

文章编号: 1000- 0615(2004)06- 0640- 05

中国红鲤四群体线粒体 DNA 遗传多样性、起源及分化

王成辉, 李思发, 邹曙明

(上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090)

摘要: 用 13 种限制性内切酶对兴国红鲤、玻璃红鲤、荷包红鲤及瓯江彩鲤 4 种红鲤的线粒体 DNA (mtDNA) 进行 RFLP 分析。共产生 17 种限制性态型, 其中 5 种酶为限制性片段长度多态性 (RFLPs), 归结为 5 种单倍型; 兴国红鲤、玻璃红鲤、荷包红鲤和瓯江彩鲤的核苷酸多样性 (π) 分别为 0.0087、0.0059、0.0094、0.0286, 瓯江彩鲤的遗传多样性最为丰富; 瓯江彩鲤起源于单倍型 II 为主的母系祖先, 推算分化时间分别约在 11.5 万年、9.5 万年前; 玻璃红鲤和荷包红鲤起源于单倍型 I 为主的母系祖先, 推算分化时间分别约为 5~5.6 万年、2 万年前。

关键词: 兴国红鲤; 玻璃红鲤; 荷包红鲤; 瓯江彩鲤; 线粒体 DNA; 遗传多样性; 起源; 分化

中图分类号: Q343.3⁺5; S917

文献标识码: A

Mitochondrial DNA genetic diversity, origin and evolution of four populations of red common carps in China

WANG Cheng-hui, LI Si-fa, ZOU Shu-ming

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem Certified by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: RFLP analysis of mtDNA from Xingguo red common carp (*C. carpio* var. *singuonensis*), glass red common carp (*C. carpio* var. *wananensis*), purse red common carp (*C. carpio* var. *wayuanensis*) and Oujiang color common carp (*C. carpio* var. *color*) was conducted by 13 restriction endonucleases. 17 restriction morphs in all red carps were detected and in which 5 morphs were polymorphic and were defined as 5 kinds of haplotypes. The average nucleotide diversity (π) in Xingguo red common carp, glass red common carp, purse red common carp and Oujiang color common carp was 0.0087, 0.0059, 0.0094 and 0.0286 respectively, which indicated there was the greatest genetic diversity in Oujiang color carp. Oujiang color carp would have originated from a maternal ancestor mainly composed of haplotype II, 115 thousand and 95 thousand years ago respectively. Glass red carp and purse red carp would have originated from a maternal ancestors mainly composed of haplotype I, 50-65 thousand and 20 thousand years ago respectively.

Key words: *C. carpio* var. *singuonensis*; *C. carpio* var. *wananensis*; *C. carpio* var. *wayuanensis*; *C. carpio* var. *color*; mitochondrial DNA (mtDNA); genetic diversity; origin; evolution

收稿日期: 2003-07-15

基金项目: 上海水产大学——浙江龙泉市合作项目“瓯江彩鲤种质特性与开发利用研究”

作者简介: 王成辉 (1972-), 男, 湖南宁远人, 博士, 从事水产动物种质资源与种苗工程研究。E-mail: wangch@shfu.edu.cn

通讯作者: 李思发 (1938-), 男, 江苏镇江人, 教授, 博士生导师, E-mail: sli@shfu.edu.cn

鲤 (*Cyprinus carpio*) 是世界上分布最广的淡水鱼类。其中红鲤是我国的特殊类群, 主要分布于江西、浙江一带。它们的形成多同民间的经验性选育有关, 如兴国红鲤 (*C. carpio* var. *singuonensis*), 分布于江西省兴国县, 已有 1300 余年的养殖历史^①; 荷包红鲤 (*C. carpio* var. *wuyuanensis*), 分布于江西省婺源县, 已有 400~800 年的养殖历史^{②[1]}; 玻璃红鲤 (*C. carpio* var. *wananensis*), 分布于江西省万安县, 有 50 年的养殖历史。这 3 种红鲤体色均为红色, 故俗称“江西三红”, 它们既是地方性养殖群体, 更是我国优良的鱼类遗传育种材料, 曾作为亲本生产了许多有较高经济价值的杂交种^[1-3]。过去对它们的形态学、养殖学及生化遗传学等已有较多报道, 但均为分散的个案研究, 横向比较研究以及分子水平研究很少^[4]。分布于浙江省瓯江流域的丽水、龙泉、青田等市县的瓯江彩鲤 (*C. carpio* var. *color*), 其体色除红色外, 还有“大花”、“麻花”和“粉玉”等多种体色, 也有 1200 余年的养殖史, 但长期处于农户自发性的自繁自养, 尚未选育, 对其养殖生物学等的研究刚刚开始^[5,6]。总之, 目前对我国红鲤这一特殊群体的遗传多样性研究较为贫乏, 它们的系统进化关系尚不明了。

线粒体 DNA (mtDNA) 为共价双链闭合环状的核外遗传物质, 结构简单, 在遗传上具有相对自主性, 进化速度快, 母性遗传方式等特点^[7,8], 是进行动物系统演化和遗传结构研究的良好遗传标记, 也已应用于水产动物的物种起源、系统进化以及群体遗传结构等方面的研究^[9-11]。

本研究应用 mtDNA-RFLP 分析技术, 研究上述红鲤 4 群体的遗传多样性, 探讨它们相互间的遗传结构、亲缘关系和系统进化关系, 以期为进一步开发和利用红鲤种质资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

兴国红鲤 19 尾, 来自江西国家级兴国红鲤良种场; 荷包红鲤 16 尾, 来自江西国家级荷包红鲤良种场; 玻璃红鲤 21 尾, 来自江西万安玻璃红鲤良种场; 瓯江彩鲤 18 尾, 来自浙江龙泉省级瓯江彩鲤良种场。

1.2 mtDNA 的提取

参照王文等^[12]和张辉等^[13]的方法, 加以适当改进^[6]。

1.3 限制性内切酶消化和电泳

13 种限制性内切酶 *Ava*I, *Bam*HI, *Eco*RI, *Eco*RV, *Hae*III, *Hinc*II, *Hind*III, *Mbo*I, *Msp*I, *Pst*I, *Pvu*II, *Sal*I, *Xba*I (购自华美生物工程有限公司和大连宝生物工程有限公司)。按厂家推荐的条件消化, 消化产物用 0.8% 琼脂糖凝胶进行电泳, 溴化乙锭染色, GeneGenius 凝胶成像系统观察、拍照。

1.4 数据处理与分析

参照 Nei 等^[14]的片段法计算单倍型间的共享片段数和遗传距离, 以及群体间的核苷酸多样性 (π) 及净遗传距离 (δ)。运用中国科学院昆明动物研究所张亚平先生赠送的 Rflp 分析软件计算红鲤群体内核苷酸多样性 (π)。用 MEGA2.1^[15] 软件构建单倍型的遗传聚类图。根据鱼类 mtDNA 碱基的突变率每百万年 2% 推算红鲤 4 群体的分化时间^[16,17]。

2 结果和讨论

2.1 限制性内切酶消化结果

在 13 种限制性内切酶中, 除 *Eco*R V 酶未出现酶切位点外, 其余 12 种内切酶均检测出酶切位点, 其中 *Bam*H I, *Eco*R I, *Hind* III, *Msp* I, *Pst* I 5 种内切酶具有限制性多态性。从酶切结果的片断长度模式 (表 1) 可知, 红鲤 4 群体的 mtDNA 的大小为 16.60 ± 0.15 kb。

2.2 mtDNA 单倍型

在检测到的 17 种限制性态型中, 可归结为 5 种基因单倍型。各单倍型在红鲤 4 群体的分布及频率见表 2。单倍型 I 的频率在江西的 3 群体红鲤中较高, 范围为 47.4%~76.2%, 而在浙江的瓯江彩鲤仅 22.2%; 单倍型 II、III、IV 及 V 在江西的 3 群体红鲤中的频率较低或无, 而在瓯江彩鲤均有出现, 尤其是单倍型 II 的频率达 44.4%。

5 种 mtDNA 单倍型的共享片断数为 37~44, 单倍型间的遗传距离为 0.0020~0.0137 (表 3)。单倍型 I 与单倍型 II 间的遗传距离为 0.0056, 根据鱼类 mtDNA 的突变率每百万年 2%^[16-17] 计算, 这两种单倍型所代表的两个母系祖先的分化

① 江西省兴国红鲤原种场。关于要求将“兴国红鲤原种场”列入国家级原种的材料汇编, 1995。

② 江西省婺源县荷包红鲤原种场。关于要求将“婺源荷包红鲤原种场”列入国家级原种场的材料汇编, 1993。

时间约有 28 万年。构建的单倍型间的 UPGMA 亲缘关系最近。遗传关系树(图 1)表明,单倍型 I 与单倍型 V 的

表 1 红鲤 4 群体的限制性片段长度模式

Tab. 1 Restriction fragment patterns of four populations of red common carp

内切酶 endonuclease	兴国红鲤 <i>C. c. var.</i> <i>singguonensis</i>	玻璃红鲤 <i>C. c. var.</i> <i>wananensis</i>	荷包红鲤 <i>C. c. var.</i> <i>wuyuanensis</i>	瓯江彩鲤 <i>C. c. var.</i> <i>color</i>
Ava I	A 8.25; 5.92; 2.29	A 8.25; 5.92; 2.29	A 8.25; 5.92; 2.29	A 8.25; 5.92; 2.29
BamH I	A 8.68; 4.27; 3.66	A 8.68; 4.27; 3.66	A 8.68; 4.27; 3.66 B 16.66	A 8.68; 4.27; 3.66 B 16.66
EcoR I	A 7.53; 4.31; 3.56; 1.22 B 16.64	A 7.53; 4.31; 3.56; 1.22 B 16.64	A 7.53; 4.31; 3.56; 1.22 B 16.64	A 7.53; 4.31; 3.56; 1.22 B 16.64
Hae III	A 7.39; 3.16; 2.97; 1.27; 1.20; 0.52	A 7.39; 3.16; 2.97; 1.27; 1.20; 0.52	A 7.39; 3.16; 2.97; 1.27; 1.20; 0.52	A 7.39; 3.16; 2.97; 1.27; 1.20; 0.52
Hinc II	A 5.99; 4.96; 3.17; 2.38 A 16.63	A 5.99; 4.96; 3.17; 2.38 A 16.63	A 5.99; 4.96; 3.17; 2.38 A 16.63	A 5.99; 4.96; 3.17; 2.38 A 16.63
Hind III	B 7.60; 6.11; 2.32; 0.65	B 7.60; 6.11; 2.32; 0.65	B 7.60; 6.11; 2.32; 0.65	B 7.60; 6.11; 2.32; 0.65
Mbo I	A 8.56; 2.13; 2.01; 1.53; 1.38; 0.96	A 8.56; 2.13; 2.01; 1.53; 1.38; 0.96	A 8.56; 2.13; 2.01; 1.53; 1.38; 0.96	A 8.56; 2.13; 2.01; 1.53; 1.38; 0.96
Msp I	A 4.19; 3.97; 2.37; 2.25; 1.98; 1.08; 0.90	A 4.19; 3.97; 2.37; 2.25; 1.98; 1.08; 0.90	A 4.19; 3.97; 2.37; 2.25; 1.98; 1.08; 0.90 B 8.15; 4.34; 2.25; 1.98	A 4.19; 3.97; 2.37; 2.25; 1.98; 1.08; 0.90 B 8.15; 4.34; 2.25; 1.98
Pst I	A 6.61; 4.40; 3.42; 2.68 B 14.11; 2.68 C 6.61; 6.20; 3.42	A 6.61; 4.40; 3.42; 2.68 C 6.61; 6.20; 3.42	A 6.61; 4.40; 3.42; 2.68 B 14.11; 2.68	A 6.61; 4.40; 3.42; 2.68 B 14.11; 2.68 C 6.61; 6.20; 3.42
Pvu I	A 8.76; 7.92	A 8.76; 7.92	A 8.76; 7.92	A 8.76; 7.92
Sal I	A 16.42	A 16.42	A 16.42	A 16.42
Xba I	A 7.62; 6.83; 2.17	A 7.62; 6.83; 2.17	A 7.62; 6.83; 2.17	A 7.62; 6.83; 2.17

注: A, B, C 表示限制性内切酶产生的限制性形态

Notes: Letter A, B, C denote the restriction morphs produced by restriction endonucleases

表 2 红鲤 4 群体 mtDNA 单倍型的分布及频率

Tab. 2 Distribution and frequency of mtDNA haplotypes of four populations of red common carp

单倍型 haplotype	兴国红鲤 <i>C. c. var.</i> <i>singguonensis</i>	玻璃红鲤 <i>C. c. var.</i> <i>wananensis</i>	荷包红鲤 <i>C. c. var.</i> <i>wuyuanensis</i>	瓯江彩鲤 <i>C. c. var.</i> <i>color</i>	总计 Total
I AAAAA	9(47.4)	16(76.2)	9(56.3)	4(22.2)	40(51.4)
II BAAAB	6(31.6)		4(25.0)	8(44.4)	18(24.3)
III ABBAA	2(10.5)	4(19.1)	2(12.5)	3(16.7)	11(14.9)
IV AAABA			1(6.3)	2(11.1)	3(4.1)
V AAAAC	2(10.5)	1(4.8)		1(5.6)	4(5.4)

注: 酶的排列顺序为: BamH I, EcoR I, Hind III, Msp I, Pst I; 括号内数字为频率(%)

Notes: The order of the endonuclease in the haplotypes is: BamH I, EcoR I, Hind III, Msp I, Pst I; the numbers in parenthesis denote frequencies of haplotypes

表 3 单倍型间的共享片段数和遗传距离

Tab. 3 The numbers of shared fragments and genetic distances between haplotypes

单倍型 haplotype	I	II	III	IV	V
I	44	38	39	39	42
II	0.0056	40	33	33	39
III	0.0068	0.0137	44	34	37
IV	0.0048	0.0116	0.0126	41	37
V	0.0020	0.0035	0.0091	0.0071	37

注: 右上角数字为共享片段数, 左下角数字为遗传距离, 沿对角线方框内的数字为单倍型的总片段数。

Notes: The numbers in the upper-right triangle represent the shared fragments; The numbers in the lower-left triangle represent the genetic distances (%); The numbers within the square frame represent the total fragments

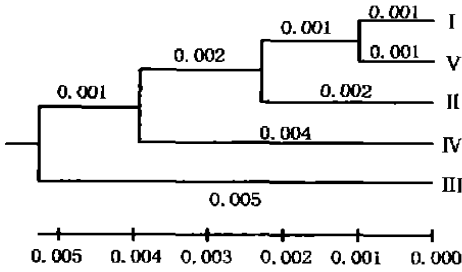


图1 mtDNA 5种单倍型的系统关系树

Fig. 1 Phylogenetic tree of 5 haplotypes of mtDNA

2.3 群体核苷酸多样性和净遗传距离

实测红鲤四群体内的核苷酸多样性(π)以瓯江彩鲤最高(0.0286),玻璃红鲤最低(0.0059);群体间的核苷酸多样性为0.0110~0.0235,净遗传距离(δ)为0.0004~0.0048(表4)。

核苷酸多样性(π)是衡量某群体 mtDNA 变异程度的一个重要指标,它是指一个给定群体内,两个随机选取的 mtDNA 序列间,每个位点的核苷酸

表4 红鲤四群体的核苷酸多样性(π)和净遗传距离(δ)Tab. 4 The nucleotide diversity (π) and net genetic distances (δ) of four populations of red common carp

	兴国红鲤 <i>C. c. var. singguonensis</i>	玻璃红鲤 <i>C. c. var. wananensis</i>	荷包红鲤 <i>C. c. var. wuyuanensis</i>	瓯江彩鲤 <i>C. c. var. color</i>
兴国红鲤 <i>C. c. var. singguonensis</i>	0.0087	0.0110	0.0136	0.0225
玻璃红鲤 <i>C. c. var. wananensis</i>	0.0008	0.0059	0.0125	0.0234
荷包红鲤 <i>C. c. var. wuyuanensis</i>	0.0004	0.0009	0.0094	0.0235
瓯江彩鲤 <i>C. c. var. color</i>	0.0023	0.0048	0.0019	0.0286

注: 右上角数字为群体间核苷酸多样性, 左下角数字为群体间遗传距离, 沿对角线长方形内数字为群体内核苷酸多样性

Notes: The numbers in the upper-right triangle represent the nucleotide diversity between populations; The numbers in the lower-left triangle represent the net genetic distances between populations; The numbers in the square frame represent the nucleotide diversity within population

2.4 中国红鲤的起源和遗传分化

红鲤属于鲤的体色突变体,是从普通野鲤中分化而来。本研究的4个群体,在各自的环境里,历经不同的选育或驯化,成为地方性养殖对象,长的上千年,短的数十年。但对这4群体红鲤的起源与遗传分化问题一直缺乏研究。孙景春等^[4]应用RAPD方法对江西兴国红鲤、玻璃红鲤和荷包红鲤的分析表明,兴国红鲤与玻璃红鲤的亲缘关系最近,荷包红鲤与它们的亲缘关系较远。本研究使用mtDNA-RFLP方法分析表明,4个群体的

平均差异数目,其值越小,群体的多态程度越低。本研究实测红鲤4个群体的 π 值范围是0.0059~0.0286,玻璃红鲤的最低,瓯江彩鲤的最高。这一结果与我们对这4群体红鲤的RAPD分析结果以及线粒体CO II基因序列的分析结果一致^[18],即瓯江彩鲤的遗传多样性最丰富,玻璃红鲤的遗传多样性最贫乏。mtDNA为母性遗传,奠基群体大小对后代的遗传多样性有很大影响。兴国红鲤、玻璃红鲤和荷包红鲤均为人工育成品种,它们是从有限的原始群体中经过多代选育而得,有效繁育群体较小,遗传基础相对较狭窄,选育期间不乏遗传瓶颈的发生。尤其是玻璃红鲤,系仅由4尾突变个体繁育扩大的群体^[2],其遗传基础更为狭窄,故其核苷酸多样性(π)最低、遗传多样性最为贫乏,就不难理解了。而瓯江彩鲤尚基本处于“野生”阶段,其地理分布范围比兴国红鲤、玻璃红鲤和荷包红鲤要广,遗传背景可能较为复杂。

红鲤可能分别来源于两个不同的母系祖先,即分布江西省的荷包红鲤和玻璃红鲤来源于以单倍型I为主的母系祖先,分布于浙江省的瓯江彩鲤来源于以单倍型II为主的母系祖先。这两个母系祖先的分化时间约有28万年。至于兴国红鲤,其单倍型分布频率不如玻璃红鲤和荷包红鲤明显,单根据mtDNA-RFLP分析结果尚无法肯定其来源的单倍型。不过,我们对这4群体红鲤的RAPD分析,线粒体CO II基因序列分析,以及组织相容性复合体(MHC) α_2 基因序列分析均一致表明^[18],兴国红

鲤与瓯江彩鲤的亲缘关系最近,与玻璃红鲤的亲缘关系次之,与荷包红鲤的亲缘关系最远,兴国红鲤与瓯江彩鲤很可能来源于同一单倍型祖先。根据 mtDNA 碱基突变率每百万年 2% 推算,瓯江彩鲤的起源分化时间最早,11.5 万年前就已分化出来,兴国红鲤 9.5 万年前分化出来,荷包红鲤 2 万年前分化出来。玻璃红鲤虽源于 1964 年偶然发现的 4 尾突变体,只有几十年的养殖历史,但从它与兴国红鲤和荷包红鲤的遗传距离看,其分化时间介于兴国红鲤与荷包红鲤之间。考虑到 mtDNA 母系遗传的特点,且玻璃红鲤仍保持了其突变母系的遗传特征,推断其突变母系祖先的分化时间约为 5~6.5 万年前。红鲤的这 4 个群体,由于受较长时期的自然选择和近代的人工选择,出现了不同程度的遗传分化,呈现出如今的变异。

本研究得到蔡完其教授的鼎力相助,中国科学院昆明动物研究所张亚平研究员提供 RFLR 分析软件,在此谨致谢忱。

参考文献:

- [1] Lou Y D, Sun J C. Progress on studies of origin and genetic diversity of three breeds of red carp in Jiangxi province[J]. J Fish China, 2001, 25(6): 570-575. [楼允东,孙景春.江西三种红鲤起源与遗传多样性研究的进展[J].水产学报,2001,25(6):570-575.]
- [2] Li S F. Gemplasm resources and conservation of freshwater fishes in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996. 53-56. [李思发.中国淡水鱼类种质资源和保护[M].北京:中国农业出版社,1996.50-56.]
- [3] Li S F, Wang C H. Genetic diversity and selective breeding of red common carp in China[J]. INGA, ICLARM quarterly, 2001, 24(3-4): 56-61.
- [4] Sun J C, Lou Y D, Yao J H. Application of RAPD technology to analyze the genetic diversity of three breeds of red carp[J]. J Shanghai Fish Univ, 2001, 10(3): 207-212. [孙景春,楼允东,姚纪花.应用 RAPD 技术分析三种红鲤的遗传多样性[J].上海水产大学学报,2001,10(3):207-212.]
- [5] Cheng Q Q, Wang C H, Li S F, et al. The study of variation of growth rate and survival rate of different pigmentation types of color common carp[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2001, 28(2): 56-58, 63. [程起群,王成辉,李思发,等.不同体色瓯江彩鲤生长率和存活率的差异研究[J].水产科技情报,2001,28(2):56-58,63.]
- [6] Wang C H, Li S F, Xu Z B, et al. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA in Oujiang color common carp[J]. J Shanghai Fish Univ, 2002, 11(1): 14-18. [王成辉,李思发,徐志彬,等.瓯江彩鲤线粒体 DNA 的限制性内切酶分析[J].上海水产大学学报,2002,11(1):14-18.]
- [7] Avise J C, Vrijenhoek R C. Mode of inheritance and variation of mitochondrial DNA in hybridogenetic fishes of the genus *Poeciliopsis*[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 83: 4350-4354.
- [8] Zhang Y P, Shi L M. Review on studies on diversity from animal mitochondrial DNA[J]. Zool Res, 1992, 13(3): 289-298. [张亚平,施立明.动物线粒体 DNA 多态性研究概况[J].动物学研究,1992,13(3):289-298.]
- [9] Li S F, Lv G Q. Diversity of mitochondrial DNA in the populations of silver carp, bighead carp, grass carp and black carp in the middle and lower reaches in the Yangtze River[J]. Acta Zool Sin, 1998, 4(1): 82-93. [李思发,吕国庆.长江中下游鲢鳙草青四大家鱼线粒体 DNA 多样性分析[J].动物学报,1998,4(1):82-93.]
- [10] Zhang H, Dong X H, Ye Y Z, et al. Comparative studies of mtDNA from three strains of triploid *Carassus auratus* and *C. carassus auratus*[J]. Acta Genetica Sin, 1998, 25(4): 330-336. [张辉,董新红,叶玉珍,等.三个三倍体鲫鱼品系及野鲫 mtDNA 的比较研究[J].遗传学报,1998,25(4):330-336.]
- [11] Luo J, Zhang Y P, Zhu C L, et al. Mitochondrial DNA diversity in crucian carp (*Carassus auratus*)[J]. Acta Genetica Sin, 1999, 26(1): 28-36. [罗静,张亚平,朱春玲,等.鲫鱼遗传多样性的初步研究[J].遗传学报,1999,26(1):28-36.]
- [12] Wang W, Shi L M. A approved method for isolation of animal mitochondrial DNA[J]. Zool Res, 1993, 14(2): 197-198. [王文,施立明.一种改进的动物线粒体 DNA 提取方法[J].动物学研究,1993,14(2):197-198.]
- [13] Zhang H, Wu Q J. A modified method for the rapid isolation of mitochondrial DNA from fishes[J]. Acta Hydrobiol Sin, 1997, 21(3): 281-283. [张辉,吴清江.一种改进的鱼类线粒体 DNA 的快速制备方法[J].水生生物学报,1997,21(3):281-283.]
- [14] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proc Natl Aca Sci, USA, 1979, 76: 5269-5273.
- [15] Kumar S, Tamura K T, Jakobsen I B, et al. MEGA 2: molecular evolutionary genetics analysis software [J]. Bioinformatics, 2001, 17: 1244-1245.
- [16] Wilson G W, Thomas W K, Beckenbach A T. Intra- and inter-specific mitochondrial DNA sequences divergence in salmo: rainbow, steelhead, and cutthroat trout[J]. Canada Journal of Zoology, 1985, 63: 2088-2094.
- [17] Thomas W K, Beckenbach A T. Variation in salmonid mitochondrial DNA: evolutionary constraints and mechanisms of substitution[J]. J Mol Evol, 1989, 29: 233-245.
- [18] Wang C H. Study on genetic diversity of red common carps in China [D]. Doctoral Dissertation of Shanghai Fisheries University, 2002. [王成辉.中国红鲤遗传多样性研究[D].上海水产大学博士学位论文,2002.]