007	0.009	0.005	0.012	-	0.832**
松浦鲤 SPL	0.012	0.012	0.013	0.007	0.013	-

注:**表示遗传分化极显著($P<0.01$)。

Note: ** indicates an extremely significant genetic differentiation ($P<0.01$).

表5 鲤群体mtDNA D-loop序列变异的分子方差分析(AMOVA)

Tab. 5 Analysis of molecular variances of mtDNA D-loop sequences for the sixe *C. carpio* populations

变异来源	自由度	平方和	方差组分	百分率/%	固定指数
不分组					
群体间	5	272.972	1.723	35.59	0.356**
群体内	179	558.357	3.119	64.41	-
总体	184	831.33	4.843	-	-
分2组(野生和选育群体)					
组间	1	45.231	-0.321	-6.83	-0.068
组内群体间	4	227.741	1.894	40.36	0.378**
群体内	179	558.357	3.119	66.47	0.335**
总体	184				

注:**表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: ** indicates an extremely significant difference ($P<0.01$).

3 讨论

本研究中,鲤D-loop区碱基序列中A+T的含量为66.2%,而G+C的含量为33.8%,结果与其他对鲤D-loop区序列研究结果(Zhou等,2003;梁宏伟等,2009;郝君等,2013)相似,符合脊椎动物mtDNA碱基的含量分布(Broughton等,2001)。单倍型多样性及核苷酸多样性的值越大,则种群或群体的遗传多样性水平越高(张仁意等,2013)。就整体而言,本研究6个鲤群体的单倍型多样性水平(H_d=0.785)较高,而核苷酸多样性水平(π=0.0085)较低,这与在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)(傅建军等,2015)、鲷(*Therapon theraps*)(薛丹等,2015)、真鲷(*Pagrosomus major*)(乐小亮等,2010)、刀鲚(*Coilia nasus*)和湖鲚(*Coilia nasus taihuensis*)(徐钢春等,2012)等鱼类中的研究结果相似,推测与单倍型多

样性相对核苷酸多样性在短时间内更容易积累有关(Bowen 等,2001)。

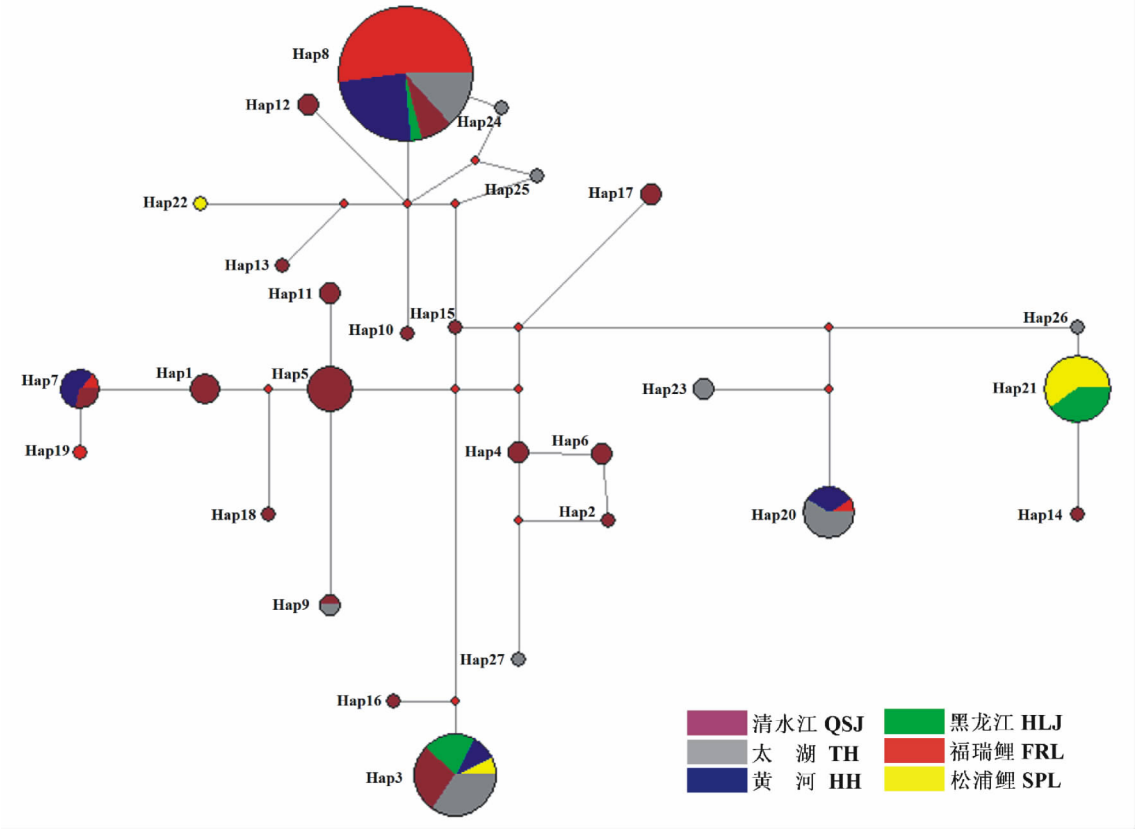

图 2　鲤 mtDNA D-lloop 序列单倍型的网络结构

Fig. 2　Haplotypes network of the mtDNA D-loop sequences for the six *C. carpio* populations

通过遗传多样性对比发现,4 个野生鲤群体的遗传多样性水平较 2 个选育群体高。这与梁宏伟等(2009)对 2 种选育的红鲤群体(荷包红鲤和兴国红鲤)和长江野生鲤群体的多样性比较结果,及 Xu 等(2012)对 4 个选育鲤群体(兴国红鲤、玻璃红鲤、荷包红鲤和建鲤)和 2 个野生鲤群体(石首和扬州)的多样性比较结果相似;而与曲疆奇等(2011)基于基因组 SRAP 标记研究发现福瑞鲤的遗传多样性较其原始亲本高的结果不一致。推测产生这种差异可能与 mtDNA 和核基因组在逐代传递中呈不同遗传方式有关。mtDNA 属胞质遗传,遵循母系遗传方式,推测选育群体在从有限的原始群体经过多代人工选育的进程中,仅保留了选育基础群体的部分雌性个体 mtDNA 信息,呈现出单倍型数和变异位点多样性降低速度较快的现象。而核基因组遗传在逐代遗传中存在两性配子结合的基因型重组过程,位点杂合度降低相对较慢;再加上每代选育过程中挑选亲缘关系较远的亲本用于繁殖(曲疆奇等,2011),这可能有效降低了核基因型的纯合速率。因此,本研究中选育群体 mtDNA 遗传多样性水平较低,推测主要是由于逐代选育造成的,正如 Xu 等(2012)所发现的养殖品种在长期选择压力下的遗传变化。此外,选育群体的遗传多样性,可能也与基础群体有效数量及选育代数等因素有关。

通过分组(野生群体和育成品种)和不分组的分子方差分析表明,主要遗传变异来源于群体间和群体内。通过两两群体间固定指数(F_{ST})可以看出 6 个群体间遗传分化水平存在较大差异,其中育成品种(FRL 和 SPL)与其选育来源群体(HH 和 HLJ)的遗传分化程度相对较小(0.140 和 0.109),这与群体间 K2P 遗传距离和 NJ 聚类树结果相符合,说明育成品种与选育来源群体间维持了较近的亲缘关系;这种高度同源性与 mtDNA 遵循母系遗传和非重组的特性有关(Mabuchi 等,2008),其遗传物质在传递过程中不经历重组过程,突变率较低,维持相对较高的保守性。其中,福瑞鲤(FRL)和黄河鲤群体(HH)也呈现出显著的遗传分化($P<0.01$)。推测在逐代选育过程中,为了得到具有生长优势的子代而不断优化亲本组合,导致选育群体的 mtDNA 遗传信息趋于一致,正如本研究中发现选育群体的优势单倍型占有率明显高于其他群体,Xu 等(2012)和单云晶等(2013)的研究也发现养殖品种的 mtDNA

序列单倍型数量较少。因此,在鲤的遗传育种过程中,mtDNA 遗传多样性的降低问题也应引起重视。

本研究中4个野生群体间遗传分化显著,可能与地理隔离有关;不同地理群体在长期的进化过程中,为了适应不同的水域环境,积累了各自的遗传背景。研究发现清水江鲤(QSJ)与福瑞鲤(FRL)的遗传距离较近,推测与选育群体在养殖过程中对野生群体造成的遗传渐渗有关。作为福瑞鲤(FRL)的选育来源之一的育成品种——建鲤(张建森等,2007;董在杰,2011),较早在全国推广养殖,在西南地区的养殖量较大,期间可能影响到了清水江流域的野生鲤资源,进而导致清水江鲤(QSJ)与福瑞鲤(FRL)的亲缘关系较近。值得注意的是,研究发现清水江鲤群体(QSJ)的单倍型数最多,与向燕等(2013)基于 COI 序列变异研究结果相似(38 尾个体呈 25 个单倍型),说明该群体存在较高的遗传多样性水平,也存在遗传混杂的可能。此外,研究发现福瑞鲤群体(FRL)虽然在太湖流域选育而成,却与太湖群体(TH)的遗传关系并不相近。两者呈现出相对独立的遗传关系来源2层因素:其一是福瑞鲤群体(FRL)的遗传来源与太湖群体(TH)存在显著性遗传差异;其二是当前鲤在太湖流域的养殖和食用较少,而福瑞鲤(FRL)在选育过程中管理规范,控制逃逸较好且未用于增殖放流。

根据单倍型分布和网络图,有2个优势单倍型在4个野生群体中均有分布,这种单倍型共享现象说明它们很可能起源于以优势单倍型为主的母系祖先(郭永博等,2015)。鲤在中国具广泛分布且耐运输等特点,具有悠久的养殖历史,可能在其漫长的养殖发展过程中存在不同地域的群体间的基因交流(陆廷龙,2005;Wang 等,2010)。

参考文献

常玉梅, 孙效文, 梁利群, 2004. 中国鲤几个代表种群基因组 DNA 遗传多样性分析[J]. 水产学报, 28(5): 481-486.

董在杰, 2011. 福瑞鲤选育技术和养殖对比试验[J]. 科学养鱼, (6): 41-42.

董在杰, 曲疆奇, 苏胜彦, 等, 2011. 运用 TRAP 标记分析5个鲤群体的遗传多样性[J]. 上海海洋大学学报, 20(2): 179-184.

傅建军, 王荣泉, 沈玉帮, 等, 2015. 我国草鱼野生群体 D-Loop 序列遗传变异分析[J]. 水生生物学报, 39(2): 349-357.

胡世然, 杨兴, 周承辉, 等, 2014. 清水江鲤生物学特性及人工驯养技术研究[J]. 农技服务, 31(5): 159-161.

郭永博, 蔡原, 2015. 西藏藏猪遗传多样性研究[J]. 生物技术通报, 31(5): 224-230.

郝君, 杨蔷, 鲍迪, 等, 2013. 6种鱼 mtDNA D-loop 及其邻近区段的序列比较分析[J]. 大连海洋大学学报, 28(2): 160-165.

乐小亮, 章群, 赵爽, 等, 2010. 中国近海真鲷遗传变异的线粒体控制区序列分析[J]. 广东农业科学, 37(2): 136-139.

梁宏伟, 邹桂伟, 罗相忠, 等,2009. 3种中国鲤 mtDNA D-Loop 序列的多态性与系统进化研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 37(3): 55-59.

陆廷龙, 2005. 鲤鱼与文化[J]. 大自然, (6): 24-25.

全迎春, 孙效文, 梁利群, 2005. 应用微卫星多态分析四个鲤鱼群体的遗传多样性[J]. 动物学研究, 26(6): 595-602.

单云晶, 鲁翠云, 李超, 等, 2013. 基于线粒体 COI 基因序列的5种鲤养殖品种遗传多样性研究[J]. 中国水产科学, 20(5): 931-938.

农业部渔业渔政管理局,2015. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社.

曲疆奇, 毕滢佳, 董在杰, 等, 2011. 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, 46(5): 120-125.

石连玉, 李池陶, 葛彦龙, 等, 2016. 黑龙江水产研究所鲤育种概要[J]. 水产学杂志, 29(3): 1-8.

向燕, 朱玲, 胡世然, 等, 2013. 清水江鲤鱼线粒体 COI 基因序列变异及遗传多样性[J]. 贵州农业科学, 41(6): 17-20.

徐钢春, 魏广莲, 李建林, 等, 2012. 基于线粒体 DNA D-loop 序列分析养殖刀鲚与湖鲚的遗传多样性[J]. 大连海洋大学学报, 27(5): 448-452.

许丽花, 李巍, 吴春琳, 等, 2012. 应用3种遗传分析方法分析养殖鲤与天然群体的遗传差异[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 38(4): 393-399.

薛丹, 章群, 郜星晨, 等, 2015. 基于线粒体控制区序列的南海北部近岸鲻的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 22(4): 749-756.

张建森, 孙小异,2007. 建鲤新品系的选育[J]. 水产学报, 31(3): 287-292.

张仁意, 李国刚, 汤永涛, 等, 2013. 青海湖裸鲤线粒体 DNA D-loop 区的遗传多样性及其遗传分析研究[J]. 中国农学通报, 29(32): 71-76.

张锐, 孙美榕, 林洽辉, 等, 2006. 鱼类基因组 DNA 提取方法的优化及 PCR 扩增[J]. 水利渔业, 26(4): 7-9.

朱成科, 张其中, 袁娟, 等, 2008. 三峡水库岩原鲤线粒体控制区遗传多样性分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 30(12): 126-133.

Bowen B W, Bass A L, Rocha L A, et al, 2001. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): Ring species complex on a global scale[J]. Evolution, 55(5): 1029 – 1039.

Broughton R E, Milam J E, Roe B A, 2001. The complete sequence of the zebrafish (*Danio rerio*) mitochondrial genome and evolutionary patterns in vertebrate mitochondrial DNA[J]. Genome Research, 11(11): 1958 – 1967.

Dong C, Xu J, Wang B, et al, 2015. Phylogeny and evolution of multiple common carp (*Cyprinus carpio* L) populations clarified by phylogenetic analysis based on complete mitochondrial genomes[J]. Marine Biotechnology, 17(5): 565 – 575.

Excoffier L, Lischer H E L, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. Molecular Ecology Resources, 10(3): 564 – 567.

Hall T A, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98 [C]. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95 – 98.

Imsiridou A, Triantafyllidis A, Baxevanis A D, et al, 2009. Genetic characterization of common carp (*Cyprinus carpio*) populations from Greece using mitochondrial DNA sequences[J]. Biologia, 64(4): 781 – 785.

Kohlmann K, Kersten P, 2013. Deeper insight into the origin and spread of European common carp (*Cyprinus carpio carpio*) based on mitochondrial D-loop sequence polymorphisms[J]. Aquaculture, 366/367/368/369: 97 – 104.

Mabuchi K, Miya M, Senou H, et al, 2006. Complete mitochondrial DNA sequence of the Lake Biwa wild strain of common carp (*Cyprinus carpio* L): further evidence for an ancient origin[J]. Aquaculture, 257(1/2/3/4): 68 – 77.

Mabuchi K, Senou H, Nishida M, 2008. Mitochondrial DNA analysis reveals cryptic large-scale invasion of non-native genotypes of common carp (*Cyprinus carpio*) in Japan[J]. Molecular Ecology, 17(3): 796 – 809.

Polzin T, Daneshmand S V, 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs[J]. Operations Research Letters, 31(1): 12 – 20.

Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al, 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. Bioinformatics, 19(18): 2496 – 2497.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al, 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood evolutionary distance and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution, 28(10): 2731 – 2739.

Thai B T, Burridge C P, Pham T A, et al, 2005. Using mitochondrial nucleotide sequences to investigate diversity and genealogical relationships within common carp (*Cyprinus carpio* L)[J]. Animal Genetics, 36(1), 23 – 28.

Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al, 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 25(24): 4876 – 4882.

Wang C, Liu H, Liu Z, et al, 2010. Mitochondrial genetic diversity and gene flow of common carp from main river drainages in China[J]. Freshwater Biology, 55(9): 1905 – 1915.

Xu L H, Wang C H, Wang J, et al, 2012. Selection pressures have driven population differentiation of domesticated and wild common carp (*Cyprinus carpio* L)[J]. Genetics and Molecular Research, 11(3): 3222 – 3235.

Yang B, Chen X, Yang J, 2011. Non-native carp of the genus *Cyprinus* in Lake Xingyun, China, as revealed by morphology and mitochondrial DNA analysis[J]. Biological Invasions, 13(1): 105 – 114.

Zhou J F, Wu Q J, Ye Y Z, 2003. Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio* haematopterus as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp[J]. Genetica, 119(1): 93 – 97.

(责任编辑　张俊友)

Genetic Variation of Six *Cyprinus carpio* Populations in China Based on mtDNA D-loop Sequences

LIU Nian[1,2], FU Jian-jun[2], DONG Zai-jie[1,2,3], ZHU Wen-bin[2], WANG Lan-mei[2], SU Sheng-yan[2], SONG Fei-biao[3], CHEN Xing-ting[3]

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, P. R. China;
2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, P. R. China;
3. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, P. R. China)

Abstract: The common carp (*Cyprinus carpio*) is an important economic fresh water fish species in China with abundant wild and breeding populations. To enrich the germplasm resource for common carp and provide additional data for germplasm exploration and genetic breeding, we analyzed the genetic variation among four wild populations (QSJ, TH, HH, and HLJ) and two selection strains (FRL and SPL) based on mtDNA D-loop sequences. Genomic DNA for PCR product amplification and sequencing was extracted from the tail fins of 185 samples. The amplified fragment length of mtDNA D-loop sequences was 927 – 930 bp. All mtDNA D-loop sequences consisted of 27 haplotypes and a total of 36 variable loci were detected. The QSJ and TH populations contained more haplotypes (18 and 9) than other populations. There were 14, 5, 1 and 1 specific haplotype observed in QSJ, TH, FRL and SPL populations and one dominant haplotype each in the two selection strains (FRL and SPL), with an occupancy of 93% and 80%, respectively. Pairwise K2P genetic distance of the six common carp populations was at the range of 0.005 – 0.013, with the shortest genetic distance between FRL and HH and the longest between SPL and FRL. F_{ST} testing indicated no significant genetic divergence between SPL and HLJ populations ($P > 0.05$), whereas highly significant genetic divergences were detected among other populations ($P < 0.01$). The NJ phynogenetic tree of the six populations was constructed based on K2P genetic distances, and shows that FRL and HH were initially clustered, then clustered with QSJ and TH and finally assembled with HLJ and SPL. The analysis of molecular variance (AMOVA) indicates significant genetic variation among populations ($P < 0.01$), accounting for 35.59% of total genetic variation. In brief, the two wild populations (QSJ and TH) had rich genetic diversity and great hereditary potency for breeding program in the future. Two selection strains (FRL and SPL) have accumulated a high level of genetic homogeneity as a result of selection.

Key words: *Cyprinus carpio*; population; mtDNA; D-loop sequence; genetic variation