

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190527002

http://www.yykxjz.cn/

彭敏, 王大鹏, 施军, 韩耀全, 雷建军, 李育森, 吴伟军, 何安尤. 西江流域卷口鱼线粒体 D-loop 序列的遗传多样性分析. 渔业科学进展, 2020, 41(5): 30–37
Peng M, Wang DP, Shi J, Han YQ, Lei JJ, Li YS, Wu WJ, He AY. Genetic diversity analysis of mitochondrial D-loop sequence of *Ptychidio jordani* in Xijiang River Basin. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(5): 30–37

西江流域卷口鱼线粒体 D-loop 序列的遗传多样性分析*

彭 敏 王大鹏 施 军 韩耀全 雷建军
李育森 吴伟军 何安尤^①

(广西遗传育种与健康养殖重点实验室 广西水产科学研究院 南宁 530021)

摘要 为研究西江流域广西境内卷口鱼(*Ptychidio jordani*)种群的遗传变异情况,自广西境内 6 个江段采集了 139 尾样本,采用 PCR 与 DNA 测序技术分析其线粒体 D-loop 序列的遗传多样性及群体历史动态;139 条 D-loop 序列长度均为 725 bp,碱基组成 A+T (65.7%)远远高于 C+G (34.3%),共检测到变异位点 25 个,转颠换比 R 值为 11.5。139 尾样本共定义 23 个单倍型。单倍型的 NJ 系统树以及网络结构图显示,23 个单倍型间有 2 个明显分支,不同地理群体来源的单倍型混杂分布在 2 个分支中,未能观察到明显的地理聚群。6 个群体遗传多样性较好,单倍型多样性 $H_d=0.71585\sim 0.92063$,核苷酸多样性 $P_i=0.00173\sim 0.00668$,遗传分化极其显著(遗传分化系数 $F_{st}=0.36737$, $P<0.001$)。AMOVA 分析表明,群体内变异占 63.26%,群体间为 36.74%。中性检验 (Tajima's $D=-0.50322$, $P=0.34600$; Fu's $F_s=-5.05210$, $P=0.08800$)与核苷酸错配分布表明,西江流域卷口鱼种群近期内未经历过种群扩张。综上所述,西江流域广西境内的卷口鱼遗传多样性表现为高单倍型、低核苷酸多样性的特征,群体间不同程度的遗传分化表明水坝阻隔及捕捞因素可能促进其发生,而水利梯级开发可能是促进卷口鱼群体遗传分化的首要原因。

关键词 卷口鱼; D-loop; 遗传多样性; 遗传分化; 西江流域

中图分类号 Q319.1 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2020)05-0004-08

线粒体 DNA 为环状闭合结构,因具有突变率高、重组率低、严格遵循母系遗传等特点,常被作为鱼类分子群体遗传学和分子系统学的重要标记(Xiao *et al.*, 2000)。其中,应用较为广泛的有线粒体控制区序列(D-loop)、细胞色素 B 基因(Cyt b)和线粒体细胞色素 C 氧化酶 I (CO I)。孙超等(2018)通过 Cyt b 和 D-loop

基因判别不同鲚属鱼类早期生活史个体;李瑶瑶等(2018)通过线粒体 CO I 基因研究魁蚶(*Scapharca brouhtonii*)中国群体的分类学地位;黄镇宇等(2019)通过线粒体 CO I 基因分析中国前鳞鲷(*Liza affinis*)的遗传多样性;周华兴等(2019)通过线粒体 D-loop 序列解析温州光唇鱼(*Acrossocheilus wenchowensis*)的群

* 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303048)和广西自然科学基金重大项目(2013GXNSFEA053003)共同资助 [This work was supported by Public Welfare Industry (Agriculture) Research Project (201303048), and Major Project of Guangxi Natural Science Foundation (2013GXNSFEA053003)]. 彭 敏, E-mail: gxnnpm@126.com

① 通讯作者: 何安尤, 高级工程师, E-mail: 919384987@qq.com

收稿日期: 2019-05-27, 收修改稿日期: 2019-07-23

体遗传变异规律。诸多应用均表明, 线粒体中部分基因在鱼类遗传进化的研究方面具有重要作用。

卷口鱼 (*Ptychidio jordani*) 隶属于鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科 (Cyprinidae)、野鲮亚科 (Labeoninae)、卷口鱼属 (*Ptychidio*), 俗称嘉鱼, 其因肉质细嫩、味道鲜美而深受消费者喜爱, 经济价值极高, 与斑鳊、鲈鱼、鳊鱼并称为“珠江四大淡水名鱼”。近年来, 因过度捕捞和江河污染加剧, 卷口鱼自然资源急剧衰退, 因此, 其种质资源保护和人工养殖越来越引起重视。

关于卷口鱼的研究在 21 世纪初期主要集中在形态分析、年龄与生长、生理生态、人工繁殖等(崔森等, 2001; 谢刚等, 2001; 廖显平等, 2016; 廖国璋等, 2016; 祁宝嵩等, 2001)。随着珠江水系鱼类资源日益下降, 特别是梯级电站开发后, 鱼类种群规模与种类日趋减少(王崇等, 2015), 众多学者的关注点开始转向卷口鱼自然种群的健康发展, 即通过分子生物学的手段, 检测卷口鱼的遗传多样性以评估该群体未来的遗传发展趋势, 但相关研究相对较少(刘毅辉等, 2007)。杜合军等(2006)利用 RAPD 技术检测了广西桂平至广东肇庆之间的卷口鱼群体, 认为其中至少存在 2 个群体; 赵建(2007)采用了传统形态学和框架分析的方法对珠江水系柳江、浔江、西江 3 个地理群体的卷口鱼的形态变异进行分析, 认为 3 个江段卷口鱼形态差异明显, 有一定程度的分化。范凤娟等(2010)开

展了广西合山、柳州、桂平和广东郁南 4 个地理群体卷口鱼线粒体 *Cyt b* 基因的遗传变异分析, 认为 4 个地理群体间无显著的遗传分化。众多学者对珠江水系卷口鱼的遗传分化情况得出不同结论, 可能是由于分析方法不同造成的差异, 亦有可能是样品数量较少造成的误差。但是, 现行捕捞强度是否对某些群体造成毁灭性打击, 梯级电站的开发是否对不同河段的卷口鱼群体造成地理隔离, 种群是否能持续健康的发展仍需进行持续的调查评估。

本研究采用 mtDNA D-loop 序列测定的方法, 对采自西江流域广西境内 6 条支流的卷口鱼群体进行遗传结构、遗传分化程度和基因交流状况分析, 对广西境内的卷口鱼野生群体遗传状况进行评价, 掌握其遗传背景资料, 为今后西江卷口鱼的种质资源管理、保护和开发利用提供基础数据和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料采集

卷口鱼样本于 2014 年 6 月~2016 年 12 月采自西江水系广西境内, 分别为红水河(HSH)、柳江(LIUJ)、西江(XIJ)、右江(YOUJ)、郁江(YUJ)和左江(ZJ)江段, 共 139 尾。活体每尾取约 5 g 背部肌肉样本, 用 95% 酒精保存于 15 ml 离心管备用, 每天更换 1 次酒精(持续 2 d)。样本数量、采样点见表 1。

表 1 卷口鱼 D-loop 遗传多样性指数
Tab.1 Genetic diversity parameters of *P. jordani*

河段 Reach	样品数 Sample number	变异位点 Variation locus	单倍型数 Number of Haplotype	单倍型多样性 Haplotypes diversity	平均核苷酸差异 Average number of nucleotide differences	核苷酸多样性 Nucleotide diversity
红水河 HSH	28	17	12	0.92063	4.83333	0.00669
柳江 LIUJ	41	5	6	0.71585	1.25366	0.00173
西江 XIJ	10	5	6	0.88889	1.64444	0.00227
右江 YOUJ	15	11	5	0.74286	3.67619	0.00508
郁江 YUJ	31	11	8	0.82581	2.36559	0.00327
左江 ZJ	14	8	5	0.73626	1.68132	0.00233
总计 Total	139	25	23	0.91263	3.74330	0.00518

1.2 DNA 提取、PCR 扩增与测序

取约 50 mg 保存肌肉于 1.5 ml 的 EP 管中, 采用醋酸铵法提取卷口鱼的总 DNA(彭敏等, 2011), 采用微量核酸蛋白分析仪对所提 DNA 的浓度和纯度进行检测, DNA 质量检测采用 1% 的琼脂糖凝胶电泳, 经检测合格的 DNA 模板保存于 -20℃ 冰箱备用。采用由

生工生物工程(上海)技术服务有限公司合成的 D-loop 通用引物对卷口鱼的 D-loop 序列进行扩增, 引物序列为 D-loop-F (5'-CACCCYTRRCTCCCAAAGCYA-3') 和 D-loop-R (5'-GGTGCGGRKACTTGCATGTRTAA-3')(Xiao *et al.*, 2001)。

PCR 反应体系 50.0 μ l, 包括 2 \times Ex *Taq* Master Mix 25 μ l, 10 μ mol/L 的上、下游引物各 2 μ l, 250 ng/ μ l

DNA 模板 2.0 μl , 用 ddH₂O 补至 50.0 μl 。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s, 共进行 35 次循环。

经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测合格的 PCR 扩增产物送至深圳华大基因公司进行正反 2 次重复测序。

1.3 数据处理

采用 MEGA 4.1 软件中的 ClustalW 程序并辅以人工校对去除序列两端不稳定部分, 分析序列碱基含量及变异位点, 利用该软件的 Kimura 2-parameter 模型计算遗传距离, 并以大眼卷口鱼 (*Ptychidio macrops*) (GenBank 登录号: MF457481.1) 作为外类群, 构建单倍型的 NJ 系统树 (金逍迨等, 2013)。单倍型及遗传多样性参数使用 DnsSP 5.10 软件 (Librado *et al*, 2009) 统计。采用 Arlequin 3.5 软件 (Excoffier *et al*, 2010) 进行分子方差分析、评估种群的遗传分化, 并进行 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 中性检验以及核苷酸不配对分布; 用 Network 4.0 软件 (Bandelt *et al*, 1999) 构建单倍型网络结构图。

2 结果与分析

2.1 卷口鱼线粒体 D-loop 碱基组成及突变类型

2.1.1 碱基组成 6 个卷口鱼群体的 139 条 D-loop 序列 (去除序列两端不稳定部分) 忽略插入、缺失时长均为 725 bp, 碱基 T、C、A 和 G 的平均含量分别

为 34.6%、20.1%、31.0% 和 14.2%, 其中, A+T (65.7%) 远远高于 C+G (34.3%), 表现出较强的碱基偏倚性, 与脊椎动物线粒体 DNA 序列特征类似。其中, 本研究所获得的卷口鱼 23 个单倍型序列已上传至 GenBank (登录号: MN093128-MN093150)。

2.1.2 突变类型 139 尾卷口鱼 D-loop 序列共检测出变异位点 25 个, 占总位点数的 3.45%, 其中, 简约信息位点 19 个, 单一变异位点 6 个, 共检测到 1 个插入或缺失位点。其中, 红水河群体变异位点最多, 共 17 个; 其次为右江和郁江群体, 为 11 个; 柳江和西江群体变异位点最少, 均为 5 个 (表 1)。转换比 *R* 值为 11.5, 其中, 23 个为转换, 2 个为颠换。

2.2 卷口鱼线粒体 D-loop 的遗传多样性

2.2.1 群体间遗传多样性差异 将 6 个不同地理群体设置为同一组群, 单倍型多样性 $H_d=0.91263$, 核苷酸多样性 $P_i=0.00517$ 。群体间的 $H_d=0.71585\sim 0.92063$, 其中, 红水河群体最高 (0.92063), 其次为西江群体 (0.88889), 最低为柳江群体 (0.71585); 群体间 $P_i=0.00173\sim 0.00668$, 与单倍型多样性表现相一致。平均核苷酸差异以红水河群体最高, 为 4.83333, 最低为柳江群体, 为 1.25366。遗传多样性各指数均以红水河最好, 柳江最差 (表 1)。

2.2.2 NJ 系统树与单倍型网络结构 单倍型网络结构 (图 1) 和 NJ 系统树 (图 2) 表现出较高的一致性。

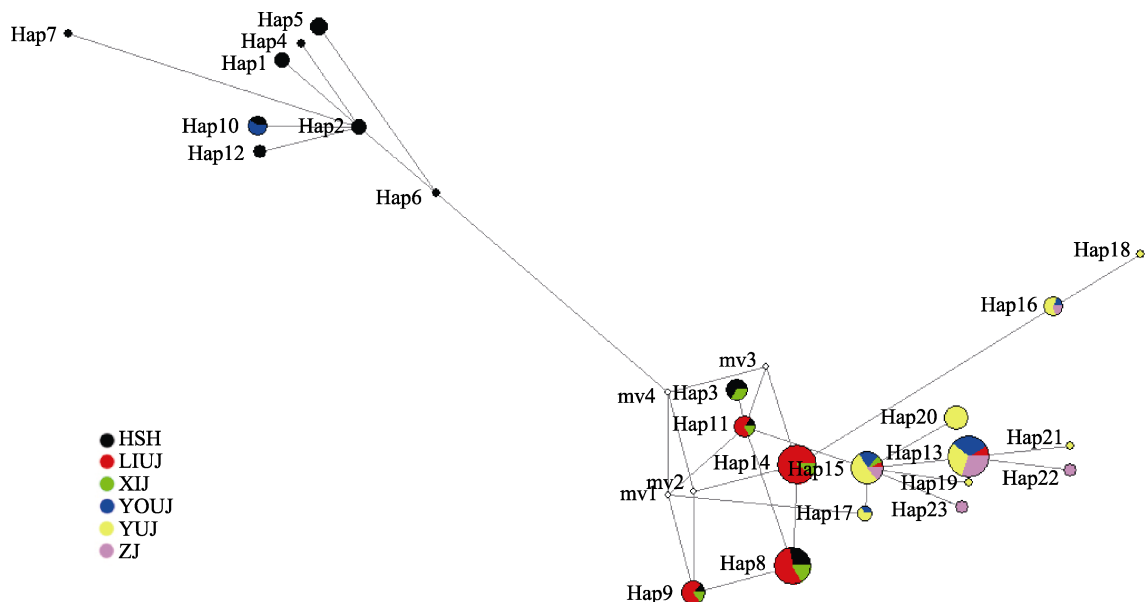


图 1 卷口鱼单倍型网络结构

Fig.1 Haplotype network structure of *P. jordani*

圆面积代表单倍型出现的频率, 彩色扇形代表各群体在同一单倍型中所占的比例, 空圈代表未发现或已经灭绝的单倍型
Circle portion represents the frequencies of haplotype, and the colored portion represents the percentage of the same haplotype in each populations, the empty circles represents the haplotypes which were not found or extinct

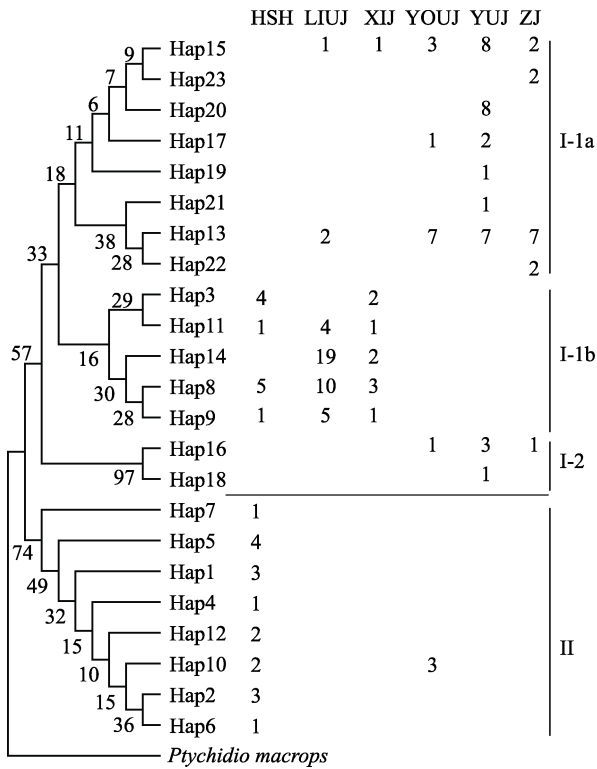


图 2 卷口鱼单倍型系统树
Fig.2 Haplotype system tree of *P. jordani*

139 尾个体拥有 23 个单倍型, 主要分为 2 大支(I 和 II), 分支 II 仅由红水河群体大半个体和右江群体的 3 个个体构成, 其余个体构成分支 I。hap13 为优势单倍型, 由 23 尾个体共享, 占总个体数的 16.55%, 主要分布于柳江、右江、郁江和左江群体; hap14 仅分布于柳江和西江群体, 有 21 尾个体, 占总个体数的 15.11%。单倍型丰度最多的为红水河群体, 拥有 12 个单倍型; 其次为郁江群体, 拥有 8 个单倍型; 柳江与西江群体均拥有 6 个单倍型; 左江与右江群体有 5 个单倍型。共有 13 个单倍型为不同群体独享, 其中, 红水河群体独享 7 个, 郁江群体 4 个, 左江群体

2 个, 右江群体 1 个, 柳江与西江群体均无独享单倍型。单倍型网络结构和 NJ 系统树拓扑结构显示, 不同地理群体个体的单倍型分布混杂, 未能观察到明显的地理聚群。

2.3 卷口鱼的遗传分化

利用 MEGA 4.1 软件分析结果如表 2 所示: 红水河群体和左江、郁江群体间的遗传距离最远, 均为 0.00863; 遗传距离最近的是西江群体和柳江群体 (0.00210)。群体内遗传距离由大到小依次为红水河群体 (0.00673) > 右江 (0.00513) > 郁江 (0.00329) > 西江 (0.00228) > 左江 (0.00233) > 柳江 (0.00174)。依据 NJ 系统树划分的 2 大分支计算, 分支 I 遗传距离为 0.003120, 分支 II 遗传距离为 0.004869, 2 分支间遗传距离为 0.010280。

群体间 $F_{st}=0.05533\sim 0.58351$, 除了左江与郁江、右江群体外, 其余群体间均存在显著的遗传分化 ($P<0.05$), 左江与柳江群体的遗传分化程度最大 (0.52351), 与郁江群体间的遗传分化程度最小 (0.05533)。

AMOVA 分析 (表 3) 发现, 各地地理群体间存在极显著的遗传分化 ($F_{st}=0.36737, P<0.01$)。群体间变异占 36.74%, 群体内变异占 63.26%, 变异大部分来自群体内部, 基因流 $N_m=0.430513$ 。按图 2 将所有个体划分为 2 个谱系, 分支间仍存在极显著的遗传分化 ($F_{st}=0.69318, P<0.01$), 其中, 分支间变异占 69.32%, 分支内变异占 30.68%, 基因流 $N_m=0.221313$, 表明 2 分支间基因交流处于较低水平。

2.4 群体动态分析

核苷酸错配分布 (图 3) 及 Tajima's D 和 Fu's F_s 的检验 (表 4) 结果如下: Fu's F_s 检验 (Fu's $F_s=-5.05210, P=0.08800$) 和 Tajima's D (Tajima's $D=-0.50322, P=0.34600$) 检验均为不显著负值 ($P>0.05$), 核苷酸错配

表 2 卷口鱼遗传距离与遗传分化系数 (F_{st})
Tab.2 Genetic distance and genetic differentiation coefficient (F_{st}) of *P. jordani*

	红水河 HSH	柳江 LIUJ	西江 XIJ	右江 YOUJ	郁江 YUJ	左江 ZJ
红水河 HSH	0.00673	0.41905**	0.29707**	0.22857**	0.42336**	0.43090**
柳江 LIUJ	0.00692	0.00174	0.05900	0.44877**	0.44908**	0.58351**
西江 XIJ	0.00704	0.00210	0.00228	0.27950**	0.30606**	0.46545**
右江 YOUJ	0.00778	0.00548	0.00530	0.00513	0.08939*	0.06772
郁江 YUJ	0.00863	0.00446	0.00416	0.00455	0.00329	0.05533
左江 ZJ	0.00863	0.00467	0.00432	0.00401	0.00300	0.00233

注: 对角线为群体内遗传距离; 对角线下方表示群体间遗传距离; 对角线上方表示 F_{st} 值。***表示 $P<0.01$, **表示 $P<0.05$

Note: The diagonal is the genetic distance within the population; and below the diagonal is the genetic distance between the populations; above the diagonal is the genetic differentiation coefficient (F_{st}). **: $P<0.01$; *: $P<0.05$

表3 AMOVA 分析
Tab.3 Analysis of molecular variances (AMOVA)

项目 Items	变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Quadratic sum	方差组分 Variance components	变异百分率 Percent of variation (%)	统计量 <i>F</i>	基因流 N_m
6 个群体 Six populations	群体间 Between populations	5	88.419	0.74168 Va	36.74	0.36737**	0.430513
	群体内 Within populations	133	169.869	1.27721 Vb	63.26		
	总体 Total	138	258.288	2.01889			
两谱系 Two pedigree	群体间 Between populations	1	97.669	2.81571 Va	69.32	0.69318**	0.221313
	群体内 Within populations	137	170.748	1.24634 Vb	30.68		
	总体 Total	138	268.417	4.06205			

** $P < 0.01$

表4 卷口鱼 D-loop 序列 Tajima's *D* 和 Tajima's *D* 检验
Tab.4 Tajima's *D* and Tajima's *D* test of *P. jordani* mtRNA D-loop

项目 Items	红水河 HSH	柳江 LIUJ	西江 XIJ	右江 YOUJ	郁江 YUJ	左江 ZJ	总体 Total
Tajima's <i>D</i>	0.36913	0.18413	-0.27902	0.33405	-0.45015	-1.25061	-0.50322
Tajima's <i>D</i> <i>P</i> -value	0.67600	0.61400	0.40500	0.67400	0.35900	0.10600	0.34600
Fu's F_S	-1.33004	-0.58449	-2.36445	1.89454	-0.65605	-0.3516	-5.05210
Fu's F_S <i>P</i> -value	0.29200	0.40100	0.03100	0.83700	0.39800	0.38800	0.08800

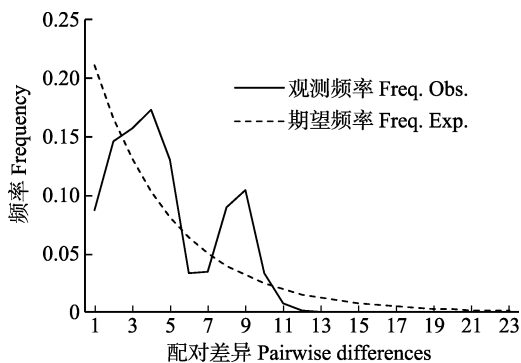


图3 卷口鱼核苷酸错配分布
Fig.3 Nucleotide mismatch profile of *P. jordani*

分布为双峰,表明西江水系卷口鱼基于 D-loop 序列的群体动态分析支持西江水系卷口鱼未经历过种群扩张。各江段分析结果发现,除西江群体 Fu's F_S 检验为显著负值外($P=0.031$),其他为不显著负值或正值($P>0.05$),表明除西江群体可能发生过种群扩张外,其他江段并无种群扩张迹象。

3 讨论

3.1 卷口鱼的遗传多样性

遗传多样性通常是物种长期进化的结果,是物种

或其群体持续生存并适应不断变化的环境而进化的前提。通常物种的遗传多样性或变异性越丰富,则表明该物种的进化潜力越大,对环境改变响应的进化能力就越强(Laikre *et al.*, 2005; 宋娜等, 2018)。遗传多样性大小决定该生物能否继续在生物圈繁衍和生活,多样性下降将会对种群的健康发展产生负面影响(Ryman *et al.*, 1987; 姜艳艳等, 2003; 杨子拓, 2016)。单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数通常被用于评估生物遗传多样性(Vrijenhoek, 1994; 李大命等, 2017)。本研究发现,西江流域广西境内 6 个地理群体的卷口鱼多样性指数 $H_d=0.91260$, $P_i=0.00517$ 。与同样基于 D-loop 序列为分子标记分析的同一流域的其他鲤科鱼类相比,高于位于可渡河的光唇裂腹鱼(*Schizothorax lissolabiatu*s)种群($H_d=0.733$, $P_i=0.0027$)(韩虎峰等, 2010),低于赤眼鳟(*Spualio-barbus curricularis*)种群($H_d=0.978$, $P_i=0.00791$)(陈方灿等, 2015; 李潮等, 2018)和大眼华鲮(*Sinibrama macrops*)群体($H_d=0.91600$, $P_i=0.01569$);与翘嘴鲌(*Culter alburnus*)群体($H_d=0.87506$, $P_i=0.0070$),和大眼近红鲌(*Ancherythroculter lini*)群体($H_d=0.847$, $P_i=0.00693$)相比,具有更高的单倍型多样性与较低的核苷酸多样性(杨子拓等, 2016; 杨子拓, 2016)。本研究中,各群体的遗传多样性差异

较大,除了红水河与右江群体,其他各江段的遗传多样性仍相对较低。西江流域广西境内多个江段卷口鱼群体呈现出高单倍型和低核苷酸多样性特征,可能是种群发生瓶颈效应后快速增长,使得单倍型的丰度提高,但时间不足以提高核苷酸多样性所造成(Grant, 1998)。

3.2 卷口鱼的遗传分化

群体间的遗传距离是物种分类的一个重要依据。遗传距离越大表明群体间亲缘关系越远(张鹤千等, 2015)。本研究中,各群体间遗传距离为 0.00210~0.00863,各群体内的遗传距离为 0.00228~0.00673,无明显差异,表明该 6 个群体间具有较近的亲缘关系。单倍型的 NJ 系统树和网络图显示,本次采样的 6 个不同地理群体个体来源的单倍型分布混杂,未能观察到明显的地理聚群。但按 NJ 系统树划分的两分支间存在显著较高的遗传分化($F_{st}=0.69318$, $P<0.01$)。

群体遗传学认为, F_{st} 是测量群体间遗传分化的重要参数, F_{st} 值越大表明分化程度较高(Wright, 1979; 沈朕等, 2017)。Wright(1965)提出遗传分化标准($F_{st}<0.05$, 无遗传分化; $0.05<F_{st}<0.15$, 较小遗传分化; $0.15<F_{st}<0.25$, 中度遗传分化; $F_{st}>0.25$, 遗传分化较大)。研究表明,柳江与西江、右江与郁江/左江、郁江与左江群体之间的遗传分化值为 0.05~0.15, 遗传分化较小;红水河与右江间的遗传分化值为 0.15~0.25, 为中度遗传分化;而红水河与柳江/西江/郁江/左江、柳江与右江/郁江/左江、西江与右江/郁江/左江间 $F_{st}>0.25$, 遗传分化较大,地理隔离造成群体间基因交流减少可能是造成该结果的原因之一。如左江、右江是郁江、西江的上游,群体间遗传距离均小于 0.00500,其主要受水坝阻隔的影响;又如红水河与郁江、右江群体的遗传距离均大于 0.00500,因受大坝阻隔与不同支流的双重影响,遗传距离远大于前者,水坝阻隔与不同支流间的地理阻碍使基因交流更加困难,相应分化程度就越高,而红水河与其他群体遗传距离较远,可能与红水河过于密集的梯级开发程度有关。在 2010 年的调查中,红水河干流 11 个梯级中有 10 个已建或在建(薛联芳等, 2010)。匡天旭等(2018)在对珠江鲫(*Carassius auratus auratus*)遗传种质资源分析中亦发现,大量的水利开发可能是导致遗传多样性差异分布的原因之一。

3.3 西江流域卷口鱼的历史动态

Tajima(1989)认为,如果 Tajima's D 与 Fu's F_s 值呈负值,且在统计学上达到显著标准,则说明序列中含有比中性进化模型更多的核苷酸位点变化,可能预

示着被研究种群曾经历过一个扩张的历史。同一组群 AMOVA 分析及核苷酸错配分布图表明, Fu's F_s 检验 (Fu's $F_s=-5.05210$, $P=0.08800$)和 Tajima's D (Tajima's $D=-0.50322$, $P=0.34600$)检验均为不显著负值,核苷酸错配分布为双峰。结果支持西江流域卷口鱼未经历过种群扩张。

3.4 西江流域卷口鱼的种质资源保护

鱼类作为水域生态系统的消费者,在水域环境中处于食物链的末端,对维护水域生态系统的物质循环与能量流动具有重要作用,任何水环境污染及水利工程开发等都有可能对鱼类群体的健康发展造成不良影响,从而影响水域生态系统的稳定及正常运行。西江流域广西境内的卷口鱼群体仍保持着较好的遗传多样性,但部分群体间遗传分化程度较大,水坝阻隔和捕捞因素可能促进了卷口鱼的遗传分化,其中,以红水河水利梯级开发对卷口鱼的基因交流造成的影响更为明显。建议加强对卷口鱼以及西江流域其他土著鱼类遗传多样性的监控;水电大坝合理设置过鱼设施以促进各江段群体间迁移;适当引入同一流域不同江段的亲鱼进行人工繁育以获得杂合度更高的子代,并通过增殖放流增进各江段群体间基因交流,以此弥补因地理阻隔造成的基因缺失。

参 考 文 献

- Bandelt HJ, Forster P, Rohlf A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16(1): 37-48
- Chen FC. Study on the population diversity of *Squaliobarbus curriculus* in Xijiang. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2015 [陈方灿. 西江赤眼鲮群体多样性研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2015]
- Cui M, Zhao J, Chen XL. Age and growth of *Ptychidio jordani*. *Journal of South China Normal University (Natural Science)*, 2001(4): 9-15 [崔淼, 赵俊, 陈湘彝. 卷口鱼的年龄和生长. 华南师范大学学报(自然科学版), 2001(4): 9-15]
- Du HJ, Zhu XP, Chen KC, et al. RAPD analysis of genetic diversity of wild *Ptychidio jordani* in Pearl River. *Journal of Fisheries of China*, 2006, 30(3): 305-310 [杜合军, 朱新平, 陈昆慈, 等. 珠江野生卷口鱼遗传多样性的 RAPD 分析. 水产学报, 2006, 30(3): 305-310]
- Excoffier L, Lischer H. Arlequin suite Ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analysis under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 564-567
- Fan FJ, Zhang Q, Zhao S, et al. Sequence analysis of mitochondrial Cytb gene in genetic variation of endemic *Ptychidio jordani* in Pearl River. *Agricultural Science in Guangdong Province*, 2010, 46(4): 161-164 [范凤娟, 章群, 赵爽, 等. 珠江水系特有卷口鱼遗传变异的线粒体 Cytb 基因序列分析. 广东农业科学, 2010, 46(4): 161-164]
- Grant W. Shallow population histories in deep evolutionary

- lineages of marine fishes: Insight from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 1998, 89(5): 415–426
- Han HF, Dai YG. Polymorphism analysis of mtDNA D-loop from *Schizothorax lissolabiatu* Tsao in Kedu River population of Pearl River. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(1): 143–149 [韩虎峰, 代应贵. 珠江水系光唇裂腹鱼可渡河种群 mtDNA D-loop 序列多态性分析. *中国水产科学*, 2010, 17(1): 143–149]
- Huang ZY, Zhang Q, Lu LF, *et al.* Genetic diversity of *Liza affinis* in coastal waters of China deduced from mitochondrial CO I sequence. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(1): 46–52 [黄镇宇, 章群, 卢丽锋, 等. 基于线粒体 CO I 基因序列的中国前鳞鲷遗传多样性分析. *渔业科学进展*, 2019, 40(1): 46–52]
- Jiang YY, Kong XY, Yu ZN, *et al.* Variation analysis of mtDNA D-loop from *Scomberomorus niphonius* in Yellow Sea. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, 10(3): 177–183 [姜艳艳, 孔晓瑜, 喻子牛, 等. 黄海蓝点马鲛 mtDNA D-loop 序列变异分析. *中国水产科学*, 2003, 10(3): 177–183]
- Jin XX, Sun YN, Wang RX, *et al.* Characteristics and phylogenetic analysis of mitochondrial genome in the gobies. *Hereditas*, 2013, 35(12): 1391–1402 [金逍逍, 孙悦娜, 王日昕, 等. 虾虎鱼线粒体全基因组序列结构特征分析及系统发育关系探讨. *遗传*, 2013, 35(12): 1391–1402]
- Kuang TX, Shuai FM, Chen WT, *et al.* Genetic diversity and population structure of *Carassius auratus auratus* from Xijiang. *South China Fisheries Science*, 2018, 14(5): 29–35 [匡天旭, 帅方敏, 陈蔚涛, 等. 西江鲫的遗传多样性与群体结构. *南方水产科学*, 2018, 14(5): 29–35]
- Laikre L, Palm S, Ryman N. Genetic population structure of fishes: Implications for coastal zone management. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 2005, 34(2): 111–120
- Li C, Lan ZJ, Zhao J. Genetic diversity and differentiation of *Squaliobarbus curriculus* in Pearl River based on mitochondrial control region (D-loop) sequence. *Journal of Applied and Environmental Biology*, 2018, 24(3): 615–622 [李潮, 蓝昭军, 赵俊. 基于线粒体控制区(D-loop)序列的珠江赤眼鳟遗传多样性与遗传分化. *应用与环境生物学报*, 2018, 24(3): 615–622]
- Li DM, Li K, Zhang TQ, *et al.* Sequence polymorphism of Cytb and CO I genes in *Protosalanx hyalocranius* from Hongze Lake. *Progress in Fisheries Science*, 2017, 38(6): 25–31 [李大命, 李康, 张彤晴, 等. 洪泽湖大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*) Cytb 和 CO I 基因序列多态性分析. *渔业科学进展*, 2017, 38(6): 25–31]
- Li YY, Liu YG, Liu XL, *et al.* The taxonomic status of Chinese population of *Scapharca broughtonii* based on sequences of CO I and 12S rRNA genes. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(5): 73–80 [李瑶瑶, 刘运国, 刘晓玲, 等. 基于线粒体基因组 CO I 和 12S rRNA 序列的魁蚶中国群体分类学地位研究. *渔业科学进展*, 2018, 39(5): 73–80]
- Liao GZ, You BZ, Bai YQ, *et al.* Study on age growth, feeding and reproduction of *Ptychidio jordani* in Pearl River. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 10(1): 71–86 [廖国璋, 尤炳赞, 白岳强, 等. 珠江卷口鱼年龄生长食性和繁殖的研究. *水产学报*, 2001, 10(1): 71–86]
- Liao XP, Lin WQ, Xu ZS, *et al.* Study on artificial reproduction of *Ptychidio jordani*. *Agricultural Science Bulletin of Anhui*, 2016, 22(11): 117–119 [廖显平, 林伟强, 许政生, 等. 卷口鱼人工繁殖技术研究. *安徽农学通报*, 2016, 22(11): 117–119]
- Librado P, Rozas J. Dnasp v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451–1452
- Liu YH, Jiao ZY, Chen YL, *et al.* Morphological characteristics and karyotype of the Pearl River of *Ptychidio jordani*. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(6): 721–725 [刘毅辉, 焦宗垚, 陈永乐, 等. 珠江卷口鱼形态特征与染色体组型. *水产学报*, 2007, 31(6): 721–725]
- Peng M, Chen XL, Jiang WM, *et al.* Extraction of genomic DNA from *Trachinotus ovatus* by ammonium acetate. *Tianjin Journal of Agricultural Science*, 2011, 17(1): 114–117 [彭敏, 陈秀荔, 蒋伟明, 等. 醋酸铵法提取卵形鲳鲹基因组 DNA. *天津农业科学*, 2011, 17(1): 114–117]
- Qi BL, Xie G, Ye X, *et al.* Preliminary experiment of artificial domestication of *Ptychidio jordani*. *Water Fishery*, 2001, 21(3): 26 [祁宝崙, 谢刚, 叶星, 等. 野生卷口鱼的人工驯养初步试验. *水利渔业*, 2001, 21(3): 26]
- Ryman N, Utter F. *Population genetics and fishery management*. Washington: University of Washington Press, 1987
- Shen Z, Guan HB, Zheng FR, *et al.* Genetic diversity analysis of four *Hexagrammos otakii* populations based on Cytb and D-loop. *Advances in Marine Science*, 2017, 35(4): 524–534 [沈朕, 关洪斌, 郑风荣, 等. 基于 cytb 和 D-loop 的 4 个大泷六线鱼群体遗传多样性分析. *海洋科学进展*, 2017, 35(4): 524–534]
- Song N, Zhou W, Jin BS, *et al.* Population genetics analysis of *Pelteobagrus nitidus* in the Yellow River Basin based on mitochondrial DNA control region. *Journal of Ocean University of China (Natural Science)*, 2018, 48(8): 20–26 [宋娜, 周伟, 金斌松, 等. 基于线粒 DNA 控制区高变区的黄河流域光泽黄颡鱼群体遗传学分析. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 48(8): 20–26]
- Sun C, Liu HB, Jiang T, *et al.* Comparison of D-loop and cytochrome b sequences among different *Coilia* species and their potential use in analysis for the identification of species at early life stages. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(5): 27–35 [孙超, 刘洪波, 姜涛, 等. 不同鲚属鱼类 Cyt b 和 D-loop 序列的比较及其判别早期生活史个体的潜力分析. *渔业科学进展*, 2018, 39(5): 27–35]
- Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 1989, 123: 585–595
- Vrijenhoek RC. Genetic diversity and fitness in small populations. *Conservation Genetics*, 1994, 68: 37–53
- Wang C, Xie S, Xie WX, *et al.* Investigation of fish resources in the main stream of Hongshui River after cascade operation. *Journal of Freshwater Fisheries*, 2015, 45(2): 30–36 [王崇, 谢山, 谢文星, 等. 红水河干流梯级运行后鱼类资源调查. *淡水渔业*, 2015, 45(2): 30–36]
- Wright S. *Evolution and the genetics of populations, volume 4: Variability within and among natural populations*. International Biometric Society, 1979
- Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 1965: 395–420
- Xiao WH, Zhang YP. Genetics and evolution of mitochondrial DNA in fish. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, 24(4): 384–391 [肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化. *水生生物学报*, 2000, 24(4): 384–391]
- Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia.

- Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 18(2): 163–173
- Xie G, Qi BL, Xu SY, *et al.* Critical water temperature and dissolved oxygen content of *Ptychidio jordani*. Journal of Freshwater Fisheries, 2001, 31(2): 47–48 [谢刚, 祁宝伦, 许淑英, 等. 卷口鱼的临界水温和溶氧量. 淡水渔业, 2001, 31(2): 47–48]
- Xue LF, Gu HB, Cui L, *et al.* Investigation and study on the impact of cascade development on water temperature accumulation in the main stream of Hongshui River. Journal of Hydropower, 2010, 36(11): 9–12 [薛联芳, 顾洪宾, 崔磊, 等. 红水河干流梯级开发对水温累积影响的调查研究. 水力发电, 2010, 36(11): 9–12]
- Yang ZT. Analysis of genetic structure and diversity of three species of subfamily cockroaches in the Pearl River Basin. Master's Thesis of South China Agricultural University, 2016 [杨子拓. 珠江流域三种蚰亚科鱼类的遗传结构及遗传多样性分析. 华南农业大学硕士研究生学位论文, 2016]
- Yang ZT, Sun JJ, Li GF, *et al.* Study on autogenetic diversity and genetic differentiation of Pearl River *Culter alburnus Basilewsky* based on mitochondrial D-loop gene. Journal of Sun Yat-Sen University (Natural Science), 2016, 55(3): 89–96 [杨子拓, 孙际佳, 李桂峰, 等. 基于线粒体 D-loop 基因的珠江翘嘴鱼自遗传多样性与遗传分化研究. 中山大学学报(自然科学版), 2016, 55(3): 89–96]
- Zhao J, Zhu XP, Chen YL, *et al.* Morphological variation of different geographical populations of *Ptychidio jordani* in Pearl River. Acta Animal, 2007, 53(5): 921–927 [赵建, 朱新平, 陈永乐, 等. 珠江卷口鱼不同地理种群的形态变异. 动物学报, 2007, 53(5): 921–927]
- Zhang HQ, Yang ZT, Li GF, *et al.* Sequence analysis of Cytb gene of wild *Peheobagrus fulvidraco* in Pearl River Basin. Journal of Sun Yat-Sen University (Natural Science), 2015, 54(5): 102–108 [张鹤千, 杨子拓, 李桂峰, 等. 珠江流域野生黄颡鱼 *Peheobagrus fulvidraco* 的 Cytb 基因序列分析. 中山大学学报(自然科学版), 2015, 54(5): 102–108]
- Zhou HX, Hu YT, Duan GQ, *et al.* Population genetic analyses of *Acrossocheilus wenchowensis* in Xin'an Basin based on the mitochondrial DNA cytochrome *b* gene. Progress of Fishery Sciences, 2019, 40(2): 43–50 [周华兴, 胡玉婷, 段国庆, 等. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因序列的新安江流域温州光唇鱼群体遗传研究. 渔业科学进展, 2019, 40(2): 43–50]

(编辑 冯小花)

Genetic Diversity Analysis of Mitochondrial D-loop Sequence of *Ptychidio jordani* in Xijiang River Basin

PENG Min, WANG Dapeng, SHI Jun, HAN Yaoquan, LEI Jianjun, LI Yusen, WU Weijun, HE Anyou^①

(Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture,
Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning 530021)

Abstract To study the genetic diversity and genetic differentiation of a *Ptychidio jordani* population in the Xijiang River Basin, Guangxi Province, China, mitochondrial D-loop sequences from six rivers were subjected to polymer chain reaction and DNA sequencing analysis. The A+T base composition was much higher (65.7%) than the C+G combination (34.3%) in 139 individuals, which have a D-loop sequence length of 725 bp, and a transversion ratio *R* of 11.5. Twenty-five polymorphic sites were defined. An NJ system tree of haplotypes and network structure diagram revealed two distinct branches among 23 haplotypes but no obvious geographic clusters, because the haplotypes from different geographic groups were mixed in two branches. Individuals from six different geographic populations had superior genetic diversity ($H_d=0.71585\sim 0.92063$, $P_i=0.00173\sim 0.00668$) and extremely significant genetic differentiation ($F_{st}=0.36737$, $P<0.001$). Analysis of molecular variance indicated that most of the variation was intragroup (63.26%). The results of a neutrality test (Tajima's $D=-0.50322$, $P\text{-value}=0.34600$; Fu's $F_s=-5.05210$, $P\text{-value}=0.08800$) and nucleotide mismatch distribution showed that the population of *P. jordani* in the Xijiang River Basin had not experienced a population expansion in recent years. The genetic diversity of the *P. jordani* in the Xijiang River Basin exhibited high haplotype and low nucleotide diversity. Various degrees of genetic differentiation intergroups indicate that a dam barrier and fishing factors may be contributing to their occurrence, and a cascade development of water resources may be the primary cause of population genetic differentiation of *P. jordani*.

Key words *Ptychidio jordani*; D-loop; Genetic diversity; Genetic differentiation; Xijiang River Basin

① Corresponding author: HE Anyou, E-mail: 919384987@qq.com