

文章编号: 1674 - 5566(2011)02 - 0179 - 06

## 运用 TRAP 标记分析 5 个鲤群体的遗传多样性

董在杰<sup>1,2,3</sup>, 曲疆奇<sup>3</sup>, 苏胜彦<sup>2</sup>, 梁政远<sup>3</sup>, 明俊超<sup>3</sup>, 袁新华<sup>2</sup>, 谢 庄<sup>1</sup>

(1. 南京农业大学 动物科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081; 3. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

**摘 要:** 运用 TRAP 标记技术, 选取 10 个多态性较好的引物组合对荷包红鲤、黄河鲤、建鲤、兴国红鲤和黑龙江野鲤等 5 个鲤群体进行遗传多样性分析, 其中固定引物是根据目标候选基因——GHR 基因的序列设计。结果表明, 共扩增出 168 个位点, 其中多态性位点 134 个, 平均多态位点比例为 80.41%, 平均多态性信息含量为 0.29。分子变异方差分析 (AMOVA) 结果显示群体内的方差贡献率达 96.97%, 表明各个鲤群体内存在较大的遗传变异。种群再分效应固定指数 ( $F_{ST} = 0.03026$ ,  $P < 0.05$ ) 表明不同鲤群体间有显著的遗传分化。基于目标候选基因的 TRAP 标记对 5 个鲤群体进行聚类分析, 结果表明建鲤和兴国红鲤首先聚成一类, 然后黄河鲤和黑龙江野鲤聚为一类, 再与荷包红鲤聚为一类。

**研究亮点:** TRAP 标记是通过目标候选基因区域的 PCR 扩增, 产生围绕目标候选基因序列的多态性标记, 是一种将性状与标记关联的标记。目前 TRAP 标记只成功应用于植物遗传研究中, 本研究首次将 TRAP 标记运用于鲤群体的遗传多样性分析, 为鲤遗传育种提供新型分子标记。

**关键词:** 鲤; TRAP 标记; 遗传多样性  
**中图分类号:** Q 953; S 917  
**文献标识码:** A

鲤 (*Cyprinus carpio*) 是世界上养殖范围最广的重要经济鱼类之一, 在我国的淡水渔业生产中占据着重要地位。荷包红鲤 (*C. carpio* var. *wuyuanensis*)、兴国红鲤 (*C. carpio* var. *xingguonensis*)、建鲤 (*C. carpio* var. *jian*)、黄河鲤 (*C. carpio haematopterus* Temminck et Schlegel) 和黑龙江野鲤 (*C. carpio haematopterus*) 是我国几个具有代表性的鲤养殖品种和野生品种, 在我国鲤遗传育种研究中均占有非常重要的地位。近几十年来, 随着鱼类杂交育种特别是鲤杂交育种工作的开展和水域生态环境的恶化, 鱼类的生物多样性下降。许多野生种群与优良的地方品种或人工育成的品种混杂, 导致优良经济性状的退化<sup>[1]</sup>。因此, 研究以上 5 个鲤群体遗传结构和遗传多样性, 对其种质资源的鉴定、保护和利用具有重要的意义。

目标区域扩增多态性 (target region amplified

polymorphism, TRAP) 也叫靶位区域扩增多样性, 是一种基于 PCR 的新型分子标记技术<sup>[2]</sup>, 具有操作简单、效率高、重复性好、易测序等优点<sup>[3]</sup>。与 SRAP、RAPD 和 AFLP 等无须任何序列信息即可直接进行 PCR 扩增的分子标记技术相比, TRAP 标记是利用生物信息学工具和表达序列标签数据库信息, 通过对目标候选基因区域的 PCR 扩增, 产生围绕目标候选基因序列的多态性标记。目前 TRAP 标记只成功应用于植物遗传研究中, 是一种将性状与标记关联的标记<sup>[4-8]</sup>。

在鲤的遗传结构研究中, 主要采用 SSR、AFLP 和 RAPD 等标记技术<sup>[9-12]</sup>, 尚未见到运用 TRAP 标记技术分析鲤遗传结构的相关报道。本研究利用 TRAP 这一新型分子标记技术对 5 个鲤群体进行遗传分析, 旨在从分子水平上评价这 5 个鲤群体基于所选目标基因的遗传多样性, 探讨鲤群体间的遗传结构, 以期能为鲤遗传育种提供分

收稿日期: 2010-04-24 修回日期: 2010-10-24

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (nycytx-49); 国家“十一五”科技支撑计划项目专题 (2006BAD01A1208); 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室开放课题 (BZ2009-06)

作者简介: 董在杰 (1967-), 男, 主要从事鱼类分子生物学方面的研究。E-mail: dongzj@ffrc.cn

子生物学理论参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料和 DNA 提取

本研究所用实验材料为荷包红鲤、黄河鲤、

建鲤、兴国红鲤和黑龙江野鲤 5 个鲤群体(表 1), 分别随机取 30 尾。从鱼尾静脉抽血, ACD 抗凝, 参照 Takara 全血基因组试剂盒说明进行 DNA 提取后, 检测 DNA 的质量和浓度,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用。

表 1 实验鲤种类及其来源

Tab.1 The varieties and their origins of common carp in the current study

种类	来源
荷包红鲤 ( <i>C. carpio</i> var. <i>wuyuanensis</i> )	江西省婺源县良种场
黄河鲤 ( <i>C. carpio haematopterus</i> Temminck et Schlegel)	河南郑州黄河鲤良种场
建鲤 ( <i>C. carpio</i> var. <i>jian</i> )	淡水渔业研究中心试验场
兴国红鲤 ( <i>C. carpio</i> var. <i>singguonensis</i> )	江西省兴国县良种场
黑龙江野鲤 ( <i>C. carpio haematopterus</i> )	黑龙江黑河市野鲤良种场

### 1.2 引物设计

依据 HU 和 VICK<sup>[2]</sup> 引物设计原则设计 4 条固定引物和 8 条随机引物, 其中固定引物依据所选定的目标候选基因、cDNA 或者 EST 序列设计。本实验选择与鲤生长性状相关的 GHR 基因 (GenBank, AY741100.1) 作为目标候选基因, 然后将该基因序列调入 PCR 引物设计软件 (Primer3), 根据软件提示, 设置引物的最适、最大和最小长度均为 18 个碱基; 引物的最适、最大和最小退火温度 ( $T_m$ ) 分别为  $53\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  和  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 将软件中产生的引物做为固定引物(表 2); 随机引物为富含 GC 或 AT 核心区的任意序列, 是针对外显子或内含子的特点设计的, 本实验 TRAP 随机引物(表 2)依据 HU<sup>[13]</sup> 的文献设计合成。引物由南京力生生物技术公司合成。

表 2 试验所用引物的序列

Tab.2 Sequences of four fixed primers and eight arbitrary primers used in the current study

引物	序列(5'-3')	
固定引物	GHR 1F	ACTTGGCTTCTTTTCTGC
	GHR 1R	TCAGTGTCCAGGTGAAA
	GHR 2F	AGTGATTTACACCAGCA
	GHR 2R	CTCACCATTCAGAGGTT
随机引物	Ga 3-800	TCATCTCAAACCATCTACAC
	Ga 5-800	GGAACCAAACACATGAAGA
	Odd 26-700	CTATCTCTCGGGACCAAAC
	Sal 2-700	TTCTAGGTAATCGAACAAGA
	Trap 03-700	CGTAGCGGTCAATTATG
	Trap 04-700	CGTAGTGATCGAATTCTG
	Trap 13-800	GCGCGATGATAAATTATC
	Trap 14-800	GTCGTACGTAGAATTCTT

### 1.3 PCR 扩增和产物检测

扩增反应在 Takara 梯度 PCR 扩增仪上进行, 反应体系和扩增程序为本实验确立的鲤 TRAP 优化反应体系<sup>[14]</sup>。扩增产物在 100 V 电压下 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 3 h, 用 GoldView 染料 (上海赛百盛生物科技公司) 染色 15 min, 在 UVP 凝胶成像系统照相并保存。

### 1.4 数据统计与分析

TRAP 为显性标记, 清晰可辨的 100 ~ 800 bp 的电泳条带用于统计分析。电泳条带按 1/0 形式进行数据转换, 有带赋值为“1”, 无带、弱带均赋值为“0”, 计算每对引物的多态性百分率 (percentage of polymorphism bands) 及多态性信息量 (polymorphism information content, PIC)。PIC 计算公式:  $\text{PIC} = 1 - \sum f_i^2$ , 是指一个标记可检测的等位基因数及其分布频率, 其中  $f_i$  为单个位点上的等位基因的频率。

应用 Arlequin 3.5 软件, 计算群体间、群体内的变异方差分布。利用 Popgene 1.31 软件估算群体间遗传相似度 ( $I$ ) 和遗传距离 ( $D$ ), 利用 Mega 4.1 依 UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) 进行聚类, 构建系统树。

## 2 结果与分析

### 2.1 TRAP 标记的多态性分析

利用 32 个 TRAP 引物组合 (4 条固定引物和 8 条随机引物的组合) 对 5 个鲤群体样本进行扩增, 其中 10 个引物组合(表 3)的扩增条带清晰且

易于识别,多态性好,片段大小在 100 ~ 800 bp 之间(图 1)。运用这些引物组合进行 5 个鲤群体的遗传多样性分析。

表 3 不同 TRAP 引物组合的扩增效率

Tab.3 The amplification efficiency of different TRAP primer combinations

引物组合	扩增条带数	多态性条带数	多态位点比例(%)	多态信息含量
GHR 1F + Ga 3 - 800	18	16	88.89	0.33
GHR 2F + Ga 5 - 800	16	16	100.00	0.30
GHR 2F + Sa 12 - 700	20	14	70.00	0.34
GHR 2F + Trap 13 - 800	15	13	86.67	0.32
GHR 2F + Trap 14 - 800	14	12	85.71	0.32
GHR 1R + Trap 04 - 700	19	16	84.21	0.28
GHR 2R + Trap 03 - 700	19	12	63.16	0.22
GHR 2R + Trap 04 - 700	15	13	86.67	0.27
GHR 2R + Trap 13 - 800	17	10	58.82	0.31
GHR 2R + Trap 14 - 800	15	12	80.00	0.24
总计	168	134		
平均	16.8	13.4	80.41	0.29

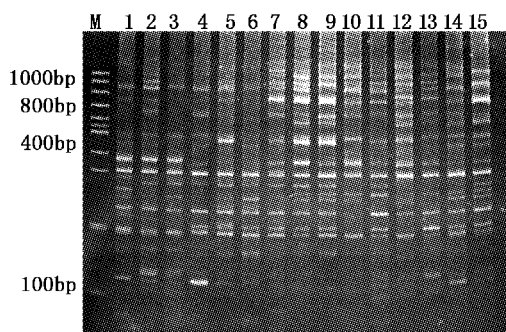


图 1 引物组合 GHR2F + Trap13 - 800 在 5 个不同鲤群体的 TRAP 扩增图

Fig.1 The TRAP patterns of five different common carp populations using primer pair of GHR 2F + Trap 13 - 800

M. 100 bp DNA 分子量标准; 1~3. 荷包红鲤; 4~6. 黄河鲤; 7~9. 建鲤; 10~12. 兴国红鲤; 13~15. 黑龙江野鲤。

从表 3 可以看出,10 个 TRAP 引物组合共扩增出 168 个位点,平均每个引物组合扩增 16.8 个,各引物组合产生的位点数分布在 14 ~ 20 个之间,其中 GHR 2F + Trap 14 - 800 组合最少,为 14 个;GHR 2F + Sa1 2 - 700 组合最多,为 20 个。在 168 个扩增位点中,多态性位点 134 个,平均每个引物组合提供 13.4 个标记信息,各引物组合扩增出多态性条带数分布在 10 ~ 16 个之间,GHR 2R + Trap 13 - 800 组合最少,为 10 个。每个引物组合产生的多态位点比例为 58.82% ~ 100.00%,平均为 80.41%。每对引物组合产生

的多态信息量介于 0.22 ~ 0.34 之间,平均为 0.29。

## 2.2 群体间的遗传相似度和遗传距离

通过比较 5 个鲤群体在所选目标基因 GHR 上的遗传相似度,我们发现,兴国红鲤与建鲤的遗传相似度最大(0.779 4),黄河鲤与黑龙江野鲤的遗传相似度次之(0.765 9),兴国红鲤与荷包红鲤的遗传相似度最小(0.633 7)(表 4)。遗传距离与遗传相似度正好相反,兴国红鲤与荷包红鲤的遗传距离最大(0.456 2),兴国红鲤与建鲤的遗传距离最小(0.249 3)。

## 2.3 鲤群体间的遗传分化

5 个鲤群体的分子变异方差分析(AMOVA)(表 5)表明,群体的遗传多样性主要分布于群体内,方差贡献率达 96.97%,而只有 3.03%的方差贡献率分布于不同群体间,说明各个鲤群体内存在较大的遗传变异。从总体上来看,衡量种群再分效应的固定指数( $F_{ST}$ )为 0.030 26, $P < 0.05$ ,这一结果说明不同鲤群体间存在较显著的遗传分化。

## 2.4 聚类分析

依据所选目标基因的遗传距离,按照 UPGMA 方法对 5 个鲤群体进行聚类,结果显示:5 个鲤群体间,建鲤和兴国红鲤首先聚成一类,然后黄河鲤和黑龙江野鲤聚为一类,再与荷包红鲤聚为一类(图 2)。这表明,针对所选的目标基因,建鲤和兴国红鲤亲缘关系最近,黄河鲤和黑龙江

野鲤亲缘关系次之,荷包红鲤与其他 4 个鲤群体亲缘关系最远。说明在与所选目标基因相关的性状上,建鲤与兴国红鲤,黄河鲤与黑龙江野鲤

可能有比较接近的表现,而荷包红鲤与其他 4 个鲤群体表现出较大的差异。

表 4 5 个鲤群体遗传相似度(右上角)和遗传距离(左下角)

Tab.4 Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among five populations of common carp

	荷包红鲤	黄河鲤	建鲤	兴国红鲤	黑龙江野鲤
荷包红鲤	-	0.672 7	0.693 8	0.633 7	0.715 3
黄河鲤	0.396 5	-	0.678 9	0.691 1	0.765 9
建鲤	0.365 6	0.387 3	-	0.779 4	0.721 4
兴国红鲤	0.456 2	0.369 4	0.249 3	-	0.709 3
黑龙江野鲤	0.335 0	0.266 8	0.326 5	0.343 5	-

表 5 5 个鲤群体的分子变异方差分析

Tab.5 Analysis of molecular variance (AMOVA) among and within 5 populations of common carp

变异来源	自由度	方差总和	方差组分	方差分量百分率
群体间	4	1.998 8	0.015 13	3.03
群体内	145	72.051 5	0.484 87	96.97
总计	149	74.050 3	0.500 00	
固定指数	0.030 26			

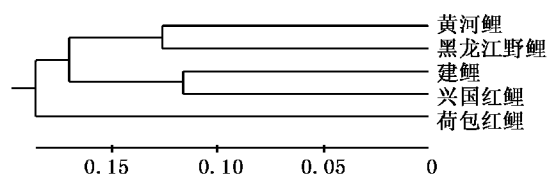


图 2 基于 5 个鲤群体间遗传距离的 UPGMA 聚类分析图

Fig.2 Cluster analysis dendrogram based on genetic distances of five different common carp populations using the UPGMA method

### 3 讨论

TRAP 分子标记技术在遗传多样性分析和系统分类研究方面是一种高效的方法。本研究利用筛选出的具有较好多态性的 10 对 TRAP 引物组合对 5 个鲤群体进行遗传多样性分析,共产生 134 个多态性位点,平均多态性比率达 80.41%,说明 TRAP 标记技术对于鲤群体遗传多样性研究来说也是一种检测效率很高的分子标记技术。

TRAP 技术是利用生物信息学工具和 NCBI 等生物信息数据库信息,产生目标候选基因区的多态性标记,反映了功能基因的多态性,从而可以通过功能基因的多态性研究目标种质资源的

遗传多样性<sup>[15]</sup>。因此,通过研究可能与鲤生长密切相关的 GHR 基因的多态性,可以了解鲤群体之间在生长性能上的遗传进化和亲缘关系。基于所选目标基因 GHR 的 TRAP 标记分析结果表明,属于同一亚种不同地理种群的黄河鲤和黑龙江野鲤具有较高的遗传相似性(0.765 9),这一结果与常玉梅等<sup>[16]</sup>的研究结果类似。王成辉等<sup>[17]</sup>利用 RAPD 对中国红鲤遗传多样性分析,结果表明荷包红鲤与其他 3 种红鲤在基因组水平上存在一定程度的歧化,其中荷包红鲤与兴国红鲤遗传相似度为 0.694,本研究结果与之类似(0.633 7)。建鲤是以元江鲤和荷包红鲤为亲本,采用家系选育,多系杂交及雌核发育相结合的综合育种技术所培育成功的遗传性状稳定的品种<sup>[18]</sup>。建鲤与兴国红鲤遗传相似度较高(0.779 4),而同其亲本荷包红鲤遗传相似度较低(0.693 8),表明经过多代的选育后,在与生长相关的一些指标上(如体重、体长、体高和体厚等),建鲤与其原始亲本之一的荷包红鲤存在着较大的差异。本实验室在这几个群体的形态学研究结果也验证了这一观点<sup>[19]</sup>。从我们的聚类结果可以推测,建鲤与兴国红鲤之间,黄河鲤与黑龙江野鲤之间在与生长相关的一些性状上可

能有较一致的表现。黄河鲤与黑龙江野鲤同属同一亚种、同为北方群体,因此,在生长相关性状上的分化较小;而建鲤的选育过程中,偏重于长体型,原始亲本为长江以南的群体,因此在生长相关性状上与同为长体型、南方群体的兴国红鲤相近,而与原始亲本之一的荷包红鲤有较大的遗传分化。

长时期的地理隔离有可能限制种群间的基因交流,从而形成种群间的遗传分化<sup>[20]</sup>。从分子进化的角度来看,遗传漂变、瓶颈效应、近亲交配和自然选择也是形成种群分化的重要影响因素<sup>[21]</sup>。我国鲤分布广泛,由于群体间存在繁殖隔离,生境差异,扩散不易以及人工选择等原因,才使其形成如此众多的品种(系)与地理种群。分子变异方差分析(AMOVA)表明尽管 5 个鲤群体之间有较显著的遗传分化,但各群体内还是存在着较高的遗传多样性,因为遗传变异大多数(96.97%)来自群体内个体之间的变异。这说明各群体在生长性状方面的选育空间仍然很大。

本研究首次利用 TRAP 标记技术分析了 5 个鲤群体的遗传多样性,研究结果表明 TRAP 标记不仅适用于鲤群体的遗传结构分析,而且是一种多态性较高,检测效率高的分子标记。

#### 参考文献:

- [1] 杨仕懋. 养殖鲤鱼杂种优势的利用与性状退化现象浅谈[J]. 水产科学, 1992, 11(11): 20-23.
- [2] HU J, VICK B A. TRAP (target region amplification polymorphism): a novel marker technique for plant genotyping[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2003, 21(3): 289-294.
- [3] 柳李旺, 龚义勤, 黄浩, 等. 新型分子标记—SRAP 与 TRAP 及其应用[J]. 遗传, 2004, 26(5): 777-781.
- [4] 金梦阳, 刘列钊, 付福友, 等. 甘蓝型油菜 SRAP、SSR、AFLP 和 TRAP 标记遗传图谱构建[J]. 分子植物育种, 2006, 4(4): 520-526.
- [5] LIU Z, ANDERSON J A, HU J, et al. A wheat intervarietal linkage map based on microsatellite and target region amplified polymorphism markers and its utility for detecting quantitative trait loci[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(4): 782-794.
- [6] HU J, OCHOA O E, TRUCO M J, et al. Application of the TRAP technique to lettuce (*Lactuca sativa* L.) genotyping[J]. Euphytica, 2005, 144(3): 225-235.
- [7] MIKLAS P N, HU J, GRUNWALD N J, et al. Potential application of TRAP (targeted region amplified polymorphism) markers for mapping and tagging disease resistance traits in common bean[J]. Crop Science, 2006, 46(2): 910-916.
- [8] 朱志凯, 方良俊, 招倩婷, 等. 水稻 TRAP-PCR 反应体系优化与 P-糖蛋白基因片段的分析[J]. 分子植物育种, 2008, 6(1): 65-70.
- [9] YAN J P, LIU S J, SUN Y D, et al. RAPD and microsatellite analysis of diploid gynogens from allotetraploid hybrids of red crucian carp (*Carassius auratus*) × common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Aquaculture, 2005, 243(1-4): 49-60.
- [10] THAI B T, BURRIDGE C P, AUSTIN C M. Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Vietnam using four microsatellite loci[J]. Aquaculture, 2007, 269(1-4): 174-186.
- [11] 贾智英, 池喜峰, 李池陶, 等. 德国镜鲤养殖群体中抗病与死亡个体遗传结构比较研究[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(1): 7-11.
- [12] 孙新, 魏振邦, 孙效文, 等. 镜鲤繁殖群体的遗传结构及微卫星标记与经济性状的相关性分析[J]. 遗传, 2008, 30(3): 359-366.
- [13] HU J. Defining the sunflower (*Helianthus annuus* L.) linkage group ends with the Arabidopsis - type telomere sequence repeat - derived markers[J]. Chromosome Research, 2006, 14(5): 535-548.
- [14] 曲疆奇, 苏胜彦, 董在杰, 等. 鲤 TRAP 分子标记反应体系的建立与优化[J]. 动物学杂志, 2010, 45(3): 72-78.
- [15] ANDERSEN J R, LÜBBERSTEDT T. Functional markers in plants[J]. Trends Plant Science, 2003, 8(11): 554-560.
- [16] 常玉梅, 孙效文, 梁利群. 中国鲤几个代表种群基因组 DNA 遗传多样性分析[J]. 水产学报, 2004, 28(5): 481-486.
- [17] 王成辉, 李思发, 邹曙明. 中国红鲤遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 329-330.
- [18] 孙小异, 朱根荣, 张建森, 等. 建鲤遗传特性的研究[J]. 水产学报, 2004, 18(3): 205-215.
- [19] 明俊超, 董在杰, 梁政远, 等. 6 个不同鲤群体的形态差异分析[J]. 广东海洋大学学报, 2009, 29(6): 1-6.
- [20] WARD R D, JORSTAD K E, MAGUIRE G B. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia[J]. Aquaculture, 2003, 219(1-4): 169-179.
- [21] PAMPOULIE C, JÖRUNDSDÓTTIR T D, STEINARSSON A, et al. Genetic comparison of experimental farmed strains and wild Icelandic populations of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. Aquaculture, 2006, 261(1-4): 556-564.

## Analysis of genetic diversity among five populations of *Cyprinus carpio* by TRAP markers

DONG Zai-jie<sup>1,2,3</sup>, QU Jiang-qi<sup>3</sup>, SU Sheng-yan<sup>2</sup>, LIANG Zheng-yuan<sup>3</sup>, MING Jun-chao<sup>3</sup>, YUAN Xin-hua<sup>2</sup>, XIE Zhuang<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Key Open Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture; Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 3. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

**Abstract:** Target Region Amplification Polymorphism (TRAP) technique was adopted to assess genetic diversity among five populations of common carp (*Cyprinus carpio*) including purse red carp, Huanghe carp, Jian carp, Xingguo red carp and Heilongjiang carp by using 10 pairs of primer with high polymorphism. The fixed primers were designed from the sequence of GHR gene. Out of the 168 bands amplified by 10 primer combinations, 134 (80.41%) were polymorphic. The average of polymorphism information content (PIC) was 0.29. The AMOVA analysis result revealed 96.97% variance came from individuals within population which indicated that great genetic variation existing within the populations. The fixation index ( $F_{ST}$ ) for TRAP was estimated to be 0.03026 and showed the significant genetic differentiation among populations ( $P < 0.05$ ). The cluster analysis based on the TRAP marker polymorphism of the target gene indicated that Jian carp and Xingguo red carp fell in one cluster, Huanghe carp and Heilongjiang carp fell in another cluster, and finally they clustered with purse red carp.

**Key words:** common carp (*Cyprinus carpio*); TRAP markers; genetic diversity