

珠江流域野生黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* 的 Cyt *b* 基因序列分析*

张鹤千^{1,2}, 杨子拓^{1,3}, 李桂峰², 肖诗斌^{1,3}, 孙际佳¹, 杨慧荣¹,
赵会宏¹, 谢堂晖¹, 韩兴鹏^{1,3}, 刘丽^{1,3}

(1. 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642;

2. 中山大学生命科学大学院, 广东 广州 510275;

3. 华南农业大学动物科学学院//广东省农业动物基因组学与
分子育种重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 利用 PCR 技术扩增得到珠江水系 5 个江段共 190 尾野生黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* 样品的线粒体 DNA 细胞色素 b (Cyt *b*) 基因片段, 并测定其序列, 确定野生黄颡鱼的 Cyt *b* 基因片段全长为 1 109 bp。在 190 尾样品中检测到 43 种不同的单倍型, 单倍型多样性 (H_d) 和核苷酸多样性 (P_i) 分别为 0.848 57 和 0.04 817, 呈高单倍型、低核苷酸多样性的分布模式, 表明其遗传多样性属于中等水平。利用 Clustal-X 1.81 和 MEGA 5.0 软件对 190 尾样品进行同源基因序列分析, 其 A + T 含量 (55.1%) 显著高于 G + C 含量 (44.8%), 碱基组成差异不大, 分布比较平均。使用最大似然率法构建分子系统发生树, 结果表明都匀江段与左江江段的遗传分化程度最大 ($F_{st} = 0.414 30$)。AMOVA 分析显示, 珠江水系野生黄颡鱼的遗传变异均来自群体内, 达到 75.23%, 表明地理因素对黄颡鱼的遗传分化产生了一定的影响, 聚类结果与地理分布存在一定的相关性。中性检验结果表明, 各群体间没有发生过种群扩张, 种群数量相对稳定。

关键词: 黄颡鱼; 珠江流域; 遗传多样性; Cyt *b*

中图分类号: Q953.5 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2015) 05-0102-07

Genetic Diversity of Mitochondrial Cyt *b* Sequences in *Pelteobagrus fulvidraco* from the Pearl River

ZHANG Heqian^{1,2}, YANG Zituo^{1,3}, LI Guifeng², XIAO Shibin^{1,3}, SUN Jijia¹,
YANG Huirong¹, ZHAO Huihong¹, XIE Tanghui¹, HAN Xingpeng^{1,3}, LIU Li^{1,3}

(1. College of Animal Science of South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

3. College of Animal Science, South China Agricultural University // Guangdong Provincial Key
Laboratory of Agro-Animal Genomics and Molecular Breeding, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The mitochondrial DNA cytochrome *b* (Cyt *b*) gene segments of 190 yellow catfishes (*Pelteobagrus fulvidraco*) from five river sections of Pearl river were amplified by PCR technique and sequenced. The complete sequence of the mitochondrial (mt) Cyt *b* gene of *Pelteobagrus fulvidraco* was 1, 109-bp in length. Sequence analysis indicated that there are 43 haplotypes in 190 individuals. The global haplotype diversity (H_d) and nucleotide diversity (P_i) was 0.848 57 and 0.048 17, respectively, indi-

* 收稿日期: 2015-01-05

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(201303048); 国家科技基础条件平台建设资助项目(2008DKA30470-010)

作者简介: 张鹤千(1992年生), 女; 研究方向: 水生生物学; 通讯作者: 刘丽; E-mail: liuli@scau.edu.cn

cating a pattern of high haplotype with low nucleotide diversity in the whole population, which indicated that the genetic diversity was a medium level. Sequence alignment performed by Clustal-X 1.81 and MEGA 5.0 softwares showed that AT content (55.1%) was significantly higher than GC content (44.8%) in these samples, and the base distribution was uniform. The genetic differentiation between Duyun and Zuojiang populations was the largest ($F_{st} = 0.41430$) based on the molecular phylogenetic tree constructed by maximum likelihood method. The analysis of molecular variance (AMOVA) showed that the genetic variation was 75.23% merely presenting within populations rather than between populations, implying that geographical factors caused certain effects on genetic differentiation of *Pelteobagrus fulvidraco*. Results of neutral test showed that expansion was not happened among these five populations, therefore their population structures and quantities were relatively stable.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; the Pearl River area; genetic diversity; Cytochrome *b* gene

黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* 在分类学上属于硬骨鱼纲、鲇形目 Siluriformes、鲿科 Siluridae、黄颡鱼属 *Pelteobagrus*, 俗名叫黄刺公、黄腊丁、黄刺骨等^[1]。黄颡鱼在静水或缓流的浅滩生活, 昼伏夜出, 主食底栖脊椎动物, 多为小鱼、水生昆虫等小型生物。黄颡鱼是中国重要的小型经济鱼类, 广泛分布于长江、黄河、珠江、沅江及黑龙江等水域^[2-3]。黄颡鱼属在我国主要有 4 种, 分别为黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco*、瓦氏黄颡鱼 *Pelteobagrus vachelli*、光泽黄颡鱼 *Pelteobagrus nitidus*、岔尾黄颡鱼 *Pelteobagrus eupogon*, 其中黄颡鱼是我国水产养殖品种中主要的增养殖对象, 其次是瓦氏黄颡鱼。珠江流域是由西江、北江、东江及珠江三角洲诸河等四个水系所组成的复合流域^[4]。随着经济社会的发展, 环境污染不断地加剧, 滥捕滥捞现象也日趋严重, 致使野生黄颡鱼的生活环境受到了严重破坏, 野生种质资源数量呈现锐减趋势。为了合理有效地保护野生黄颡鱼群体以促进淡水渔业的长久发展, 对珠江流域黄颡鱼野生群体的种质资源进行研究已日显重要。

线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 基因组内不同的区域进化速度存在差异, 适合不同水平的进化研究^[5]。近年来, 随着分子生物学技术向经典分类学领域的渗透以及鱼类线粒体 DNA 研究技术的不断发展成熟, 使得 mtDNA 成为鱼类学相关研究的理想的分子标记, 并在鱼类进化遗传学、种群遗传结构、分子生态学和保护生物学等方面的研究中取得了很多有意义的成果, 解决了众多疑难问题。细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因进化速度适中, 适合于种间到种内水平上的系统发生研究, 在鱼类群体遗传结构与系统发育关系中有着广泛的应用^[6]。目前, Cyt *b* 基因是研究分子进化和系统发育最有用的基因之一, 已广泛应用于各种生物的系

统发育研究中^[7-9], 而且还被用于探讨分歧时间较长的高级分类单元之间的系统发育关系^[10]。

本文通过测定与分析珠江流域桂林江段、都匀江段、右江江段、左江江段、东江江段这 5 个江段的 190 尾野生黄颡鱼个体的线粒体细胞色素 *b* 基因序列, 探讨珠江流域野生黄颡鱼的种群遗传多样性和进化关系, 在维护不同水系间遗传多样性和原有的生态平衡上具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 实验用鱼 本实验所用野生黄颡鱼样本于 2012 年 6 月至 8 月, 采集于珠江流域各江段, 分别为桂林江段 (GL)、都匀江段 (GZ)、右江江段 (YJ)、左江江段 (ZJ)、东江江段 (DJ), 共计 190 尾, 每个群体采集样本数目见表 1。野外现场取背部肌肉于无水乙醇中固定并带回实验室, 超低温保存。

1.1.2 主要仪器 PCR 反应所用 DNA 扩增仪为南京贝登机电设备有限公司制造 V123530 型扩增仪, 离心机为德国 Eppendorf 公司制造 5810R 型, 凝胶成像系统为美国 BIORAD 公司制造的 Bio-Rad Gel-Doc XR system PC 型等。

表 1 黄颡鱼群体采样信息

Table 1 *Pelteobagrus fulvidraco* groups sampling information

采样点	采集时间	样品数量/尾	采集部位	保存方法
桂林 (GL)	2012. 6	40	背肌	无水乙醇
都匀 (GZ)	2012. 6	40	背肌	无水乙醇
右江 (YJ)	2012. 7	39	背肌	无水乙醇
左江 (ZJ)	2012. 7	35	背肌	无水乙醇
东江 (DJ)	2012. 8	36	背肌	无水乙醇

1.2 试验方法

黄颡鱼的基因组 DNA 的抽提实验采用天根生物海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANamp Marine Animals DNA Kit), 并根据本实验室的实际情况对操作流程进行了部分更改。Cyt *b* 基因扩增和测序的引物为通用引物序列^[11]如下:

H15915: 5' - CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC - 3',

L14724: 5' - GACTTGAAAAACCACCGTTG - 3', 引物由华大基因科技服务有限公司合成。

PCR 反应总体积为 50 μ L 体系, 其中模板 DNA 2 μ L, 上游引物 P1 和下游引物 P2 (10 μ mol/L) 各 2 μ L, 2 \times PCR Reaction Mix 25 μ L, Taq DNA 聚合酶 (2.5 U/ μ L) 1 μ L, 无离子超纯水为 18 μ L。扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min 后 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 共进行 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min, 16 $^{\circ}$ C 保存。扩增之后用 $w = 1\%$ 的琼脂糖凝胶电泳, BIORAD 凝胶成像系统照胶并保存图片。

1.3 测序与数据分析

PCR 扩增产物直接送华大基因科技服务有限公司利用正反引物进行双向测序获得黄颡鱼的 Cyt *b* 基因序列, 经过 DNASTAR Inc 软件拼接后进行人工校对。用软件 Clustal-X 对所获得拼接序列进行对比分析^[12]; 用软件 DNASP5.0 计算单倍型多样性 (haplotype diversity, H_d)、核苷酸多样性 (nucleotide diversity, P_i) 和平均核苷酸差异数 ($K \pm SD$) 3 项群体遗传多样性指标, 群体间的分化指数 (F-statistics, F_{st}) 以及群体遗传变异的分子变异等级分析 (analysis of molecular variance, AMOVA); 通过公式 $N_m = [(1 - F_{st}) - 1] / 2$ 计算得到群体间的基因流; MEGA5.0 软件统计 DNA 序列的剪辑组成、转换、颠换和平均转换率/颠换率、单突变位点、简约信息位点、插入/缺失位点数; 个体间、群体间和群体内的遗传变异率由 Kimura 双系数模型 (Kimura 2-parameter) 计算所得; 利用 MEGA5.0 软件, 最大似然法 (maximum-likelihood, ML) 构建聚类关系树。

2 结果与分析

2.1 Cyt *b* 基因序列特征

5 个江段的野生黄颡鱼 mtDNA Cyt *b* 的扩增产物利用 Clustal-X 1.81 和 MEGA 5.0 软件进行人工比对序列, 并对数据进行适当的剪切处理, 确定黄颡鱼 Cyt *b* 基因片段全长为 1 109 bp。由 MEGA5.0

软件对 1 109 bp 的序列进行分析可得, 5 个江段的 190 尾样本基因片段中, T、C、A 和 G 碱基平均含量分别为 27.4%、31.0%、27.7%、13.8%, 可见 C 碱基含量相对较高, G 碱基含量相对较低, 其中 A + T 的含量 (55.1%) 显著高于 G + C 含量 (44.8%), 具体可见表 2。总共检测到 43 种单倍型, 序列中东江 (DJ)、左江 (ZJ) 和右江 (YJ) 的样品的变异位点数目均大于 100 个, 分别为 230 (约占 20.7%)、193 (约占 17.4%)、352 (约占 31.7%) 个, 都匀 (GZ) 与桂林 (GL) 江段的样品的变异位点个数分别为 8 个和 14 个; 5 个江段的样品检测到的简约信息位点分别是东江为 192 个、左江 142 个, 右江 307 个, 都匀 4 个, 桂林 5 个 (表 3)。经检测群体内的转换/颠换 (Ts/Tv) 之比分别为: DJ 为 4.07, ZJ 为 3.91, YJ 为 2.44, GZ 为 8.25, GL 为 5.51。由转换、颠换对遗传距离图 (图 1) 可知: 转换和颠换数没有达到平台效应, 即没有达到饱和状态, 说明供统计分析的数据准确可靠。此外, 都匀和桂林群体转换位点均为 1 个, 没有颠换位点, 转换远高于颠换, 表明此片段没有饱和, 适合进行遗传变异分析。

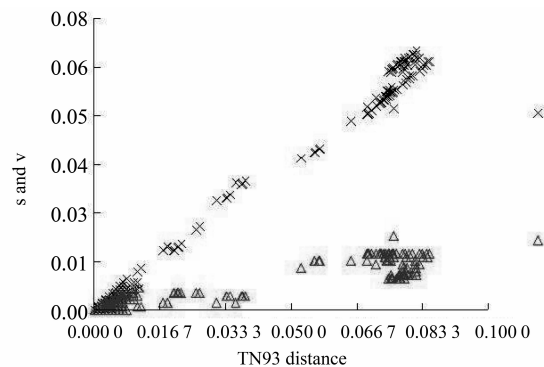


图 1 Cyt *b* 基因转换、颠换与遗传距离之间关系的散点图

Fig. 1 Transition and transversion substitutions vs. genetic distance of mitochondrial Cyt *b* gene

表 2 黄颡鱼线粒体 Cyt *b* 基因碱基组成

Table 2 Base composition of mitochondrial Cyt *b* gene of *Pelteobagrus fulvidraco* %

地点	T	C	A	G	A + T	C + G
DJ	27.3	31.2	27.7	13.8	55	45
ZJ	28.3	29.9	28.0	13.7	56.3	43.6
YJ	28.2	29.9	28.1	13.8	56.3	43.7
GZ	26.7	32.0	27.3	13.9	54	45.9
GL	26.7	32.0	27.3	13.9	54	45.9

表 3 黄颡鱼 Cyt *b* 基因序列保守位点、变异位点、简约信息位点

Table 3 The conserved sites、variable sites、parsimony-informative sites of mitochondrial Cyt *b* gene of *Pelteobagrus fulvidraco*

地点	保守位点	变异位点	简约信息位点	单一位点
DJ	879	230	192	38
ZJ	915	193	142	51
YJ	757	352	307	45
GZ	1 100	8	4	4
GL	1 049	14	5	9

2.2 群体变异和遗传结构

利用 MEGA5.0 软件分析测序获得的 190 尾样品的 mtDNA Cyt *b* 基因序列，得到 5 个江段群体间的遗传距离（表 4）。从种间遗传距离来看，东江采样的黄颡鱼群体和右江采样的黄颡鱼群体的种群间的遗传距离最远为 0.084，遗传距离最近的为都匀和桂林群体（0.001）。经比较分析，种群内部遗传距离从大到小依次为：YJ（0.095）> ZJ（0.068）> DJ（0.053）> GZ（0.001）= GL（0.001）。

从各个地理群体的核苷酸多样性（ P_i ）来看，核苷酸多样性均在 0.000 72 ~ 0.084 45 之间，因此可以得出，黄颡鱼各群体的线粒体 Cyt *b* 基因的核苷酸变异均处于较低水平，而从平均核苷酸差异数比较中，右江群体（YJ）最高，其次依次为左江群体（ZJ）、东江群体（DJ）和桂林群体（GL），而都匀群体（GZ）最低。

表 5 黄颡鱼群体间的 F_{st} （对角线下方）和 N_m （对角线上方）

Table 5 The interpopulation F_{st} (on triangle) and N_m (lower triangle) of *Pelteobagrus fulvidraco*

群体	DJ	ZJ	YJ	GZ	GL
DJ	/	1.460 57	1.821 59	1.283 46	1.284 87
ZJ	0.146 15	/	9.350 61	0.353 42	0.357 01
YJ	0.120 68	0.026 04	/	0.421 21	0.423 51
GZ	0.163 03	0.414 30	0.372 46	/	4.122 15
GL	0.162 88	0.411 85	0.371 19	0.057 18	/

2.3 聚类分析

利用 MEGA5.0 软件分析 5 个江段的黄颡鱼个体的 mtDNA Cyt *b* 基因序列，并用最大似然法（Maximum Likelihood）进行聚类分析，得到分子系统发生树（图 2）。图中各枝上数字为 1 000 次 Bootstra P 自展法检验统计分析后对该枝的支持率，

本实验结果显示，5 个群体间的 F_{st} 及 N_m 值见表 5，所示结果左江（ZJ）与右江（YJ）群体间的 F_{st} 值为 0.026 04，数值在 0 ~ 0.05 之间，表明 2 个黄颡鱼群体间存在中等偏低的遗传分化，不存在显著的系统地理格局。本研究中群体间的遗传分化系数在 0.026 04 ~ 0.414 30 之间，都匀（GZ）跟广西崇左（ZJ）的遗传分化程度最大，右江和左江的遗传分化程度最小。在本实验中，5 个群体间的基因流系数 N_m 在范围 0.353 42 ~ 9.350 61 之内，其中，GZ 和 ZJ 的 N_m 值最小（0.353 42），而 ZJ 和 YJ 的 N_m 值最大（9.350 61）。

分别将东江、桂林、都匀、左江和右江 5 个江段群体，左右江流域与东江流域二群体，左右江流域两群体作为一个组，运用 Arlequin 软件进行群体间的分子变异等级分析（AMOVA）（表 6），结果表明：5 个群体总的遗传分化系数 $F_{st} = 0.247 74$ （ $P = 0.00 \pm 0.000^{**} < 0.05$ ），差异极显著。

表 4 黄颡鱼的 Cyt *b* 基因序列群体间遗传距离

Table 4 The interpopulation genetic distances of mitochondrial Cyt *b* gene of *Pelteobagrus fulvidraco*

群体	DJ	ZJ	YJ	GZ	GL
DJ					
ZJ	0.070				
YJ	0.084	0.083			
GZ	0.032	0.059	0.076		
GL	0.032	0.059	0.076	0.001	

数值越大，支持率越高，则表明该树的可信度越高。一般认为，数值 > 70%，即表明该枝的可靠性比较大。5 个黄颡鱼采样江段中左江和右江群体先聚为一支，桂林和都匀聚为一支，采自于东江的 3 号个体单独聚为一支。

表 6 黄颡鱼 5 个群体间遗传变异的分子变异等级分析 (AMOVA)¹⁾

Table 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) of five populations of *Pelteobagrus fulvidraco*

群体	变异来源	自由度	平方和	方差组分	变异率/%	F_{st}	P 值
5 个江段群体 (DJ, GL, GZ, ZJ, YJ)	群体间	4	1 331. 617	8. 118 13	24. 77		
	群体内	185	4 560. 310	24. 650 32	75. 23	0. 247 74	0. 00 ± 0. 000 * *
	总体	189	5 891. 926	32. 768 45			
左右江流域与 东江流域二群体 (ZJ + YJ, DJ)	群体间	1	309. 809	5. 519 70	11. 51		
	群体内	108	4 585. 128	42. 454 89	88. 49	0. 115 05	0. 000 98 ± 0. 000 98 * *
	总体	109	4 894. 937	47. 974 59			
左右江流域群体 (ZJ, YJ)	群体间	1	85. 243	1. 140 10	2. 57		
	群体内	72	3 109. 136	43. 182 44	97. 43	0. 025 72	0. 114 37 + - 0. 010 20
	总体	73	3 194. 378	44. 322 54			

1) 同行数据肩标字母相同表示二者之间无显著差异 ($P > 0.05$), 字母不同表示二者之间差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母不同大小写表示二者之间差异极其显著 ($P < 0.01$)

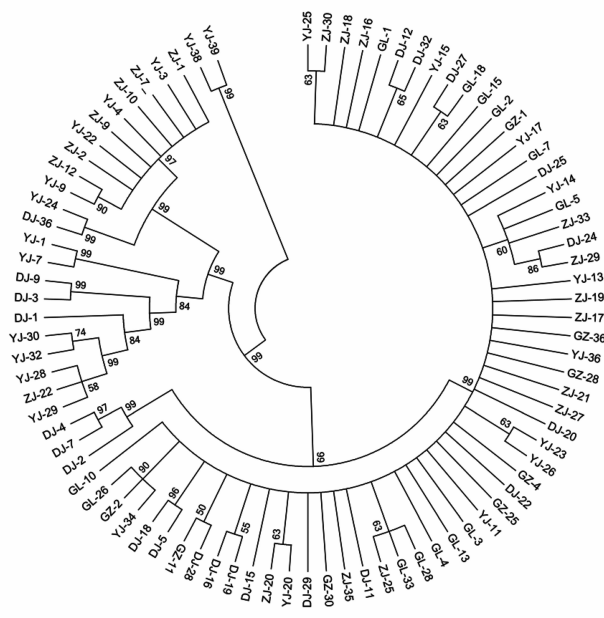


图 2 珠江水系野生黄颡鱼 Cyt b 基因序列的 ML 分子系统树
Fig. 2 The molecular phylogenetic tree of wild *Pelteobagrus fulvidraco* from the Pearl River by ML method based on Cyt b

2.4 中性检测结果

通过应用 DNASP5.0 软件分别对 5 个江段的野生黄颡鱼 Cyt b 基因序列进行中性检测, 得到 Fu's Fs 值和 Tajima's D 值 (结果见表 7), 从而揭示黄颡鱼是否经历过种群扩张。结果表明, 桂林和都匀 2 个群体的 Fu's Fs 值是小于 0 且 P 值不显著, Tajima's D 检验 D 值小于 0 且 P 值不显著, 左江和右江群体 Fu's Fs 值是大于 0 且 Tajima's D 检验 D 值大于 0, 东江群体 Fu's Fs 值是大于 0, Tajima's D

检验 D 值小于 0 但 P 值不显著。

表 7 黄颡鱼 Cyt b 基因 Fu's Fs 和 Tajima's D 检验¹⁾

Table 7 The Test of Fu's Fs and Tajima's D of mitochondrial Cyt b gene of *Pelteobagrus fulvidraco*

群体	样品数	Fu's Fs (P 值)		Tajima's D (P 值)	
		D	P value	D	P value
GL	40	-3. 705	0. 10 > $P > 0.05$	-1. 569	10 $P > 0.10$
GZ	40	-2. 662	$P > 0.10$	-1. 485	40 $P > 0.10$
YJ	40	21. 189	$P < 0.02$	0. 314	32 $P > 0.10$
ZJ	35	22. 799	$P > 0.10$	2. 090	61 $P < 0.05$
DJ	36	13. 603	$P > 0.10$	-0. 079	67 $P > 0.10$

1) 同行数据肩标字母相同表示二者之间无显著差异 ($P > 0.05$), 字母不同表示二者之间差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母不同大小写表示二者之间差异极其显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

遗传多样性 (Genetic diversity) 是生物多样性的核心, 是生物种内和种间遗传变异的总和, 是生物进化和物种分化的基础^[13]。

3.1 黄颡鱼的遗传多样性分析

本研究中 5 个江段群体的野生黄颡鱼 Cyt b 基因序列的碱基组成分别为 A (27.7%)、T (27.4%)、C (31.0%)、G (13.8%), 其中 G 的含量显著低于其他碱基的含量, 表现出明显的反 G 偏倚, 显示出细胞色素 b 基因的共同特征^[14], 这也是线粒体 DNA 的一个特点^[15]。与多数硬骨鱼类相似^[5], 碱基组成差异不大, 分布比较平均。

右江 (YJ) 群体的遗传多样性最高 ($H_d = 0.92038$), 属于高单倍型。将珠江水系的野生黄

鲮鱼 5 个江段的群体作为一个整体, 其 H_d 和 P_i 值分别为 0.848 57 和 0.048 17, 呈高单倍型、低核苷酸多样性的分布模式, 表明其遗传多样性相对中等。与钟立强等^[16]在研究长江中下游 5 个湖泊黄颡鱼种群线粒体细胞色素 *b* 基因的遗传变异分析中所得结果所示基本一致, 黄颡鱼的平均单倍型多样性为 0.945, 核苷酸多样性为 0.004 19, 其结果均呈现黄颡鱼的遗传多样性表现为中等水平。物种的遗传多样性的高低与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关, 遗传变异是有机体适应环境变化的必要条件^[17-18]。因此, 加强对现有资源科学管理和保护、恢复有效种群大小、丰富遗传多样性是保护野生自然资源的基础^[19]。

3.2 黄颡鱼的遗传变异分析

遗传多样性是指生物种内和种间的遗传变异度, 是生物适应环境与进化的基础^[20]。物种对生存环境的适应能力以及其进化的潜力依靠种群内遗传变异的大小, 也依赖于遗传变异的种群结构^[21]。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^[22]。研究表明, 遗传距离是衡量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。利用软件 MEGA5.0 计算 5 个江段的野生黄颡鱼各群体间和群体内的遗传距离, 其结果均在 0.001 ~ 0.08 之间, 遗传距离较小, 则均显示地理群体间有较近的亲缘关系。

群体遗传学认为, F_{st} 值可以表示群体间的分化程度。根据 Wright^[23]提出的标准, 一般指当 $0 < F_{st} < 0.05$ 时表示分化较弱或者表示群体间无分化, 当 $0.05 < F_{st} < 0.15$ 时表示遗传分化中等, 如 $0.15 < F_{st} < 0.25$ 时, 则表示遗传分化较大, 而超过 0.25 表示遗传分化极大或表明群体呈高度分化。本研究中, 5 个野生黄颡鱼地理群体间的遗传分化系数在 0.026 04 ~ 0.414 30 之间, 都匀跟左江江段群体的遗传分化程度最大, 左江和右江江段群体的遗传分化程度最小。左江和右江群体间的 F_{st} 值为 0.026 04, 数值在 0 ~ 0.05 之间, 表明 2 个江段野生黄颡鱼种群间存在中等偏低的遗传分化, 不存在显著的地理隔离现象。而都匀与左江的地理位置相对较近, 遗传分化程度却最大, 原因可能是由于都匀和左江流域之间有红水河流域隔开, 加之左江水电站的建立更加大了 2 个江段群体间野生黄颡鱼的遗传分化的原因。

基因流 N_m 通常被用来评价不同地理群体间基因交流的程度。 N_m 值的大小与 2 个群体间基因交

流的程度呈正相关, 即当 N_m 的值越大, 表示 2 个群体间的基因交流频繁, 反之亦然。Wright 认为: 当 N_m 远远小于 1, 种群会被强烈的分化, 表明 2 个群体间的基因交流有限, 存在一定的地理隔离; 当种群基因流系数 $N_m > 1$ 时, 种群间存在一定的基因流动, 有较高的基因交流水平; 如果 $N_m > 4$, 表明是 2 个群体是随机交配, 基因交流频繁^[24]。本实验中, 5 个江段间黄颡鱼的基因流系数 N_m 在范围 0.353 42 ~ 9.350 61 之内, 其中, 都匀和左江江段群体间的 N_m 值最小, 说明存在一定地理隔离, 基因交流有限, 而左江和右江群体间的 N_m 值最大, 远大于 4, 说明 2 个群体间基因交流频繁, 而且左右江的距离也是相对来说最近的, 也验证了地理位置是原因之一。黄颡鱼是一种生态适应性很强的鱼类, 不同水系的居群借助于水系的连通而发生基因交流的可能性很大, 5 个江段的黄颡鱼生境差异不明显, 在一定程度上为群体间的基因交流提供了有利条件, 这可能是造成不同江段珠江流域间野生黄颡鱼群体没有明显遗传分化的原因之一。

3.3 黄颡鱼的种群动态分析

本研究应用中性检测来判断种群是否经历过扩张。应用 Tajima's *D* 与 Fu's *F_s* 值中性检验推测种群历史时, 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经历过一个扩张的历史^[25]。

通过应用 DNASP 软件分别对 5 个江段的野生黄颡鱼 Cyt *b* 基因序列进行中性检测, 得到 Fu's *F_s* 值和 Tajima's *D* 值, 结果表明, 桂林和都匀 2 个江段的黄颡鱼群体的 Fu's *F_s* 值是小于 0 且 *P* 值不显著, Tajima's *D* 检验 *D* 值小于 0 且 *P* 值不显著, 左江、右江群体 Fu's *F_s* 值是大于 0 且 Tajima's *D* 检验 *D* 值大于 0, 东江群体 Fu's *F_s* 值是大于 0, Tajima's *D* 检验 *D* 值小于 0 但 *P* 值不显著, 均表明群体没有发生过种群扩张, 种群数量相对稳定。

物种的遗传多样性反映了一个物种对环境的适应能力、生存能力和进化潜力, 其遗传多样性越丰富, 对环境的适应能力就越大, 生存和进化的能力也越强。保护珠江及其流域内各支流和湖泊中鱼类的遗传多样性是我国重要的渔业管理政策。根据本实验结果显示, 珠江流域野生黄颡鱼的遗传多样性处于相对较低的水平, 已经达到亟需保护的状态。所以, 有必要提前采取适当的管理策略以维持其野生资源的可持续性开发以及维护不同水系间遗传多样性和原有的生态平衡。

参考文献:

- [1] 褚新洛. 中国动物志, 硬骨鱼纲, 鲇形目[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 152 - 156.
- [2] 宋平, 潘云峰, 向筑, 等. 黄颡鱼 RAPD 标记及其遗传多样性的初步分析[J]. 武汉大学学报: 理学版, 2001, 47(2): 233 - 237.
- [3] 代应贵, 陈毅峰. 清水江的鱼类区系及生态类型[J]. 生态学杂志, 2007, 26(5): 682 - 687.
- [4] 焦树林, 高全洲, 刘昆. 珠江流域西江、北江河流溶解无机碳及其稳定同位素组成特征[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2009, 48(2): 99 - 105.
- [5] 杨慧荣, 赵会宏, 蒙子宁, 等. 赤眼鳟线粒体 D-loop 和 Cyt b 基因序列的对比分析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2012, 51(5): 100 - 106.
- [6] 彭作刚, 张耀光, 何舜平, 等. 从细胞色素 b 基因序列变异分析中国鲇形目鱼类的系统发育[J]. 遗传学报, 2005, 32(2): 145 - 154.
- [7] MEYER A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes [J]. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, 1993, 2: 1 - 38.
- [8] TSIGENOPOULOS C S, BERREBI P. Molecular Phylogeny of North Mediterranean freshwater barbs inferred from cytochrome b sequences: Biogeographic and systematic Implications [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2000, 14(2): 165 - 179.
- [9] JOHNSON J B, JORDAN S. Phylogenetic divergence in leatherside chub (*Gila copei*) inferred from mitochondrial cytochrome b sequences [J]. Molecular Ecology, 2000, 9(8): 1029 - 1035.
- [10] LYDEARD C, ROE K J. The phylogenetic utility of the mitochondrial cytochrome b gene for inferring relationships among actinopterygian fishes [J]. Molecular Systematics of Fishes, 1997, 285 - 303.
- [11] TANG Q Y, LIU H Z, MAYDEN R, et al. Comparison of evolutionary rates in the mitochondrial DNA cytochrome b gene and control region and their implications for phylogeny of the Cobitoidea (Teleostei: Cypriniformes) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 39: 347 - 357.
- [12] 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.
- [13] 施立明. 遗传多样性及其保存 [J]. 生物科学信息, 1990, 2(4): 159 - 164.
- [14] ROGERS A R, HARPENDING H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. Molecular Biology and Evolution, 1992, 9(3): 552 - 569.
- [15] WOLSTENHOLME D R. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution [J]. Int Rev Cytol, 1992, 141: 173 - 216.
- [16] 钟立强, 王明华, 边文冀, 等. 长江中下游 5 个湖泊黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 种群线粒体细胞色素 b 基因的遗传变异分析 [J]. 湖泊科学, 2013, 25(2): 302 - 308.
- [17] CONRAD M. Adaptability: the significance of variability from molecular to ecosystem [M]. New York: Plenum Press, 1983.
- [18] FERAL 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: 121 - 145.
- [19] 蒙子宁, 杨丽萍, 吴丰, 等. 斜带石斑鱼、赤点石斑鱼 RAPD 和线粒体 Cyt b 基因序列变异分析 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(1): 75 - 80.
- [20] 李祥龙, 张亚平, 陈胜偶, 等. 山羊多态性及其起源分化研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1999, 30(4): 313 - 319.
- [21] GRANT P R, GRANT B R. Hybridization of bird species. [J]. Science, 1996, 256: 193 - 197.
- [22] BILLINGTON N, HEBERT P D N. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its Implications for introductions [J]. Con Fish Aquant Sci, 1991, 48: 80 - 94.
- [23] WRIGHT S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating [J]. Evolution, 1965, 19: 395 - 420.
- [24] SHAKLEE J B, TAMARU C S, WAPLES R W. Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoresis analysis of proteins [J]. Pac Sci, 1982, 36: 141 - 157.
- [25] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. Genetics, 1989, 123: 585 - 595.