

都匀“红鲤”的群体结构及其多样性

张小洪¹, 余科², 安苗¹, 欧平勇², 王邦平², 杨胜同², 李丽², 李茂年², 覃克斯²

1. 贵州大学动物科学学院/高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室/贵州省动物遗传育种与繁殖重点实验室, 贵阳 550025
2. 贵州省黔南州农业科学研究院畜牧水产所, 贵州都匀 558000

摘要: 贵州都匀“红鲤”是传统稻作农耕模式下的产物, 其遗传多样性较为丰富, 是品种选育的理想材料。为丰富贵州省稻田鲤的遗传背景资料, 为稻田鲤种质资源的合理开发利用与保护提供理论依据, 采用线粒体 DNA *Cyt b* 基因测序技术, 探究了都匀“红鲤”及相邻地区的稻田鲤群体结构及其多样性。结果显示, 253 条 *Cyt b* 基因共检测到 45 个变异位点, 界定了 23 个单倍型, 都匀“红鲤”表现出 9 个单倍型, 其中 5 个与对照的稻田鲤共享, 个体数占其样本总数的 76.19%。系统发育和神经网络结果表明, 都匀“红鲤”是由远东鲤和华南鲤 2 个遗传差异小、分化等级高的亚种类群构成的混合群体, 与国内鲤品种和对照稻田鲤之间有相同的母系来源。都匀“红鲤”中共享 Hap22 和 4 个独享单倍型的鱼归属远东鲤亚种, 另外 4 个共享单倍型的鱼为华南鲤亚种。遗传多样性及分化分析显示, 都匀“红鲤”2 个亚种群体遗传变异程度低, 均呈高单倍型多样性 (H_d) 和低核苷酸多样性 (π) 的特点; 远东鲤亚种与对照稻田鲤间为中度分化, 华南鲤亚种除了与锦屏间为高度分化外, 与其余 3 个对照稻田鲤间的分化程度均较低, 但因地理隔离及驯化过程中选择压力、创始人效应和遗传漂变, 导致其遗传多样性下降, 与对照群体产生遗传分化。研究表明, 都匀及邻近地区稻田鲤群体间存在有限的遗传交流, 群体内和群体间有不同的遗传结构。

关键词: 红鲤; *Cyt b* 基因; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号: S 932.4

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Population structure and diversity of Duyun "Red Carp"

ZHANG Xiaohong¹, YU Ke², AN Miao¹, OU Pingyong², WANG Bangping², YANG Shengtong², LI Li², LI Maonian², QIN Kesi²

1. College of Animal Science, Guizhou University/Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region, Ministry of Education/Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in Guizhou, Guiyang 550025, China
2. Animal Husbandry and Aquaculture Institute, Qiannan Academy of Agricultural Sciences, Guizhou Province, Duyun 558000, China

Abstract: The "Red Carp" from Duyun, Guizhou Province is a product of the traditional rice farming model, with relatively rich genetic diversity, making it an ideal material for breed selection. To enrich the genetic background data of rice field carps in Guizhou Province and provide a theoretical basis for the rational development, utilization, and protection of rice field carp germplasm resources, we used mitochondrial DNA *Cyt b* gene sequencing technology to explore the population structure and diversity of the "Red Carp" from Duyun and adjacent areas. The results show that a total of 45 variable sites were detected in 253 *Cyt b* genes, defining 23 haplotypes. The 'Red Carp' from Duyun exhibited 9 haplotypes, 5 of which shared with the control rice

收稿日期: 2024-02-22; 修回日期: 2024-04-29

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2020]4Y027号); 黔南州科技计划项目: 黔南特色动植物种质资源保护及利用研究示范基地建设([2022]11号)

作者简介: 张小洪(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类种质资源鉴定与评价。E-mail: 1909312302@qq.com

通信作者: 安苗(1970—), 男, 副教授, 研究方向为鱼类种质资源鉴定与评价。E-mail: gzuam@163.com

field carp, accounting for 76.19% of the total sample size. Phylogenetic and neural network results indicate that the Duyun "Red Carp" is a hybrid population composed of two highly differentiated sub-species groups with minor genetic differences, namely *Cyprinus carpio haematopterus* Temminck and *C. carpio rubrofusculus* Lacépède. These sub-species shared the same maternal origin with domestic carp varieties and the control paddy field carp. For the Duyun "Red Carp", Hap22 was shared among individuals belonging to *C. carpio haematopterus* sub-species, while four unique haplotypes were exclusive to this sub-species. Additionally, four shared haplotypes were present in *C. carpio rubrofusculus* sub-species. Genetic diversity and differentiation analysis reveal that the two subspecies populations of Duyun "Red Carp" had a low level of genetic variation, both exhibiting characteristics such as high H_d and low π . The *C. c. haematopterus* subspecies was moderately differentiated from the control paddy field carp; while the sub-species of *C. carpio rubrofusculus* showed a high degree of differentiation from the Jinping Carp, but a relatively low level of differentiation from the other three control paddy field carp populations. However, due to geographical isolation and selective pressure during domestication, founder effects and genetic drift, their genetic diversity had decreased, resulting in genetic differentiation from the control populations. The study indicates that there is limited genetic exchange among the rice field carp populations in Duyun and its adjacent areas, with different genetic structures within and between populations.

Keywords: Red carp; *Cyt b* gene; Genetic diversity; Genetic differentiation

稻田鲤 (Paddy-field carp) 是一种与水稻共育的驯化鲤 (*Cyprinus carpio* Linnaeus), 也是我国南方稻渔综合种养体系中主要的养殖鱼类^[1]。都匀“红鲤”是一种生活在贵州省都匀市匀东镇甲登和坝固等少数民族村寨的稻田鲤, 其背部两侧有两条金色条纹且头部形似金色蝴蝶花纹^[2], 与广西融水金边鲤 (*C. carpio* var. *Jinbian*) 的图案一致^[3], 均被冠名为“金背鲤”, 特别是其暗红的体色, 在当地俗称“红鲤”^[4]。近年稻田鲤种质资源现状备受关注, 对其遗传起源、群体结构和多样性开展了不同程度的研究^[5-8]。

都匀市为贵州省黔南布依族苗族自治州的首府, 沅江源头—剑江蜿蜒流经全市, 并在其东部的匀东镇流出汇入清水江, 苗、水、布依等少数民族聚居区稻田鲤的驯养历史悠久、文化内涵深刻^[9-12]。都匀“红鲤”深受当地养殖户、消费者和行政部门关注, 成为稻渔综合种养和乡村振兴的亮点产业。都匀市杨里生态种养殖有限公司在其保种、繁育和技术服务一体化方面做了大量工作, 政府正努力打造“匀东苗鲤”品牌和农产品地理标志^[13]。

随着都匀“红鲤”稻渔综合种养工作不断深化, 其养殖面积、产量逐年增加, 但问题也随之而来。在封闭的稻田空间下, 有限亲本种群的自繁、自育、自留种的养殖习惯造成品种 (系) 退化; 加之其种质资源鉴定、品种 (系) 鉴定和提纯复壮工作的滞后, 该稻田鲤亚种的地位、来源及其与贵州典型稻田鲤的遗传关系亟待探明。本研究采用线粒体 DNA *Cyt b* 基因序列对都匀“红鲤”及相邻地区的稻田鲤群体结构进行比较分析, 以期补充该稻田

鲤的遗传背景资料和资源现状, 为其遗传改良与育种提供理论基础和数据支撑。

1 材料与方法

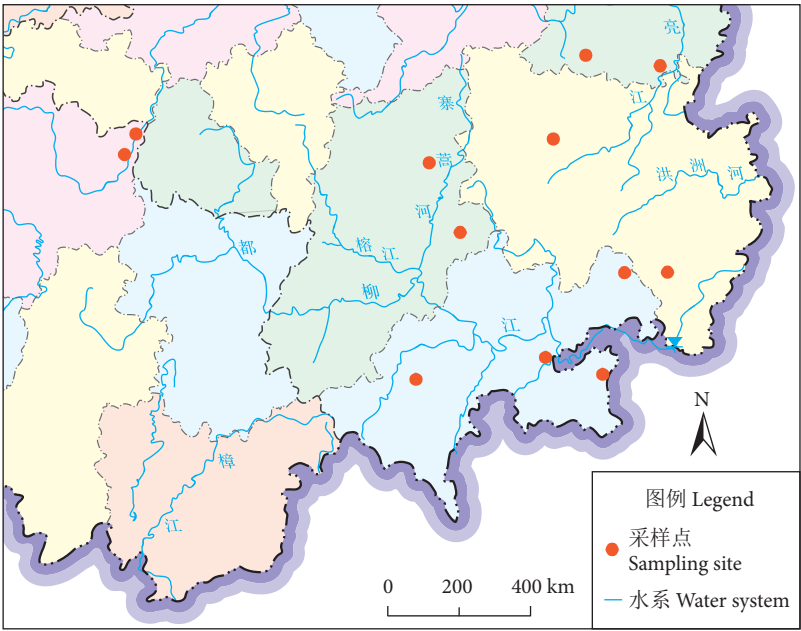
1.1 实验材料

实验组稻田鲤采自黔南州都匀市 (DY) 匀东镇坝固和甲登 2 个典型驯养村, 共计 63 尾; 对照组来自黔东南苗族侗族自治州稻田鲤传统养殖区: 榕江县 (RJ) 36 尾、从江县 (CJ) 97 尾、黎平县 (LP) 27 尾、锦屏县 (JP) 30 尾, 共计 253 尾。采样站点的位置见图 1。从田中随机挑选活鱼样品, 测量体长和体质量等常规生物学指标, 取背部肌肉 3~5 g 浸泡于添加了 95% (φ) 乙醇溶液的试管中, 置于保鲜冰盒后于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2 实验方法

利用 DNA 提取试剂盒 (北京天根) 提取肌肉样品基因组 DNA, 通过 1.0% (w) 琼脂糖凝胶电泳检验其完整性, 再利用紫外分光光度计 (Thermo Nano Drop 2000C) 测定其吸光值。于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

引物筛选与 PCR 扩增: *Cyt b* 扩增引物的序列为 L14724: 5'-GACTTGAAAAACCACCGTTG-3', H15915: 5'-CTCCGATCTCCGATTACAAGAC-3'^[14], 送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 反应体系为 25 μL : 模板 DNA 2.5 μL , 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 12.5 μL , 上、下游引物各 1.25 μL , 剩余体积用双蒸水补齐。反应程序: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, $52.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s, 35 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 终延伸 7 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。通过 1.0% (w) 琼脂糖凝胶电泳检



审图号：GS粤(2024)999号

图1 都匀及其周边区域稻田鲤采样点分布

Fig. 1 Distribution of sampling sites of rice field carp in Duyun and its adjacent areas

验，选择特异性强的样品送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序。

1.3 数据处理与分析

用 DNAStar 5.0 软件包的 SeqMan 对测得的序列进行拼接并校对^[15]，从 NCBI 获取鲤线粒体 DNA *Cyt b* 基因全序列 (NC001606)，比对保留相同序列长度。利用 DNAsp 5.10 计算单倍型数 (h)、单倍型多样性 (H_d)、核苷酸多样性 (π) 等参数^[16]。利用 MEGA 6.0 软件^[17] 计算群体内及群体间的遗传距离，基于双参数替代模型 (Kimura-2-Parameter, K2P)^[18] 构建 MP (Maximum Parsimony) 系统进化树，经 1 000 次自展检验得到分支树节点的支持率，其余参数均为软件默认值，保留大于 50 的抽样值 (Bootstrap of sample value, BS)。利用 Network 10.0 软件^[19]，以中介邻接网络算法 (MJ, Median-joining networks)，按照单倍型频率绘制神经网络图，展示单倍型之间的衍生和进化关系。使用 Arlequin 3.5^[20] 中的分子方差分析 (Analysis of molecular variance, AMOVA) 法，检测遗传变异来源。

2 结果

2.1 稻田鲤群体 *Cyt b* 基因的碱基序列组成和单倍型分布

253 条长度为 1 141 bp 的 *Cyt b* 序列无碱基的插入和缺失，共界定 23 个单倍型，变异位点有

45 个 (单一信息位点 8 个，简约信息位点 37 个)，有 33 个同义突变，12 个错义突变，5 个颠换位点，40 个转换位点，转换与颠换比为 8.63。转换主要发生在碱基 A 与 G 之间，占总变异的 51.1%，略高于 T 与 C 的转换比 (37.8%)。4 种碱基平均含量分别为 A 29.8%、T 26.3%、C 29.9%、G 14.0% (表 1)，G 的含量明显低于其他 3 种碱基，表现出很强的碱基组成偏向性。

23 个单倍型分布见表 2，其中独有单倍型 15 个，共享 8 个。都匀群体有 9 个单倍型，其中 4 个为其独享，代表 15 尾个体，占其总样本数的 23.81%，其余 5 个单倍型分别与 4 个对照群体共享，占其总样本数的 76.19%；单倍型分布情况表

表1 稻田鲤群体 *Cyt b* 序列碱基组成
Table 1 Base composition of *Cyt b* sequences in rice field carp populations

群体及代码 Population and its code	碱基组成 Base composition/%					
	A	T	C	G	A + T	G + C
都匀 DY	29.8	26.3	29.9	14.0	56.1	43.9
从江 CJ	29.8	26.2	30.0	14.0	56.0	44.0
榕江 RJ	29.9	26.2	29.9	14.0	56.1	43.9
黎平 LP	29.9	26.2	29.9	14.0	56.1	43.9
锦屏 JP	29.9	26.3	29.9	13.9	56.2	43.8
平均 Mean	29.8	26.3	29.9	14.0	56.1	43.9

明, Hap12 和 Hap18 是其优势单倍型, 其次是 Hap8、Hap14 和 Hap22。

2.2 稻田鲤亚种类群划分和单倍型进化关系

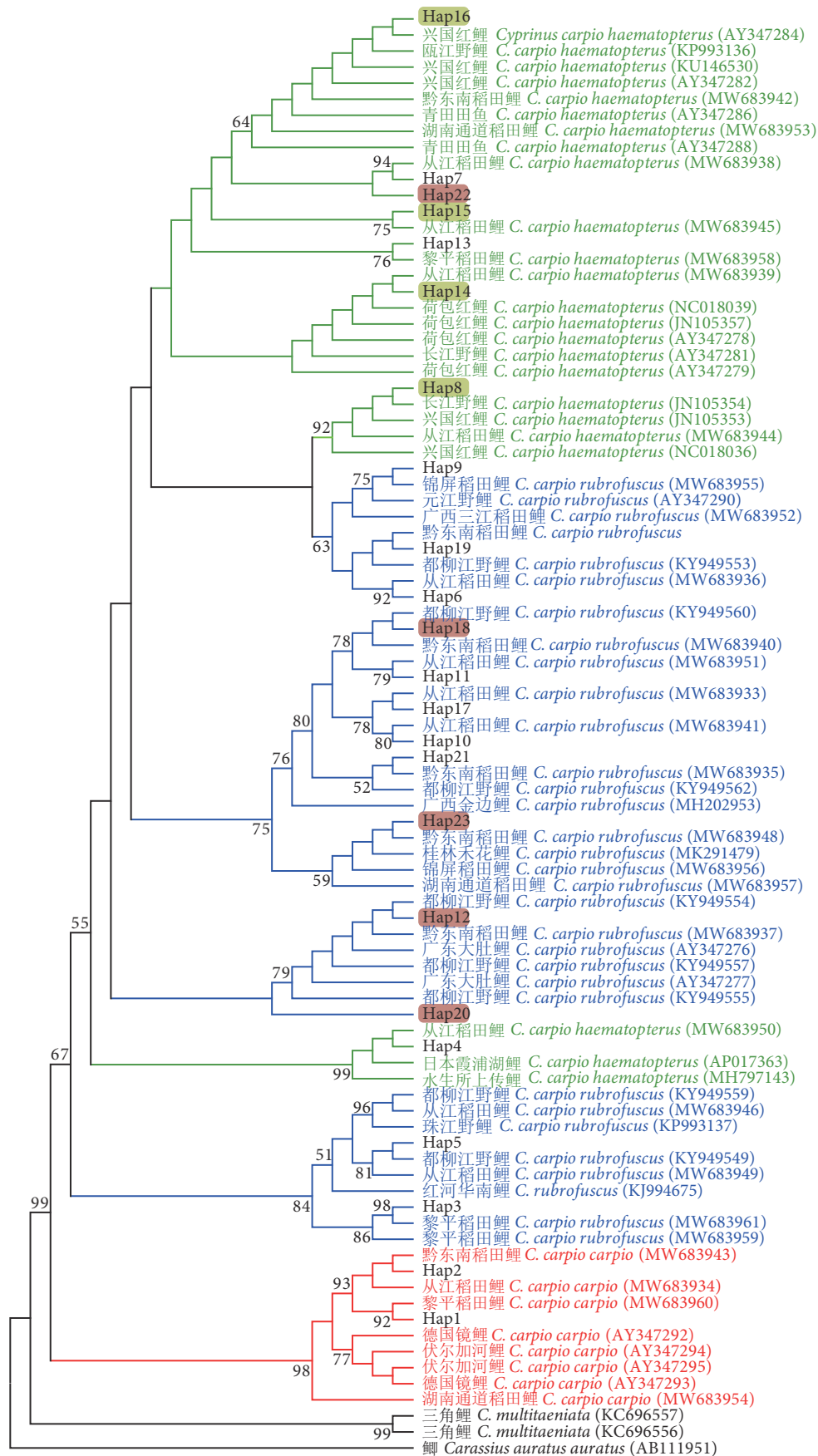
以鲫 (*Carassius auratus auratus*) (AB111951) 和三角鲤 (*C. multitaeniata*) (KC696556 和 KC696557) 为外群, 本研究的 23 个单倍型与余科等^[7] 的 29 个单倍型 (MW683933—MW683961) 以及欧洲鲤的 35 条 *Cyt b* 基因序列构建 MP 系统发育树。由图 2 可知, 鲤 87 个单倍型以 99 支持率单独聚为一支, 其下划分为 8 个小支。本研究的 Hap1 和 Hap2 所在的红色小支为欧洲鲤亚种 (*C. carpio carpio* Linnaeus) 聚类, Hap3、Hap5、Hap6、Hap9、Hap10、Hap11、Hap12、Hap17、Hap18、Hap19、Hap20、Hap21 和 Hap23 所处的 4 个蓝色小支为华南鲤亚种 (*C.*

carpio rubrofusculus Lacépède) 类群, 剩余的 8 个单倍型所在的 3 个绿色小支为远东鲤亚种 (*C. carpio haematopterus* Temminck) 类群聚类。都匀“红鲤”的 9 个单倍型中, Hap12、Hap18、Hap20 和 Hap23 4 个单倍型 (图 2, 红色底色) 聚类在华南鲤亚种分支, 而共享单倍型 Hap22 (图 2, 红色底色) 及 4 个独享单倍型 (图 2, 黄色底色) 聚在远东鲤亚种分支。

系统聚类、亚种划分和分布统计表明, 都匀“红鲤”群体含远东鲤和华南鲤 2 个亚种类群, 其样本数分别为 24 和 39 尾; 从江稻田鲤群体含欧洲鲤、远东鲤和华南鲤 3 个亚种类群, 样本数分别为 5、11 和 81 尾; 榕江也含这 3 个亚种类群, 样本数分别为 4、2 和 30 尾; 黎平也有这 3 个亚种类

表2 单倍型分布和亚种划分
Table 2 Haplotype distribution and subspecies division

单倍型 Haplotype	亚种归属 Subspecies ascription	都匀 DY	从江 CJ	榕江 RJ	黎平 LP	锦屏 JP	合计 Total
Hap1	<i>Cyprinus carpio carpio</i> Linnaeus				1		1
Hap2	<i>Cyprinus carpio carpio</i> Linnaeus		5	4	1		10
Hap3	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède				3		3
Hap4	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck		1				1
Hap5	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		3				3
Hap6	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		5				5
Hap7	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck		3				3
Hap8	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck	7					7
Hap9	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède					1	1
Hap10	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		3		3		6
Hap11	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		1				1
Hap12	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède	18	12	4			34
Hap13	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck				3		3
Hap14	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck	6					6
Hap15	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck	1					1
Hap16	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck	2	6	2		1	11
Hap17	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		14				14
Hap18	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède	16	7	5	6		34
Hap19	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		2				2
Hap20	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède	1					1
Hap21	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède		33	13			46
Hap22	<i>Cyprinus carpio haematopterus</i> Temminck	8	1				9
Hap23	<i>Cyprinus carpio rubrofusculus</i> Lacépède	4	1	8	10	28	51
单倍型数 Haplotype number		9	15	6	7	3	253
独享单倍型数 Unique haplotypes		4	7	0	3	1	

图2 基于 *Cyt b* 基因序列构建 MP 进化树Fig. 2 MP evolutionary tree of *C. carpio* population based on *Cyt b* gene

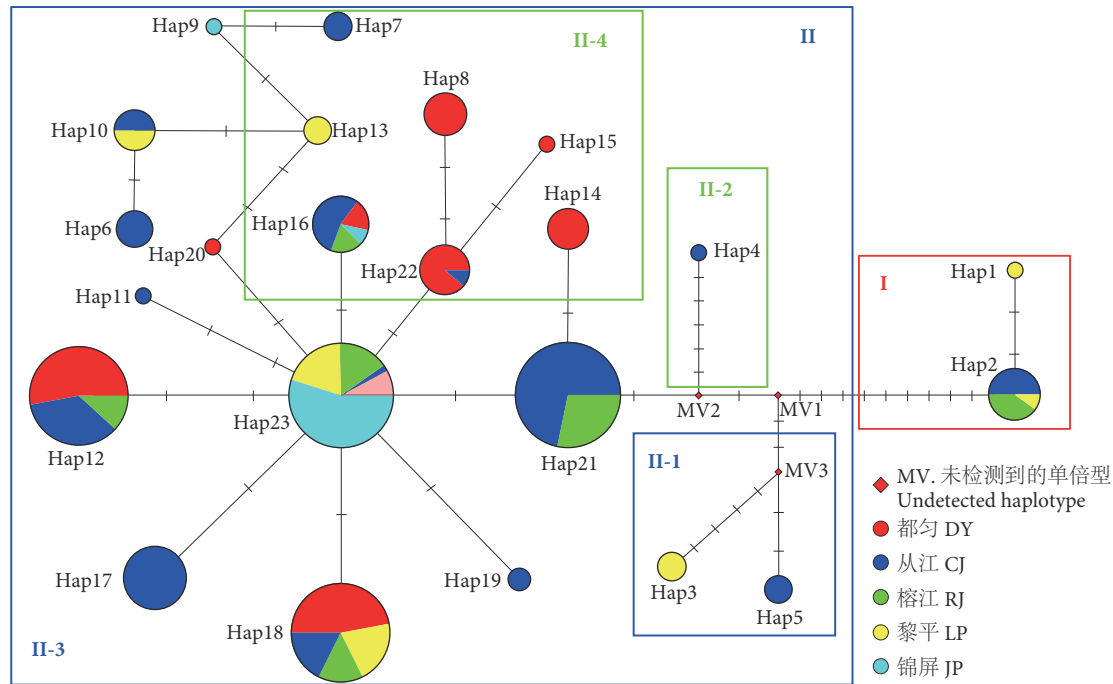


图3 单倍型的神经网络图

注: 每个圆圈代表1个单倍型, 圆圈大小代表单倍型的频率; 颜色代表所属群体; 圈间的连线代表1次突变步骤。

Fig. 3 Neural network diagram of haplotypes

Note: Each circle represents a haplotype, and the size of the circle represents the haplotype frequency; the colors represent the groups; every line between circles represents one mutation.

群, 样本数分别为2、3和22尾; 锦屏只含远东鲤和华南鲤2个亚种类群, 其样本数分别为1和29尾。

23个单倍型的神经网络图(图3)分为2个区(I和II): I区与欧洲鲤亚种对应, 与II区间的突变步骤较长, 包含Hap1和Hap2 2个单倍型; II区由远东鲤和华南鲤2个亚群体的21个单倍型构成, 其下分为4个亚区。II-1亚区相对独立, 由黎平的Hap3和从江的Hap5 2个独享单倍型构成, 在图2中与红河和珠江的华南鲤聚在一起; II-2亚区只含从江独有的Hap4, 与日本霞浦湖和水生所上传的2个鲤单倍型聚为一枝; II-3由11个华南鲤亚种单倍型构成; II-4由7个远东鲤亚种单倍型构成。II区中除II-1和II-2 2个亚区相对独立外, II-4亚区中的7个远东鲤亚种单倍型由II-3亚区的Hap21和Hap23单倍型演化而来, II-3和II-4亚区中的17个单倍型均由从江和榕江共享, 从祖先级华南鲤亚种Hap21衍生而来。

2.3 稻田鲤的遗传多样性

欧洲鲤、远东鲤和华南鲤3个亚种的遗传多样性统计见表3, 其 H_d 分别为0.182、0.838和0.823, π 分别为0.0003、0.0018和0.0027。都匀

“红鲤”中远东鲤亚种的 H_d 略高于4个黔东南群体, 但 π 却低于黔东南群体; 华南鲤亚种中, 除锦屏的 H_d 和 π 均较低外, 都匀的 H_d 低于其他3个群体, π 与从江相当, 高于榕江而低于黎平。

2.4 稻田鲤群体间的遗传差异及其分化

稻田鲤各群体间的遗传距离和遗传分化指数(F_{st})见表4。3个亚种类群间, 以欧洲鲤与远东鲤、华南鲤之间的遗传距离和 F_{st} 指数最大, 呈现高度分化状态; 远东鲤和华南鲤2个亚种间的遗传距离和 F_{st} 指数较小。表5中, 都匀远东鲤类群与4个黔东南远东鲤类群间的遗传距离为0.0021、 F_{st} 指数为0.2019; 其次, 5个不同地理群体的华南鲤亚种间遗传距离范围为0.0016~0.0037, 以黎平与从江、都匀之间差异最大, 锦屏与榕江之间的差异最小; 遗传分化系数介于0.0213~0.4039, 以锦屏与榕江之间的遗传分化最大, 其次是都匀和锦屏、从江和锦屏之间, 其余地理群体间的分化较小。都匀稻田鲤中2个亚种类群间遗传距离为0.0032, F_{st} 为0.3599, 说明该谱系或亚种间的遗传差异水平介于5个华南鲤群体间。

5个稻田华南鲤群体按水系、地区和地理位置远近划分为3组: 第1组为清水江上游黔南州都匀

表3 稻田鲤群体的遗传多样性
Table 3 Genetic diversity of rice field carp populations

群体 Population	样本数 <i>n</i>	多态位点数 <i>S</i>	单倍型数 <i>H</i>	单倍型多样性 <i>H</i> _d ±SD	核苷酸多样性 <i>π</i> ±SD	平均核苷酸差异 <i>K</i>
欧洲鲤 <i>C. carpio carpio</i>	11	2	2	0.182±0.144	0.000 3±0.000 3	0.364
远东鲤 <i>C. carpio haematopterus</i>	41	15	8	0.838±0.026	0.001 8±0.000 3	2.046
华南鲤 <i>C. carpio rubrofucus</i>	201	22	13	0.823±0.011	0.002 7±0.000 2	3.111
都匀-远东鲤 DY- <i>C. carpio haematopterus</i>	24	5	5	0.764±0.042	0.001 3±0.000 1	1.496
从江&榕江&黎平&锦屏-远东鲤 CJ&RJ&LP&JP- <i>C. carpio haematopterus</i>	17	11	5	0.691±0.100	0.002 0±0.000 6	2.279
都匀-华南鲤 DY- <i>C. carpio rubrofucus</i>	39	6	4	0.623±0.042	0.002 7±0.000 1	3.026
从江-华南鲤 CJ- <i>C. carpio rubrofucus</i>	81	17	10	0.777±0.034	0.002 8±0.000 3	3.213
榕江-华南鲤 RJ- <i>C. carpio rubrofucus</i>	30	6	4	0.720±0.049	0.001 8±0.000 3	1.998
黎平-华南鲤 LP- <i>C. carpio rubrofucus</i>	22	15	4	0.714±0.064	0.003 9±0.000 9	4.390
锦屏-华南鲤 JP- <i>C. carpio rubrofucus</i>	29	3	2	0.069±0.063	0.000 2±0.000 2	0.207
合计 Total	253	45	23	0.883±0.009	0.003 7±0.000 3	4.219

表4 3个亚种群体间的遗传距离和遗传分化指数
Table 4 Genetic distance and genetic differentiation index among three subpopulations

群体 Population	欧洲鲤 <i>C. carpio carpio</i>	远东鲤 <i>C. carpio haematopterus</i>	华南鲤 <i>C. carpio rubrofucus</i>
欧洲鲤 <i>C. carpio carpio</i>		0.012 6±0.003 3	0.012 7±0.003 22
远东鲤 <i>C. carpio haematopterus</i>	0.863 8***		0.003 4±0.001 1
华南鲤 <i>C. carpio rubrofucus</i>	0.807 0***	0.301 9***	

注: ***, *p*<0.001。
Note: ***, *p*<0.001.

表5 不同地理群体间的遗传距离和遗传分化指数
Table 5 Genetic distance and genetic differentiation index among different geographic populations

群体 Population	都匀-远东鲤 DY-Cch	从江&榕江&黎平& 锦屏-远东鲤 CJ&RJ&LP&JP-Cch	都匀-华南鲤 DY-Ccr	从江-华南鲤 CJ-Ccr	榕江-华南鲤 RJ-Ccr	黎平-华南鲤 LP-Ccr	锦屏-华南鲤 JP-Ccr
都匀-远东鲤 DY-Cch		0.002 1±0.000 7	0.003 2±0.001 0				
从江&榕江&黎平& 锦屏-远东鲤 CJ&RJ&LP&JP-Cch	0.201 9***						
都匀-华南鲤 DY-Ccr	0.359 9***			0.003 2±0.001 0	0.002 6±0.001 0	0.003 7±0.001 0	0.002 4±0.000 9
从江-华南鲤 CJ-Ccr			0.145 2***		0.002 4±0.000 8	0.003 6±0.001 0	0.002 6±0.001 0
榕江-华南鲤 RJ-Ccr			0.138 1***	0.021 3		0.003 0±0.001 0	0.001 6±0.000 8
黎平-华南鲤 LP-Ccr			0.133 1*	0.077 7*	0.053 5*		0.002 5±0.000 7
锦屏-华南鲤 JP-Ccr			0.377 1***	0.322 8***	0.403 9***	0.211 7***	

注: 对角线左下角数值为遗传分化系数, 右上角为群体间遗传距离 ($\bar{x}\pm s_x$); ***, *p*<0.001; *, *p*<0.05; Ccc. 欧洲鲤; Cch. 远东鲤; Ccr. 华南鲤。
Note: The value at down-left diagonal is *F*_{st}; the above one is genetic distance among populations (Mean±SD); ***, *p*<0.001; *, *p*<0.05; Ccc. *C. carpio carpio*; Cch. *C. carpio haematopterus*; Ccr. *C. carpio rubrofucus*.

群体, 第 2 组为都柳江水系黔东南州榕江、从江和黎平群体, 第 3 组为清水江下游黔东南州锦屏群体, 其 AMOVA 结果见表 6。组间的变异贡献率为 15.77%, 组内群体间的变异贡献率仅为 5.82%, 有 78.41% 的遗传变异发生在群体内, 这说明 5 个稻田华南鲤的遗传变异主要来源于群体内的个体

表6 基于线粒体 DNA *Cyt b* 序列稻田华南鲤群体的分子方差分析
Table 6 Molecular analysis of variance based on mtDNA *Cyt b* sequence of rice field carp populations

变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	方差总和 Sum of squares	变异组分 Variance components	变异贡献率 Percentage of variation/%	固定指数 Fixation index
组间 Among groups	2	37.481	0.268 86 ^{Va}	15.77	F_{sc} : 0.069 11
组内群体间 Among populations within groups	2	9.943	0.099 23 ^{Vb}	5.82	F_{st} : 0.215 94**
群体内个体间 Within populations	196	261.960	1.336 53 ^{Vc}	78.41	F_{ct} : 0.157 73
合计 Total	200	309.383	1.704 62		

注: **. $P<0.0001$, 不同字母表示差异显著; Va. 群体间方差组分; Vb. 群体内方差组分; Vc. 群体内个体间方差组分。
Note: **. $P<0.0001$; different letters represent significant differences; Va. Variance component of inter-population; Vb. Variance component of intra-population; Vc. Variance components between individuals within a population.

间, 其次才是 3 个组间, 而组内群体间贡献较小。

3 讨论

3.1 都匀“红鲤”*Cyt b* 基因核苷酸序列及其单倍型分布格局

线粒体 DNA *Cyt b* 基因是目前常用的分子标记, 脊椎动物线粒体特征一般表现为高 A+T 含量和低 G+C 含量^[21]; 本研究中 5 个稻田鲤群体的线粒体 DNA *Cyt b* 基因序列也符合这一特征, 与余科等^[7]的研究结果一致。研究表明, 碱基中 A+T 的含量越高, 线粒体 DNA 的进化优势越明显^[22], 本研究中 A+T 的含量为 56.1%, 明显高于 C+G 的含量 (43.9%), 表明本研究群体的遗传进化符合大多数硬骨鱼类的线粒体一般特征^[23-24]。

本研究中, 整个稻田鲤群体有独有单倍型 15 个, 共享单倍型 8 个, 说明调查区域中的基因型呈现出多样性。其中在都匀“红鲤”的 5 个共享单倍型中 (表 2), 个体数为 48 尾, 占都匀总样本数的 76.19%, 包含华南鲤群体 38 尾, 远东鲤群体 10 尾。其中, 华南鲤亚种的 Hap12 优势单倍型与从江和榕江稻田鲤共享, Hap18 优势单倍型与从江、榕江和黎平稻田鲤共享, Hap23 与 4 个对照稻田鲤共享, 且该单倍型还是黎平和锦屏稻田鲤群体的优势单倍型。远东鲤亚种的 Hap16 与从江、榕江和锦屏的稻田鲤共享, Hap22 仅与从江的共享, 也间接说明了都匀群体是由 2 个鲤亚种和多个母系血统成分组成的混合群体。这与 Liang 等^[8]追踪稻田鲤遗传起源的研究结果基本一致, 认为稻田鲤含有远东鲤和华南鲤 2 个亚种的血统成分, 推测稻田鲤最初在中国南方培育, 原始祖先主要来自珠江或中国南方的其他河流, 因遭受国内外鲤养殖品种的遗传

渗析, 使其各群体间的遗传交流有限。

3.2 都匀“红鲤”群体系统发育关系及其遗传分化

都匀“红鲤”具有特殊的外形和体色, 明显区别于其他稻田鲤, 然而本研究构建的系统发育树 (图 2) 和神经网络图 (图 3) 的结果却让人意外。首先, 都匀“红鲤”是由 2 个遗传差异小且高度分化的远东鲤和华南鲤亚种类群所构成的混合群体, 而非自然分布上的远东鲤亚种, 这个混合类群在南方多数稻田鲤群体中被广泛报道^[7-8]; 其次, 都匀“红鲤”华南鲤亚种群体的来源及亲缘关系网, 也间接证实了传统稻田鲤是由当地野生鲤驯化而来的说法^[25]。假设都匀“红鲤”系当地野生鲤驯养并有足够历史, 其远东鲤亚种群体与其他群体应存在显著的遗传分化, 然而实际上它们之间的 F_{st} (0.201 9) 却显示为中度分化^[26]。Hap16 和 Hap22 与从江、榕江和锦屏稻田鲤共享, blast 结果显示 Hap16 与兴国红鲤 (*C. carpio* var. *xingguonensis*) (KU146530) 和黔东南稻田鲤 (MW683942, *C. carpio haematopterus*) 的序列相似性达 100%, Hap22 与荷包红鲤 (*C. carpio* var. *wuyuanensis*) (NC018039) 和从江稻田鲤 (MW683939, *C. carpio haematopterus*) 的序列相似性达 100%, Hap8 与长江野鲤 (NC018037) 和兴国红鲤 (NC018036) 的序列相似性达 100%, Hap14、Hap15 与荷包红鲤 (NC018039) 达 99.91% 相似度。从江和黎平等黔东南地区稻田鲤中有兴国红鲤和荷包红鲤及其杂交种的推广养殖历史, 余科等^[7]认为稻田中远东鲤亚种系国内养殖鲤品种的遗传渗析。二十世纪八十至九十年代都匀市有大量引进鲤养殖品种以及杂交“丰鲤” (*C. carpio* var. *xingguonensis*♀×*C. carpio* var. *mirror splattered*♂) 的繁育及推广历史, 因而在无可靠历史文献记录下,

都匀“红鲤”中远东鲤亚种系本土野生鲤驯化的假设不成立,推测为兴国红鲤和散鳞镜鲤等国内外养殖品种的遗传渗析,红色的外形系“丰鲤”亲本种质不纯而杂交产生的红鲤型和红镜鲤型等类型的后代^[27]。4个华南鲤亚种单倍型中,有3个(Hap12、Hap18和Hap23)在拥有悠久驯养史的对照稻田鲤中广泛分布(表2),在余科等^[7]的研究中也出现过(对应Hap5、Hap8、Hap16, Genbank 号为MW683937、MW683940、MW683948), Hap20为其独享,只有1个个体,相似度达99.91%。从神经网络图中可见,4个单倍型衍生自从江和榕江共享的祖先Hap21,由此推测,都匀“红鲤”中华南鲤亚种类群与对照研究区域有共同的母系祖先,考虑到黔东南稻田鲤驯养悠久历史,来自该区域的可能性最大。最后,单倍型神经网络衍生关系显示,II-4亚区中的7个远东鲤亚种单倍型(包含都匀的5个单倍型)直接或间接由华南鲤亚种Hap21和Hap23进化而来,与之前Zhou等^[28-29]支持的华南鲤为远东鲤分离的第三个亚种相驳,然而Xu等^[30]则认为在无记录育种历史的情况下,许多杂交品系因采用多重杂交和遗传导入,导致我国各个鲤种群间存在广泛的遗传渗析。

群体间的遗传分化被认为是由地理隔离、自然选择和其他人为活动推动的,选择压力是种群遗传分化的主要进化力。本研究中群体的遗传差异及其分化结果表明,都匀“红鲤”中2个亚种群体间遗传差异较小(0.003 2),但处于高度分化等级($F_{st}=0.359\ 9$),其基因交流阻隔可能与其繁殖时间不同步或与人为繁育中配对亲本选择偏向性有很大关系。都匀“红鲤”中华南鲤亚种与对照的4个华南鲤亚种群体间遗传差异不大(F_{st} 为0.001 6~0.003 7),但遗传分化上存在较大差异,与锦屏间存在高度分化,而与其他对照组间属低度分化水平,这与上述单倍型分布格局相似,说明都匀“红鲤”华南鲤亚种群体与从江、榕江和黎平稻田中的华南鲤亚种间亲缘关系近。AMOVA分析结果也表明,5个华南鲤的遗传变异主要来源于群体内(78.41%),但地理隔离的变异贡献率(15.77%)也不可小觑。

综上所述,都匀“红鲤”中的2个亚种类群与国内鲤养殖品种(如兴国红鲤和荷包红鲤等)和对照稻田鲤有着相同的母系起源,同时在经过长期的稻田隔离饲养与驯化后,受人工定向选择和外部环

境因子影响,一定程度上隔绝了这个类群与外界的基因交流,且仅在该区域范围内增加了种群数量^[31]。

3.3 都匀“红鲤”遗传多样性

本研究中,除锦屏稻田华南鲤亚种群体为低 H_d 低 π 类型外,其余亚种群体均呈高 H_d 低 π 类型^[32],锦屏稻田中华南鲤亚种群体遗传多样性极为匮乏,系创始者事件和瓶颈效应的结果;都匀“红鲤”中的远东鲤和华南鲤2个亚种群体都为高 H_d 和低 π (0.764和0.001 3, 0.623和0.002 7),与对照的其他群体的 H_d 和 π 相比较(表3),远东鲤亚种的 π (0.001 3)和华南鲤亚种的 H_d (0.623)最低,也低于余科等^[7]研究的稻田鲤群体。笔者由Arlequin 3.5软件计算得出的远东鲤和华南鲤2个亚种的Tajima' D 和Fu's F_s 均为正值,未经历群体扩张;都匀“红鲤”中2个亚种群体的 π 较低,可能与种群出现了奠基者效应和遗传漂变有关,加之繁育亲本有效群体数量偏少且高度自交,虽在短期内通过变异积累了足够的单倍型多样性,但核苷酸突变积累仍略显不足^[33-37]。

4 结论

都匀“红鲤”是传统稻作农耕模式下的产物,不同于其他鲤鱼品种(系),其遗传多样性较为丰富,是品种选育的理想材料,本研究采用线粒体DNA *Cyt b* 基因序列对都匀“红鲤”及相邻地区的稻田鲤群体结构进行比较分析,揭示了其亲本是由远东鲤和华南鲤2个遗传差异较小、分化程度高的亚种混合类群所构成,受到国内养殖品种及其杂种的遗传渗析,但仍与对照稻田鲤为同一母系来源;其次,受地理隔离及驯化过程中的选择压力和创始人效应的影响,各群体间及其内部均形成相互隔离的遗传结构,导致基因流动受到一定限制。本研究结果丰富了黔南州稻田鱼的遗传背景资料,对充分挖掘地方稻鱼的科研价值,制定育种策略、良种生产计划及今后产业化发展具有重要意义。

参考文献:

- [1] HU W J, GAO Y, HE X M, et al. Origin of domesticated Qingtian paddy-field carp and its genetic differentiation from wild common carp populations[J]. *Aquaculture*, 2023, 565: 739117.
- [2] 纪达, 许劲松, 姚俊杰, 等. 贵州省5个金背鲤(*Cyprinus carpio* var. Jinbei)地理群体的遗传多样性与遗传结构分析[J]. *水产学杂志*, 2022, 35(5): 8-17.
- [3] 甘宝江, 张盛, 韦玲静, 等. 广西稻田养殖金边鲤群体遗传多样

- 性分析[J]. 水产科学, 2019, 38(5): 636-646.
- [4] 纪达, 杨玉梅, 姚俊杰, 等. 贵州7个鲤养殖群体遗传多样性与遗传结构分析[J]. 海洋渔业, 2023, 345(3): 257-266.
- [5] 潘贤辉, 周康奇, 陈忠, 等. 基于线粒体 *D-loop* 区和 *COI* 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.
- [6] 程磊, 何苹萍, 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.
- [7] 余科, 麻智芳, 安苗, 等. 从江及周边地区稻田鲤的遗传结构及系统发育关系[J]. 水生生物学报, 2022, 46(7): 939-950.
- [8] LIANG Z Q, ZOU L, TIAN L, et al. Genetic origin and differentiation of ten paddy field-farmed *Cyprinus carpio* strains in China[J]. *Aquaculture*, 2022, 561: 738573.
- [9] 杨昌雄. 稻田养鱼-贵州苗族区稻田养鱼调查记[J]. 贵州农业科学, 1984(6): 62-65, 57.
- [10] 杨昌雄. 概述苗族稻田养鱼史及其发展趋势[J]. 古今农业, 1989(1): 124-127.
- [11] 贵州省都匀市史志编纂委员会. 都匀市志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1999: 803-807.
- [12] 韩荣培. “饭稻羹鱼”-水族传统农耕文化的主题[J]. 贵州民族研究, 2004, 24(2): 47-51.
- [13] 龚良超. 黔南州稻渔综合种养产业发展情况及对策[J]. 农技服务, 2022, 39(11): 99-102.
- [14] XIAO W H, ZHANG Y P, LIU H Z. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 18(2): 163-173.
- [15] HIGGINS D G, JEANMOUGIN F, GIBSON T J, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nucl Acids Res*, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [16] LIBRADO, ROZAS. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics* (Oxford, England), 2009, 25(11): 1451-1452.
- [17] TAMURA K, STECHÉ G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30: 2725-2729.
- [18] KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. *J Mol Evol*, 1980, 16: 111-120.
- [19] BANDELT H J, FORSTER P, ROUL A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. *Mol Biol Evol*, 1999, 16(1): 37-48.
- [20] EXCOFFIER L, LISCHEERH E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. *Mol Ecol Resour*, 2010, 10(3): 564-567.
- [21] DIBATTISTA J D, RANDALL J E, NEWMAN S J, et al. Round herring (genus *Etrumeus*) contain distinct evolutionary lineages coincident with a biogeographic barrier along Australia's southern temperate coastline[J]. *Mar Biol*, 2014, 161(11): 2465-2477.
- [22] 胡玉婷, 胡王, 凌俊, 等. 滁州鲫鱼线粒体细胞色素 *b* 基因和控制区序列比较及其系统进化分析[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 101-108.
- [23] PWENA N T, KOCHER T D. Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate sites of animal mitochondrial genomes[J]. *J Mol Evol*, 1995, 41(3): 353-358.
- [24] PERDICES A, CUNHA C, COELHO M M. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei, Cyprinidae) populations on the upper and middle Chang Jiang (Yangtze) drainage inferred from cytochrome *b* sequences[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2004, 31(1): 192-203.
- [25] 陈欣, 唐建军, 胡亮亮, 等. 青田稻鱼共生系统生态学基础及保护与利用[M]. 北京: 科学出版社, 2021: 214.
- [26] WRIGHT S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating[J]. *Evol*, 1965, 19(3): 395-420.
- [27] 叶玉珍. 丰鲤的应用推广及其经济效益[J]. 水利渔业, 1988, 9(1): 22-24.
- [28] ZHOU J F, WANG Z W, YE Y Z, et al. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA ND5/6 region among 3 subspecies of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and its application to genetic discrimination of subspecies[J]. *Sci Bull*, 2003, 48(5): 465-468.
- [29] ZHOU J F, WU Q J, WANG Z W, et al. Molecular phylogeny of three subspecies of common carp *Cyprinus carpio*, based on sequence analysis of cytochrome *b* and control region of mtDNA[J]. *J Zool Syst Evol Res*, 2004, 42(4): 266-269.
- [30] XU P, ZHANG X F, WANG X M, et al. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(11): 1212-1219.
- [31] 郭梁, 任伟征, 胡亮亮, 等. 传统稻鱼系统中“田鲤鱼”的形态特征[J]. 应用生态学报, 2017, 28(2): 665-672.
- [32] HOUKI S, YAMADA M, HONDA T, et al. Origin and possible role of males in hermaphroditic androgenetic Corbicula clams[J]. *Zool Sci*, 2011, 28(7): 526-531.
- [33] ZHANG J X, JIAO T, ZHAO S G. Genetic diversity in the mitochondrial DNA *D-loop* region of global swine (*Sus scrofa*) populations[J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2016, 473(4): 814-820.
- [34] ICHIKAWA S M, TOKASHIK M, OPARA M N, et al. Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Fasciola gigantica* from Nigeria[J]. *Parasitol Int*, 2017, 66(1): 893-897.
- [35] WANG C H, LI S F, NAGY Z T, et al. Molecular genetic structure and relationship of Chinese and Hungarian common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains based on mitochondrial sequence[J]. *Aquac Res*, 2010, 41: 1339-1347.
- [36] RODRIGUEZ R S T, GARCIA C L A. Artificial selection with traditional or genomic relationships: consequences in coancestry and genetic diversity[J]. *Front Genet*, 2015, 6: 127-137.
- [37] REN W Z, HU L L, GUO L, et al. Preservation of the genetic diversity of a local common carp in the agricultural heritage rice fish system[J]. *PNAS*, 2018, 115(3): 546-554.