

## 不同体色锦鲤和“福瑞鲤2号” mtDNA D-loop序列遗传变异分析

李潇轩, 郑端端, 罗明坤, 杨志强, 郭珺, 王兰梅, 董在杰

### Genetic variation analysis of mtDNA D-loop sequences in different body color koi carp and FFRC No.2 strain common carp

LI Xiaoxuan, ZHENG Duanduan, LUO Mingkun, YANG Zhiqiang, GUO Jun, WANG Lanmei, DONG Zaijie

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20211103632>

#### 您可能感兴趣的其他文章

##### Articles you may be interested in

#### 云南澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性分析

Genetic diversity analysis of *Triplophysa brevicauda* in the upper reaches of Lancang River in Yunnan Province

上海海洋大学学报. 2022, 31(1): 52 <https://doi.org/10.12024/jsou.20201203236>

#### 基于线粒体Cytb序列的3个宽体金线鲢群体遗传多样性分析

Genetic diversity analysis of three populations of *Whitmania pigra* Whitman based on mitochondrial Cytb gene

上海海洋大学学报. 2020, 29(1): 9 <https://doi.org/10.12024/jsou.20181102429>

#### 基于Cytb基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析

Genetic diversity and population structure of *Protosalanx hyalocranius* in Jiangsu Province based on Cytb gene sequences

上海海洋大学学报. 2021, 30(3): 416 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190702720>

#### 基于CO I 基因分析7个罗非鱼群体的遗传变异

Genetic variation analysis of seven tilapia populations based on CO I gene

上海海洋大学学报. 2019, 28(6): 827 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190102510>

#### 白洋淀流域宽鳍遗传多样性及种群历史动态

Genetic diversity and population historical dynamics of *Zacco platypus* in Baiyangdian Basin

上海海洋大学学报. 2021, 30(5): 837 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200903178>

文章编号: 1674-5566(2023)02-0266-09

DOI:10.12024/jsou.20211103632

## 不同体色锦鲤和“福瑞鲤 2 号”mtDNA D-loop 序列遗传变异分析

李潇轩<sup>1</sup>, 郑端端<sup>2</sup>, 罗明坤<sup>3</sup>, 杨志强<sup>1</sup>, 郭 珺<sup>4</sup>, 王兰梅<sup>2,3</sup>, 董在杰<sup>2,3</sup>

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017; 2. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 3. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业农村部淡水渔业与种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081; 4. 江苏启泓生态农业发展有限公司, 江苏 苏州 215416)

**摘要:** 为探讨不同体色锦鲤和“福瑞鲤 2 号”遗传多样性及变异情况, 基于 mtDNA D-loop 序列对 6 种颜色(全白、全红、红白、大正三色、白写、绯写)锦鲤、2 个“福瑞鲤 2 号”(青灰和红色)及 2 个杂交鲤群体(青灰♀×红白锦鲤♂、红白锦鲤♀×青灰♂), 共 150 尾个体进行序列分析。结果发现, 全长 932 bp 的 D-loop 序列, A、T、G、C 含量为 33.2%、32.8%、14.2% 和 19.8%。所有个体共检测到 34 个变异位点, 呈 18 个单倍型。其中, 红白和绯写存在 2 个优势单倍型, 全白和青灰“福瑞鲤 2 号”均存在 2 个特有单倍型, 青灰、红色“福瑞鲤 2 号”共享 1 个优势单倍型。10 个鲤群体间遗传距离为 0.001~0.018, 遗传分化指数( $F_{ST}$ )为 0.011~0.933。分子方差(AMOVA)分析群体间变异 67.17%, 群体内变异 32.83%, 呈极显著分化水平。研究表明, 绯写、全白和大正三色 3 个锦鲤群体具较高遗传多样性, 白写、“福瑞鲤 2 号”(青灰和红色)及杂交鲤遗传纯度较高, 结果丰富了不同体色鲤种质资源遗传数据, 为后期种质资源利用和遗传选育提供参考。

**关键词:** 鲤; 体色; 线粒体 DNA; D-loop; 遗传变异

**中图分类号:** S 917

**文献标志码:** A

鲤(*Cyprinus carpio*)是我国重要的水产品之一, 2020 年养殖产量为 289.6 万 t, 位居淡水养殖鱼类的第 4 位<sup>[1]</sup>, 创造了巨大的经济价值和社会效益。同时, 鲤作为“连年有余”和年画中的“主角儿”, 也充分彰显了其极高的文化价值<sup>[2]</sup>。在世界范围内, 鲤的种质资源较为丰富, 遍布亚洲和欧洲大陆的多个国家<sup>[3]</sup>。其中, 锦鲤(*Cyprinus carpio* var. *koi*), 具有“水中活宝石”、“会游泳的艺术品”等美称, 更是风靡于全球。锦鲤由突变鲤人工选育而来, 颜色艳丽、体态优美, 具很高的观赏价值, 且因其适应力强、易饲养等诸多优势, 受到众多养殖者的喜爱<sup>[4]</sup>。影响锦鲤品质的因素主要为体色、体型和生长速度等, 本课题组前期已对锦鲤体色开展了相关研究, 对不同体色(红白、大正三色、昭和三色)锦鲤的基础群体进行了构建, 并对色素细胞的发育积累过程、关键

代谢酶和基因的表达水平进行了探究<sup>[5]</sup>。同时, 通过 Illumina 测序技术构建了锦鲤三色皮肤(红、黑、白)的转录组和 small RNA 文库, 筛选到大量色素调节密切关联的靶标分子<sup>[6-7]</sup>, 并基于测序结果预测验证了 *mc1r* 与 miR-206、*Ccr-lnc172145* 与 miR-206 之间的调控作用<sup>[8-9]</sup>。这些结果为后期深入开展锦鲤皮肤色素细胞分化、变异的分子调控机制提供了重要的基础资料。

中国本土拥有丰富的鲤野生群体及人工选育品种, 鲤属的种和亚种达 17 种<sup>[10]</sup>, 通过合理的种质资源开发利用, 可为改良锦鲤的体型和生长性状提供育种材料。如国审水产新品种“福瑞鲤 2 号”(品种登记号: GS-01-003—2017)的生长速度比普通鲤提高 20% 以上, 其修长的体型(体长/体高为 3.63)更是被广大的消费者和养殖户所青睐。此外, 在繁育过程中, 其后代分化出现了不

收稿日期: 2021-11-29

修回日期: 2022-03-22

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目[CX(21)2029]; 江苏省现代农业(特色水产)产业技术体系建设项目(JATS(2021)414); 农业重大技术协同推广计划项目(2021-ZYXT-08)

作者简介: 李潇轩(1982—), 男, 高级工程师, 研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: 32099811@qq.com

通信作者: 董在杰, E-mail: dongzj@ffrc.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

同于亲本的红色个体<sup>[11-13]</sup>。因此,考虑利用“福瑞鲤 2 号”体型好、生长速度快的优势,与生长速度较缓慢、抗逆性差的锦鲤品种进行杂交、选育,以期能够获得兼具两种不同亲本优良种质性状且具中国特色的彩鲤。开展锦鲤的遗传改良,首先要了解锦鲤等育种基础群体的遗传结构。锦鲤的优质种源来源于日本,并多采用“广泛式”杂交而获得,很难进行溯源分析。因此,开展各群体的遗传变异及亲缘关系研究可指导育种工作。

线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)因分子量小、结构简单、进化速度快、母性遗传等特征,已成为鱼类群体遗传结构和系统演化关系分析的重要工具<sup>[14-15]</sup>。其中,D-loop 区域为非编码区,具更高的遗传变异率,被广泛用于鱼类物种鉴定、遗传进化、多样性分析以及分子生态等研究<sup>[16-17]</sup>。如:WANG 等<sup>[18]</sup>基于 mtDNA 的 *CO II* 基因和 RAPD 技术分析了日本锦鲤与我国长鳍鲤和瓯江彩鲤间的系统关系,结果发现锦鲤可能起源于中国,并与瓯江彩鲤拥有共同的祖先。XU 等<sup>[19]</sup>通过微卫星标记(SSR)和 D-loop 序列探讨了 2 个野生鲤群体 4 个养殖品种的选择压力问题,结果表明人工选择是导致野生鲤与驯化鲤群体遗传分化的主要选择压力。刘念等<sup>[20]</sup>通过 mtDNA D-loop 区分析了 6 个鲤群体的亲缘关系,得出清水江鲤和太湖鲤具有较高的选育潜力。杨正玲等<sup>[21]</sup>对框鳞镜鲤、建鲤和州河鲤的 D-loop 区进行了 RFLP 分析,探讨了 3 个群体的遗传多样性及亲缘关系。NAPORA-RUTKOWSKI 等<sup>[22]</sup>通过 AFLP 标记、SSR 和 D-loop 对波兰池塘养殖的鲤进行了遗传特性研究,进而鉴别出不同的品种和品系,以期更好地利用优质种质资源。然而,相对于目前丰富的鲤种质资源而言,研究所涉及的群体和品种尚有补充的空间。基于此,本研究围绕 6 个锦鲤、2 个“福瑞鲤 2 号”和 2 个杂交鲤群体,系统地开展了 mtDNA D-loop 区的遗传变异特征分析,并探讨了不同群体的遗传结构和进化关系,以期丰富不同体色鲤种质资源的基础数据,为后续进一步开展锦鲤的种质挖掘和遗传选育工作提供一定背景资料,进而通过遗传结构数据完成杂交组合最佳亲本的选择。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本来源与采集

共采集 10 个鲤品种的标本 150 尾,包括 6 个锦鲤群体[全白(Platinum ogon, QB)、全红(Higo, QH)、红白(Kohaku, HB)、大正三色(Taisho sanke, DZ)、白写(Shiro utsuri, BX)、绯写(Hi utsuri, FX)]、2 个“福瑞鲤 2 号”(FFRC No. 2 strain common carp)群体[青灰(QFR)、红(HFR)]和 2 个杂交鲤群体[FJZ(青灰“福瑞鲤 2 号”♀×红白锦鲤♂)、JFZ(红白锦鲤♀×青灰“福瑞鲤 2 号”♂)]。其中:锦鲤取自江苏省淡水水产研究所禄口实验基地,为 2017 年日本福冈县向江苏省捐赠的日本优质锦鲤原种;“福瑞鲤 2 号”取自淡水渔业研究中心宜兴岢亭基地;杂交鲤取自江苏启泓生态农业发展有限公司,为多组亲本随机配对产生的后代。每个群体各随机采集 15 尾,剪取一部分胸鳍,编号保存于装有无水乙醇的冻存管中,清洗至透明状后,固定于 90% 的乙醇备用。

### 1.2 DNA 提取

在无菌环境下,用灭菌消毒的剪刀剪取一小块鳍条组织放入 1.5 mL 离心管中,按照苯酚/氯仿法<sup>[23]</sup>提取 DNA。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,用 NanoDrop 微量分光光度计检测 DNA 的纯度及浓度。用灭菌的 ddH<sub>2</sub>O 将样本质量浓度稀释到终质量浓度 60 ng/μL, -20 °C 保存备用。

### 1.3 D-loop 区段的 PCR 扩增及测序

通过 NCBI 获取鲤线粒体 D-loop 区域全序列(序列号为 NC\_001606.1),设计并筛选最适引物。上游引物:5'-AGCATCGGTCTTGTAAATCC-3';下游引物:5'-GGCGTCTTGGCTAATGTT-3';引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应试剂均购自南京诺唯赞生物科技有限公司。反应总体积为 50 μL,其组成为 25 μL 的 2 × Taq Plus Master Mix(含有 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、标准 Taq 酶反应缓冲液、酶稳定剂和溴酚蓝染料),上、下游引物(10 μmol/L)各 2 μL, DNA 模板(60 ng/μL)2 μL, ddH<sub>2</sub>O 19 μL。扩增程序:95 °C 预

变性 3 min, 34 个循环扩增(95 °C 变性 15 s, 51.5 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 1 min), 72 °C 延伸 5 min; 结束后 4 °C 保存。PCR 产物经过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳后条带清晰明亮单一且长度正确, 并送至上海生工生物工程有限公司进行双向测序。

#### 1.4 数据处理及分析

测序完成后的序列, 使用 BioEdit 7.0 软件<sup>[24]</sup>进行编辑处理, Clustal 软件对序列进行比对和长度确定。利用 DnaSP 5.0 软件<sup>[25]</sup>对核苷酸多样性( $\pi$ )、单倍型数( $H$ )、单倍型多样性( $H_d$ )、Tajima's  $D$  值以及多态性位点( $S$ )等遗传参数进行统计。利用 Arlequin 3.5 软件<sup>[26]</sup>分析分子方差(AMOVA)和遗传分化指数(F-statistics,  $F_{ST}$ )。群体间遗传距离(Kimura 2 parameter, K2P)使用 MEGA 5.1<sup>[27]</sup>进行处理并构建(Neighbor-joining, NJ)进化树。利用 Network 4.6<sup>[28]</sup>绘制单倍型网络结构图(Reduced-median, MJ)。

## 2 结果

### 2.1 不同体色鲤群体的 D-loop 序列特征

经测序剪切后, 共得到 150 尾个体的 D-loop 序列(长度为 932 bp)。其中, 核苷酸 A、T、G、C 的含量组成依次为 33.2%、32.8%、14.2%、19.8%, 含量最低的是 G, 最高的为 A。经序列比对, 150 尾个体的 D-loop 序列中, 在不计插入和缺

失位点的情况下, 共检测到 34 个核苷酸变异位点, 定义了 18 个单倍型(表 1)。其中, 优势单倍型有 3 个, 分别是 Hap6(占个体数 24.7%)、Hap7(占个体数 12.7%)和 Hap14(占个体数 18.0%)。绯写(FX)拥有 3 个特有的单倍型, 全白(QB)和青灰“福瑞鲤 2 号”(QFR)均有 2 个特有的单倍型, 大正三色(DZ)、红白(HB)、白写(BX)、青灰“福瑞鲤 2 号”♀×红白锦鲤♂(FJZ)和红白锦鲤♀×青灰“福瑞鲤 2 号”♂(JFZ)均有 1 个特有的单倍型。青灰“福瑞鲤 2 号”(QFR)和红“福瑞鲤 2 号”(HFR)共同拥有 1 个优势单倍型, 占有率分别为 44.4% 和 55.6%。

### 2.2 不同体色鲤群体的遗传多样性

由表 2 可知, 10 个鲤群体的整体单倍型多样性均值为 0.86, 遗传多样性最低的为红“福瑞鲤 2 号”, 最高的为绯写, 10 个鲤群体的单倍型多样性( $H_d$ )为 0.133~0.676。全白、大正和绯写的核苷酸多样性水平一致( $\pi=0.008$ ), 且这 3 个群体的单倍型多样性水平也相对较高, 分别为 0.629、0.590 和 0.676。中性检验表明, 白写、青灰“福瑞鲤 2 号”、青灰“福瑞鲤 2 号”与锦鲤杂交组的 Tajima's  $D$  值为负值, 其他群体除红“福瑞鲤 2 号”外均为正值, 其中, 大正和绯写显著( $P < 0.05$ )偏离中性, 白写表现为极显著( $P < 0.01$ )偏离中性。

表 1 鲤 10 个群体中不同单倍型分布情况  
Tab. 1 Distribution of the haplotypes in ten *C. carpio* populations

单倍型 Haplotype	全白 QB	大正 DZ	全红 QH	红白 HB	绯写 FX	白写 BX	青灰福瑞鲤 QFR	红福瑞鲤 HFR	福×锦 FJZ	锦×福 JFZ
Hap1	9	6	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap2	4	8	4	-	-	-	-	-	-	-
Hap3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap6	-	-	11	3	4	-	-	-	14	5
Hap7	-	-	-	11	8	-	-	-	-	-
Hap8	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Hap9	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Hap10	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Hap11	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Hap12	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Hap13	-	-	-	-	-	14	1	-	-	-
Hap14	-	-	-	-	-	-	12	15	-	-
Hap15	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Hap16	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Hap17	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Hap18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10

表 2 10 个鲤群体 D-loop 基因的遗传多样性参数  
Tab.2 Genetic diversity parameters of D-loop gene in ten *C. carpio* populations

群体 Population	多态性位点数 S	平均核苷酸差异数 K	核苷酸多样性 $\pi$	单倍型数 H	单倍型多样性 $H_d$	Tajima's D
全白 QB	23	7.505	0.008	5	0.629	0.252
大正 DZ	16	7.714	0.008	3	0.590	2.280 *
全红 QH	5	2.095	0.002	2	0.419	1.223
红白 HB	17	5.276	0.006	4	0.467	0.037
绯写 FX	17	7.829	0.008	5	0.676	2.009 *
白写 BX	15	2.114	0.002	3	0.257	-2.162 ***
青灰福瑞鲤 QFR	17	3.676	0.004	4	0.371	-1.200
红福瑞鲤 HFR	0	0	0	1	0	-
福×锦 FJZ	1	0.133	0	2	0.133	-1.160
锦×福 JFZ	1	0.476	0	2	0.476	1.120
总体 Total	112	10.153	0.011	31	0.860	1.970

注: \* 表示显著性水平( $P < 0.05$ ), \*\* 表示极显著水平( $P < 0.01$ )。

Notes: The " \* " shows significant difference ( $P < 0.05$ ), and the " \* \* " shows extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

### 2.3 不同体色鲤群体的分子方差分析

分子方差分析(AMOVA)结果显示,10 个鲤群体的遗传变异中来源于群体间和群体内的变异率分别为 67.17% 和 32.83%。遗传分化指数为 0.672,呈极显著( $P < 0.01$ )水平(表 3);锦鲤的群体间和群体内变异率分别为 51.44% 和

48.56%,遗传分化指数为 0.514,达到极显著( $P < 0.01$ )水平;“福瑞鲤 2 号”和杂交鲤的遗传变异主要来源于群体间(90.03%),群体内变异小(9.97%),遗传分化指数为 0.900,表明青灰、红“福瑞鲤 2 号”与“福瑞鲤 2 号”和锦鲤的杂交组之间存在较高水平的遗传分化。

表 3 鲤 D-loop 序列变异的分子方差分析(AMOVA)  
Tab.3 Analysis of molecular variances of D-loop sequences of *C. carpio*

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	百分率 Percentage of variation/%	固定指数 $F_{ST}$
群体间 Among populations	9	576.88	4.14	67.17	0.672 * *
群体内 Within population	140	283.20	2.02	32.83	
总体 Total	149	860.08	6.16		

注: \*\* 表示极显著水平( $P < 0.01$ )。

Notes: \* \* shows extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

### 2.4 不同体色鲤群体间的遗传分化

基于 K2P 模型,计算 10 个鲤群体间的遗传距离为 0.001 ~ 0.018(表 4)。其中,FJZ 和 JFZ 间遗传距离最近,且两组杂交鲤都与全红锦鲤遗传距离较近,但与红白锦鲤和青灰、红“福瑞鲤 2 号”遗传距离均较远。鲤群体间的遗传分化指数为 0.011 ~ 0.933(表 4 对角线上)。除大正与全白、红白与绯写、红“福瑞鲤 2 号”与青灰“福瑞鲤

2 号”、全红锦鲤与杂交组(FJZ)等 4 对遗传分化不显著外,其余均达到极显著( $P < 0.01$ )水平。

基于 K2P 遗传距离构建的 NJ 进化树(图 1)显示,10 个鲤群体聚为两大分支。其中:一支先由 JFZ 与 FJZ 聚类,再与全红锦鲤聚为一组,红白和绯写为一组聚类;然后两组聚为一支。另一支由青灰“福瑞鲤 2 号”和红“福瑞鲤 2 号”先聚类,再与白写、全白、大正聚类。

表 4 10 个鲤群体间的 K2P 遗传距离 (左下角) 和遗传分化指数  $F_{ST}$  (右上角)  
 Tab. 4 K2P genetic distance (below diagonal) and genetic differentiation index  $F_{ST}$  (above diagonal) among ten carp populations

群体 Population	全白 QB	大正 DZ	全红 QH	红白 HB	绯写 FX	白写 BX	青灰福瑞 QFR	红福瑞 HFR	福×锦 FJZ	锦×福 JFZ
全白 QB	-	0.036	0.451 **	0.476 **	0.362 **	0.633 **	0.514 **	0.700 **	0.633 **	0.462 **
大正 DZ	0.008	-	0.412 **	0.481 **	0.367 **	0.638 **	0.520 **	0.705 **	0.638 **	0.467 **
全红 QH	0.013	0.010	-	0.492 **	0.319 **	0.723 **	0.605 **	0.790 **	0.124	0.408 **
红白 HB	0.013	0.013	0.012	-	0.011	0.710 **	0.590 **	0.776 **	0.643 **	0.505 **
绯写 FX	0.014	0.013	0.010	0.007	-	0.595 **	0.476 **	0.662 **	0.461 **	0.368 **
白写 BX	0.009	0.011	0.016	0.012	0.014	-	0.731 **	0.933 **	0.867 **	0.695 **
青灰福瑞 QFR	0.012	0.013	0.016	0.013	0.014	0.009	-	0.071	0.748 **	0.576 **
红福瑞 HFR	0.012	0.013	0.016	0.013	0.014	0.010	0.002	-	0.933 **	0.762 **
福×锦 FJZ	0.014	0.011	0.002	0.012	0.010	0.017	0.017	0.017	-	0.558 **
锦×福 JFZ	0.015	0.012	0.003	0.013	0.011	0.018	0.018	0.018	0.001	-

注: \*\* 表示极显著分化水平 ( $P < 0.01$ )。

Notes: \*\* shows extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

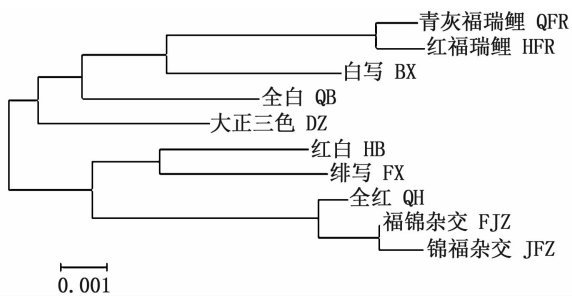


图 1 基于 K2P 遗传距离的鲤群体 NJ 进化树

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

### 2.5 鲤单倍型关系

图 2 为基于单倍型构建的不同体色鲤的 MJ 网络图。共检测到 18 个单倍型, 每个分支均拥有 1 个优势单倍型, 其中 Hap2、Hap6、Hap14 共享优势明显。单倍型 Hap2 全被锦鲤群体共享, 单倍型 Hap14 被“福瑞鲤 2 号”共享, Hap6 被锦鲤和杂交鲤 (FJZ、JFZ) 群体所共享。

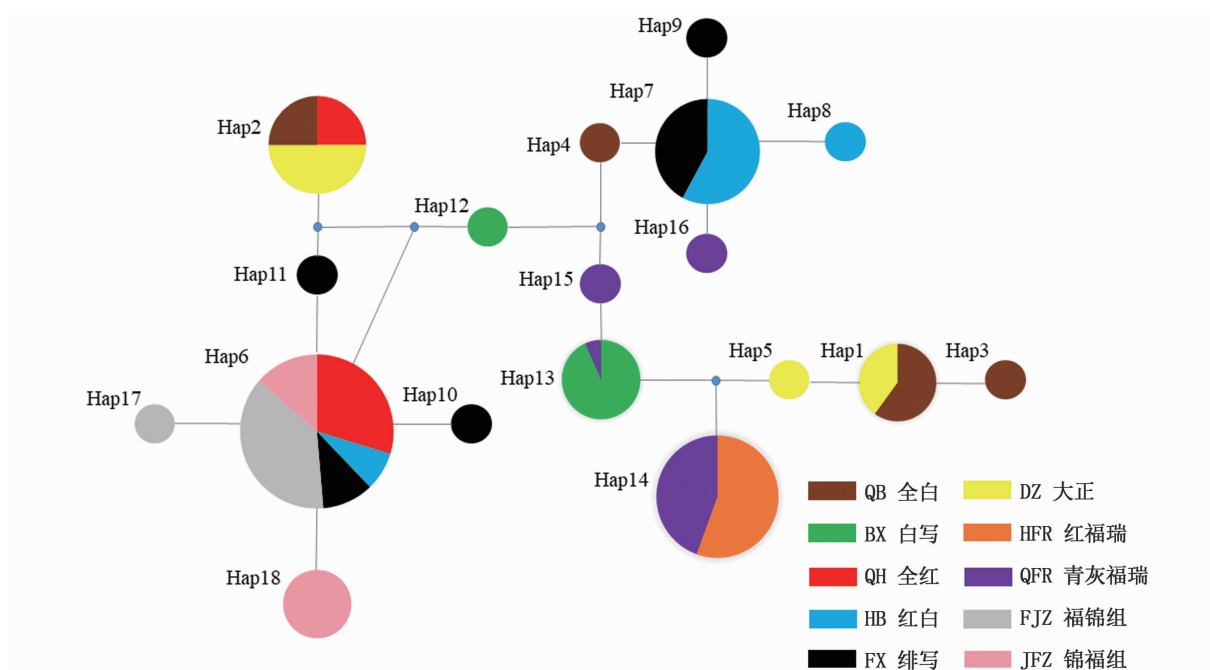


图 2 鲤 D-loop 序列 18 个单倍型的网络结构

Fig. 2 Network of 18 haplotypes of the mtDNA D-loop sequences for ten *C. carpio* populations

### 3 讨论

本研究中 10 个鲤群体 D-loop 序列的核苷酸分析结果显示, A + T 的含量(66%) 高于 G + C (34%), 这与其他鲤 D-loop 序列结果以及脊椎动物线粒体 DNA 碱基含量分布的结果相一致, 属动物线粒体基因组的共同特征<sup>[29-31]</sup>。碱基 G 的含量最低(14.2%), 与邹芝英等<sup>[32]</sup>对长鳍鲤 D-loop 区域碱基少 G 偏倚性研究的结果相似, 说明 10 个鲤群体 D-loop 区域序列的分析结果可信。

衡量群体遗传多样性高低的主要指标包括核苷酸多样性( $\pi$ )和单倍型多样性( $H_d$ )。 $\pi$ 值和 $H_d$ 值越高, 说明群体或种群的遗传多样性越高, 遗传资源越丰富<sup>[33-34]</sup>。GRANT 等<sup>[35]</sup>以 $\pi = 0.05$ 、 $H_d = 0.5$ 为阈值, 划定多样性的高低; 结合本研究, 全白、大正、绯写 3 个锦鲤群体为高核苷酸多样性和高单倍型多样性; 这与罗非鱼(*Oreochromis spp.*)<sup>[36]</sup>、鲤<sup>[37]</sup>、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)<sup>[38]</sup>等其他鱼类的研究结果相似, 推测可能是因为锦鲤养殖品种和选育群体庞大, 较高的遗传多样性得以在繁育过程中被保留下来有关, 也可能由于锦鲤的广泛“杂交式”交配所致。然而, 全红和红白锦鲤的遗传多样性较低, 推测是与红白群体处于较原始的位置, 经历多年繁育, 其种质资源不断下降有关, 这与 DE KOCK 等<sup>[39]</sup>对于锦鲤品系进化树的结论相似。青灰“福瑞鲤 2 号”和杂交鲤(FJZ、JFZ)的遗传多样性较低( $\pi < 0.05$ ,  $H_d < 0.5$ ), 红“福瑞鲤 2 号”在选育过程中获得了较高的遗传纯度, 这与刘念等<sup>[20]</sup>对福瑞鲤遗传多样性结果的分析相似。10 个鲤群体的遗传多样性水平高低不一, 部分原因是线粒体基因为母系遗传, 遗传变异仅留存了来自雌性个体的信息, 进而对遗传水平产生了一定的影响<sup>[40]</sup>; 此外, 遗传多样性较低的鲤群体还可能是在历代人工选育过程中, 由于选育群体数量少、规模小、选育世代数较多而累计造成。根据 Tajima's *D* 值检验结果来看, 白写锦鲤的检验值为 2.162, 显著( $P < 0.05$ )偏离中性进化, 分析是由于锦鲤观赏鱼随市场逐渐扩大, 养殖规模迅速扩张, 种质亲本来源不清晰而出现种群逐步扩张所引起。青灰“福瑞鲤 2 号”和杂交鲤(FJZ)的中性检验结果也为负值, 但差异不显著, 推测是出现负向选择的原因。

按照 BALLOUX 等<sup>[41]</sup>对遗传分化指数的规定, 参考张仁意等<sup>[42]</sup>和王沈同等<sup>[43]</sup>对  $F_{ST}$  结果的分析, 表 3 的分子方差分析表明, 本研究中 10 个鲤群体总体呈现显著分化, 遗传变异来源主要为群体间变异(67.17%), 6 个锦鲤群体的群体间变异贡献率(51.44%)略大于群体内变异贡献率(48.56%)。青灰、红“福瑞鲤 2 号”与杂交鲤之间的遗传变异主要来源于群体间, AMOVA 结果与 NJ 进化树结果一致, 青灰、红“福瑞鲤 2 号”与杂交鲤(FJZ、JFZ)分别位于两大分支。表明其在杂交过程中产生了稳定的遗传分化。红“福瑞鲤 2 号”与青灰“福瑞鲤 2 号”群体遗传分化程度较低, 该结果与 NJ 进化树中聚类结果相同, 这是由于红“福瑞鲤 2 号”是青灰“福瑞鲤 2 号”在繁育过程中产生的变异个体, 其符合人工选择压力下的遗传分化结果<sup>[44]</sup>。杂交鲤(FJZ、JFZ)与其亲本红白锦鲤和青灰“福瑞鲤 2 号”遗传分化程度高, 与全红锦鲤分化程度低, 这一现象在进化树中也有体现。研究分析这可能是在杂交过程中, 子代在保留部分亲本性状的同时也会产生新的异于亲本的性状, 最终造成与亲本的亲缘关系有所偏差。此外, 根据 DE KOCK 等<sup>[39]</sup>对锦鲤谱系中的总结可知, 红白锦鲤是由经过变异的绯鲤(*Higoi*)和浅黄真鲤(*Asagi magoi*)变种杂交而来, 因此, 推测本实验中红白锦鲤和绯写锦鲤、全红锦鲤聚为一个大类, 可能是一种返祖现象。另外据图谱显示, 全红锦鲤即绯鲤是由铁真鲤(*Tetsu magoi*)变异而来, 白写(Shiro utsuri)与绯写(Hi utsuri)是由黄写(Ki utsuri)选育而来, 大正三色由红白锦鲤选育而来, 昭和三色是由绯写选育而来。结合本实验结果发现, 大正三色与红白锦鲤的聚类关系较远, 分析有可能是种质不纯引起的。依据单倍型关系网络图显示, 青灰、红“福瑞鲤 2 号”和锦鲤的优势单倍型以及单倍型数量都存在差异, 说明青灰、红“福瑞鲤 2 号”群体和锦鲤群体基因交流较少, 具有很高的遗传多样性, 这为后续丰富和改善锦鲤种质资源提供了基础条件。

#### 参考文献:

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.  
Fishery Administration of the Ministry of Agriculture and

- Rural Areas, National Aquatic Technology Promotion Station, China Fisheries Society. 2021 China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021.
- [2] 于瑞哲, 张玉茹, 聂国兴. 渔文化课程中鲤文化提取分析—古典诗词中的鲤文化[J]. 河南水产, 2021(1): 36-38.
- YU R Z, ZHANG Y R, NIE G X. Carp culture in classical poems[J]. Henan Fisheries, 2021(1): 36-38.
- [3] KOTTELAT M, FREYHOF J. Handbook of European freshwater fishes[M]. Cornol, Switzerland: Publications Kottelat, 2007.
- [4] 李潇轩, 李志辉, 尹陆乐, 等. 浅谈锦鲤文化传承与发展[J]. 水产养殖, 2020, 41(3): 78-80.
- LI X X, LI Z H, YIN L L, et al. Discussion on the inheritance and development of koi culture[J]. Journal of Aquaculture, 2020, 41(3): 78-80.
- [5] 殷浩然, 罗明坤, 王兰梅, 等. 锦鲤早期发育过程中色素代谢相关酶的活性和基因表达变化[J]. 南方水产科学, 2019, 15(5): 109-117.
- YIN H R, LUO M K, WANG L M, et al. Changes of pigment-related enzyme activity and gene expression at early developmental stage of koi carp[J]. South China Fisheries Science, 2019, 15(5): 109-117.
- [6] LUO M K, WANG L M, ZHU W B, et al. Identification and characterization of skin color microRNAs in Koi carp (*Cyprinus carpio* L.) by Illumina sequencing[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 779.
- [7] LUO M K, WANG L M, YIN H R, et al. Integrated analysis of long non-coding RNA and mRNA expression in different colored skin of koi carp[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 515.
- [8] 罗明坤, 王兰梅, 朱文彬, 等. Ccr-lncRNA172145 靶向 miR-206 在锦鲤体色调控中的作用初探[J]. 水产学报, 2021, 45(12): 1955-1964.
- LUO M K, WANG L M, ZHU W B, et al. Preliminary study on the role of Ccr-lncRNA172145 in targeting miR-206 in the regulation of skin color of *Cyprinus carpio* var. *koi* [J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(12): 1955-1964.
- [9] DONG Z J, LUO M K, WANG L M, et al. MicroRNA-206 regulation of skin pigmentation in koi carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Frontiers in Genetics, 2020, 11: 47.
- [10] 郑冰蓉, 张亚平, 肖衡, 等. 鲤属鱼类 mtDNA 控制区(D-环区)序列的变异性分析[J]. 水产学报, 2002, 26(4): 289-294.
- ZHENG B R, ZHANG Y P, XIAO H, et al. The sequence variation feature of mtDNA D-loop region of *Cyprinus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(4): 289-294.
- [11] 阎明信. 福瑞鲤新品系形态差异分析及选育效果评价[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- YAN M X. Morphological differences analysis on new strain of FFRC strain common carp and breeding results evaluation [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [12] 董在杰. 福瑞鲤系列良种选育及其绿色健康养殖示范(上)[J]. 科学养鱼, 2020, 36(9): 24-25.
- DONG Z J. Selective breeding of the series of the FFRC strain common carp good stocks and the demonstration of their healthy green culture (Continued) [J]. Scientific Fish Farming, 2020, 36(9): 24-25.
- [13] 董在杰. “福瑞鲤2号”新品种育种技术[J]. 科学养鱼, 2018, 34(4): 9-10.
- DONG Z J. Breeding technology of new variety “FFRC No. 2 strain common carp”[J]. Scientific Fish Farming, 2018, 34(4): 9-10.
- [14] 徐钢春, 魏广莲, 李建林, 等. 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, 2012, 27(5): 448-452.
- XU G C, WEI G L, LI J L, et al. The genetic diversity of farmed tapertail anchovy *Coilia nasus* and *Coilia nasus taihuensis* by mitochondrial D-loop genes analysis [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2012, 27(5): 448-452.
- [15] 邹习俊, 韩雪, 韩虎峰. 鱼类 mtDNA 及其非编码区的研究概况[J]. 贵州畜牧兽医, 2009, 33(3): 23-25.
- ZOU X J, HAN X, HAN H F. Research survey of mitochondrial DNA (mtDNA) and noncoding region of fish [J]. Guizhou Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2009, 33(3): 23-25.
- [16] 杨明生, 熊邦喜. 动物 mtDNA 的研究及在鱼类生态学中的应用[J]. 孝感学院学报, 2005, 25(3): 23-27.
- YANG M S, XIONG B X. Research on mitochondrial DNA of animal and its application in the fishery ecology[J]. Journal of Xiaogan University, 2005, 25(3): 23-27.
- [17] 夏德全, 王文君. 动物线粒体 DNA 研究及在鱼类种群遗传结构研究中的应用[J]. 水产学报, 1998, 22(4): 364-370.
- XIA D Q, WANG W J. The study of animal mitochondrial DNA and its application to the study on fish population genetic structure[J]. Journal of Fisheries of China, 1998, 22(4): 364-370.
- [18] WANG C H, LI S F. Phylogenetic relationships of ornamental (koi) carp, Oujiang color carp and Long-fin carp revealed by mitochondrial DNA CO II gene sequences and RAPD analysis [J]. Aquaculture, 2004, 231(1/4): 83-91.
- [19] XU L H, WANG C H, WANG J, et al. Selection pressures have driven population differentiation of domesticated and wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Genetics and Molecular Research, 2012, 11(3): 3222-3235.
- [20] 刘念, 傅建军, 董在杰, 等. 中国6个鲤群体的 mtDNA D-loop 序列遗传变异分析[J]. 水生态学杂志, 2017, 38(3): 75-82.
- LIU N, FU J J, DONG Z J, et al. Genetic variation of six *Cyprinus carpio* populations in China based on mtDNA D-loop sequences[J]. Journal of Hydroecology, 2017, 38(3): 75-82.
- [21] 杨正玲, 赵世海, 龚疏影, 等. 州河鲤、建鲤和框鳞镜鲤



- 的 mtDNA D-loop 的 RFLP 分析[J]. 淡水渔业, 2008, 38(3): 40-45.
- YANG Z L, ZHAO S H, GONG S Y, et al. RFLP analysis of the mtDNA D-loop region of Zhouhe Carp, Jian Carp and mirror Carp[J]. Freshwater Fisheries, 2008, 38(3): 40-45.
- [22] NAPORA-RUTKOWSKI Ł, RAKUS K, NOWAK Z, et al. Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains breed in Poland based on microsatellite, AFLP, and mtDNA genotype data[J]. Aquaculture, 2017, 473: 433-442.
- [23] 姜海霞. 对苯酚氯仿法和盐析法提取 DNA 的归纳[J]. 中学生物学, 2014, 30(5): 53-54.
- JIANG H X. Summary of DNA extraction by Phenol-Chloroform method and salting out method[J]. Middle School Biology, 2014, 30(5): 53-54.
- [24] HALL T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, 41(41): 95-98.
- [25] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [26] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [27] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [28] POLZIN T, DANESHMAND S V. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs [J]. Operations Research Letters, 2003, 31(1): 12-20.
- [29] 程磊, 何莘萍, 韦媛媛, 等. 基于线粒体 D-loop 区和 Cyt b 基因分析广西禾花鲤三个群体遗传结构[J]. 水生生物学报, 2021, 45(1): 54-59.
- CHENG L, HE P P, WEI B Y, et al. Genetic structure of three populations of rice Flower Carp (*Cyprinus carpio*) in Guangxi Zhuang autonomous region based on mitochondrial D-loop region and Cyt b gene[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2021, 45(1): 54-59.
- [30] 邹辉, 韦玲静, 黄杰, 等. 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[J]. 南方农业学报, 2020, 51(5): 1209-1216.
- ZOU H, WEI L J, HUANG J, et al. Genetic differences among seven carp populations based on mitochondrial CO I gene and D-Loop region sequences[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(5): 1209-1216.
- [31] 王超, 麦炜, 姚东林, 等. 基于线粒体 DNA 控制区 (mtDNA D-loop) 基因序列分析钦州尖鳍鲤的遗传多样性 [J]. 海南热带海洋学院学报, 2018, 25(5): 23-27.
- WANG C, MAI W, YAO D L, et al. Genetic diversity analysis of Qinzhou *Cyprinus acutidorsalis* based on mtDNA D-loop sequence [J]. Journal of Hainan Tropical Ocean University, 2018, 25(5): 23-27.
- [32] 邹芝英, 杨弘, 罗永巨, 等. 长鳍鲤 mtDNA D-loop 区序列结构和多态性分析[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 27-30.
- ZOU Z Y, YANG H, LUO Y J, et al. Sequence structure and polymorphism analysis of mtDNA D-loop region in *Cyprinus acutidorsalis* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(8): 27-30.
- [33] 周慧, 李迪强, 张于光, 等. 藏羚羊 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究[J]. 遗传, 2006, 28(3): 299-305.
- ZHOU H, LI D Q, ZHANG Y G, et al. Study on mitochondrial DNA genetic diversity of Tibetan Antelope[J]. Hereditas (Beijing), 2006, 28(3): 299-305.
- [34] 何震哈, 肖珊, 王韶韶, 等. 黄鳍棘鲷线粒体 D-loop 序列的遗传结构[J]. 水产学报, 2021, 45(3): 345-356.
- HE Z H, XIAO S, WANG S S, et al. Genetic structure of D-loop sequence in *Acanthopagrus latus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(3): 345-356.
- [35] GRANT W A S, BOWEN B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415-426.
- [36] 姜冰洁, 傅建军, 朱文彬, 等. 基于 CO I 基因分析 7 个罗非鱼群体的遗传变异[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(6): 827-834.
- JIANG B J, FU J J, ZHU W B, et al. Genetic variation analysis of seven tilapia populations based on CO I gene[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2019, 28(6): 827-834.
- [37] 潘贤辉, 周康奇, 陈忠, 等. 基于线粒体 D-loop 区和 CO I 基因序列研究 2 个禾花鲤群体和野生鲤群体的遗传多样性与系统进化关系[J]. 淡水渔业, 2019, 49(6): 33-40.
- PAN X H, ZHOU K Q, CHEN Z, et al. Genetic diversity and phylogenetic relationship among two populations of *Procypris merus* and wild carp based on mtDNA D-loop region and CO I gene sequences[J]. Freshwater Fisheries, 2019, 49(6): 33-40.
- [38] 于悦. 长江、赣江、鄱阳湖鲢遗传多样性和群体遗传结构分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- YU Y. Analysis of genetic diversity and structure of silver carp in Yangtze river, Ganjiang river and Poyang lake [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016.
- [39] DE KOCK S, GOMEISKY B. Japanese ornamental koi carp: origin, variation and genetics [M]//PIETSCH C, HIRSCH P. Biology and Ecology of Carp. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2015: 27-53.
- [40] CHENG S S, SENOO S, SIDDIQUEE S, et al. Genetic variation in the mitochondrial genome of the giant grouper

- Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) and its application for the identification of broodstock [J]. *Aquaculture Reports*, 2015, 2: 139-143.
- [41] BALLOUX F, LUGON-MOULIN N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(2): 155-165.
- [42] 张仁意, 李国刚, 汤永涛, 等. 青海湖裸鲤线粒体 DNA D-loop 区的遗传多样性及其遗传分化研究[J]. *中国农学通报*, 2013, 29(32): 71-76.
- ZHANG R Y, LI G G, TANG Y T, et al. Genetic diversity and differentiation of mitochondrial DNA D-loop region in *Gymnocypris przewalskii* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, 29(32): 71-76.
- [43] 王沈同, 张猛, 党云飞, 等. 草鱼野生与选育群体线粒体 DNA 控制区 D-loop 遗传变异分析[J]. *水生生物学报*, 2017, 41(5): 947-955.
- WANG S T, ZHANG M, DANG Y F, et al. Genetic variation of mitochondrial DNA D-loop region in wild and breeding populations of Grass Carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(5): 947-955.
- [44] 傅建军, 朱文彬, 罗文韬, 等. 不同体色鲤的生长、酪氨酸酶活性、黑色素含量及基因表达比较[J]. *中国水产科学*, 2021, 28(8): 939-947.
- FU J J, ZHU W B, LUO W T, et al. Comparison of growth, tyrosinase activity, melanin content, and gene expression between common carps with different pigmentations [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(8): 939-947.

## Genetic variation analysis of mtDNA D-loop sequences in different body color koi carp and FFRC No. 2 strain common carp

LI Xiaoxuan<sup>1</sup>, ZHENG Duanduan<sup>2</sup>, LUO Mingkun<sup>3</sup>, YANG Zhiqiang<sup>1</sup>, GUO Jun<sup>4</sup>, WANG Lanmei<sup>2,3</sup>, DONG Zaijie<sup>2,3</sup>

(1. Jiangsu Provincial Freshwater Fisheries Research Institute, Nanjing 210017, Jiangsu, China; 2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, Jiangsu, China; 3. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, Jiangsu, China; 4. Jiangsu Qihong Ecological Agriculture Development Co., Ltd., Suzhou 215416, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to investigate the genetic diversity and variation of different body colors of common carp (*Cyprinus carpio*), a total of 150 individuals from six different colored koi carp populations (Platinum Ogon, Higo, Kohaku, Tajsho-sanke, Shiro Utsuri and Hi Utsuri), two colored FFRC No. 2 strain common carp (grey and red) populations, and two hybrid carp populations (grey FFRC No. 2 strain common carp ♀ × Kohaku koi ♂, Kohaku koi ♀ × grey FFRC No. 2 strain common carp ♂) were analyzed based on mtDNA D-loop sequences. The results showed that the contents of A, T, G and C in the 932 bp D-loop sequence were 33.2%, 32.8%, 14.2% and 19.8%, respectively. In total, 34 variant sites were detected in all individuals, showing 18 haplotypes. Among them, there were two dominant haplotypes in Kohaku and Hi Utsuri, respectively. There were two unique haplotypes in white koi carp and grey FFRC No. 2 strain common carp, and grey and red FFRC No. 2 strain common carp shared one dominant haplotype. The genetic distances across the ten populations ranged from 0.001 to 0.018, with  $F_{ST}$  values ranging from 0.011 to 0.933. The analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that there was 67.17% variation among varieties and 32.83% variation within varieties, indicating highly substantial genetic difference. It demonstrated that the Hi Utsuri, white koi carp, and Tajsho-sanke had high genetic diversity, while the Shiro Utsuri, FFRC No. 2 strain common carp (grey and red), and hybrid carp had high genetic purity. The study enriched the genetic data of the various body color carp germplasm resources and provided the guidance for germplasm resource utilization and genetic selection in the future.

**Key words:** *Cyprinus carpio*; body color; mitochondrial DNA; D-loop; genetic variation