

# 基于线粒体 COI 基因序列的 5 个黄河鲤群体遗传多样性研究

王磊, 陈军平, 王娅, 施文瑞, 李学军, 董丽, 张笑谦

(河南师范大学 水产学院, 河南 新乡 453007)

**摘要:**为了揭示河南省不同黄河鲤养殖群体之间的遗传差异,本研究通过线粒体 COI 基因对 5 个黄河鲤群体的遗传多样性进行了研究.5 个群体中荥阳水产良种场群体的单倍型数为 4,洛阳水产技术推广站群体的单倍型数为 2,其它群体的单倍型数均为 3;各个群体的基因多样性从 0.200 到 0.750 不等,最高的为河南省水产良种繁育场的群体;各群体的核苷酸多样性范围为 0.000 63 到 0.002 28,最高的为荥阳水产良种场群体,最低的为洛阳市水产技术推广站群体.分子方差分析表明黄河鲤将近 90% 的变异来自于群体内,说明整体上群体间分化较小.结果表明,虽然各个黄河鲤群体之间的遗传分化较小,但是它们之间的遗传多样性差别较大,研究结果可以为黄河鲤的育种和增殖放流等工作提供一定的参考.

**关键词:**黄河鲤;养殖群体;COI 基因;遗传多样性

**中图分类号:**S917.4

**文献标志码:**A

黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus* Temminck et Schlegel)是我国黄河流域重要的经济鱼类之一,它和松江鲈(*Trachidermus fasciatus* Heckel)、松花江鲑(*Siniperca chuatsi*)和兴凯湖鲌(*Culter albaranus*)等被誉为我国的“四大淡水名鱼”<sup>[1]</sup>.黄河鲤在河南地区养殖产量较高,仅郑州地区年产量就超过 10 万 t<sup>[2]</sup>.长期的人工养殖导致黄河鲤出现生长速度下降、养殖成活率低和病害频发等现象,因此有必要对养殖黄河鲤群体的遗传多样性进行研究以期揭示养殖黄河鲤的种质现状,从而为黄河鲤的育种等研究提供一定的参考.

在黄河鲤遗传多样性研究方面,宋威等<sup>[3]</sup>利用微卫星和 RAPD 标记分别对伊洛河、文岩渠和豫选黄河鲤群体进行了分析,结果显示人工选育的豫选黄河鲤各位点均显著偏离了 Hardy-Weinberg 平衡;关建义等<sup>[4]</sup>通过 ISSR 标记对 2 个野生黄河鲤群体和 2 个养殖黄河鲤群体进行研究发现人工选育群体的遗传结构尚未发生明显变化;鲁翠云等<sup>[5]</sup>通过微卫星标记比较了豫选黄河鲤和福瑞鲤这两个人工选育种的差异,发现豫选黄河鲤和福瑞鲤虽然都处于高度多态水平,但是豫选黄河鲤的有效等位基因数、期望杂合度和多态信息含量等都显著低于福瑞鲤;刘念等<sup>[6]</sup>通过对野生的清水江鲤、太湖鲤、黄河鲤、黑龙江鲤和人工选育的福瑞鲤及松浦鲤等 6 个鲤群体的 mtDNA D-loop 序列进行测序分析发现清水江鲤和太湖鲤存在较高的遗传多样性,而 2 个育成品种具有较高的遗传纯度.尽管对黄河鲤的野生群体、不同选育群体、其他鲤的野生群体及福瑞鲤之间的遗传多样性分析都有报道,但对养殖黄河鲤群体进行遗传多样性分析时所用的种群数量较少,因此有必要扩大群体对其进行进一步分析.

细胞色素 C 氧化酶 I 亚基(COI)基因是线粒体氧化呼吸链的重要成员,具有结构简单、进化速度快、几乎不发生重组、进化信息量大等特点<sup>[7]</sup>,是研究水产动物系统进化和群体遗传结构的重要工具之一<sup>[8-10]</sup>.本研究利用线粒体 COI 基因对河南省 5 个黄河鲤养殖群体进行了分析,拟揭示不同养殖群体的遗传多样性,为进一步了解黄河鲤的种质情况提供一定的理论和科学依据,其研究结果对黄河鲤种质资源的持续开发和

收稿日期:2017-08-22;修回日期:2018-03-20.

基金项目:国家自然科学基金(31602149);国家级大学生创新训练项目(201710476019);河南省高等学校重点科研项目(17B240001;17A240002);河南师范大学博士科研启动基金(qd14184).

作者简介(通信作者):王磊(1984-),男,河南新乡人,河南师范大学讲师,博士,研究方向为鱼类新品系的选育研究, E-mail:hnnuwl@163.com

有效利用也具有一定的理论意义和现实意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本实验的黄河鲤样品于2015年5~10月间分别采自延津县渔场、荥阳水产良种场、洛阳市水产技术推广站、孟津县道宗养殖专业合作社和河南省水产良种繁育场。这些样品均为各养殖场的黄河鲤养殖群体,共抽取48个样品。取回所有样品后,将苗种或剪取的部分鳍条放入于无水乙醇中进行保存待用。黄河鲤样品具体采集时间和样品数量等信息具体见表1。

表1 黄河鲤不同群体采样地点、时间和样本数

	采样点	简称	采样时间	样品数/尾
1	延津县渔场	L1	2015年6月	10
2	荥阳水产良种场	L2	2015年5月	10
3	洛阳市水产技术推广站	L3	2015年5月	10
4	孟津县道宗养殖专业合作社	L4	2015年5月	10
5	河南省水产良种繁育场	L5	2015年10月	8

### 1.2 基因组DNA的提取及PCR反应

采用常规酚-氯仿法抽提黄河鲤基因组DNA。参照Hubert等的COI基因片段引物并进行部分修改,上游引物(5'-3'): TCTCAACCAACCATAAAGACATTGG;下游引物(5'-3'): TATACTTCTGGGT-GCCCAAAGAATCA。

PCR反应总体积为50  $\mu\text{L}$ ,其中Taq DNA polymerase(5 U  $\mu\text{L}^{-1}$ ), 0.4  $\mu\text{L}$ ;基因组DNA 2  $\mu\text{L}$ ;  $10\times$  Buffer 5  $\mu\text{L}$ ; dNTP(各2.5 mmol  $\cdot$  L $^{-1}$ ), 4  $\mu\text{L}$ ;上下游引物(10 mmol  $\cdot$  L $^{-1}$ ), 各1  $\mu\text{L}$ ;最后补足灭菌双蒸水至终体积。PCR反应条件为: 94  $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min, 94  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, 60  $^{\circ}\text{C}$ 退火1 min, 72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min, 30个循环,最后在72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。之后直接将PCR产物送往武汉昆泰瑞生物技术有限责任公司进行测序。

### 1.3 数据分析

将从公司返回的数据在GeneBank数据库中进行BLAST同源性搜索,通过验证发现所获得的序列确实是COI基因,没有受到其他DNA的污染。然后通过BioEdit软件<sup>[11]</sup>将核苷酸序列翻译成氨基酸,排除测序过程中所造成的碱基错误,并将余下的序列进行比对,之后翻译成核苷酸序列以备以后数据分析的需要,并以Fasta格式保存备用。通过DnaSP version软件<sup>[12]</sup>来评估每个群体的不同核苷酸和单倍型多样性。用Arlequin软件<sup>[13]</sup>计算各个群体的遗传分化。

## 2 结果与分析

### 2.1 DNA提取及PCR扩增

黄河鲤部分基因组DNA提取效果显示图如图1所示,所提取的DNA效果较好,可以满足线粒体COI基因扩增的需要。黄河鲤部分个体COI基因扩增效果如图2所示,扩增产物可以用于直接测序。

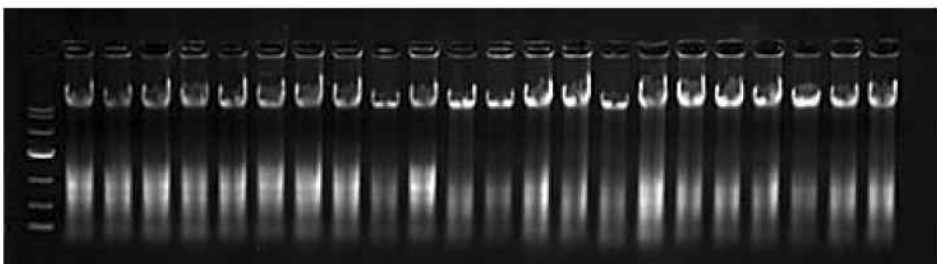


图1 黄河鲤部分基因组DNA提取结果

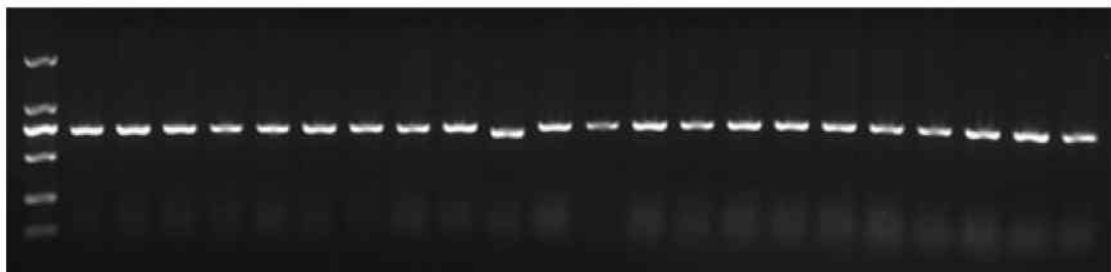


图2 黄河鲤部分个体COI基因扩增结果

## 2.2 遗传多样性分析

对测序获得的序列,选取中间的 652 bp 进行分析.这 5 个群体的单倍型数、基因多样性和核苷酸多样性见表 2,其中单倍型数最多的为荥阳水产良种场(L2)的群体,最少的为洛阳市水产技术推广站(L3)的群体,其他 3 个群体的单倍型数均为 3;各个群体的基因多样性从 0.200 到 0.750 不等,最高的为河南省水产良种繁育场(L5)的群体,洛阳市水产技术推广站群体明显低于其他群体;各个群体的核苷酸多样性范围为 0.000 63~0.002 28,最高的为荥阳水产良种场群体,最低的为洛阳市水产技术推广站群体.

表 2 黄河鲤不同群体单倍型数(N),基因多样性(Hd),核苷酸多样性(Pi)

	L1	L2	L3	L4	L5
N	3	4	2	3	3
Hd	0.711	0.644	0.200	0.621	0.750
Pi	0.002 21	0.002 28	0.000 63	0.001 08	0.002 18

## 2.3 遗传距离及遗传结构分析

黄河鲤各群体的遗传距离为:−0.081 77~0.278 17(见表 3).其中孟津县道宗养殖专业合作社群体(L4)与河南省水产良种繁育场群体(L5)之间遗传距离最大,且 L4 与其他群体的遗传距离都较大(0.172 11~0.278 17),显示 L4 可能与其他群体之间分化较为严重;洛阳市水产技术推广站群体(L3)和河南省水产良种繁育场(L5)群体遗传距离最小.从分子方差结果分析来看,将近 90%的变异来自于群体内部,因此,群体间的分化是比较小的(如表 4).

表 3 黄河鲤群体间遗传距离

	L1	L2	L3	L4	L5
L2	−0.059 03	—	—	—	—
L3	0.095 00	0.173 33	—	—	—
L4	0.240 74	0.172 11	0.218 90	—	—
L5	−0.081 77	0.023 58	−0.017 05	0.278 17	—

## 3 讨论

在黄河鲤遗传多样性的研究中,研究者们往往更关心黄河鲤养殖群体和野生群体<sup>[3-4]</sup>,黄河鲤和其他鲤群体之间的比较<sup>[5-6,14]</sup>,对于养殖群体进行相互比较的研究较少.而养殖群体之间也是有差异的,这种差异对于增殖放流苗种的选择和人工选择育种等工作都有重要意义<sup>[15]</sup>.一般认为遗传多样性高的群体适应和生存能力都比较强,而遗传多样性低的比较差<sup>[16]</sup>,本研究通过对河南省主要几个

表 4 黄河鲤线粒体 COI 序列分子方差分级分析

变异来源	自由度	平方和	变异组分	变异贡献率/%
群体间变异	4	2.398	0.032 22	10.36
群体内变异	45	12.542	0.278 70	89.64
总计	49	14.940	0.310 92	100.00

黄河鲤养殖群体的遗传多样性进行研究发现荥阳水产良种场黄河鲤群体的单倍型数和核苷酸多样性最高,河南省水产良种繁育场的基因多样性最高,这可能是由于这两个养殖场在繁育过程中的繁育种群较大导致其遗传多样性较高.另外遗传多样性越高则其在选育过程中的潜力也就越大,因此遗传多样性高的群体更适合用于增殖放流和选育新品种<sup>[17]</sup>.

从群体间的遗传距离来看,孟津县道宗养殖专业合作社群体与其他 4 个群体间的遗传距离都较大,说明

在长期养殖过程中,由于养殖场之间的隔离造成其遗传结构发生了一定变化,Wright<sup>[18]</sup>认为群体间的变异贡献率在0.05~0.15之间时,群体间为中度遗传分化,本研究中各个群体之间的变异贡献率为10.36%,属于中度遗传分化,分化程度并不高,这可能是由于养殖群体在养殖过程中主要重视经济性状的选择,从而导致其遗传上也向同质化发展,最终造成不同群体之间差异较小。

总之,本研究通过对河南省5个主要黄河鲤养殖群体的遗传多样性进行分析,揭示了各个群体之间的遗传多样性、遗传距离和遗传结构的差异,这对于黄河鲤的增殖放流和遗传育种等研究都具有一定的理论意义和现实意义。

## 参 考 文 献

- [1] 王金秋.松江鲈的生态学和繁殖生物学的研究进展[J].水生生物学报,1999,23(6):729-734.
- [2] 秦之豪.打造郑州黄河鲤鱼品牌 促进黄河鲤鱼产业发展[J].河南水产,2017(1):3-4.
- [3] 宋威,张芹,冯建新.环境因素对黄河鲤群体遗传多样性的影响[J].江苏农业科学,2011,39(5):323-325.
- [4] 关建义,张芹,屈长义,等.野生和人工选育黄河鲤遗传多样性的 ISSR 分析[J].河南师范大学学报(自然科学版),2010,38(4):128-131.
- [5] 鲁翠云,张晓丽,顾颖,等.福瑞鲤与豫选黄河鲤选育群体的遗传结构及亲本间遗传距离分布[J].中国水产科学,2016,23(5):1091-1098.
- [6] 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.
- [7] Verheyen E,Salzburger W,Snoeks J,et al.Origin of the Superflock of Cichlid Fishes from Lake Victoria,East Africa[J].Science,2004,304(5673):325-329.
- [8] 赵丹,刘莹,宋爱环,等.基于线粒体 CO I 序列的泥螺群体遗传多样性研究[J].水产科学,2017,36(3):353-358.
- [9] 彭士明,施兆鸿,侯俊利.基于线粒体 D-loop 区与 COI 基因序列比较分析养殖与野生银鲴群体遗传多样性[J].水产学报,2010,34(1):19-25.
- [10] 赵明,宋炜,马春艳,等.基于线粒体 CO I 基因序列的棘头梅童鱼7个野生群体遗传结构分析[J].中国水产科学,2015,22(2):233-242.
- [11] Alzohairy A M.BioEdit: An important software for molecular biology[J].Gerf Bulletin of Biosciences,2011,2(1):60-61.
- [12] Rozas J,Sánchezdelbarrio J C,Messeguer X,et al.DnaSP,DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J].Bioinformatics,2003,19(18):2496-7.
- [13] Schneider S,Roessli D,Excoffier L.Arlequin: a software for population genetics data analysis[J].User manual ver,2000,2: 2496-2497.
- [14] 钟立强,张成锋,周凯,等.四个鲤鱼种群遗传多样性的 AFLP 分析[J].基因组学与应用生物学,2010,29(2):259-265.
- [15] 胡新艳,刘雄军,周幼杨,等.基于微卫星的胭脂鱼养殖群体遗传多样性及人工放流监测的分析[J].淡水渔业,2017,47(1):35-41.
- [16] 季维智,宿兵.遗传多样性研究的原理与方法[M].杭州:浙江科学技术出版社,1999.
- [17] 余锐,梁旭方,易提林,等.鳊鱼3个养殖群体经济性状及遗传多样性分析[J].水产科学,2012,31(9):511-515.
- [18] Wright S.Variability within and among Natural Populations[M].Chicago:University of Chicago Press,1978:439-459.

## Genetic diversity research of the Yellow River carp populations based on mitochondrial COI gene

Wang Lei, Chen Junping, Wang Ya, Shi Wenrui, Li Xuejun, Dong Li, Zhang Xiaoqian

(College of Fisheries, Henan Normal University,Xinxiang 453007,China)

**Abstract:** The mitochondrial COI gene of five Yellow River carp populations was sequenced to reveal their genetic diversity. In the five populations, the number of haplotype in the population of Xingyang Aquatic Breeding Farm and the population of Luoyang Aquatic Technology Promotion Station was 4 and 2 respectively. The other haplotype number was 3. Genetic diversity of the populations ranged from 0.200 to 0.750. The highest was the population of Henan Aquatic Breeding Farm. The population of Luoyang Aquatic Technology Promotion Station was lower than other populations. Nucleotide diversity of the populations was in the range of 0.000 63 to 0.002 28. The highest was the population of Xingyang Aquatic Breeding Farm and the lowest was the population of Luoyang Aquaculture Technology Promotion Station. Analysis of molecular variance shew that nearly 90% of the variation came from the interior of the populations. The result indicated that although genetic differentiation was small between populations, but genetic diversity was relatively large in different populations. The study provided some basis for artificial releasing and breeding new varieties of the Yellow River carp.

**Keywords:** *Cyprinus carpio haematopterus* Temminck et Schlegel; cultured population; COI gene; genetic diversity