



基于线粒体CO I基因和D-Loop区序列的 7个鲤群体遗传差异分析

邹辉¹, 韦玲静¹, 黄杰², 甘宝江¹, 莫洁琳³, 杨著山⁴, 滕忠作¹, 刘康¹, 叶香尘^{1*}

(¹广西水产引育种中心, 南宁 530031; ²柳州市渔业技术推广站, 广西柳州 545006; ³三江县水产技术推广站, 广西三江 545500; ⁴融水县水产技术推广站, 广西柳州 545300)

摘要:【目的】从分子水平探究不同鲤群体的遗传进化差异,明确金边鲤线粒体基因的遗传进化多样性,为深入开展其遗传资源保护及综合利用提供理论依据。【方法】采用PCR直接测序分析金边鲤、晒江鲤、太湖鲤、福瑞鲤、建鲤、兴国红鲤和黑龙江野鲤等7个鲤群体的线粒体CO I基因和D-Loop区序列,通过MegAlign 7.0和DnaSP 5.0对多态位点数(S)、单倍型数(H)、核苷酸多样性(P_i)、单倍型多样性(H_d)、平均核苷酸差异(K)及群体内和群体间的遗传距离等遗传信息进行分析,运用Arlequin 3.5进行基因AMOVA分析,并以MEGA 7.0的邻接法(NJ)构建遗传进化树。【结果】获得7个鲤群体的CO I基因序列长787 bp和D-Loop区序列长878 bp。7个鲤群体间的CO I基因平均遗传距离为0.0035,其中金边鲤与晒江鲤的群体遗传距离最大(0.0011),与建鲤的群体遗传距离最小(0.0004);D-Loop区序列平均遗传距离为0.0292,其中金边鲤与黑龙江野鲤的群体遗传距离最大(0.0269),与福瑞鲤和建鲤的群体遗传距离最小,均为0.0102。在161份样品中,CO I基因共检测到12种单倍型,以单倍型HAP2最多;D-Loop区序列共检测到41种单倍型,其中HAP1、HAP2、HAP3、HAP4、HAP6、HAP7、HAP13和HAP15为金边鲤的特有单倍型。CO I基因的群体间变异贡献率为19.27%,群体内变异贡献率为80.73%;D-Loop区序列的群体间变异贡献率为20.29%,群体内变异贡献率为79.71%。从基于K2P遗传距离构建的遗传进化树可看出,建鲤、福瑞鲤和太湖鲤3个群体的亲缘关系最近,且同时与金边鲤聚为一小支。【结论】金边鲤的遗传多样性处于较高水平,可进一步选育获得金边鲤独有的优良性状品系,或通过基因辅助技术与其他鲤品种进行杂交而获得更优秀的新品系。

关键词: 金边鲤; CO I基因; D-Loop区; 遗传多样性; 遗传变异

中图分类号: S965.116

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2020)05-1209-08

Genetic differences among seven carp populations based on mitochondrial CO I gene and D-Loop region sequences

ZOU Hui¹, WEI Ling-jing¹, HUANG Jie², GAN Bao-jiang¹, MO Jie-lin³,
YANG Zhu-shan⁴, TENG Zhong-zuo¹, LIU Kang¹, YE Xiang-chen^{1*}

(¹Guangxi Aquatic Species Introduction & Breeding Center, Nanning 530031, China; Extension Station of Fisheries Technology of Liuzhou, Liuzhou, Guangxi 545006, China; ³Extension Station of Fisheries Technology of Sanjiang, Sanjiang, Guangxi 545500, China; ⁴Extension Station of Fisheries Technology of Rongshui, Liuzhou, Guangxi 545300, China)

Abstract: 【Objective】The genetic and evolutionary variation of different carp populations were explored at the molecular level to clarify the genetic and evolutionary diversity of the mitochondrial genes of Jinbian carp, which would provide a theoretical basis for the further protection and comprehensive utilization of genetic resources on Jinbian carp. 【Method】Partial sequence of mitochondrial DNA CO I gene and D-Loop region of seven carp populations, including Jinbian carp, Shaijiang carp, Taihu carp, Furui carp, Jian carp, Xingguohong carp, and Heilongjiang wild carp, were determined by PCR direct sequencing. Genetic information such as number of polymorphic loci (S), haplotypes (H), nucleotide diversity (P_i), haplotype diversity (H_d), mean nucleotide difference (K), and genetic distance within and between populations were analyzed by MegAlign 7.0 and DnaSP 5.0 software, Arlequin 3.5 was used for gene AMOVA analysis, and MEGA 7.0 neighbor joining method (NJ) was used to construct the genetic tree. 【Result】As a result, a total of 7 populations of CO I gene 788 bp and D-Loop gene 874 bp fragment sequences were obtained. The average genetic distance of CO I gene in 7 carp groups was 0.0035, among which genetic distance between Jinbian carp and Shaijiang carp was the

收稿日期: 2019-07-01

基金项目: 国家大宗淡水鱼产业技术体系建设专项(CARS-45); 广西农业科技自筹经费项目(Z2019124)

作者简介: *为通讯作者, 叶香尘(1980-), 高级工程师, 主要从事鱼类分子遗传育种研究工作, E-mail: chen-chen79@163.com。
邹辉(1991-), 主要从事鱼类分子遗传育种研究工作, E-mail: 1152155792@qq.com

maximum(0.0011), and the genetic distance between Jinbian carp and Jian carp was the minimum(0.0004). The average genetic distance of D-Loop region sequence was 0.0292, in which the genetic distance of Jinbian carp was maximum compared with Heilongjiang wild carp (0.0269), and was the minimum compared with Furui carp and Jian carp (0.0102). Among 161 samples, 12 haplotypes were detected in CO I gene, of which HAP2 was the maximum. A total of 41 haplotypes were detected in D-loop region sequence, and haplotypes HAP1, HAP2, HAP3, HAP4, HAP6, HAP7, HAP13 and HAP15 were unique haplotypes in Jinbian carp population. The interpopulation variation contribution rate of CO I gene was 19.27%, and the intra-population variation contribution rate was 80.73%. The inter-population variation contribution rate of D-Loop region sequence was 20.29%, and the intra-population variation contribution rate was 79.71%. According to the genetic trees constructed by K2P genetic distance, it showed that the three groups of Jian carp, Furui carp and Taihu carp had the closest genetic relationship, and then they clustered into a small branch with Jinbian carp. 【Conclusion】The genetic diversity of Jinbian carp is at a high level. The strain with fine traits of Jinbian carp can be obtained through further breeding, or new strains can be obtained through cross breeding with other carps via genetic assisted technology.

Key words: Jinbian carp; CO I gene; D-Loop region; genetic diversity; genetic variability

Foundation item: Project of National Bulk Freshwater Fish Industry Technology System Construction(CARS-45); Self-financing Project of Guangxi Agricultural Science and Technology(Z2019124)

0 引言

【研究意义】鲤(*Cyprinus carpio*)隶属于辐鳍鱼纲(Actinopterygii)鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae),是我国淡水养殖的重要经济鱼类之一,其环境耐受力强、生长快、品种繁多(钟小群等,2018),且富含蛋白质、维生素和矿物质,在人体内的消化吸收率高(黄鸾玉等,2018)。近年来,广西水产引育中心以融水田鲤为基础群体,针对稻田养殖培育出的金边鲤,具有体型短小、肤黄腹圆、性情温顺、起捕率高、鱼肉品质优及不易随洪水游走等优点,备受养殖户青睐,现已陆续覆盖至云南、贵州、四川及广东等地。虽然金边鲤在我国稻田立体养殖产业中已得到推广,但该品种的种质资源鉴定尚不成熟,导致商业养殖生产中的纠纷时有发生。线粒体对动物的品种鉴定及群体遗传分化具有重要意义,因此,基于线粒体细胞色素C氧化酶亚基I(CO I)基因和线粒体调控区(D-Loop)序列分析金边鲤与其他鲤群体的遗传差异,可为金边鲤遗传进化关系的确定提供参考依据。【前人研究进展】线粒体DNA(mtDNA)是母系遗传的基础,具有分子量小、结果简单及进化快等特点(Kochzius and Blohm, 2005),是研究动物起源进化和群体遗传分化的理想对象。Bessho等(1992, 1997)通过推导得出CO I基因具有独特的遗传密码,并证实该基因与细胞的核型及生殖存在密切关系,进一步说明基于CO I基因开展鱼类遗传多样性分析对揭示其群体进化规律具有重要意义。向燕等(2013)对38尾清水江鲤个体CO I基因进行遗传多样性分析,发现清水江鲤CO I基因序列变异明显,遗传多样性较丰富。Mabuchi和Song(2014)对日本观赏鲤线粒体全基因组进行测序,发现其基因组序列有65%与中国瓯江彩鲤相同,故推断出日本观赏鲤起源于中国瓯江彩鲤,也提示线粒体的遗传研究对揭示物种起源与分化具有重要意义。王磊等(2018)研

究发现5个黄河鲤线粒体群体的CO I基因遗传变异率较小,但在不同的群体间相对差异明显,该结论为利用CO I基因差异进行鲤种质资源鉴定提供了参考依据。黄小林等(2018)通过对黄斑篮子鱼的D-Loop区序列进行遗传变异分析,发现黄斑篮子鱼经历了种群扩张事件,并推测扩张时间在1.38万~4.60万年前,即可通过线粒体序列推测种群的历史演变过程及预测其演变趋势。张晨等(2018)通过线粒体全基因组对白甲鱼属8个种类进行分析,填补了我国在白甲鱼属系统发育学研究上的空白,也说明线粒体全基因组对于系统发育学研究具有重要作用。Kamaluddin等(2018)基于D-Loop区序列对物种进行鉴定,并在亚种水平上区分了物种和地理起源,说明D-Loop区序列对于品种区分具有重要意义。基于线粒体基因序列与种属遗传多样性的密切关系,目前已有较多学者通过线粒体基因序列研究进一步揭示鱼类的遗传学关系,并探讨线粒体变异与鱼类种群结构进化的相关性(Prakhongcheep et al., 2018; Spiridonova and Surmach, 2018)。【本研究切入点】CO I是线粒体氧化呼吸链的重要成员,其结构简单、进化速度快、重组率低,且进化信息量大(Verheyen et al., 2003),因此通过CO I基因序列可迅速、准确地进行物种鉴定及种间亲缘关系分析。D-Loop是线粒体基因序列中进化速率最快的区域,特别适合群体遗传分析(王伟伟等,2015;李梦荣等,2018)。可见,线粒体CO I基因和D-Loop区序列对研究动物起源进化及群体遗传分化具有重要意义,但至今鲜见有关鲤线粒体CO I基因和D-Loop区序列的研究报道。【拟解决的关键问题】以金边鲤和其他6个我国常见鲤群体为研究对象,采用PCR直接测序分析线粒体CO I基因和D-Loop区序列片段,研究其遗传进化关系,通过线粒体基因找出不同鲤群体在分子水平上的遗传进化差异,明确金边鲤线粒体基因的遗传

进化多样性,为深入开展其遗传资源保护及综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

7个鲤群体样品的采集时间、采样地点和样品数量详见表1。采样方式为随机采样,采集鳍条组织置于无水酒精中保存。试验所用的分子生物学试剂均购自北京全式金生物技术有限公司。

1.2 基因组总DNA提取

采用高盐法提取基因组DNA(杨杨等,2018),并以1.0%琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA质量。

1.3 线粒体CO I基因和D-Loop区序列扩增及测序

根据GenBank中已发表的鲤线粒体全长序列(登录号JN105357),利用Oligo 7.0设计2对引物,以提取的7个鲤群体总DNA为模板,通过设计的引物分别扩增CO I基因和D-Loop区序列片段,其中,用于扩增CO I基因的上游引物为5'-GCCCTCAAGC TTTAAGTAG-3'、下游引物为5'-AGGGGTGTTG GTATTGAGAG-3';用于扩增D-Loop区序列的上游引物为5'-TATTCTGAGCCCTAGTAGC-3'、下游引物为5'-CTA GAGAAGATATATTATGC-3'。PCR反应体系30.0 μ L:2 \times Taq MasterMix 15.0 μ L,扩增引物各1.0 μ L,DNA模板2.0 μ L,加ddH₂O补足至30.0 μ L。扩增程序:94 $^{\circ}$ C预变性5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,退火30 s,72 $^{\circ}$ C 2 min,进行35个循环;72 $^{\circ}$ C延伸5 min,4 $^{\circ}$ C保存。分别取5.0 μ L PCR扩增产物,用1.5%琼脂糖凝胶电泳进行检测,并通过凝胶成像系统拍照记录。选取与预期结果一致的PCR扩增产物片段送至深圳华大基因股份有限公司进行双向测序,以保证测序的准确性。

1.4 数据分析

采用ClustalX对测序结果进行排列并检测,以MegAlign 7.0对核苷酸序列进行比对;利用DnaSP 5.0计算单倍型多样性、核苷酸多样性及单倍型间的遗传距离;采用Tajima及Fu's和Li's统计方法检测群体内部的DNA水平自然选择作用;运用Arlequin

3.5进行基因AMOVA分析,并通过MEGA 7.0中的邻接法(Neighbor-joining,NJ)构建遗传进化树。

2 结果与分析

2.1 7个鲤群体CO I基因和D-Loop区序列及碱基组成分析结果

经PCR扩增获得的产物片段与预期条带大小一致,测序结果经比对矫正后,获得7个鲤群体的CO I基因序列长787 bp和D-Loop区序列长878 bp。其中,CO I基因的A+T含量为68.50%、G+C含量为31.50%;D-Loop区序列的A+T含量为58.17%、G+C含量为41.83%。

2.2 7个鲤群体CO I基因和D-Loop区序列的遗传多样性

在7个鲤群体中,金边鲤的CO I基因序列核苷酸多态性居中,以太湖鲤和黑龙江野鲤的核苷酸多样性最高,而建鲤的最低;金边鲤的D-Loop区序列核苷酸多态性也居中,以黑龙江野鲤的核苷酸多样性最高,而福瑞鲤的最低(表2)。Tajima及Fu's和Li's检验发现,仅福瑞鲤的CO I基因和D-Loop区序列中性检验结果均为负值且显著偏离中性($P<0.05$),可能是福瑞鲤群体规模放大和定向选择的结果。

7个鲤群体间的CO I基因平均遗传距离为0.0035。其中,金边鲤与晒江鲤的群体遗传距离最大,为0.0011,与建鲤的群体遗传距离最小,为0.0004;建鲤与金边鲤、太湖鲤和福瑞鲤的群体遗传距离均为0.0004(表3)。7个鲤群体间的D-Loop区序列平均遗传距离为0.0292。其中,金边鲤与黑龙江野鲤的群体遗传距离最大,为0.0269,与福瑞鲤和建鲤的群体遗传距离最小,均为0.0102(表4)。

AMOVA分析结果(表5)表明,CO I基因的群体间变异贡献率为19.27%,群体内变异贡献率为80.73%,固定指数为0.2029;D-Loop基因的群体间变异贡献率为20.29%,群体内变异贡献率为79.71%,固定指数为0.1927。单倍型分析结果表明,CO I基因共检测到12种单倍型(表6),其中,金边鲤有3种,太湖鲤有3种,福瑞鲤有4种,建鲤有2种,兴国红鲤有

表 1 7个鲤群体样品的基本信息

Table 1 Sampling basic information of seven *C. carpio* populations

群体 Population	取样时间(年·月) Sampling time(Y-M)	采样地点 Collection place	样品数量(尾) Number of sample(ind)
金边鲤 Jinbian carp	2017-11	广西融水县	23
太湖鲤 Taihu carp	2016-01	江苏无锡市	21
福瑞鲤 Furui carp	2018-03	淡水渔业研究中心	24
建鲤 Jian carp	2018-04	广西武鸣区	24
兴国红鲤 Xinguo hong carp	2017-12	江西兴国县	23
黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	2018-03	黑龙江水产研究所	22
晒江鲤 Shaijiang carp	2018-04	广西三江县	24

表 2 7个鲤群体CO I基因和D-Loop区序列的遗传多态性参数

Table 2 Genetic diversity indexes of seven *C. carpio* populations inferred from CO I gene and D-Loop region sequence

基因 Gene	群体 Population	n	S	H	P _i	H _d	K	中性检验 Neutral test	
								Tajima	Fu's and Li's
CO I	金边鲤 Jinbian carp	21	2	3	0.0006	0.4760	0.5050	-0.2199	0.8581
	太湖鲤 Taihu carp	18	3	3	0.0011	0.6100	0.4770	0.1634	0.9990
	福瑞鲤 Furui carp	21	5	4	0.0006	0.2710	0.4760	-1.9814*	-1.6300*
	建鲤 Jian carp	24	1	2	0.0001	0.0830	0.0830	-1.1593	-1.6058
	兴国红鲤 Xinguohong carp	23	2	2	0.0006	0.3860	0.4740	-0.4380	-0.5522
	黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	16	3	4	0.0011	0.6470	0.8430	-0.0924	-0.0848
	晒江鲤 Shaijiang carp	21	1	3	0.0006	0.4740	0.8860	1.2833	0.6287
D-Loop	金边鲤 Jinbian carp	23	23	9	0.0051	0.6880	5.8180	-1.1192	-1.8139
	太湖鲤 Taihu carp	21	19	6	0.0088	0.8050	7.6100	1.6483	1.0079
	福瑞鲤 Furui carp	24	25	4	0.0036	0.5070	3.1450	-2.1783*	-1.9641*
	建鲤 Jian carp	24	19	4	0.0065	0.6160	5.6700	0.4152	-0.8059
	兴国红鲤 Xinguohong carp	22	23	6	0.0067	0.9050	4.4330	-0.2473	-0.1212
	黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	22	134	17	0.3545	0.9310	30.3120	-0.8320	0.0432
	晒江鲤 Shaijiang carp	24	26	11	0.0082	0.8550	7.1490	0.0997	0.2891

n: 样品数量; S: 多态位点数; H: 单倍型数; P_i: 核苷酸多样性; H_d: 单倍型多样性; K: 平均核苷酸差异。*表示显著偏离中性 (P<0.05)

n: Sample quantity; S: Polymorphism quantity; H: Haploid type quantity; P_i: Nucleotide diversity; H_d: Haploid type diversity; K: Average nucleotide difference. * represented significantly deviated from neutrality (P<0.05)

表 3 7个鲤群体CO I基因间的群体遗传距离及遗传分化指数

Table 3 The average distance between populations and genetic differentiation index in CO I gene among seven *C. carpio* populations

群体 Population	金边鲤 Jinbian carp	太湖鲤 Taihu carp	福瑞鲤 Furui carp	建鲤 Jian carp	兴国红鲤 Xinguohong carp	黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	晒江鲤 Shaijiang carp
金边鲤 Jinbian carp		0.1283	0.0636	0.1102	0.2276	0.1043	0.1932
太湖鲤 Taihu carp	0.0007		0.0760	0.0857	0.2397	0.1506	0.2724
福瑞鲤 Furui carp	0.0007	0.0007		0.0045	0.1889	0.1090	0.2474
建鲤 Jian carp	0.0004	0.0004	0.0004		0.2880	0.1773	0.3314
兴国红鲤 Xinguohong carp	0.0008	0.0008	0.0007	0.0005		0.2321	0.3335
黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	0.0010	0.0010	0.0009	0.0007	0.0011		0.0767
晒江鲤 Shaijiang carp	0.0011	0.0012	0.0012	0.0009	0.0013	0.0012	

表格左下角为遗传距离; 表格右上角为遗传分化指数。表4同

The lower left corner was the genetic distance, and the upper right corner was the genetic differentiation. The same was applied in Table 4

表 4 7个鲤群体D-Loop区序列间的群体遗传距离及遗传分化指数

Table 4 The average distance between populations and genetic differentiation index in D-Loop sequences among seven *C. carpio* populations

群体 Population	金边鲤 Jinbian carp	太湖鲤 Taihu carp	福瑞鲤 Furui carp	建鲤 Jian carp	兴国红鲤 Xinguohong carp	黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	晒江鲤 Shaijiang carp
金边鲤 Jinbian carp		0.3219	0.5100	0.3475	0.4187	0.1331	0.1100
太湖鲤 Taihu carp	0.0117		0.3416	0.0931	0.2828	0.0771	0.1296
福瑞鲤 Furui carp	0.0102	0.0085		0.1599	0.6458	0.2200	0.3265
建鲤 Jian carp	0.0102	0.0082	0.0052		0.2941	0.1047	0.1256
兴国红鲤 Xinguohong carp	0.0103	0.0092	0.0103	0.0079		0.0862	0.2031
黑龙江野鲤 Heilongjiang wild carp	0.0269	0.0261	0.0265	0.0253	0.0241		0.0780
晒江鲤 Shaijiang carp	0.0107	0.0107	0.0087	0.0089	0.0097	0.0267	

表 5 7个鲤群体CO I基因和D-Loop区序列的AMOVA分析结果

Table 5 AMOVA analysis of CO I gene and D-Loop sequence of seven *C. carpio* populations

基因 Gene	变异来源 Source of variation	自由度 df	方差总和 SSD	变异组分 Variation component	变异贡献率(%) Variation contribution rate	固定指数 Fixation index
CO I	群体间	6	9.1090	0.0614	19.27	0.2029
	群体内	137	35.2730	0.2575	80.73	
	合计	143	44.3820	0.3189	100.00	
D-Loop	群体间	6	187.4090	1.1376	20.29	0.1927
	群体内	158	706.1180	4.4691	79.71	
	合计	164	893.5270	5.6067	100.00	

2种,黑龙江野鲤有4种,晒江鲤有3种。各单倍型中以HAP2最多。D-Loop区序列共检测到41种单倍型(表7),其中,金边鲤有9种,太湖鲤有6种,福瑞鲤有4种,建鲤有4种,兴国红鲤有6种,黑龙江野鲤有17种,晒江鲤有11种。各单倍型中,以HAP9的数量最多,HAP11在不同鲤群体出现的频率最高,除金边鲤外,在其他6个鲤群体中均有分布。除HAP5外,HAP1、HAP2、HAP3、HAP4、HAP6、HAP7、HAP13和HAP15均为金边鲤的特有单倍型。

采用MEGA 7.0根据Kimura双参数模型,分别基于CO I基因和D-Loop区序列计算各群体间的K2P遗传距离并构建遗传进化树。基于CO I基因K2P遗传距离构建的鲤群体遗传进化树(图1)显示,建鲤与太湖鲤先聚为一小支,再与福瑞鲤和兴国红鲤聚为一支,然后依次与金边鲤、黑龙江野鲤和晒江鲤聚为一大支,表明金边鲤、黑龙江野鲤及晒江鲤与其他4个鲤鱼群体的遗传关系较远。基于D-Loop区序列K2P遗传距离构建的鲤群体遗传进化树(图2)显示,建鲤与福瑞鲤聚为一小支,再与太湖鲤聚为一支,而金边鲤与晒江鲤聚为另一小支,然后这两小支聚为一支再与兴国红鲤聚为一大支。

晰,且经测序分析发现条带大小与预期结果一致。从7个鲤群体CO I基因和D-Loop区序列的碱基组成分析结果可知,CO I基因的A+T含量为68.50%,大于G+C含量(31.50%);D-Loop区序列的A+T含量为58.17%,大于G+C含量(41.83%)。这与目前已知硬骨鱼类物mtDNA序列中A+T含量大于G+C含量(司李真等,2017)的情况相同,也与吴宁等(2010)针对鳊、胡静等(2012,2014)针对波纹鱼的研究结果一致,说明金边鲤的线粒体基因测序结果可靠。

本研究的AMOVA分析结果表明,7个鲤群体CO I基因的群体间遗传变异率(19.27%)明显低于群体内遗传变异率(80.73%),D-Loop区序列的群体间变异贡献率(20.29%)也明显低于群体内变异贡献率(79.71%)。依据Wright(1978)认为群体间变异贡献率在5%~15%时该群体为中度遗传分化的判断标准,本研究中的7个鲤群体属于高度遗传分化,可能是养殖过程中非常重视种质选择而导致不同群体间差异明显;且其群体内变异贡献率也很高,提示不同群体及其内部均各自具有相互隔离的遗传结构。分子进化的中性突变学说认为:分子水平上的随机遗传漂变(Random genetic drift)比自然选择(Natural selection)更重要(韦文惠等,2012)。一般通过Tajima检验及Fu's和Li's检验来检测种或种群内部的自然选择作用,本研究的Tajima检测及Fu's和Li's检验结果均显示,福瑞鲤均为负值且显著偏离中性,说明该群体在近期历史上出现过种群快速扩张事件,故推测该群体是在瓶颈效应后才出现种群数量扩张;太湖鲤和晒江鲤2个群体均为正值且未显著偏离中性,表明这2个群体尚未发生明显种群扩张,种群数量相对稳定。遗传多样性存在于生物个体内、单个物种内及物种间,是物种适应性和进化的基础,其中种内遗传多样性与该物种对环境的适应能力呈正相关(杨慧荣等,2012)。在众多衡量群体遗传分化的指标中最常用遗传分化指数(F_{st}),当 F_{st} 在0.15~0.25范围内时表明群体间具有明显的遗传分化,综合金边鲤与其他6个鲤群体CO I基因和D-Loop区序列的 F_{st} 可知,金边鲤与太湖鲤、福瑞鲤、兴国红鲤和晒江鲤间的遗传分化程度较高。

分布最广泛的单倍型称为祖先类型(Crandall and Templeton, 1993)。在本研究中,从CO I基因单倍型分析结果可看出HAP2是7个鲤群体的主导单倍型,而D-Loop区序列单倍型分析结果表明7个鲤群体不存在非常明显的主导单倍型,但金边鲤的所有单倍型(除HAP5外)均为特有单倍型,说明金边鲤在种间的遗传分化程度非常高。金边鲤是以融水田鲤

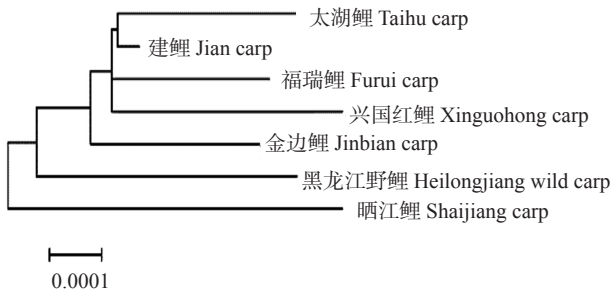


图 1 基于CO I基因K2P遗传距离构建的鲤群体遗传进化树
Fig.1 Phylogenetic tree based on the CO I gene K2P genetic distance of *C. carpio* populations

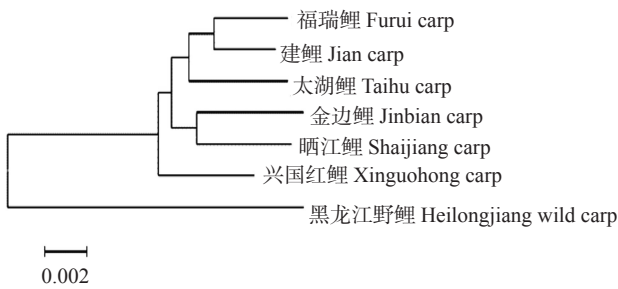


图 2 基于D-Loop区序列K2P遗传距离构建的鲤群体遗传进化树
Fig.2 Phylogenetic tree based on the D-Loop sequence K2P genetic distance of *C. carpio* populations

3 讨论

本研究结果表明,PCR扩增获得的条带单一清

为基础群体,针对稻田养殖而选育开发的新品系,该品系大部分肤色呈青灰色,仅头部顶端上缘一直到尾部上缘的皮肤为金色,连续或断续连成一条金色粗线。自金边鲤线粒体全基因组序列测定(Ye et al., 2018)以来,尚未研发出一种能精确鉴别金边鲤的有效方法,因此,D-Loop区序列的特有单倍型启发今后可通过这些单倍型来鉴别鲤的种类,或通过金边鲤与其他品种的基因型差异研究揭示金边鲤的内在分子机制。此外,基于CO I基因和D-Loop区序列对7个鲤群体的单倍型分析结果表明,除太湖鲤外,其他6个鲤群体均存在特有单倍型,暗示各群体间均有一定程度的遗传分化,且存在广泛基因交流。

基于2种基因序列K2P遗传距离构建的遗传进化树存在明显差异,主要体现在7个鲤群体的进化关系上。其中,基于CO I基因K2P遗传距离构建的鲤群体遗传进化树显示,金边鲤与晒江鲤的亲缘关系最远;而基于D-Loop区序列K2P遗传距离构建的鲤群体遗传进化树表明,金边鲤与晒江鲤的亲缘关系最近。究其原因可能是金边鲤与晒江鲤存在一定的亲缘关系,二者均为广西本地鱼,但CO I基因和D-Loop区序列是线粒体上不同位置的序列片段,其中,D-Loop区序列在遗传学上多样性较丰富,导致金边鲤与晒江鲤存在明显差异可能与D-Loop区序列的变异有关,但具体原因需通过分子系统研究并结合形态特征及解剖结构分析进一步确认。从基于2种基因序列K2P遗传距离构建的遗传进化树均可看出,建鲤、福瑞鲤和太湖鲤3个群体的亲缘关系最近,且同时与金边鲤聚为一小支,说明这4个群体在一定程度上具有较近的亲缘关系。可见,金边鲤与建鲤、福瑞鲤和太湖鲤虽然遗传分化程度较高,但其亲缘关系最近。

4 结论

金边鲤的遗传多样性处于较高水平,可进一步选育获得金边鲤独有的优良性状品系,或通过基因辅助技术与其他鲤品种进行杂交而获得更优秀的新品系。

参考文献:

- 胡静,侯新远,尹绍武,祝斐,贾一何,王小军. 2014. 基于mtDNA CO I和Cytb基因序列对南中国海不同海域波纹唇鱼群体遗传多样性的研究[J]. 水生生物学报,38(6): 1008-1016. [Hu J, Hou X Y, Yin S W, Zhu F, Jia Y H, Wang X J. 2014. Genetic diversity and divergence of *Cheilinus undulatus* of different geographic populations of the south China sea revealed by CO I and Cytb gene analysis[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 38(6): 1008-1016.]
- 胡静,齐兴柱,尹绍武,骆剑,朱晓平,祝斐,胡亚丽. 2012. 波纹唇鱼mtDNA D-Loop序列变异分析[J]. 海洋科学,36(4): 50-56. [Hu J, Qi X Z, Yin S W, Luo J, Zhu X P, Zhu F, Hu Y L. 2012. The variation analysis of mtDNA D-Loop sequence of *Cheilinus undulatus*[J]. Marine Sciences, 36(4): 50-56.]
- 黄鸾玉,吴祥庆,庞燕飞,兰柳春,杨姝丽. 2018. 主成分分析法综合评价水产品营养价值[J]. 食品科技,43(2): 175-179. [Huang L Y, Wu X Q, Pang Y F, Lan L C, Yang S L. 2018. Comprehensive evaluation of nutritional value of aquatic products using principal component analysis [J]. Food Science and Technology, 43(2): 175-179.]
- 黄小林,李文俊,林黑着,杨育凯,李涛,虞为,黄忠. 2018. 基于线粒体DNA D-Loop序列的黄斑篮子鱼群体遗传多样性分析[J]. 热带海洋学报,37(4): 45-51. [Huang X L, Li W J, Lin H Z, Yang Y K, Li T, Yu W, Huang Z. 2018. Genetic variations among *Siganus oramin* populations in coastal waters of southeast China based on mtDNA control region sequences[J]. Journal of Tropical Oceanography, 37(4): 45-51.]
- 李梦荣,田雪,庞小磊,王良炎,胡菊,董传举,李学军,王团记. 2018. 基于线粒体CO I和Cytb基因序列的6种锦鲤(*Cyprinus carpio* Koi)遗传多样性分析[J]. 淡水渔业,48(3): 13-18. [Li M R, Tian X, Pang X L, Wang L Y, Hu J, Dong C J, Li X J, Wang T J. 2018. Genetic diversity of six species of *Cyprinus carpio* Koi based on mitochondrial CO I and Cytb gene sequences[J]. Freshwater Fisheries, 48(3): 13-18.]
- 司李真,武宝生,孔晓瑜,杨敏,龚理,时伟. 2017. 11种鲈形目鱼类的核糖体基因GC含量及其与硬骨鱼类的特征比较[J]. 中国水产科学,24(4): 657-668. [Si L Z, Wu B S, Kong X Y, Yang M, Gong L, Shi W. 2017. Analysis of the GC content of ribosomal genes of 11 species of Perciformes and comparison with other teleostean fishes[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 24(4): 657-668.]
- 王磊,陈军平,王娅,施文瑞,李学军,董丽,张笑谦. 2018. 基于线粒体CO I基因序列的5个黄河鲤群体遗传多样性研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版),46(3): 91-94. [Wang L, Chen J P, Wang Y, Shi W R, Li X J, Dong L, Zhang X Q. 2018. Genetic diversity research of the Yellow River carp populations based on mitochondrial CO I gene [J]. Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition), 46(3): 91-94.]
- 王伟伟,刘青,魏琳琳. 2015. 基于mtDNA控制区序列的我国养殖鲑亚科鱼类系统关系[J]. 淡水渔业,45(5): 24-28. [Wang W W, Liu Q, Wei L L. 2015. Phylogenetic relationship of subfamily *Salmoninae* trout in China based on control region sequence of mitochondrial DNA[J]. Freshwater Fisheries, 45(5): 24-28.]

- 韦文惠,陈奇,李大林. 2012. 关于自然选择单位的四种学说的内在统一[J]. 农业科学与技术(英文版), 13(3):481-484. [Wei W H, Chen Q, Li D L. 2012. Integrity of four theories on natural selection unit[J]. Agricultural Science & Technology, 13(3):481-484.]
- 吴宁,黎中宝,林小云,张志红,田鑫江,陈晓姣,陈丽娜. 2010. 6种鳗鲡(*Anguilla*)线粒体DNA CO I序列的比较研究[J]. 海洋与湖沼, 41(6):930-934. [Wu N, Li Z B, Lin X Y, Zhang Z H, Tian X J, Chen X J, Chen L N. 2010. Comparative study on mtDNA CO I gene fragment of six *Anguilla*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 41(6):930-934.]
- 向燕,朱玲,胡世然,张宗慧. 2013. 清水江鲤鱼线粒体CO I基因序列变异及遗传多样性[J]. 贵州农业科学, 41(6):17-20. [Xiang Y, Zhu L, Hu S R, Zhang Z H. 2013. Genetic diversity and sequence variation of mitochondrial CO I gene segments of Qingshui River *Cyprinus carpio*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 41(6):17-20.]
- 杨慧荣,赵会宏,蒙子宁,刘丽,林权卓. 2012. 赤眼鳟线粒体D-loop和Cytb基因序列的对比分析[J]. 中山大学学报(自然科学版), 51(5):100-106. [Yang H R, Zhao H H, Meng Z N, Liu L, Lin Q Z. 2012. Comparison of mitochondrial D-loop and Cytb sequences of *Squaliobarbus curriculus*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 51(5):100-106.]
- 杨杨,宋小晶,唐文乔,张亚. 2018. 克氏光唇鱼线粒体基因组测定及光唇鱼属的系统发育分析[J]. 动物学杂志, 53(2):207-219. [Yang Y, Song X J, Tang W Q, Zhang Y. 2018. Complete mitochondrial genome of *Acrossocheilus kreyenbergii*, with phylogenetic analysis of genus *Acrossocheilus*[J]. Chinese Journal of Zoology, 53(2):207-219.]
- 张晨,程琪,耿红,林爱华,王红莹. 2018. 基于线粒体基因组的白甲鱼属分子系统发育学研究(英文)[J]. 水生生物学报, 42(3):512-516. [Zhang C, Cheng Q, Geng H, Lin A H, Wang H Y. 2018. Molecular phylogeny of *Onychostoma* (*Cyprinidae*) based on mitochondrial genomes[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 42(3):512-516.]
- 钟小群,向飞,蔡万存,徐超,李其松,黄健,刘文斌. 2018. 发酵饲料对鲤鱼幼鱼生长性能、消化酶活性、肌肉品质和免疫机能的影响[J]. 南京农业大学学报, 41(1):154-162. [Zhong X Q, Xiang F, Cai W C, Xu C, Li Q S, Huang J, Liu W B. 2018. Effects of fermented feed on growth performance, digestive enzyme activity, fillet quality and immunity of juvenile carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 41(1):154-162.]
- Bessho Y, Ohama T, Osawa S. 1992. Planarian mitochondria. II. The unique genetic code as deduced from cytochrome C oxidase subunit I gene sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 34(4):331-335.
- Bessho Y, Tamura S, Hori H, Tanaka H, Ohama T, Osawa S. 1997. Planarian mitochondria sequence heterogeneity: Relationships between the type of cytochrome C oxidase subunit I gene sequence, karyotype and genital organ[J]. Molecular Ecology, 6(2):129-136.
- Crandall K A, Templeton A R. 1993. Empirical tests of some prediction from coalescent theory with application to intraspecific phylogeny reconstruction[J]. Genetics, 134(3):959-969.
- Kamaluddin S N, Yaakop S, Idris W M R, Rovie-Ryan J J, Zain B M M. 2018. Subspecies identification of captive Orang Utan in Melaka based on D-loop mitochondria DNA [J]. AIP Conference Proceedings, 1940(1):020055. doi: 10.1063/1.5027970.
- Kochzius M, Blohm D. 2005. Genetic population structure of the lionfish *Pterois miles* (Scorpaenidae, Pteroinae) in the Gulf of Aqaba and northern Red Sea[J]. Gene, 347(2):295-301.
- Mabuchi K, Song H. 2014. The complete mitochondrial genome of the Japanese ornamental koi carp (*Cyprinus carpio*) and its implication for the history of koi[J]. Mitochondrial DNA, 25(1):35-36.
- Prakhongcheep O, Muangmai N, Peyachoknagul S, Muangmai N, Peyachoknagul S, Srikulnath K. 2018. Complete mitochondrial genome of mouthbrooding fighting fish (*Betta pi*) compared with bubble nesting fighting fish (*B. splendens*) [J]. Mitochondrial DNA Part B, 3(1):6-8.
- Spiridonova L N, Surmach S G. 2018. Whole mitochondrial genome of blakiston's fish owl *Bubo* (*Ketupa*) *blakistoni* suggests its redescription in the genus *Ketupa* [J]. Russian Journal of Genetics, 54:369-373.
- Verheyen E, Salzburger W, Snoeks J, Meyer A. 2003. Origin of the superflock of cichlid fishes from Lake Victoria, East Africa[J]. Science, 304(5673):325-329.
- Wright S. 1978. Variability within and among natural populations[M]. Chicago:University of Chicago Press:439-459.
- Ye X C, Lv Y J, Wei L J, Huang J, Wen Y H, Zhang G J, Zhang S, Yang Z S, Liu K. 2018. The complete mitochondrial genome of Jinbian carp *Cyprinus carpio* (Cypriniformes: Cyprinidae) [J]. Mitochondrial DNA Part B, 3(2):1096-1097.

(责任编辑 兰宗宝)