

朱传坤,潘正军,常国亮,等. 基于线粒体 DNA 标记对 3 个华鲮群体的遗传结构分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(5):50-56.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.05.010

基于线粒体 DNA 标记对 3 个华鲮群体的遗传结构分析

朱传坤¹, 潘正军¹, 常国亮¹, 吴楠¹, 王辉¹, 丁怀宇¹, 强晓刚², 余祥胜²

(1. 淮阴师范学院生命科学学院/江苏省水产繁育工程实验室/江苏省区域现代农业与环境保护协同创新中心, 江苏淮安 223300;

2. 江苏省淮安市水产技术指导站, 江苏淮安 223001)

摘要: 华鲮 (*Sarcocheilichthys sinensis*) 是一种兼具食用和观赏价值的小型鲤科鱼类。采用 *Cytb* 和 *D-loop* 2 个线粒体 DNA 序列对洪泽湖、千岛湖和西湖 3 个群体的 45 尾华鲮样本进行了遗传变异与遗传结构分析。结果显示, 在长度为 404 bp 的 *Cytb* 序列中, 共检测出变异位点 22 个 (5.4%), 定义了 10 种单倍型; 在 998 bp 的 *D-loop* 序列中, 变异位点有 40 个 (4.0%), 构成了 7 种单倍型。2 个标记在华鲮群体中的平均单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸差异数分别为 0.840 ± 0.033 、 0.012 ± 0.002 、 4.759 ± 1.660 (*Cytb*) 和 0.755 ± 0.036 、 0.006 ± 0.002 、 6.430 ± 2.241 (*D-loop*), 表现了较高的遗传多态性。遗传多样性大小顺序为洪泽湖 > 西湖 > 千岛湖, 3 个群体间基因交流较少, 表现出极大的遗传分化, 此外, 分子变异分析结果表明华鲮变异的主要来源为群体内变异。本研究结果将了解我国东部地区华鲮的遗传多样性现状提供基础资料, 同时为华鲮种质资源保护与合理利用提供参考。

关键词: 华鲮; 线粒体 DNA; *Cytb*; *D-loop*; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号: S917.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)05-0050-07

华鲮 (*Sarcocheilichthys sinensis* Bleeker), 俗称鲮、石鲮、花石鲮、山鲮鱼、山鲮子等, 隶属于鲤科 (Cyprinidae)、鲮亚科 (Gobioninae)、鲮属 (*Sarcocheilichthys*)^[1-2], 广泛分布于我国平原地区大部分江河、湖泊及其附属水体中^[2]。华鲮不仅可食部分含有率高, 肌肉蛋白质含量高, 且其风味氨基酸和不饱和脂肪酸含量丰富, 必需氨基酸含量均衡, 是一种高蛋白、低脂肪、低能量、味道鲜美的优质食用鱼类^[3]。此外, 因其色泽鲜亮、体型小、易饲养等优点, 也具有较高的观赏价值, 深受观赏鱼爱好者喜爱^[4-5]。

一直以来, 华鲮被视为野杂鱼类, 并未引起重视, 然而随着大型经济鱼类资源的日渐匮乏, 包括华鲮在内的小型鱼类已成为人们的主要捕捞对象^[6]。近年来, 由于捕捞强度增加, 水体污染, 以及

人类活动造成的栖息地破坏, 华鲮野生资源量锐减^[7-8]。目前, 人们逐渐认识到了这种小型鱼类的经济价值, 并开展了一系列关于其人工驯化^[8]、繁殖生物学^[9]、人工繁殖^[4,10]、生长^[5]及胚胎发育^[10]等研究工作。然而, 关于华鲮遗传学及基因组学的研究非常有限^[11-13], 而针对其群体遗传结构分析的研究尚未见报道。因此, 本研究拟利用 *Cytb* 和 *D-loop* 2 个线粒体 DNA 标记对我国东部地区 3 个华鲮野生群体的遗传结构进行分析, 以了解该地区华鲮自然资源遗传多样性现状, 并为今后华鲮种质资源保护及优良苗种人工繁育提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集及 DNA 提取

课题组于 2015 年 4 月至 2017 年 8 月在洪泽湖 (江苏省淮安市淮阴区韩桥乡)、千岛湖 (浙江省杭州市淳安县富溪乡) 和西湖 (浙江省杭州市西湖里湖) 3 个采样点各采集华鲮样本 15 尾。剪取每尾个体的尾鳍组织后浸泡于无水乙醇中, 并于 4℃ 冰箱中保存备用。采用传统的苯酚-氯仿法对各样本基因组 DNA 进行抽提, DNA 质量采用 Nanodrop 2000 微量紫外分光光度计进行检测。

收稿日期: 2019-02-14

基金项目: 江苏省高校自然科学基金面上项目 (编号: 15KJB240001); 淮阴师范学院博士科研启动项目 (编号: 31ZCK00)。

作者简介: 朱传坤 (1984—), 男, 山东临沂人, 博士, 副教授, 主要从事鱼类基因组学与分子标记辅助育种研究。E-mail: zhuchuan@hytc.edu.cn。

1.2 线粒体 DNA 片段扩增与测序

本研究选取了线粒体细胞色素 b 基因 (*Cytb*) 和控制区 (*D-loop*) 的部分片段作为遗传标记进行分析。2 片段的扩增引物均参考已发表的鲤科鱼类通用引物,其中 *Cytb* 引物序列为 F:5′-GACTTGAAAA ACCACCGTTG-3′,R:5′-CCTCAGAAGGATATTTG TCCTC-3′^[14]; *D-loop* 引物序列为 F:5′-CATCTT AGCATCTTCAGTG-3′,R:5′-TCACCCCTGGCTCC CAAAGC-3′^[15]。

PCR 扩增体系总体积为 50 μL,其中包含 10 × reaction buffer 5 μL, *Taq* DNA 聚合酶 4 U(大连宝生物), dNTP(2.5 mmol/L)1.6 μL,上下游引物混合液 (2.5 μmol/L)1.6 μL, DNA 模板 80 ~ 200 ng,灭菌超纯水 36.5 μL。PCR 反应在 BioRad 公司的 T-100 型 PCR 仪中进行,PCR 反应程序为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 45 s,52 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 1 min,运行 37 个循环;72 ℃ 终延伸 20 min。PCR 产物通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后,利用回收试剂盒 Gel Extraction Kit(北京康为世纪)对目的片段进行回收和纯化,纯化后的产物送往武汉艾康健生物科技有限公司,利用 ABI3730 测序平台进行测序。

1.3 数据分析

测序所得序列利用 Finch TV 1.5 软件进行查看及人工矫正,之后将序列保存为 fasta 格式,并利用 Clustal X 1.83 软件^[16]进行比对分析。比对分析完成后将比对结果中 5′端和 3′端参差不齐的序列删除,使各序列具有相同的长度。后利用 DnaSP 4.50.3 软件^[17]分析 *Cytb* 和 *D-loop* 序列中的多态性核苷酸位点、平均核苷酸差异数(*K*)、核苷酸多态性参数(π)、单倍型个数、单倍型多态性(H_d)及平均基因流(N_m),此外,利用软件中的 Tajima’s D 和 Fu’s F_s 检测法进行中性检测。

在 Mega 4.0 软件^[18]中,利用 Kimura 2-parameter 遗传距离构建单倍型间的 Neighbor-Joining (N-J)进化树,bootstrap 值设置为 1 000,并利用江西鳊 (*Sarcocheilichthys kiangsienensis*) 中相应同源序列作为外类群,GenBank 号分别为 AY952984.1 (*Cytb*)和 KY779851.1 (*D-loop*)。为分析群体间的遗传差异和遗传距离,利用 Arlequin 3.11 软件^[19]进行分子变异分析(AMOVA)和固定系数(F_{st})计算。此外,利用 IBDWS 3.23 软件(<http://ibdws.sdsu.edu>)中的 Mantel 检测法对各群体遗传距离和地理距离间的关联性进行分析,参数设置均取默认值。

2 结果

2.1 华鳊 *Cytb* 序列变异与群体遗传结构分析

华鳊 *Cytb* 基因共测序获得全长 404 bp 的有效序列,片段中 A、T、G、C 4 种核苷酸的比例分别为 27.5%、28.9%、17.0% 和 26.6%, A + T 含量 (56.4%) 明显高于 G + C 含量 (43.6%)。由表 1 可知,在 *Cytb* 序列 404 个位点中共检测出变异位点 22 个 (5.4%),其中单突变位点 2 个,简约信息位点 20 个,这些变异位点共构成了 10 种单倍型,分别命名为 c-Hap1 ~ c-Hap10,其中除 c-Hap3、c-Hap4 和 c-Hap10 为 2 个群体所共有之外,其余单倍型均为群体特有类型。由表 2 可知,未检测到 3 个群体共有的单倍型。在 10 个单倍型中 c-Hap4 所占比例最高,为优势类型 (31.8%),其次为 c-Hap8 (15.9%),而 c-Hap1、c-Hap5、c-Hap6 和 c-Hap7 均只在 1 个个体中检测到。

单倍型间的 N-J 树(图 1)显示,10 个单倍型共分成 3 大分支,其中 c-Hap10 单独聚为 1 支, c-Hap1 和 c-Hap2 聚为 1 支,剩余的 7 个单倍型聚为 1 支。

表 1 华鳊 *Cytb* 序列单倍型的变异位点分布

单倍型	核苷酸变异位点(从 5'端起)																					GenBank 号	
	14	17	21	32	53	143	152	164	167	188	224	272	275	278	285	302	308	311	317	353	380		392
c-Hap1	C	C	C	C	C	T	G	C	C	C	G	C	C	C	G	C	G	T	T	G	A	G	MK076990
c-Hap2	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	MK076991
c-Hap3	T	*	*	T	T	C	*	T	*	*	*	T	T	T	*	*	*	C	C	A	*	A	MK076992
c-Hap4	T	*	*	*	T	C	*	T	*	*	*	T	T	T	*	*	*	C	C	A	*	A	MK076993
c-Hap5	T	T	*	*	T	C	*	T	*	*	*	T	T	T	*	*	*	C	C	A	*	A	MK076994
c-Hap6	T	*	T	*	*	C	*	T	*	*	*	T	T	T	A	*	*	C	C	A	*	A	MK076995
c-Hap7	T	*	*	*	T	C	*	T	*	*	*	T	T	T	A	*	*	C	C	A	*	A	MK076996
c-Hap8	T	*	*	*	*	C	*	T	*	*	*	T	T	T	*	*	A	C	C	A	*	A	MK076997
c-Hap9	T	*	*	*	*	C	*	T	T	*	*	T	T	T	*	*	A	C	C	A	*	A	MK076998
c-Hap10	T	T	*	*	*	C	A	*	T	T	A	T	*	*	*	T	*	C	*	A	G	A	MK076999

表 2 3 个华鯪群体 *Cytb* 序列单倍型分布情况

单倍型	洪泽湖	千岛湖	西湖	合计	百分比(%)
c-Hap1	1			1	2.3
c-Hap2	4			4	9.1
c-Hap3		1	5	6	13.6
c-Hap4	7		7	14	31.8
c-Hap5	1			1	2.3
c-Hap6		1		1	2.3
c-Hap7			1	1	2.3
c-Hap8		7		7	15.9
c-Hap9		6		6	13.6
c-Hap10	2		1	3	6.8
优势单倍型(百分比)	c-Hap4(46.7%)	c-Hap8(46.7%)	c-Hap4(50%)	44	—

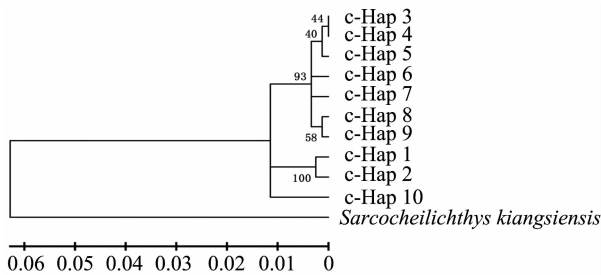


图1 华鯪 *Cytb* 序列单倍型间的 N-J 系统发生树

群体遗传(表 3)表明,3 个群体间平均 H_d 、 K 和 π 分别为 0.840 ± 0.033 、 4.759 ± 1.660 和 0.012 ± 0.002 ,其中洪泽湖群体各项遗传参数在 3 个群体中

均最高,而千岛湖群体的则均最低,3 个群体中,洪泽湖群体的单倍型数目最多,其他 2 个群体数目相同。而由表 2 可知,10 个单倍型中未发现 3 个群体共有类型,洪泽湖与千岛湖群体间也无共有类型,而 c-Hap4 和 c-Hap10 为洪泽湖和西湖群体共有类型,c-Hap3 为千岛湖和西湖群体的共有类型;3 个群体的优势单倍型除千岛湖群体为 c-Hap8(46.7%)外,其他 2 个群体中均为 c-Hap4;此外,各群体特有单倍型较多,其中 c-Hap1、c-Hap2 和 c-Hap5 为洪泽湖群体特有单倍型,c-Hap6、c-Hap8 和 c-Hap9 为千岛湖群体特有类型,c-Hap7 为西湖群体特有单倍型。

表 3 基于 *Cytb* 序列所得 3 个华鯪群体的遗传多样性参数

群体	样本数	单倍型数	单倍型多样性	平均核苷酸差异数	核苷酸多样性
洪泽湖	15	5	0.733 ± 0.089	7.010 ± 2.670	0.017 ± 0.003
千岛湖	15	4	0.657 ± 0.080	1.295 ± 0.493	0.003 ± 0.001
西湖	14	4	0.659 ± 0.090	2.352 ± 0.904	0.006 ± 0.003
总数	44	10	—	—	—
平均	—	—	0.840 ± 0.033	4.759 ± 1.660	0.012 ± 0.002

3 个群体间的遗传分化系数 F_{st} 结果(表 4)表明,千岛湖群体和西湖群体间的 F_{st} 值最大,为 0.472 7,而西湖和洪泽湖群体间的 F_{st} 值最小,为 0.199 0。基因流数据也表明西湖和洪泽湖群体间的基因交流最多,而千岛湖群体和西湖群体的基因交流最少,因而导致了不同的遗传分化程度。分子变异分析结果(表 5)显示,在总体遗传变异中,群体间的变异占 32.53%,其余 67.47% 为群体内变异,总体遗传分化系数 $F_{st}=0.325 4(P<0.05)$,说明群体内变异为主要变异来源。对 3 个华鯪群体进行了中性检验,其中 Tajima's D 值为 $-0.616 3(P>0.05)$,Fu's F_s 值为 $2.078 4(P>0.05)$,该结果说明华鯪在这 3 个湖泊中未经历种群快速爆发或扩张事

表 4 3 个华鯪群体基于 *Cytb* 序列的遗传分化系数(对角线下)和基因流(对角线上)

群体	洪泽湖	千岛湖	西湖
洪泽湖	*	0.888 6	2.012 9
千岛湖	0.360 1	*	0.557 7
西湖	0.199 0	0.472 7	*

表 5 基于 *Cytb* 序列的 3 个华鯪群体间遗传差异的分子方差分析

变异来源	自由度(df)	平方和	平方组分	方差比例(%)
群体间	2	28.899	0.863 55	32.53
群体内	41	73.419	1.790 71	67.47
总变异	43	102.318	2.654 26	
F_{st}		$0.325 4(P<0.05)$		

件。Mantel 检测结果显示,各群体遗传距离和地理距离间无显著关联性($P>0.05$)。

2.2 华鲮 *D-loop* 序列变异与群体遗传结构分析

由表 6 可知,*D-loop* 共获得有效序列长度 998 bp, A、T、G、C 4 种核苷酸的比例分别为 31.6%、35.7%、19.9% 和 12.8%, A + T 的含量 (67.3%) 显著高于 G + C 的含量 (32.7%), 碱基组成偏倚性明显。遗传多样性分析结果显示, 序列中共检测出变异位点 40 个 (4.0%), 其中 4 个为插入/缺失位点, 1 个为单突变位点, 35 个为简约信息位点, 这些多态位点共构成单倍型 7 个, 分别命名为 d-Hap1 ~ d-Hap7。由表 7 可知, 未发现 3 个群体共有的单倍型, 除 d-Hap1 和 d-Hap2 为 2 个群体共有类型之外, 其余均为群体特有单倍型, 在 7 个单倍型中, d-Hap1 所占比例最高, 为优势类型 (36.4%), 其次为 d-Hap3 (31.8%), 而 d-Hap4 和 d-Hap6 均仅存在于 1 个个体中。

由图 2 可知, 7 个单倍型的 N-J 树共包含 3 个主要分支, 其中 d-Hap5 单独 1 支, d-Hap6 和 d-Hap7 聚为 1 支, d-Hap1、d-Hap2、d-Hap3 和 d-Hap4 聚为 1 支。

利用 *D-loop* 对 3 个华鲮群体的遗传分析结果 (表 8) 显示, H_d 、 K 和 π 平均值分别为 0.755 ± 0.036 、 6.430 ± 2.241 和 0.006 ± 0.002 , 与基于 *Cytb* 序列的分析结果类似, 洪泽湖群体的各项遗传参数仍为 3 个群体中最高, 而千岛湖群体由于只检测出 1 个单倍型, 即 d-Hap1, 因此各项遗传多样性参数均为 0, 在 3 个群体中最低。而由表 7 结果可知, 洪泽湖群体中除 d-Hap3 外, 其他 6 种单倍型均包含, 而千岛湖群体和西湖群体则分别只包含 1 个和 2 个单倍型。与 *Cytb* 序列分析结果不同的是, 3 个群体的优势单倍型各不相同: 在洪泽湖群体中为 d-Hap2 (46.7%), 千岛湖群体中为 d-Hap1 (100%), 西湖群体中为 d-Hap3 (93.3%)。特有单倍型方面, 洪泽湖群体中有 d-Hap4、d-Hap5、d-Hap6 和 d-Hap7, 西湖群体中为 d-Hap3, 而千岛湖群体中无特有类型。

由表 9 可知, 与 *Cytb* 序列的分析结果一致, 千岛湖和西湖群体间的 F_{st} 值最大, 为 0.903 2, 而西湖和洪泽湖群体间的 F_{st} 值最小, 为 0.292 6, 基因流数据也显示西湖和洪泽湖群体间的基因交流最多, 而千岛湖群体和西湖群体的基因交流最少。AMOVA 分析结果 (表 10) 表明, 群体间的变异占总体遗传变

表 6 华鲮 *D-loop* 序列单倍型的变异位点分布

单倍型	核苷酸变异位点 (从5'端起)																																				GenBank 登录号	
	39	44	49	51	54	71	87	94	97	258	288	306	339	350	357	359	360	567	645	651	684	701	729	733	776	777	778	828	835	842	859	878	880	882	902	922		
d - Hap1	T	T	T	T	G	G	C	T	T	T	T	G	C	T	A	C	T	C	A	T	A	C	A	A	A	T	A	T	C	A	G	T	A	C	T	MK076983		
d - Hap2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	*	T	*	MK076984
d - Hap3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	MK076985
d - Hap4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	C	*	*	G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	MK076986
d - Hap5	*	*	*	*	*	*	G	A	*	G	A	*	C	T	A	C	T	*	*	G	G	T	T	*	*	*	*	*	*	*	T	G	A	*	A	T	C	MK076987
d - Hap6	C	C	C	A	A	A	*	*	A	G	G	*	T	*	*	*	*	*	*	C	*	*	*	T	T	A	T	C	T	*	A	G	*	T	C	MK076988		
d - Hap7	C	C	C	*	A	A	*	*	A	G	G	*	T	*	*	*	*	*	*	C	*	*	*	T	T	A	T	C	T	*	A	G	*	T	C	MK076989		

表 7 3 个华鯪群体 *D-loop* 序列单倍型分布情况

单倍型	洪泽湖	千岛湖	西湖	总数	比例(%)
d-Hap1	1	15		16	36.4
d-Hap2	7		1	8	18.2
d-Hap3			14	14	31.8
d-Hap4	1			1	2.3
d-Hap5	2			2	4.5
d-Hap6	1			1	2.3
d-Hap7	3			3	6.8
优势单倍型(百分比)	d-Hap2(46.7%)	d-Hap1(100%)	d-Hap3(93.3%)	45	—

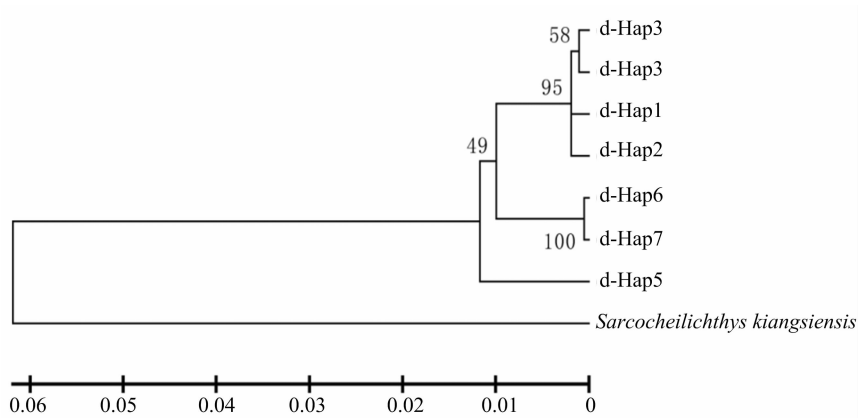


图2 华鯪 *D-loop* 序列单倍型间的 N-J 系统发生树

表 8 基于 *D-loop* 序列所得 3 个华鯪群体的遗传多样性参数

群体	样本数	单倍型数	单倍型多样性	平均核苷酸差异数	核苷酸多样性
洪泽湖	15	6	0.762 ± 0.096	13.371 ± 5.094	0.013 ± 0.002
千岛湖	15	1	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
西湖	15	2	0.133 ± 0.112	0.400 ± 0.152	0.000 4 ± 0.000 3
总数	45	7	—	—	—
平均	—	—	0.755 ± 0.036	6.430 ± 2.241	0.006 ± 0.002

异的 37.02%, 群体内变异占 62.98%, 总体遗传分化系数 $F_{st} = 0.370\ 2$ ($P < 0.05$), 说明主要变异来源为群体内变异。中性检验结果显示, Tajima's D 值为 $-0.267\ 5$ ($P > 0.05$), Fu's F_s 值为 $2.260\ 3$ ($P > 0.05$), 说明 3 个湖泊中的华鯪并未经种群扩张事件。Mantel 检测也未发现各群体遗传距离和地理距离间的显著关联性 ($P > 0.05$)。

表 9 3 个华鯪群体基于 *D-loop* 序列的遗传分化系数 (对角线下) 和基因流 (对角线上)

群体	洪泽湖	千岛湖	西湖
洪泽湖	*	0.988 7	1.209 0
千岛湖	0.335 9	*	0.053 6
西湖	0.292 6	0.903 2	*

表 10 基于 *D-loop* 序列的 3 个华鯪群体间遗传差异的分子方差分析

变异来源	自由度 df	平方和	平方组分	方差比例 (%)
群体间	2	45.067	1.349	37.02
群体内	42	96.400	2.295	62.98
总变异	44	141.467	3.644	
F_{st}		0.3702 ($P < 0.05$)		

3 讨论

3.1 华鯪 *Cytb* 和 *D-loop* 碱基组成与变异程度
在鱼类群体遗传研究中, 线粒体 DNA 因具有分子量小、进化速度快、母系遗传和复制相对独立等

优点^[20],在多种鱼类群体遗传结构和遗传多样性分析中得到广泛应用。在线粒体基因组中,不同区域之间的进化速率存在较大差异,一般编码蛋白质的基因序列进化较慢,而不编码蛋白的 *D-loop* 区域,由于所受选择压力较小,一般比其他线粒体基因的进化速率快 2.8 ~ 5.0 倍^[21],是线粒体基因组中进化最快的区域^[22],因此,*D-loop* 包含了更为丰富的遗传多样性信息,在水产动物遗传分析中普遍应用。线粒体 DNA 上结构和功能解析最为透彻的蛋白质编码基因中的 *Cytb* 基因进化速度适中,在水产动物种群水平差异检测及种间和种内遗传分化研究中也得到广泛应用。在水产动物种群遗传分析研究中,为确保遗传数据的可靠性,研究人员一般会选择 2 个以上的线粒体 DNA 片段作为遗传标记,其中利用进化速度快的 *D-loop* 序列和进化速度适中的 *Cytb* 序列作为标记的研究较多^[23-25]。鉴于此,本研究选取 *D-loop* 和 *Cytb* 序列作为分析华鲮群体遗传结构的标记,以便更加全面地反映华鲮群体遗传结构现状。

在动物线粒体基因组中,A、T、G、C 4 种碱基的分布具有明显的偏倚性,表现为 A、T 2 种碱基含量明显高于 G、C 含量^[26]。本研究获得的 *Cytb* 和 *D-loop* 序列中,A + T 含量均高于 G + C 含量,这与多种已报道鱼类中的比例^[21,23-24,27]类似。插入、缺失位点在华鲮 *Cytb* 基因序列中未检测出,而在 *D-loop* 序列中共检测出 4 个,这也反映出 2 个序列在进化过程中承受了不同选择压力,*Cytb* 基因由于编码蛋白质,插入、缺失突变极易造成移码突变而造成蛋白合成障碍,因此,发生这类突变的个体往往被淘汰^[26];而 *D-loop* 序列由于不编码蛋白,承受的选择压力相对较小,因此,插入、缺失突变在自然选择过程相对容易保留下来。正因如此,在已报道鱼类中,*D-loop* 序列的多态位点比例一般均比 *Cytb* 序列的高^[23-24],然而,本研究却得到与之相反的结果:*D-loop* 序列的多态位点比例(4.0%)低于 *Cytb* 序列中的比例(5.4%),最终导致基于 *D-loop* 序列分析所得的单倍型数(7)、单倍型多样性(0.755 ± 0.036)和核苷酸多样性(0.006 ± 0.002)均小于基于 *Cytb* 序列所得数据(依次为 $10, 0.840 \pm 0.033, 0.012 \pm 0.002$)。在另外一种鲤科鱼类拉氏鲮(*Phoxinus lagowskii*)中,也得到了与本研究类似的结果^[27],可见,虽然总体而言线粒体基因组中 *D-loop* 序列的变异程度高于蛋白编码基因序列,但

也存在相反情况,而造成这种变化的原因有待进一步研究。

3.2 华鲮遗传多样性与群体遗传分化

遗传多样性与生物的生存能力、适应能力和进化潜力密切相关^[28],物种的遗传多样性越高,其对环境变化的适应能力越强。而 H_d 和 π 是衡量物种或种群线粒体 DNA 遗传多样性程度的 2 个重要指标,并且有学者以 $H_d = 0.5$ 和 $\pi = 0.005$ 为界限,将鱼类种群分为 4 种类型:低 H_d 低 π 型($H_d < 0.5, \pi < 0.005$)、高 H_d 低 π 型($H_d > 0.5, \pi < 0.005$)、低 H_d 高 π 型($H_d < 0.5, \pi > 0.005$)和高 H_d 高 π 型($H_d > 0.5, \pi > 0.005$)^[29]。本研究中,洪泽湖群体基于 2 个线粒体序列的分析结果均为高 H_d 高 π 型;西湖群体基于 *Cytb* 时为高 H_d 高 π 型,基于 *D-loop* 序列时为低 H_d 低 π 型;千岛湖群体基于 *Cytb* 时为高 H_d 低 π 型,基于 *D-loop* 序列时为低 H_d 低 π 型。以上分析结果显示,洪泽湖群体的遗传多样性最丰富,而千岛湖群体的遗传多样性最低,这从 *Cytb* 和 *D-loop* 序列在 3 个群体中的单倍型数目也可反映出(单倍型数目:洪泽湖 > 西湖 > 千岛湖)。虽然千岛湖和西湖华鲮群体的遗传多样性较低,但就本研究所取华鲮的总体样本而言,遗传多样性参数仍处于较高水平,这可能是由于不同湖泊的环境因子对华鲮种群的影响与选择压力不同所致。千岛湖和西湖 2 个群体基于 *D-loop* 序列的核苷酸多样性指数均处于低水平,说明栖息环境破坏、过度捕捞及人类活动等因素已影响了这 2 个湖泊华鲮种群规模恢复,急需加强种质资源保护工作。本研究结果与杨培民等在拉氏鲮中所得的研究结果^[27]极为类似。

在群体遗传分化研究中,常用遗传分化指数 F_{st} 来衡量 2 个群体间的分化程度^[30]。在表示群体间的遗传分化程度时,若 F_{st} 介于 0 ~ 0.05,表示遗传分化极小;若 F_{st} 介于 0.05 ~ 0.15,表示遗传分化中等;若 F_{st} 介于 0.15 ~ 0.25,表示遗传分化较大;若 F_{st} 大于 0.25,表示遗传分化极大^[31]。本研究中,洪泽湖和千岛湖华鲮群体间、千岛湖和西湖间均表现为极大的遗传分化,而洪泽湖与西湖群体间利用 *Cytb* 序列的分析结果为中度分化,而基于 *D-loop* 序列时则为极大分化。此外,尽管千岛湖与西湖均位于浙江省,洪泽湖位于江苏省,但千岛湖与西湖华鲮群体间的遗传分化程度高于与洪泽湖群体间的分化程度,这可能是由于地形与地势等环境因素影响了

千岛湖和西湖华鳊群体间的基因交流,从而表现出的地理距离与遗传距离间无显著关联关系。总体而言,华鳊 3 个群体间遗传分化程度较大,群体间基因交流较少,形成了各自的群体特征,其中较多的群体特异性单倍型就是一个直观的反映。尽管如此,A-MOVA 分析结果显示,华鳊的主要变异来源仍然来自群体内部,这与先前报道的绝大多数鱼类的分析结果^[23-25]相似。利用 *Cytb* 和 *D-loop* 序列进行中性检验的结果表明,华鳊未发生近期的群体扩张事件,其群体处于较稳定状态。

参考文献:

- [1] 张春霖. 中国系统鲤类志[M]. 北京:高等教育出版社,1959:73-74.
- [2] 伍献文. 中国鲤科鱼类志(下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1982:470-471.
- [3] 李绍明,梁志强,伍远安,等. 华鳊肌肉营养成分分析及评价[J]. 安徽农业科学,2011,39(31):19233-19235.
- [4] 宣云峰,王荣泉,徐海华,等. 华鳊人工繁殖试验[J]. 水产养殖,2010,31(11):35-37.
- [5] 郭健,邓其祥,许明,等. 西河华鳊的年龄和生长研究[J]. 四川师范学院学报(自然科学版),1995,16(4):343-346.
- [6] 林明利,张堂林,叶少文,等. 洪泽湖鱼类资源现状、历史变动和渔业管理策略[J]. 水生生物学报,2013,37(6):1118-1127.
- [7] 施振宁. 华鳊的驯养与亲本培育试验[J]. 江西水产科技,2015(2):21-23.
- [8] 宣云峰,王荣泉,徐海华,等. 华鳊驯化养殖试验初探[J]. 科学养鱼,2010(12):32.
- [9] 宋天祥,马骏. 华鳊的繁殖生物学[J]. 动物学研究,1994,15(增刊1):96-102,199.
- [10] 宋天祥,马骏. 华鳊人工繁殖和早期发育的研究[J]. 湖泊科学,1996,8(3):260-267.
- [11] Zhou Z, Zhang H, Wang G, et al. Complete mitochondrial genome of Chinese lake gudgeon *Sarcocheilichthys sinensis* (Cypriniformes; Cyprinidae)[J]. Mitochondrial DNA, 2015, 26(1):141-142.
- [12] Li C, He L, Chen C, et al. Sequencing, description and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome of *Sarcocheilichthys sinensis sinensis* (Cypriniformes; Cyprinidae)[J]. Mitochondrial DNA, 2016, 27(2):1056-1057.
- [13] Yang S, Wei M, Wan Q, et al. The complete mitochondrial genome sequence of *Sarcocheilichthys sinensis sinensis* (Cypriniformes; Cyprinidae)[J]. Mitochondrial DNA, 2014, 25(4):286-287.
- [14] Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 18(2):163-173.
- [15] Liu H Z, Tzeng C S, Teng H Y. Sequence variations in the mitochondrial DNA control region and their implications for the phylogeny of the Cypriniformes[J]. Canadian Journal of Zoology - Revue Canadienne de Zoologie, 2002, 80(3):569-581.
- [16] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24):4876-4882.
- [17] Rozas J, Sánchez-Delbarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. Bioinformatics, 2003, 19(18):2496-2497.
- [18] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8):1596-1599.
- [19] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin: a software for population genetics data analysis. V3.01. Genetics and Biometry Lab, Department of Anthropology[Z]. 2003.
- [20] 肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报, 2000, 24(4):384-391.
- [21] 袁娟, 张其中, 李飞, 等. 铜鱼线粒体控制区的序列变异和遗传多样性[J]. 水生生物学报, 2010, 34(1):9-19.
- [22] 郭新红, 刘少军, 刘巧. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展[J]. 遗传学报, 2004, 31(9):983-1000.
- [23] 陈会娟, 刘明典, 汪登强, 等. 长江中上游 4 个鲢群体遗传多样性分析[J]. 淡水渔业, 2018, 48(1):20-25, 68.
- [24] 李大命, 张彤晴, 关浩勇, 等. 基于线粒体 *Cytb* 基因和 *D-loop* 区序列的高邮湖湖鲢 (*Coilia nasus*) 遗传多样性分析[J]. 淡水渔业, 2017, 47(6):3-8.
- [25] 卢国, 程磊, 马波, 等. 中国达氏鳊野生群体和两个养殖群体的线粒体遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4):803-810.
- [26] Brown W. Molecular evolutionary genetics[M]. New York: Plenum Press, 1985:95-130.
- [27] 杨培民, 胡宗云, 金广海, 等. 用线粒体 *D-loop* 和 *Cytb* 基因序列分析拉氏鳊 3 个群体的遗传结构和遗传分化[J]. 水产学杂志, 2017, 30(4):7-12, 27.
- [28] Féral J P. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage Marine biodiversity[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 268(2):121-145.
- [29] Grant W S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of Marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(5):415-426.
- [30] Kirk H, Freeland J R. Applications and implications of neutral versus non-neutral markers in molecular ecology[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(6):3966-3988.
- [31] Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(2):155-165.