

基于线粒体 *Cytb* 基因序列的西江流域广西境内 卷口鱼遗传多样性分析

彭敏¹, 韩耀全¹, 王大鹏¹, 施军¹, 吴伟军¹, 李育森^{1,2}, 雷建军¹, 何安尤¹

(1. 广西水产科学研究院/广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 广西南宁 530021;

2. 华南农业大学海洋学院, 广东广州 510642)

摘要: 为了解西江流域广西境内卷口鱼 (*Ptychidio jordani*) 种群遗传结构及分化程度, 采用线粒体 *Cytb* 基因序列对西江流域广西境内 6 个江段的 139 尾野生卷口鱼的遗传多样性进行了分析。结果显示, 线粒体 *Cytb* 基因长度为 1 053 bp, 碱基 T、C、A、G 的平均含量分别为 29.1%、27.7%、29.3%、13.9%, 其中 A+T (58.4%) 高于 C+G (41.6%)。共定义 20 个单倍型, 并聚为 2 个分支, 未观察到明显的地理聚群。6 个卷口鱼群体的平均单倍型多样性和平均核苷酸多样性分别为 0.768 2、0.002 3, 其中红水河群体 (单倍型多样性 $h=0.748\ 7$, 核苷酸多样性 $\pi=0.003\ 3$) 遗传多样性最高, 柳江群体 ($h=0.274\ 4$, $\pi=0.000\ 4$) 和左江群体 ($h=0.374\ 7$, $\pi=0.000\ 3$) 的遗传多样性相对较低。卷口鱼总体的遗传分化指数 (F_{ST}) 为 0.461 4 ($P<0.01$), 表现出较大的遗传分化。两两群体间遗传分化结果显示, 左江和柳江种群之间的遗传分化程度最大, 而柳江和西江之间最小。AMOVA 分析表明西江流域的卷口鱼群体遗传变异一半来自群体内 (53.86%), 一半来自群体间 (46.14%)。中性检验 (Tajima's $D=-1.082\ 8$, $P>0.05$; Fu's $F_s=-6.572\ 5$, $0.01<P<0.05$) 与碱基错配分布分析表明西江流域卷口鱼种群大约在 0.07~0.187 Ma 经历了种群扩张。综上, 西江流域广西境内的卷口鱼柳江群体和左江群体遗传多样性较低, 总群体分化程度较大, 但仍属于一个种群, 其中空间距离与地理阻隔对卷口鱼的遗传分化具有一定的促进作用。

关键词: 卷口鱼; 遗传分化; 遗传多样性; *Cytb* 基因; 西江流域

中图分类号: Q 319⁺.1

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Genetic diversity analysis of *Ptychidio jordani* in Xijiang River flowing through Guangxi Province based on mitochondrial *Cytb* gene sequence

PENG Min¹, HAN Yaoquan¹, WANG Dapeng¹, SHI Jun¹, WU Weijun¹, LI Yusen^{1,2}, LEI Jianjun¹, HE Anyou¹

(1. Guangxi Academy of Fishery Sciences/Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture, Nanning 530021, China; 2. College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: In order to explore the genetic structure and differentiation degree among different *Ptychidio jordani* populations in Xijiang River flowing through Guangxi Province, we collected 139 individuals from six wild *P. jordani* populations (HSH, LIUJ, XIJ, YOUJ, YUJ, ZJ) and analyzed their genetic structure with *Cytb* sequences. The length of *Cytb* gene was 1 053 bp, and the average contents of T, C, A and G were 29.1%, 27.7%, 29.3% and 13.9%, respectively. Besides, the A+T content (58.4%) was significantly

收稿日期: 2020-03-11; 修回日期: 2020-05-09

资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (201303048); 广西科技重大专项 (桂科 AA17204088-2); 广西自然科学基金重大项目 (2013GXNS-FAE053003)

作者简介: 彭敏 (1972—), 女, 硕士, 高级工程师, 从事鱼类分子遗传育种研究。E-mail: 837969487@qq.com

通信作者: 何安尤 (1963—), 男, 高级工程师, 从事渔业资源调查及水域生态修复研究。E-mail: 919384987@qq.com

higher than the C+G content (41.6%). A total of 20 haplotypes were defined, clustering into two branches without significant geographic clusters. The average haplotype diversity and nucleotide diversity of the six populations were 0.768 2 and 0.002 3, respectively. The highest genetic diversity was detected in HSH population ($h=0.748\ 7$, $\pi=0.003\ 3$), while the relatively low genetic diversity was found in LIUJ ($h=0.274\ 4$, $\pi=0.000\ 4$) and ZJ ($h=0.374\ 7$, $\pi=0.000\ 3$). The genetic differentiation index (F_{ST}) of six *P. jordani* populations was 0.461 4 ($P<0.001$), showing a great genetic differentiation. The degree of genetic differentiation between ZJ and LIUJ populations was the greatest, while that between LIUJ and XJ populations was the smallest. AMOVA analysis shows that part of the genetic variation was within the populations (53.86%), and part came from different populations (46.14%). Neutral test (Tajima's $D=-1.082\ 8$, $P>0.05$; Fu's $F_s=-6.572\ 5$, $0.01<P<0.05$) and base mismatch distribution analysis show that the *P. jordani* population in Xijiang River experienced population expansion 0.07–0.187 million years ago (Ma). In conclusion, the genetic diversity of *P. jordani* between LIUJ and ZJ populations is low in Guangxi Xijiang River; the total population differentiation degree is high, but still belongs to a population, and the spatial distance and geographical barrier can promote the genetic differentiation.

Key words: *Ptychidio jordani*; Genetic differentiation; Genetic diversity; *Cytb* gene; Xijiang River

卷口鱼 (*Ptychidio jordani*) 隶属鲤形目、鲤科、野鲮亚科、卷口鱼属, 是珠江名贵食用鱼类之一, 因受江河污染和过度捕捞的双重影响, 卷口鱼自然资源急剧衰退, 亟待保护。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环境而不断进化的前提。一般认为, 物种的遗传多样性或变异性越高, 说明物种的进化潜力越大, 对环境的适应能力越强^[1-2]。遗传多样性的高低决定了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产生负面影响^[3-5]。目前, 关于卷口鱼遗传多样性和遗传变异的报道相对较少, 杜合军等^[6]利用 RAPD 分子标记技术对珠江水系西江段 3 个卷口鱼地理群体的遗传多样性进行了分析; Zhu 等^[7]运用微卫星技术开展了卷口鱼的遗传分化研究; 此外, 范凤娟等^[8]通过线粒体 *Cytb* 基因序列探讨了珠江水系卷口鱼的遗传变异及历史动态。

近年来, 江河污染和过度捕捞等对卷口鱼资源造成了影响, 但目前其资源状况尚不够清晰。鱼类线粒体具有结构简单、遵循母系遗传、不发生重组及进化速度快等特点, 是鱼类进化遗传学、分子生态学、遗传多样性等研究的重要标记^[9]。在线粒体 DNA (mtDNA) 的 13 个蛋白质编码基因中, 线粒体细胞色素 B (*Cyt b*) 基因的结构与功能被了解得较为透彻, 因其进化速度适中^[10], 常被用于鱼类种群结构与遗传多样性的研究。本研究对西江流域广西境内 6 个江段的卷口鱼群体进行 mtDNA *Cytb* 序列测定, 为进一步了解该自然种群的遗传多样性、遗传结构、遗传分化程度及历史动态, 及今后其种质的资源管理、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 研究材料

卷口鱼样本采自西江流域广西境内的 6 个江段, 分别为红水河 (HSH)、柳江 (LIUJ)、西江 (XIJ)、右江 (YOUJ)、左江 (ZJ)、郁江 (YUJ), 采样时间为 2014 年 6 月—2016 年 12 月, 共 139 尾。每尾取约 5 g 肌肉样本置于含 95%乙醇的 15 mL 离心管中, $-20\ ^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增与测序

取 50 mg 保存肌肉, 采用醋酸铵方法提取卷口鱼的总 DNA^[11], 用微量核酸蛋白分析仪测量 DNA 浓度和纯度, 在 1% 的琼脂糖凝胶电泳下检测 DNA 质量, 经检测合格的 DNA 模板于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 保存备用。采用由上海生工生物工程技术服务有限公司合成的 *Cytb* 通用引物扩增卷口鱼的 *Cytb* 基因, 其序列为 L14724 (5'-GACTTGAAAAACCAC-CGTTG-3') 和 H15915 (5'-CTCCGATCTCCGGAT-TACAAGAC-3')。

PCR 反应体系为 50.0 μL , 包括 2 \times Ex *Taq* Buffer 25 μL , 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的上、下游引物各 2 μL , 100 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ DNA 模板 2.0 μL , 用 ddH₂O 补至 50.0 μL 。PCR 程序为 94 $^\circ\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^\circ\text{C}$ 变性 45 s, 56.5 $^\circ\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 90 s, 共 35 次循环。

PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并将合格的 PCR 样品送深圳华大基因公司进行双向测序。

1.3 数据处理

序列采用 ClustalW 校对后, 由 SeqMan 程序拼接并去除两端不稳定部分; 采用 MEGA 4.1 软件

分析序列碱基含量及变异位点, 计算 Kimura 2-parameter 遗传距离, 并以大眼卷口鱼 (*P. macrops*) 为外类群, 构建单倍型的 NJ 系统树^[12]。单倍型及遗传多样性参数的计算用 DnsSP 5.10 软件^[13] 统计。采用 Arlequin 软件^[14] 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错配分布, 单倍型网络结构图用 network 4.0 软件^[15] 构建。

参考已校正的鲤科鱼类 *Cytb* 基因 0.76% 的进化速率 (*u*)^[16], 世代时长 (*t*) 为 2^[17-18], 根据公式 $\tau=2ut$ 计算西江水系卷口鱼群体的大约扩张时间。

2 结果

2.1 *Cytb* 基因序列组成

139 尾卷口鱼样品 *Cytb* 基因修饰后序列均为 1 053 bp, 碱基 T、C、A、G 的平均含量分别为 29.1%、27.7%、29.3%、13.9%, 其中 A+T (58.4%) 高于 C+G (41.6%), 表现出较强的少 G 偏倚性。在该编码序列使用的密码子中, T、C、A、G 在第 1、2、3 位点的平均含量差异很大, 其中 G 的平均含量变化最大, 在第 1、2、3 位点平均水平分别为 25.1%、12.8%、3.9%, 密码子的碱基使用频率存在明显的偏向性。

卷口鱼 *Cytb* 基因序列共编码 351 个氨基酸, 包含 20 种氨基酸, 其中亮氨酸的平均含量最高, 半胱氨酸最低。将卷口鱼种群 *Cytb* 核苷酸序列翻译成氨基酸序列, 检测出 6 个氨基酸变异位点, 其中有 5 个是由第 1 位密码子突变引起, 1 个由第 2 位密码子突变引起, 其他的核苷酸突变未引起氨基酸变异, 属同义突变。

2.2 *Cytb* 基因多态性

卷口鱼 *Cytb* 基因部分序列均未检测到插入或缺失位点, 变异位点共 22 个, 占总位点数的 2.09%, 其中有 15 个发生于第 3 位密码子, 6 个发生于第 1 位密码子, 1 个发生在第 2 位密码子上。22 个变异位点中有 21 个转换, 1 个颠换, 转换/颠换比 *R* 为 21, 简约信息位点共 10 个, 单一变异位点 12 个。在不同江段群体中, 红水河和右江群体发现变异位点最多均为 11 个, 左江群体发现变异位点最少, 仅 2 个。说明此基因序列突变未达到饱和状态, 受进化噪音的影响可能性较小 (表 1)。

139 个 *Cytb* 基因序列共定义 20 个单倍型 (Hap1~Hap20, GenBank 登录号 MN102000.1—MN102019.1), 其中 Hap3 为优势单倍型, 在所有群体中均有出现, 占总个体数的 39.57%; 其次为 Hap11, 除了红水河和西江外, 其余 4 个群体均有出现, 占总个体数的 22.30%。有 13 个单倍型为群体独享, 占总个体数的 9.35%。在调查的 6 个群体中, 平均单倍型多样性为 0.768 2, 平均核苷酸多样性为 0.002 3。红水河群体遗传多样性最高, 拥有 9 个单倍型, 单倍型多样性 (*h*) 为 0.748 7, 核苷酸多样性 (π) 为 0.003 3, 平均核苷酸差异 (*k*) 为 3.431 2; 其次为右江群体, 拥有 6 个单倍型, *h* 为 0.704 8, π 为 0.003 1, *k* 为 3.219 1; 最差为左江群体, 仅有 3 个单倍型, *h* 为 0.274 7, π 为 0.000 3, *k* 为 0.285 7 (表 1)。

2.3 群体间遗传距离与遗传变异

群体间遗传距离分析表明, 红水河与郁江群体间的遗传距离最远 (0.005 0), 最近为西江与柳江群体 (0.000 6)。群体内遗传距离 HSH>YOUJ>YUJ>XIJ>LIUJ>ZJ。6 个地理群体间的遗传分化系数为

表1 卷口鱼线粒体*Cytb*基因遗传多样性指数

Table 1 Genetic diversity parameters of *mtDNA Cytb* gene in six *P. jordani* populations

群体 Population	样品数 Number of samples	变异位点 Variable site	单倍型数目 Number of haplotype	单倍型多样性 Haplotype diversity (<i>h</i>)	平均核苷酸差异 Mean of nucleotide difference (<i>K</i>)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)
红水河 HSH	28	11	9	0.748 7	3.431 2	0.003 3
柳江 LIUJ	41	6	7	0.274 4	0.382 9	0.000 4
西江 XIJ	10	4	4	0.533 3	0.800 0	0.000 8
右江 YOUJ	15	11	6	0.704 8	3.219 1	0.003 1
郁江 YUJ	31	6	7	0.701 1	1.006 5	0.001 0
左江 ZJ	14	2	3	0.274 7	0.285 7	0.000 3
总计 Total	139	22	20	0.768 2	2.461 9	0.002 3

0.000 5~0.667 0, 除了左江与右江、柳江与西江群体间不存在显著的遗传分化外 ($P>0.05$), 其余各江段群体间均存在显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 的遗传分化。柳江与左江群体的遗传分化程度最大 (0.667 0), 与西江群体间的遗传分化程度最小 (0.000 5, 表 2)。6 个江段群体的遗传变异系数 $F_{ST}=0.4614$, 基因流 $N_m=0.0584$ 。总遗传变异中, 群体间变异占 46.14%, 显著小于群体内 (53.86%)。将 139 尾个体按分支分为 2 个群体, AMOVA 分析显示遗传变异系数 $F_{ST}=0.8609$, 总遗传变异中, 分支群体间变异占 86.08%, 显著大于各分支群体内变异 ($P<0.01$), 变异绝大部分来自分支间, 只有很小部分来自分支内。基因流 $N_m=0.0808$, 表明两分支间基因交流很低 (表 3)。

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

群体 Population	红水河 HSH	柳江 LIUJ	西江 XIJ	右江 YOUJ	郁江 YUJ	左江 ZJ
红水河 HSH	0.003 3	0.560 6**	0.396 1**	0.283 8*	0.580 3**	0.540 5**
柳江 LIUJ	0.003 8	0.000 4	0.000 5	0.375 2**	0.562 5**	0.667 0**
西江 XIJ	0.003 8	0.000 6	0.000 8	0.166 8*	0.422 9**	0.572 7**
右江 YOUJ	0.004 5	0.002 3	0.002 4	0.003 1	0.131 7*	0.092 1
郁江 YUJ	0.005 0	0.001 5	0.001 5	0.002 2	0.001 0	0.147 7**
左江 ZJ	0.004 5	0.001 0	0.001 1	0.001 9	0.000 8	0.000 3

注: 对角线为群体内遗传距离; 对角线左下方表示群体间遗传距离; 对角线右上方表示 F_{ST} ; *. $P<0.05$, 差异显著; **. $P<0.01$, 差异极显著; 下表同此

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}). *. $P<0.05$, difference is significant; **. $P<0.01$, difference is extremely significant. The same case in the following tables.

表3 群体间变异来源分析
Table 3 Analysis of variation sources among populations

	变异来源 Variation source	自由度 <i>df</i>	平方和 <i>SS</i>	方差组分 Variance component	变异百分率 Percentage of variation/%	统计量 Statistical magnitude (<i>F</i>)	基因流 Gene flow (N_m)
6个江段 Six populations	群体间	5	72.803	0.625 2Va	46.14	0.461 4**	0.583 6
	群体内	133	97.067	0.729 8Vb	53.86		
	总体	138	169.871	1.355 1			
2个分支 Two pedigrees	群体间	1	101.613	3.082 2Va	86.08	0.860 9**	0.080 8
	群体内	137	68.257	0.498 2Vb	13.92		
	总体	138	169.871	3.580 5			

2.4 单倍型系统树与网络结构

单倍型网络结构 (图 1) 和单倍型系统树 (图 2) 表现出较高的一致性。20 个单倍型主要分为两大支, 分支 II 以单倍型 Hap1 为中心, 此分支中 4 个单倍型均经过一步突变连于 Hap1, 由红水河群体近一半个体和右江群体的少数个体构成; 分支 I 又分为 2 个小分支, 分别为以 Hap3 为中心的小分支 I-1 和 Hap11 为中心的小分支 I-2, 小分支 I-1 包括红水河群体另一半个体、柳江大部分个体, 西江大部分个体以及右江、郁江和左江群体个别个

体; 小分支 I-2 包括柳江和西江群体个别个体、右江、郁江和左江群体大部分个体。分支 I 遗传距离为 0.002 4, 分支 II 遗传距离为 0.001 9, 两分支间遗传距离为 0.007 5, 分别是分支 I 和 II 的 3.19 和 3.96 倍, 未达到 10 倍。单倍型网络结构和单倍型的 NJ 系统树拓扑结构显示不同地理群体个体来源的单倍型混杂分布, 未能观察到明显的地理聚群。

2.5 群体动态分析

Fu's F_s 检验支持卷口鱼群体经历过种群扩张 (Fu's $F_s=-6.5725$, $P=0.0220$), 而 Tajima's D 检验

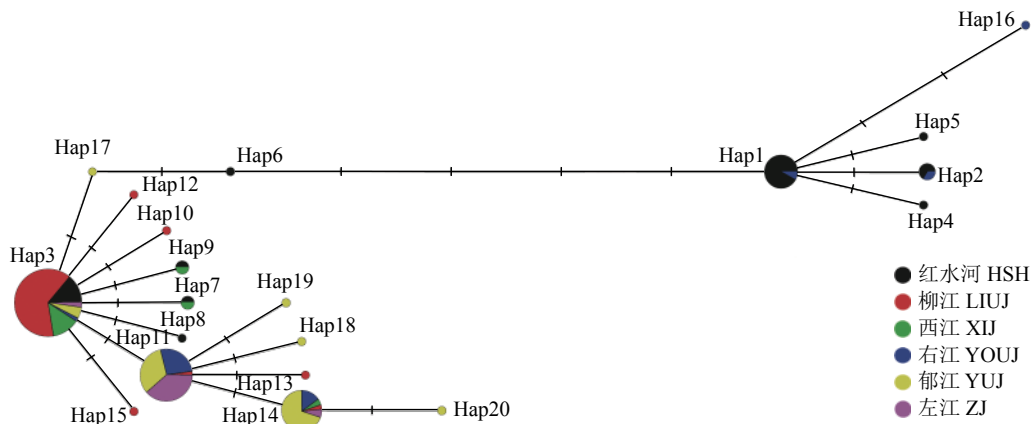


图1 卷口鱼单倍型网络结构图

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比例

Figure 1 Haplotype network structure of *P. jordani*

The circle portion represents the frequencies of haplotype and the colored portion represents the percentage of haplotype of each population.

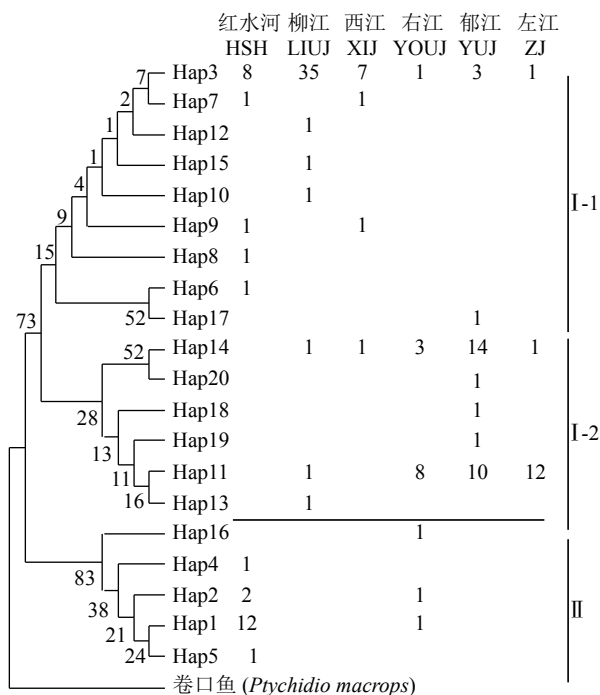


图2 卷口鱼NJ单倍型系统树

Figure 2 Haplotype system tree of *P. jordani*

则未检测到种群扩张 (Tajima's $D = -1.0828$, $P = 0.1130$)。核苷酸错配分布图表明，除了红水河与右江群体外，其余江段群体可能都经历了种群扩张事件 (表 4, 图 3)。推算出西江流域广西境内各江段卷口鱼发生种群扩张时间为 0.070~0.187 Ma。

3 讨论

3.1 *Cytb* 基因结构

测序结果表明，卷口鱼 *Cytb* 基因的序列全长

为 1 053 bp，略长于范凤娟等^[8]对珠江水系 43 尾卷口鱼所测的 *Cytb* 基因 (1 041 bp)。其中 4 种碱基 T、C、A、G 的平均含量分别为 29.1%、27.7%、29.3%、13.9%，A+T (58.4%) 高于 C+G (41.6%)，表现出较强的少 G 偏倚性。这与已报道的其他鱼类 *Cytb* 基因碱基比例类似，如黄河裸裂尻鱼 (*Schizopygopsis pylzovi*) G 碱基含量为 17.0%^[19]，滁州鲫 (*Carassius auratus gibelio*) G 碱基含量为 14.5%^[20]。卷口鱼 *Cytb* 基因部分序列均未检测到插入或缺失位点，22 个变异位点中有 21 个为转换，1 个为颠换，转颠换比 R 为 21。Wolstenhome 和 Clary^[21]认为，转颠换的偏倚性可能与序列间的差异存在着一定的相关性，即转颠换的比率与物种从共同祖先进化的时间成反比，由此可以推断西江流域的卷口鱼有效种群是在近期由单一、少数的种群建立的。

3.2 遗传多样性分析

单倍型多样性和核苷酸多样性是评估物种遗传多样性的 2 个重要参数^[22-23]。本研究中基于 *Cytb* 基因序列对西江流域广西境内 6 个地理群体的卷口鱼遗传多样性进行分析，结果得到的平均单倍型多样性为 0.7682，平均核苷酸多样性为 0.0023，表现出高单倍型多样性、低核苷酸多样性的特点 (表 1)。与以 *Cytb* 基因为分子标记的同一流域的其他鱼类相比，该结果高于青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 群体 ($h = 0.58333$, $\pi = 0.00159$)^[24] 和草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 群体 ($h = 0.706$, $\pi = 0.00104$)^[25]，这可能是由于西江流域广西境内大部分河段水文条件适宜卷口鱼繁殖而不适宜青鱼、草

表4 卷口鱼*Cytb*基因Tajima's *D*和Fu's *F_s*检验
Table 4 Tajima's *D* and Fu's *F_s* test of *P. jordani Cytb* gene

群体 Population	Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>	Hri	SSD	Tau	扩张时间 Expansion of time/Ma
红水河 HSH	0.698 8	-0.376 2	0.107 0	0.073 9	7.515 6	-
柳江 LIUJ	-1.929 4**	-6.220 1**	0.319 0	0.002 3	3.000 0	0.187 4
西江 XIJ	-1.667 1*	-1.344 6*	0.061 7	0.000 8	1.158 2	0.072 4
右江 YOUJ	-0.186 8	0.452 7	0.091 0	0.060 9	9.308 6	-
郁江 YUJ	-0.933 8	-2.663 0*	0.105 9	0.008 4	1.123 1	0.070 2
左江 ZJ	-1.480 7	-1.475 3*	0.277 0	0.005 9	3.000 0	0.187 4
总计 Total	-1.082 8	-6.572 5*	0.054 2	0.026 2**	1.308 6	0.081 8

鱼繁殖所造成。此外，其略低于上层杂食性鱼类赤眼鳟 (*Spualiobarbus curriculus*) 群体 ($h=0.882, \pi=0.002\ 76$)^[26] 和鲮 (*Cirrhinus molitorella*) 群体 ($h=0.826, \pi=0.003\ 32$)^[27]，远低于外来物种翘嘴鲇 (*Culter alburnus*) 群体 ($h=0.873\ 57, \pi=0.009\ 0$)^[28]。赤眼鳟、鲮均为杂食性鱼类，并且其游泳速度较快、活动范围广，更有利于食物的获得及躲避敌害；而翘嘴鲇为外来物种，缺乏能有效限制其种群发展的天敌，并且江河鱼类小型化趋势日益严重，为其食物的摄入提供了更加有利的条件，这可能是其群体遗传多样性的保存较卷口鱼好的原因之一。鱼类的遗传多样性与其能否自然繁殖、食性广谱、生态位、物种进化地位等息息相关^[29]，通过与该流域其他鱼类 *Cytb* 研究结果的比较也验证了这一点。范凤娟等^[8]对柳江 (柳州)、红水河 (合山) 的卷口鱼 *Cytb* 基因遗传多样性进行分析，得出柳江群体 $h=0.583\ 0, \pi=0.000\ 6$ ；红水河群体 $h=0.396\ 0, \pi=0.000\ 4$ ；高于本研究的柳江群体 ($h=0.274\ 4, \pi=0.000\ 4$) 而低于红水河群体 ($h=0.748\ 7, \pi=0.003\ 3$)，柳江群体遗传多样性仍在下降，红水河群体遗传多样性有所回升。

3.3 遗传变异分析

单倍型之间的遗传距离是衡量一个物种或群体的 mtDNA 变异程度的重要指标，是评价群体间遗传变异程度的可靠参数，遗传距离越大表明群体间亲缘关系越远^[30]。本研究中 6 个卷口鱼群体间遗传距离为 0.000 6~0.005 0，各群体内的遗传距离为 0.000 3~0.003 3，遗传距离较小，且群体间遗传距离与群体内遗传距离无明显差异，说明西江流域的 6 个卷口鱼群体间有较近的亲缘关系 (表 2)。单

倍型 NJ 树和单倍型网络图显示，卷口鱼群体间存在明显的分支结构，分支 II 以单倍型 Hap1 为中心，由红水河群体近一半个体和右江群体的少数个体构成；其余个体构成以 Hap3 为中心的分支 I，未能观察到明显的地理聚群 (图 1)。Hebert 等^[31]提出种间遗传距离超过种内遗传距离 10 倍以上可能有种化趋势，本研究中两分支存在显著较高的遗传分化，但两分支间与两分支内的遗传距离及比值均远低于 10，表明两分支未达到种或亚种分化，因此认为西江流域广西境内的卷口鱼仍属于 1 个种群。

群体遗传学认为， F_{ST} 是测量群体间遗传分化的重要参数，不同的 F_{ST} 代表不同程度的分化： $F_{ST}<0.05$ ，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^[32-33]。本研究中 6 个卷口鱼地理群体间的遗传分化系数介于 0.000 5~0.667 0，左江与柳江群体间的遗传分化程度最大，柳江与西江群体间的遗传分化程度最小 (表 2)。两两江段群体间的遗传分化值显示，除了左江与右江群体、柳江与西江群体间不存在显著的遗传分化外 ($P>0.05$)，其余各江段群体间均存在显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 的遗传分化，特别是红水河群体与其他群体间均存在显著的遗传分化，这可能是卷口鱼的定居性与水坝阻隔群体间基因交流造成的。红水河自上而下分布着岩滩、大化、白龙滩、乐滩等多个梯级水电站，造成了一定的地理隔绝从而阻碍群体间的基因交流，也是导致其与其他群体遗传分化较大的最直接原因^[34]。有学者调查发现，黄渤海细条天竺鲷 (*Apogonichthys lineatus*) 种群无显著的遗传分化

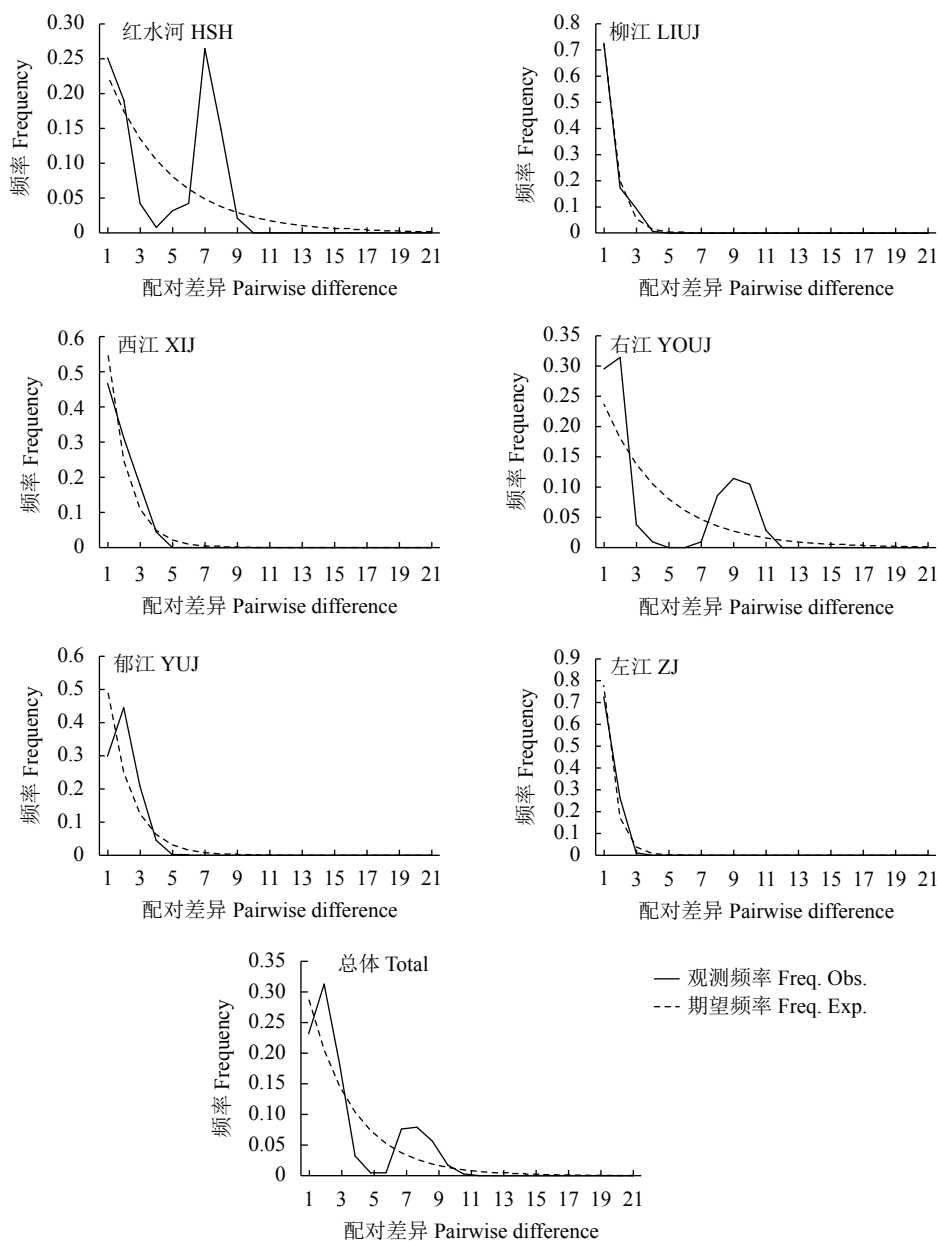


图3 卷口鱼核苷酸错配分布图

Figure 3 Nucleotide mismatch profile of *P. jordani*

(F_{ST} 介于 0.015~0.067)^[35], 南海海域短尾大眼鲷 (*Priacanthus macracanthus*) 种群遗传分化程度较低 ($F_{ST}=0.012$)^[36]。一般认为, 近海鱼类由于洄游与洋流作用, 几乎不存在地理阻隔, 因此具有较小的遗传分化; 而地理阻隔对鱼类的遗传分化具有一定的促进作用, 如皖南山区由于地形复杂, 水域生境零星分布, 栖息于其中的温州光唇鱼 (*Acrossocheilus wenchowensis*) 种群由于存在地理阻隔, 群体间具有极显著的遗传分化 (F_{ST} 介于 0.291 6~0.978 2)^[37]。综上, 空间距离与地理阻隔对鱼类的遗传分化具有一定的促进作用。

3.4 种群动态

应用 Tajima's D 与 Fu's F_s 中性检验推测种群历史时, 如果 Tajima's D 与 Fu's F_s 均呈负值, 且达到显著差异 ($P<0.05$), 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历史^[38]。本研究 6 个江段的卷口鱼群体整体 Fu's F_s 和 Tajima's D 均为负值, 其中 Fu's F_s 检验显著偏离中性 ($P<0.05$), 而 Tajima's D 为不显著 ($P>0.05$), 但在相同条件下, Fu's F_s 检验对种群扩张事件更为敏感, 并且其核苷酸错配分布图呈现为一条不完整平滑曲线, 且只

有一个明显单峰,说明卷口鱼总种群经历过种群扩张事件(表4,图3)。就各江段而言,除红水河与右江群体外,其余江段的 F_u 's F_s 为显著负值($P < 0.05$),且核苷酸错配分布图为单峰,以上结果都预示着后者经历了种群扩张事件,扩张时间大约在 0.070~0.187 Ma,该时期处于更新世中晚期。有调查显示,我国华南地区在中更新世期间(0.786~0.126 Ma)经历了多次冰期,当时气候变冷、海平面下降、食物紧缺,不利于生物的生存繁衍^[39]。冰期褪去后的间冰期,即后更新世期间(0.126~0.018 Ma),气候回暖,营养物质丰富,大大促进了物种的种群扩张^[40]。因此,更新世冰期与间冰期循环导致的气候波动可能是影响西江流域卷口鱼种群动态历史的原因之一。

综上所述,基于线粒体 *Cytb* 基因序列对西江流域广西境内的卷口鱼遗传多样性分析发现,总群体的分化程度较大,但仍属于一个种群,柳江和左江群体遗传多样性较低。与历史资料相比,柳江群体遗传多样性仍在下降,红水河群体遗传多样性有所回升。其中空间距离与地理阻隔对卷口鱼的遗传分化具有一定的促进作用。

参考文献:

- [1] 任海,王俊,陆宏芳.恢复生态学的理论与研究进展[J].生态学报,2014,34(15): 4117-4124.
- [2] 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[J].中国海洋大学学报,2018,48(8): 20-26.
- [3] 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[J].中国水产科学,2003,10(3): 177-183.
- [4] RYMAN N, UTTER F. Population genetics and fishery management [M]. Washington: University of Washington Press, 1987: 1-420.
- [5] 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[J].中山大学学报(自然科学版),2016,55(3): 89-96.
- [6] 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[J].水产学报,2006,30(3): 305-310.
- [7] ZHU X P, ZHAO J, CHEN K C, et al. Genetic analysis of rat-mouth barbell (*Ptychidio jordani* Myers) from different geographic sub-populations in the Pearl River Basin using microsatellite markers[J]. J Appl Ichthyol, 2009, 25(2): 148-152.
- [8] 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[J].广东农业科学,2010,46(4): 161-164.
- [9] 郭新红.不同倍性鱼类 mtDNA 及三倍体湘云鲫 *Sox* 基因研究[D].长沙:湖南师范大学,2004: 1-15.
- [10] 胡静,侯新远,尹绍武,等.基于 mtDNA *COI* 和 *Cytb* 基因序列对南中国海不同海域波纹唇鱼群体遗传多样性的研究[J].水生生物学报,2014,38(6): 1008-1016.
- [11] 彭敏,陈秀荔,蒋伟明,等.醋酸铵法提取卵形鲳鲹基因组 DNA[J].天津农业科学,2011,17(1): 114-117.
- [12] 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[J].遗传,2013,35(12): 1391-1402.
- [13] LIBRADO P, ROZASS J. Dnasp v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Brief Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [14] EXCOFFIER L, LISCHE H. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analysis under Linux and Windows[J]. Mol Ecol Resour, 2010, 10(3): 564-567.
- [15] BANDELTH H J, FORSTER P, RÖHL A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Mol Biol Evol, 1999, 16(1): 37-48.
- [16] 杨天燕,孟玮,海萨,等.基于线粒体 *Cytb* 序列对新疆额尔齐斯河贝加尔雅罗鱼遗传结构的分析[J].动物学杂志,2017,52(2): 304-313.
- [17] 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[J].水产学报,2007,31(6): 721-725.
- [18] 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[J].水产学报,2001,10(1): 71-86.
- [19] 夏云.不同地理种群黄河裸裂尻鱼遗传多样性研究[D].武汉:武汉轻工大学,2017,14-15.
- [20] 胡玉婷,胡王,凌俊,等.滁州鲫线粒体细胞色素 *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.
- [21] WOLSTENHOME D R, CLARY D O. Sequence evolution of *Drosophila* mitochondrial DNA[J]. Genetics, 1985, 109(4): 725-744.
- [22] VRIJENHOEK R C. Genetic diversity and fitness in small populations[J]. Conserv Genet, 1994, 68: 37-53.
- [23] 李大命,李康,张彤晴,等.洪泽湖大银鱼 (*Protosalanx hyalocranius*) *Cytb* 和 *COI* 基因序列多态性分析[J].渔业科学进展,2017,38(6): 25-31.
- [24] 付晓艳.长江和珠江水系青鱼线粒体细胞色素 *b* 基因遗传多样性分析[D].广州:暨南大学,2011: 17-26.
- [25] 朱叶.基于线粒体细胞色素 *b* 的 3 江水系草鱼群体遗传多样性分析[D].广州:暨南大学,2012: 38-42.
- [26] 陈方灿.西江赤眼鳟群体多样性研究[D].上海:上海海洋大学,2015,31-33.
- [27] 陈德荫.中国南方野生鲮鱼 (*Cirrhinus molitorella*) 遗传多样性研究[D].广州:暨南大学,2013: 36-39.
- [28] 杨子拓.珠江流域三种鲃亚科鱼类的遗传结构及遗传多样性分析[D].广州:华南农业大学,2016: 93-107.
- [29] HAMRICK J L, GODT M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. Philos Trans R Soc Lond B, 1996, 351(1345): 1291-1298.

- [30] 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 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 2015, 54(5): 102-108.
- [31] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proc Royal Soc B, 2003, 270(1512): 313-321.
- [32] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations, volume 4: variability within and among natural populations[M]. Int Biometric Soc, 1979, 8-108
- [33] 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 [J]. 海洋科学进展, 2017, 35(4): 524-534.
- [34] 王崇, 慈雪莹, 常秀岭, 等. 红水河流域梯级水库夏季浮游植物群落结构特征 [J]. 水生态学杂志, 2014, 35(6): 75-80.
- [35] 方润东, 宋娜, 周永东, 等. 细条天竺鲷群体线粒体 DNA 控制区序列比较分析 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2019, 61(6): 30-36.
- [36] 熊丹. 南海短尾大眼鲷 (*Priacanthus macracanthus*) 种群判别分析 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2015:17-21.
- [37] 胡玉婷, 江河, 段国庆, 等. 基于线粒体 *Cytb* 基因的皖南山区温州光唇鱼种群遗传结构 [J]. 中国农学通报, 2017, 33(32): 121-126.
- [38] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [39] GASCOYNE M, BENJAMIN G J, SCHWARTZ H R. Sea-level lowering during the illinoian glaciation: evidence from a Bahama "Blue Hole"[J]. Science, 1979, 205(4408): 806-808.
- [40] 杨计平, 李策, 陈蔚涛, 等. 西江中下游鲮的遗传多样性与种群动态历史 [J]. 生物多样性, 2018, 26(12): 1289-1295.