

# 珠江流域黄颡鱼群体的形态度量学 与遗传多样性分析\*

谢堂晖, 赵会宏, 杨慧荣, 刘丽, 韩兴鹏, 杨宪宽, 陈奕彬, 刘丽杰  
(华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 为了解珠江流域黄颡鱼不同群体的遗传分化, 以黄颡鱼为材料, 通过形态度量学和分子生物学的方法对其进行研究。形态度量学的主成分分析(PCA)的散点图显示都柳江群体与漓江群体聚集于一处, 东江群体与都柳江、漓江群体分开, 表明东江群体与其它两个群体形态上有分化, 漓江群体与都柳江群体形态间分化较小。D-loop序列分析最终检测到176个变异位点, 单倍型36个, 3个群体的平均碱基组成差异很小, 且A + T含量(59.6%)高于G + C含量(40.4%), 3个群体平均 $N_m = 3.234$ , 表明群体间存在较大基因流, 单倍型NJ树显示漓江群体与都柳江群体聚为一支, 东江群体聚为一支。3个群体21个微卫星标记位点的分析结果显示: 3个群体有15个位点属于高度多态位点(PIC > 0.5), 3个群体基于Nei's遗传距离构建的UAPGM聚类结果与mtDNA D-loop聚类结果一致, 与地理分布呈一定相关性。综合形态度量学与分子生物学标记结果可以看出, 黄颡鱼3个群体存在一定形态差异, 3个黄颡鱼野生群体遗传多样性水平较高。

**关键词:** 黄颡鱼; 珠江流域; 形态度量学; mtDNA D-loop; 微卫星

**中图分类号:** S91 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579(2015)04-0112-09

## Morphology and Genetic Diversity Analysis of *Pelteobagrus fulvidraco* Populations in Zhujiang River

XIE Tanghui, ZHAO Huihong, YANG Huirong, LIU Li, HAN Xingpeng,  
YANG Xiankuang, CHEN Yibin, LIU Lijie  
(South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Genetic differences of *Pelteobagrus fulvidraco* populations from Zhujiang River were compared by morphological and molecular biological methods. The scatter diagram of principal component analysis revealed that the populations from Duliuijiang River and Lijiang River pooled into one group, while those from Dongjiang River separated from Duliuijiang River and Lijiang River. It indicated that Dongjiang River population had a certain morphological differentiations compared to other two populations, while there were few morphological differentiation between Duliuijiang River and Lijiang River. The mtDNA D-loop sequence analysis of three populations showed that 176 variable sites and 36 haploid types were detected, there were similar base compositions among three populations, the content of A + T (59.6%) was higher than the content of G + C (40.4%), the average gene flow was 3.234, there was a large gene exchange between three populations. The NJ tree of haploid type shows that the populations Lijiang River and Duliuijiang River formed the first cluster which together with the populations from Dongjiang River

\* 收稿日期: 2014-11-05

**基金项目:** 公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(201203066); 广东省教育部产学研结合资助项目(2012B091100484); 广东省教育部科技部产学研结合资助项目(2012B090600052); 广东省科技计划资助项目(2012B040400004); 广东省海洋渔业科技推广专项资助项目(A201201E04); 广东省协同创新与平台环境建设资助项目

**作者简介:** 谢堂晖(1988年生),男;研究方向:水产种质资源与遗传育种;通讯作者:赵会宏;E-mail:zhaohh@scau.edu.cn

formed the second cluster. The analyzed result of 21 microsatellite loci in three populations showed that 15 loci were high polymorphic ( $PIC > 0.5$ ), the clustering result of three populations was in accordance with the result of mtDNA D-loop marker, all clustering results had a certain correlation with their geographical distribution. From the result of morphological and molecular analysis, a conclusion can be drawn that the morphology in three populations had certain difference, there was rich genetic diversity among populations.

**Key words:** *Pelteobagrus fulvidraco*; Zhujiang River Area morphology; mtDNA D-loop; microsatellites

黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* 在分类学上属于硬骨鱼纲、鲇形目 Siluriformes、鲿科 Bagridae、黄颡鱼属 *Pelteobagrus*，俗名叫黄刺公、黄腊丁、黄刺骨等。黄颡鱼是中国重要的小型经济鱼类，分布广泛，在我国除西部高原以外的各大水系均有分布，此外在西伯利亚及远东地区、东北亚的朝鲜、韩国、日本、东南亚的老挝、越南等地区也有分布。

黄颡鱼以无肌间刺、肉质鲜美、必须氨基酸含量丰富、营养价值高著称，颇受广大消费者的青睐。国外关于黄颡鱼的研究并不多见，主要以研究大型的鲇形目鱼类如斑点叉尾鮰为主。在国内，肖调义等<sup>[1]</sup>以洞庭湖瓦氏黄颡鱼、光泽黄颡鱼、长须黄颡鱼、普通黄颡鱼为研究对象进行 RAPD 分析，结果显示遗传距离最大的是普通黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼，遗传距离最小的是普通黄颡鱼和光泽黄颡鱼；刘朋朋等<sup>[2]</sup>采用线粒体 D-loop 区测序技术对巢湖、渦湖、洪泽湖、太湖和鄱阳湖 5 个地理群体的黄颡鱼进行遗传多样性分析，结果表明 5 个群体的黄颡鱼有不同程度基因流动；李大宇等<sup>[3]</sup>、郭金峰等<sup>[4]</sup>基于微卫星分析不同水系及湖泊黄颡鱼的遗传多样性及群体关系，Xiao yu feng 等<sup>[5]</sup>利用微卫星标记研究黄颡鱼遗传多样性，结果都充分阐述了不同群体黄颡鱼的遗传多样性特点。此前黄颡

鱼遗传多样性研究报道多见于国内珠江以外其它水系及湖泊，珠江水系关于黄颡鱼的遗传多样性研究较少。

形态学度量常用于研究物种关系、分类与鉴定，能直观反映物种不同群体的形态和遗传差异<sup>[6-8]</sup>。线粒体 D-loop 区为非编码区，进化速度大于线粒体其它基因，多用于遗传分化的比较<sup>[9]</sup>。微卫星标记又称为短串联重复序列或简单重复序列，由核心序列和侧翼序列组成，微卫星因其数量多、分布广、多态性丰富及检测快速方便而广泛应用于生物遗传多样性的研究<sup>[10]</sup>。本文利用形态度量学、mtDNA D-loop 序列分析及微卫星标记方法分析珠江流域 3 个不同地理群体野生黄颡鱼的遗传差异，为珠江流域黄颡鱼的育种及资源保护提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本实验所用黄颡鱼取自广东东江（35 尾）、广西漓江（40 尾）、贵州都柳江（40 尾），3 群体黄颡鱼地理分布及具体信息见图 1 和表 1。对形态数据进行了现场记录，取新鲜肌肉组织存于无水乙醇中保存用于后续实验。

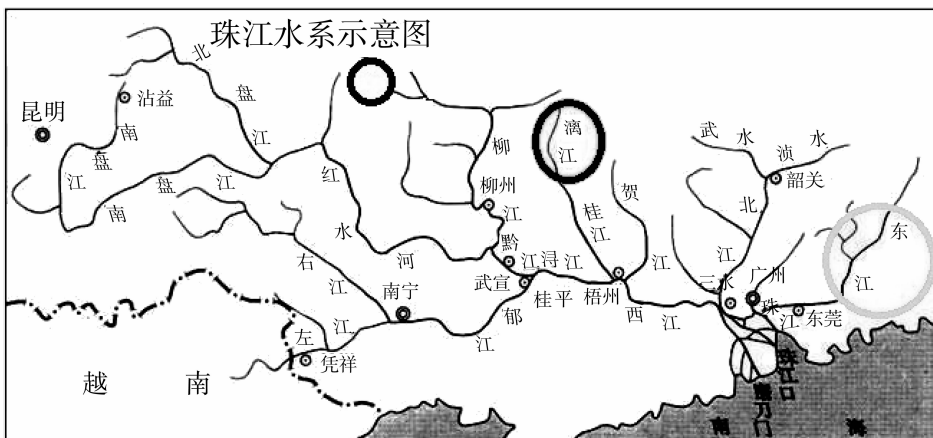


图 1 黄颡鱼采样图

Fig. 1 The sampling stations of yellow catfish in Zhujiang

表 1 3 个野生黄颡鱼群体采样信息表  
Table 1 Sample info of three wild populations

群体	采样地点	采集时间	采集部位	保存方法	全长范围/cm
漓江 (LJ)	广西桂林	2013.06	背肌	无水乙醇	10.0 ~ 20.0
都柳江 (DLJ)	贵州都匀	2013.06	背肌	无水乙醇	10.9 ~ 19.5
东江 (DJ)	广东河源	2013.08	背肌	无水乙醇	10.6 ~ 20.0

1.2 方法

1.2.1 形态度量方法 形态学度量方法参照王峰<sup>[11]</sup>对黄颡鱼坐标位点的选择,选取共 11 个坐标位点(图 2),测量 21 项框架数据(1-2、1-3、1-11、2-3、2-11、2-10、3-4、3-10、3-9、4-5、4-9、4-8、4-10、5-6、5-7、5-8、6-7、7-8、8-9、9-10、11-10),使用游标卡尺、直尺测量样本的可量性状,包括全长、体长、体宽、体高、头长、吻长、眼径、眼间距、尾柄长、尾柄高。

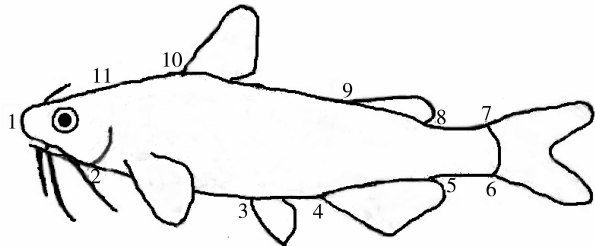


图 2 黄颡鱼框架数据位点图

Fig. 2 Measurements of yellow catfish

1: 吻前端; 2: 下颌骨最后端; 3: 腹鳍起点; 4: 臀鳍起点; 5: 臀鳍末端; 6: 尾鳍腹部起点; 7: 尾鳍背部起点; 8: 脂鳍末端; 9: 脂鳍起点; 10: 背鳍起点; 11: 上颌骨最后端

1.2.2 mtDNA D-loop 控制区序列测定 黄颡鱼基因组 DNA 的抽提实验采用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANamp Marine Animals DNA Kit) 提取。使用引物 F (5' - GGTTCATCTTAA-CATCTTCAGTGT - 3') 和 R (5' - CTCCCAAAGCTA GGATTCTAAACTAAACTA - 3') 扩增 mtDNA D-loop 片段<sup>[12]</sup>, PCR 反应体系采用 50 μL 体系, 反应步骤: 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 50 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 共 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。PCR 产物的纯化与测序工作由华大基因完成。

1.2.3 微卫星引物设计及筛选 微卫星引用李大宇等<sup>[3]</sup>、刘臻等<sup>[13]</sup>、郭金峰等<sup>[4]</sup>、王婷婷等<sup>[14]</sup>报告的微卫星引物, 选取 21 对引物 (见表 2) 由 Invitrogen 公司合成荧光引物 (FAM 修饰), PCR 产物送 Invitrogen 公司进行毛细管荧光电泳。

表 2 黄颡鱼微卫星 21 对引物信息表<sup>1)</sup>  
Table 2 Information of 21 microsatellite makers from *Pelteobagrus fulvidraco*

微卫星标记	引物序列(5'-3')	重复序列	退火温度/°C
HSY01	CACCCTCCACTGAGAATGA CGATAAGCAGGTAATAA	(CA) <sub>23</sub>	53
HSY02	TCACAAATGAGTTTGAGCCT TCTGGAGAACTGGGTGGG	(CA) <sub>27</sub>	48
HSY03	ACGGCATGAATAAAGGAA GAGGAGGAGACGAGCTGT	(CA) <sub>49</sub>	47
HSY04	AAAGGTGGAACAGAAGGC ACCCAACAAGCGAGAACTA	(CA) <sub>53</sub>	56
HSY05	CTGCGTGGTATCAGGTGG AAGGCACTGGATGCGTCAAT	(CA) <sub>17</sub>	56
HSY06	AGACTTGGCGTTGTTTGG GTGTCAGAGTCGGGTGCT	(CA) <sub>118</sub>	48
HSY07	AAAGATGTTGTTTTGGGTG AGGCCGAAAGATGGCTAA	(TC) <sub>30</sub>	56
HSY08	CTACCGCTTATCAGAACTT CGATCTTTGACATCACTCA	(CA) <sub>27</sub>	48
HSY09	TAAGCCTTGTAAAGTATTTTG CTGAAGCTATTTGCTCTT	(GA) <sub>39</sub>	48
HSY10	AGATGGTCTGTATGTGCC ATCTTTCAGCGTGTTC	(CA) <sub>38</sub>	48
HSY11	TGGCCTCCATGAAGAAAG ATCTCCTGGAGCCTCTGG	(TG) <sub>2</sub> ... (TG) <sub>12</sub>	54
HSY12	ACTCAGTTGTGAGTTATCAC ACACAAGAAATCCCCTGG	(CTAT) <sub>14</sub>	52.5
HSY13	CAGATAAAGCCCTGGTAGTG GGTCATACCACAGCATCTCA	(GACA) <sub>18</sub>	54
HSY14	GAATGACAGAATCACAGAA TGGGTGAGAAAGTGGAT	(CAAT) <sub>8</sub>	53
HSY15	TCAGTTCCTCAGAATCCATCG GGTCCCATTTGACTTCCATA	(GT) <sub>10</sub>	49
HSY16	AAAAAGGCTGAAGCAGCAAT GATCAGCCATGCCTAAGGAAG	(CA) <sub>18</sub> (A) <sub>7</sub>	53
HSY17	GATCAACAAGTAGTGTGCAG CCATCTCTGTCAATGCAACAG	(AT) <sub>18</sub>	55
HSY18	CTCTGTGTCTCTGTGAGCCTCTC TGCCCTATCATGACTTTCTCTCA	***	51
HSY19	TTTATCCATCCGATGTCTTCAT TACACCGCAACCAATTTTGTTC	***	50
HSY20	ATACCCTTAAACCCGCTCTGT TGGTGGCACTGATGAATACTT	***	50
HSY21	TGCATCTGCAGCTCAACAGTGTA AAACCCAGAAAAGCAGCAGATTC	***	52

1) 微卫星引物 HSY01-HSY10<sup>[3]</sup>, HSY11-HSY14<sup>[13]</sup>, HSY15-HSY17<sup>[4]</sup>, HSY18-HSY21<sup>[14]</sup>, \*\*\* 代表核心序列重复单元未知

### 1.3 数据处理

1.3.1 主成分分析 使用 KMO 和 Bartlett 检验分析所选变量是否适合于因子分析，为消除样品大小对形态参数造成的影响，先将全部原始数据与其体长之比作为校正值（头部特征除以头长，尾部特征除以尾柄长），总共构成 28 个形态特征参数。使用 SPSS17.0 对形态特征参数依据相关性矩阵提取主成分，依据因子得分作主成分分布散点图。

1.3.2 mtDNA D-loop 控制区序列分析 使用 ClustalX1.83 软件进行序列的手工比对及剪切，然后使用 MEGA5.0<sup>[15]</sup> 分析所得序列的遗传参数，基于 Kimura-2 参数模型，通过 1 000 次 Bootstrap 检验，构建单倍型 NJ 树，通过 Network 4.6.1.0 软件构建单倍型网络图。使用 DnaSP5.0 计算单倍型多样性 (Hd)、核苷酸多样性 (Pi)、并计算群体间分化系数  $F_{st}$  及基因流  $N_m$ <sup>[16-18]</sup>。黄颡鱼群体动态分析采用 Tajima's D 中性检验，在 MEGA5.0 中进行。

1.3.3 微卫星位点分析 对 Invitrogen 毛细管荧光电泳 DNA FRAGMENT ANALYSIS 所得到的 21 个位点在 3 个群体黄颡鱼的微卫星片段大小图片进行分析，并利用 POPGENE<sup>[19]</sup>、PIC-CAI 软件计算 3 个群体的遗传多样性数据，进而得到 21 个位点在 3 个群体的遗传参数，包括多态信息含量 (PIC)、等位基因数 (na)、群体间分化系数 ( $F_{st}$ )、基因流 ( $N_m$ )、遗传距离 ( $D$ )，依据遗传距离对 3 个群体进行聚类分析，构建群体间的 UPGMA 聚类树。

## 2 结果与分析

### 2.1 形态度量学

根据 Kaiser 关于因子分析适合度的标准：KMO 越接近于 1，形态度量性状越适合作因子分析。如表 3 所示，KMO 度量值为 0.804，所选变量均适合于因子分析。

表 3 KMO 和 Bartlett 检验  
Table 3 KMO and Bartlett's Test

KMO 度量值		0.804
Bartlett 球形度检验	卡方值	2 510.294
	自由度	378
	显著水平	0.000

将所获得的 28 个形态特征参数进行主成分分析，主成分贡献率及因子载荷见表 4。从表中来看，前 7 个主成分累计贡献率为 74.815%，即前 7 个主成分可以解释不同群体间形态差异的

74.815%。在第一主成分中具有较大载荷的为 3-9/体长、4-10/体长；在第二主成分中具有较大载荷的为尾柄高/尾柄长、2-11/体长；在第三主成分中具有较大载荷的为吻长/头长、1-11/体长，第二第三主成分主要反映了黄颡鱼头部和躯干部的特征。

根据因子得分根据 PC1 和 PC2，PC2 和 PC3 的主成分散点图 (图 3、图 4)，图中不同颜色代表不同群体。综合来看，都柳江群体与漓江群体大部分样本聚集于一处，重叠分布；东江群体大部分与都柳江群体、漓江群体分开。

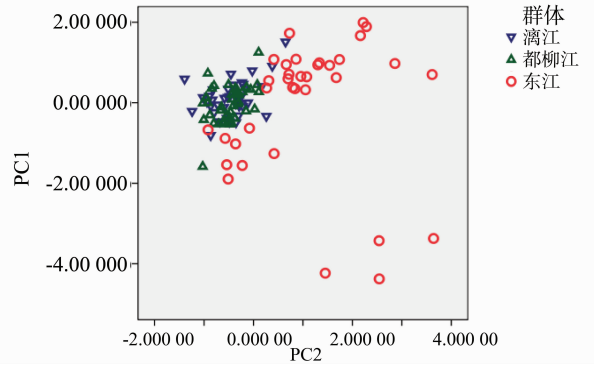


图 3 黄颡鱼第一、二主成分散点图

Fig.3 scatter plots of scores on PC1 and PC2 of yellow catfish

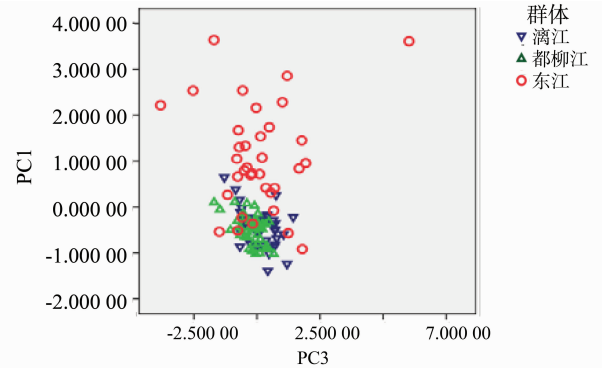


图 4 黄颡鱼第二、第三主成分散点图

Fig.4 scatter plots of scores on PC2 and PC3 of yellow catfish

### 2.2 线粒体 D-loop 控制区变异分析

3 个群体黄颡鱼实验所得 mtDNA D-loop 序列通过剪切比对，得到 D-loop 区长度 802 bp，最终共检测到 176 个变异位点，简约信息位点 148 个，转换数为 27，颠换数 15，碱基组成见表 5，3 个群体碱基组成基本一致，没有明显变化。四种核苷酸平均组成：A 为 30.06%，T 为 29.57%，G 为 25.93%，C 为 14.43%，A+T 含量明显高于 G+C 含量，其中 A 的含量最高，C 的含量最低。

表 4 各形态参数的主成分因子载荷

Table 4 Morphological parameter and principal components extracted from examined materials

形态参数	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
体长/全长	-0.057	-0.127	0.059	0.086	0.156	0.129	0.061
体宽/体长	0.070	0.036	-0.101	0.155	0.074	0.298	-0.022
体高/体长	0.070	-0.031	-0.075	0.269	0.064	0.356	0.138
头长/体长	0.056	0.076	-0.200	0.013	-0.312	-0.050	-0.035
吻长/头长	0.019	-0.019	0.263	0.004	0.308	0.196	0.268
眼径/眼间距	0.076	-0.070	0.003	-0.084	-0.025	-0.144	0.112
尾柄高/尾柄长	0.010	0.161	0.111	-0.031	-0.156	0.172	-0.217
1-2/体长	0.016	0.088	0.219	0.288	0.026	-0.315	0.067
1-3/体长	0.083	0.060	-0.054	-0.065	0.035	-0.231	-0.071
1-11/体长	0.014	0.112	0.239	0.232	0.079	-0.265	-0.152
2-3/体长	0.048	0.091	-0.163	-0.110	0.327	-0.121	0.023
2-11/体长	0.052	0.155	0.039	0.011	0.029	0.065	-0.287
2-10/体长	0.070	0.120	-0.010	-0.024	-0.070	0.014	0.090
3-4/体长	0.027	-0.135	0.041	0.110	-0.247	0.016	-0.053
3-10/体长	0.049	0.046	-0.178	-0.052	0.413	-0.053	0.089
3-9/体长	0.087	0.073	-0.043	0.224	0.055	0.047	-0.037
4-5/体长	-0.081	0.122	-0.059	-0.012	0.017	0.146	0.077
4-9/体长	0.071	-0.087	-0.084	0.281	-0.039	0.032	-0.080
4-8/体长	-0.068	0.152	-0.074	0.021	-0.038	0.176	0.030
4-10/体长	0.088	-0.069	-0.049	0.163	-0.033	-0.060	-0.109
5-6/体长	0.085	0.003	0.099	-0.210	-0.066	-0.020	0.029
5-7/体长	0.077	0.036	0.127	-0.227	-0.100	0.098	0.096
5-8/体长	0.078	0.045	0.068	-0.132	0.018	0.114	-0.019
6-7/体长	0.060	-0.026	0.098	0.005	-0.093	0.326	0.143
7-8/体长	0.077	-0.008	0.122	-0.184	-0.032	0.123	0.064
8-9/体长	0.041	-0.112	-0.117	-0.119	0.073	-0.013	-0.347
9-10/体长	-0.077	0.130	-0.073	0.068	-0.077	0.158	0.064
11-10/体长	0.031	0.040	-0.111	0.047	-0.172	-0.225	0.690
贡献率/%	32.042	15.060	8.553	5.907	5.285	4.216	3.751
累计贡献率/%	32.042	47.102	55.655	61.562	66.847	71.064	74.815

表 5 3 个群体黄颡鱼碱基组成

Table 5 The nucleotide frequencies in three populations %

群体	A	T	G	C	A+T	G+C
漓江 (LJ)	30.1	29.6	25.9	14.4	59.7	40.3
都柳江 (DLJ)	30.0	29.6	25.9	14.5	59.6	40.4
东江 (DJ)	30.1	29.5	26.0	14.4	59.6	40.4
平均	30.06	29.57	25.93	14.43	59.63	40.37

利用 DNASP5.0 对剪辑后的序列进行分析获得 36 个单倍型、其中有部分单倍型为群体间共有单倍型, 单倍型多样性 (Hd)、核苷酸多样性 (Pi)、

$F_{st}$  值及  $N_m$  值 (表 6、表 7)。从表 6 中可以看出, 在各项指标中东江群体均高于其它两个群体, 多态性较为丰富, 而漓江群体与都柳江群体各项指标差异不大。

分析 3 个群体的遗传分化系数  $F_{st}$ , 从表 7 中可以看出, 东江群体与其它两个群体遗传分化较大, 漓江群体与都柳江群体遗传分化较弱。分析基因流  $N_m$  可知, 漓江群体与都柳江群体存在较大基因流, 东江群体与其它两个群体基因流较小, 与其它两个群体相比有产生遗传分化的趋势。

表 6 黄颡鱼 3 个群体多样性指标比较

Table 6 Diversity index in three populations of yellow catfish

群体	个体数	单倍型数	变异位点	多态位点数	单倍型多样性 (Hd)	核苷酸多样性 (Pi)
漓江 (LJ)	40	14	17	15	0.721	0.002 2
都柳江 (DLJ)	40	7	8	7	0.788	0.002 0
东江 (DJ)	35	15	151	146	0.911	0.046 8

采用 Tajima's D 中性检验来估算黄颡鱼的群体扩张时间<sup>[20]</sup>。在 Tajima's D 中性检验结果中 3 个群体的检验结果均为负值 (Tajima's D 值为 -0.13 ~ -1.55), 3 个群体未得到统计学上的显著性支持 (见表 8), 群体进化遵循中性模型, 且 3 个群体未经历近期的群体扩张事件。

表 7 黄颡鱼 3 个群体  $F_{st}$  值 (对角线下方) 和  $N_m$  值 (对角线上方)

Table 7 Pairwise fixation indices (below diagonal) and pairwise gene flow (above diagonal) between populations

群体	漓江 (LJ)	都柳江 (DLJ)	东江 (DJ)
漓江 (LJ)		8.370	0.669
都柳江 (DLJ)	0.029		0.663
东江 (DJ)	0.272	0.283	

表 8 黄颡鱼三个群体 Tajima's D 检验分析结果

Table 8 The Tajima's D text result of three populations

群体	个体数	Tajima 中性检验
东江 (DJ)	35	-1.02 ( $P > 0.10$ )
都柳江 (DLJ)	40	-0.13 ( $P > 0.10$ )
漓江 (LJ)	40	-1.55 ( $P > 0.10$ )

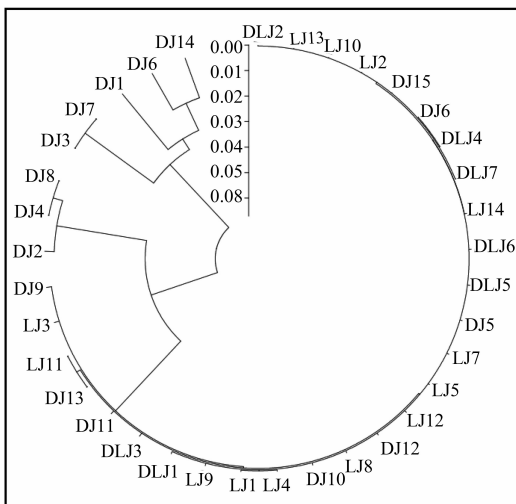


图 5 3 个黄颡鱼群体单倍型 NJ 树

Fig. 5 Haplotype phylogenetic tree (NJ) of three yellow catfish populations

图 5 为黄颡鱼 3 个群体单倍型 NJ 树, 将漓江群体单倍型命名 LJ1-LJ14, 都柳江群体命名 DLJ1-DLJ7, 东江群体命名 DJ1-DJ15。从图 5 来看, 3 个群体的单倍型并未聚集到独立的一支上, 漓江群体与都柳江群体总体聚为一支, 然后与东江群体聚为一支, 这说明漓江群体与都柳江群体间存在一定的基因交流, 其中东江群体与其它两个群体之间交流较少。利用 Network 4.6.1.0 构建单倍型的网络图 (图 6), 不同颜色代表不同地理群体的单倍型, 其中具有多色的为不同群体所共有的单倍型, 可以看出 3 个群体单倍型分布有和 3 个群体地理分布相吻合的特点。

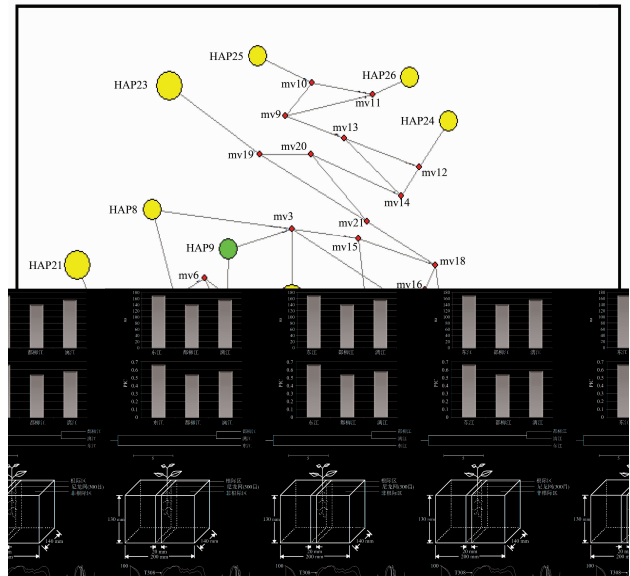


图 6 3 个黄颡鱼群体单倍型网络树

Fig. 6 Network of all haplotypes in three yellow catfish populations

### 2.3 微卫星多样性及群体结构分析

21 个微卫星位点在 3 个群体中检测到的等位基因数为东江 170 个、都柳江 141 个、漓江 156 个 (图 7), 每个基因座的等位基因数从 2 ~ 25 个不等, 微卫星片段长度在 110 ~ 398 bp 之间。

所有位点 PIC 值范围在 0.009 ~ 0.928 之间, 21 个位点中 2 个属于低度多态位点 ( $PIC < 0.25$ ), 4 个属于中度多态位点 ( $0.25 < PIC < 0.5$ ), 其它 15 个位点均属于高度多态位点 ( $PIC > 0.5$ )。分别从 3 个群体的 PIC 值看, 东江平均 PIC 值 (0.664) 最高, 遗传变异程度最高, 都柳江平均 PIC (0.540) 与漓江平均 PIC 值 (0.583) 次之 (图 8)。从总群体的平均遗传杂合度结果显示, 黄颡鱼总群体 21 个位点遗传多样性丰富, 东江群体遗传多样性最为丰富 ( $AVE-Het = 0.6935$ ), 而都柳江群体 ( $AVE-Het = 0.5742$ ) 与漓江群体 ( $AVE-Het = 0.5926$ ) 较为接近, 遗传多样性次之。以上结果表明, 3 个群体的遗传多样性较为丰富, 其中以东江群体的遗传多样性最为丰富, 其它两个群体次之。

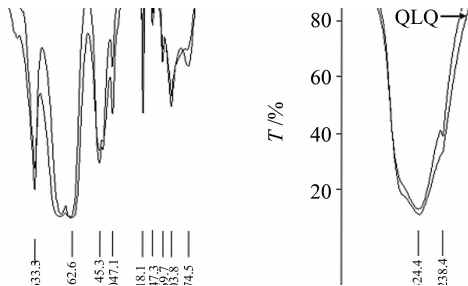


图 7 黄颡鱼 3 个群体等位基因数比较  
Fig. 7 Number of observed alleles comparison among three yellow catfish populations

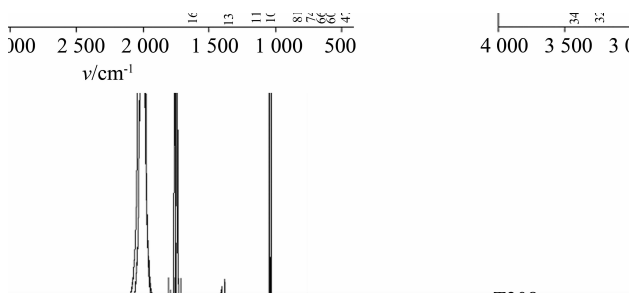


图 8 黄颡鱼 3 个群体 PIC 均值比较  
Fig. 8 PIC comparison among three yellow catfish populations

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<sup>[21]</sup>。黄颡鱼 3 个群体的 Nei's 遗传距离见表 9, 由表可知: 都柳江群体与漓江群体的遗传距离为 0.062 1, 遗传距离最小, 亲缘关系最近, 漓江群体与东江群体的遗传距离为 0.311 3, 遗传距离最大, 亲缘关系最远。基于 Nei's 遗传距离构建的 UPGMA 聚类树 (图 9) 显示: 都柳江群体与漓江

群体先聚为一支, 再与东江群体聚为一支。

表 9 黄颡鱼 3 个群体间 Nei's 遗传距离<sup>1)</sup>  
Table 9 Nei's genetic distance of three yellow catfish populations

群体	都柳江(DLJ)	漓江(LJ)	东江(DJ)
都柳江(DLJ)	* * * *		
漓江(LJ)	0.062 1	* * * *	
东江(DJ)	0.307 2	0.311 3	* * * *

1) 对角线下方代表遗传距离

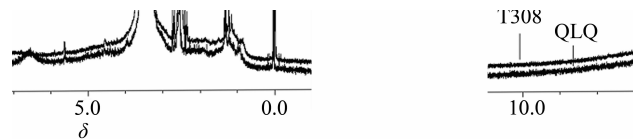


图 9 3 个群体黄颡鱼的 UPGMA 聚类树  
(基于 Nei's 遗传距离)

Fig. 9 The UPGMA tree of three yellow catfish populations  
(based on Nei's genetic distance)

## 3 讨论

### 3.1 黄颡鱼形态度量学

形态度量学常用于研究物种间的关系、分类和鉴定。主成分分析是一种多变量分析方法, 它能较直观反应个体间的相似程度, 主成分分析广泛应用于物种地理群体的遗传分化研究。本研究中使用主成分分析对珠江流域黄颡鱼形态性状进行分析, 结果显示 3 个群体存在一定形态差异, 这与赵良杰等<sup>[6]</sup>关于大眼华鳊 3 个群体并不存在显著的形态差异的结果有所不同。3 个黄颡鱼群体存在一定程度的遗传差异, 主要体现在吻长、尾柄高、3-9、4-10、2-11、1-11 等形态参数上。从主成分散点图来看, 都柳江群体与漓江群体黄颡鱼样本聚集于一处, 东江群体黄颡鱼样本大部分与其它两个群体分开, 表明东江群体与其它两个群体形态上存在一定程度的分化, 漓江群体与都柳江群体形态间分化较小。

### 3.2 黄颡鱼线粒体 D-loop 控制区遗传多样性

从已有的鱼类 D-loop 序列的分析结果显示: 荷包红鲤 D-loop 区 G + C 含量为 33.9%<sup>[22]</sup>, 白甲鱼 D-loop 区 G + C 含量为 33.9%<sup>[23]</sup>, 赤眼鳟 D-loop 区 G + C 含量为 44.2%<sup>[9]</sup>, 黄颡鱼的碱基组成符合鱼类线粒体控制区碱基组成的特点。从 115 个黄颡鱼个体中获得了 36 个单倍型, 平均单倍型多样性 (Hd) 为 0.807, 核苷酸多样性指数 (Pi)

为 0.017 0, 在各项指标中东江群体均高于其它两个群体, 多态性较为丰富, 而漓江群体与都柳江群体各项指标差异不大。

基因流又称基因流动, 是基因从一个群体流向另外一个群体的过程。若  $N_m$  值大于 1, 表明群体基因漂变不足以造成基因分化; 若  $N_m$  值大于 4, 说明群体之间存在随机交配的现象; 若  $N_m$  值小于 1, 则有可能预示着隔离的产生<sup>[17-18]</sup>。基于黄颡鱼线粒体 D-loop 区 3 个野生群体间的基因流显示, 漓江群体与都柳江群体间  $N_m$  值大于 4, 说明这两个群体间存在广泛的基因交流, 构成一个随机交配的群体, 东江群体与其它两个群体  $N_m$  均小于 1, 说明东江群体与其它两个群体间交流较少。Wright<sup>[24]</sup>认为遗传分化系数 ( $F_{st}$ ) 常用于评价群体遗传分化程度, 在 0 至 1 的范围内,  $F_{st}$  值越大, 两群体间的分化程度越高。从群体遗传分化系数 ( $F_{st}$ ) 来看, 漓江群体与都柳江群体  $F_{st} = 0.029 < 0.05$ , 说明这两个群体处于轻度分化水平, 东江群体与漓江群体 ( $F_{st} = 0.272$ ), 东江群体与都柳江群体 ( $F_{st} = 0.283$ ) 均大于 0.25 又小于 1, 说明东江群体与其它两个群体出现较高的分化。综合  $N_m$  值及  $F_{st}$  值, 可以认为漓江群体与都柳江群体是一个随机交配群体, 未出现分化趋势, 这两个群体势必存在由于群体生存压力而产生的流动, 而东江群体由于与其它两个群体基因交流较少, 已出现遗传分化, 并有产生隔离的趋势。

通过构建单倍型 NJ 树, 发现各个地理群体单倍型没有完全构成单一的支系, 定向分化的迹象不明显, 单倍型混杂在各分支上, 都柳江群体单倍型与漓江群体单倍型关联紧密。单倍型网络图也呈现这种趋势, 可以显示与其地理分布相吻合的特征, 3 个群体单倍型主要以 HAP 1、HAP 6 和 HAP 10 为核心的 3 个部位, 节点表示未被检测到或已丢失的单倍型, 这是群体丧失一部分低频率等位基因的结果。从 Tajima's D 中性检验的结果看, 3 个群体进化遵循中性模型<sup>[20]</sup>, 各群体均未表现出强烈的群体增长趋势, 3 个群体未出现近期群体扩张事件。

### 3.3 黄颡鱼微卫星多样性及群体结构

物种的遗传多样性是物种适应环境变化、维持生存与进化的遗传基础。群体的遗传多样性越高, 对环境的适应能力就越强, 进化的潜力也越大<sup>[25]</sup>。PIC、Het 都是反映群体遗传多样性的度量, 参照 Botstein 等<sup>[26]</sup>提出的关于 PIC 衡量基因座位多态性的标准, 当  $PIC \geq 0.50$  时该基因座为多态基因座,

当  $PIC \leq 0.25$  时为低度多态基因座, 当 PIC 处于两者中间时为中度多态基因座。本研究中黄颡鱼 3 个野生群体 21 个微卫星位点的平均 PIC 为 0.629, 属高度多态, 东江群体 PIC 值 (0.664) 最高, 漓江群体 PIC 值 (0.583) 和都柳江群体 PIC 值 (0.540) 次之, 3 个群体的 PIC 值高于李大宇关于黄颡鱼的微卫星报道 ( $PIC = 0.40$ ), 与郭金峰的关于黄颡鱼的微卫星报道 ( $PIC = 0.5889$ ) 基本一致, 3 个群体的 PIC 整体水平很高, 遗传多样性丰富。杂合度是指随机抽取的样本中其两个等位基因不相同的可能性, 其大小可反映群体遗传变异程度的大小。分析结果显示: 东江群体遗传杂合度 (0.6935) 高于漓江群体 (0.5926) 与都柳江群体 (0.5742), 东江群体遗传变异程度较高, 可能是由于东江具有更加复杂的环境变化, 群体更趋于表现出丰富的遗传变异。由于黄颡鱼的养殖业发展的时间不长, 人工放流的较少, 使得各珠江流域的黄颡鱼保持在野生状态, 这是黄颡鱼群体遗传多样性较为丰富的重要原因。

群体间亲缘关系的远近也可以通过聚类的先后顺序来显示, 从 3 个黄颡鱼群体的聚类结果来看, 都柳江群体与漓江群体首先聚为一支, 两个群体的遗传距离较小, 亲缘关系最近, 主要由于两个群体江段同处西江流域, 群体间存在基因交流; 东江群体独自聚为一支, 与其它两个群体遗传距离较大、亲缘关系较远, 这主要是地理隔离作用的结果。从聚类结果也可以看出, 聚类结果与 3 个群体不同流域、不同地理分布有显著的相关性, 这同时也符合 Scribner 等<sup>[27]</sup>提出的地理相邻性 (geographic proximity) 理论, 即距离近的种群间由于基因交流而形成较高的遗传相似性, 而地理隔离和遗传距离间的显著相关是由于种群间地理相邻性而产生的遗传分化。

## 4 结 论

综合形态度量学、分子标记的结果可以看出, 3 个黄颡鱼群体存在一定的形态差异, 形态度量主成分结果与分子标记结果一致, 符合 3 个黄颡鱼群体的地理分布关系。3 个黄颡鱼群体的 mtDNA D-loop 多样性指标 (S、Hd、Pi 等)、微卫星多样性指标 (PIC、AVE-Het 等) 及两种分子标记的聚类分析得出一致的结论: 东江群体遗传多样性均高于其它群体, 多态性较为丰富, 都柳江群体与东江群体遗传多样性次之且较为接近, 3 个黄颡鱼群体的遗传聚类结果符合群体间地理位置的分布关系, 即

都柳江群体与漓江群体先聚为一支,亲缘关系较近,最后与东江群体聚为一支,东江群体与都柳江群体、漓江群体亲缘关系较远。尽管珠江流域野生黄颡鱼群体遗传多样性较为丰富,种质资源状况比较可观,但鱼类资源保护、鱼类资源的可持续利用还需进一步加强。

### 参考文献:

- [1] 肖调义,张学文,章怀云,等. 洞庭湖四种黄颡鱼基因组 DNA 遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国生物工程杂志,2004,24(3):84-89.
- [2] 刘朋朋,钟立强,潘建林,等. 基于线粒体 D-loop 区分分析黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 五个淡水湖泊群体的遗传多样性[J]. 海洋与湖沼,2013,44(3):728-733.
- [3] 李大宇,殷倩茜,侯宁,等. 黄颡鱼 (*Pelteobagrus eupogon*) 不同生态地理分布群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 海洋与湖沼,2009,40(4):460-469.
- [4] 郭金峰,王玉,马洪雨,等. 三个黄颡鱼群体遗传多样性及亲缘关系的微卫星标记分析[J]. 氨基酸和生物资源,2006,28(3):5-8.
- [5] XIAO Y F, ZHONG Q L, NAN X A, et al. Isolation and characterization of twelve novel microsatellites in yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Conservation Genetics, 2009 (10): 755-757.
- [6] 赵良杰,何光喜,周小玉,等. 千岛湖大眼华鳊形态度量学和 D-loop 序列分析[J]. 水产学报,2013,37(3):351-358.
- [7] 董世瑞. 形态标记与微卫星标记在中国对虾遗传选育中的应用研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2006.
- [8] 韩真,肖永双,高天翔. 中国近海 9 个小黄鱼群体的形态学比较研究[J]. 南方水产科学,2012,8(3):25-33.
- [9] 杨慧荣,赵会宏,刘丽,等. 珠江和长江水系赤眼鳟 D-loop 基因序列遗传变异分析[J]. 上海海洋大学学报,2012,51(5):100-106.
- [10] LIU Z J, CORDES J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics[J]. Aquaculture, 2004, 238: 1-37.
- [11] 王峰. 江黄颡鱼、黄颡鱼、粗唇鲃及其杂交 F1 代形态差异分析[J]. 中国农学通报,2013,29(2):36-43.
- [12] 汪登强,方耀林,邹桂伟. 长江中游 4 种黄颡鱼的遗传结构及差异[C]. 水产科技论坛,2005.
- [13] 刘臻,鲁双庆,张建社,等. 黄颡鱼微卫星标记筛选及特征分析[J]. 农业生物科学学报,2008,16(4):604-609.
- [14] 王婷婷,宋学宏,许爱国,等. 应用微卫星标记分析 4 个黄颡鱼群体的遗传多样性[J]. 江苏农业科技,40(4):41-45.
- [15] KUMAR S, TAMURA K, NEI M, et al. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment [J]. Brief Bioinform, 2004, 5: 150-163.
- [16] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [17] NEIGEL J E. Is  $F_{st}$  obsolete? [J]. Conservation Genetics, 2002 (3): 167-173.
- [18] SLATKIN M. Gene flow and the geographic structure of natural populations [J]. Science, 1987, 236(5): 787-792.
- [19] RAYMOD M, ROUSSET F. GENEPOP (Version 1.2): Population genetic software for exact test and ecumenicism [J]. Journal of Heredity, 1995, 86: 248-249.
- [20] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA Polymorphism [J]. Genetics, 1989 (123): 585-595.
- [21] 吴勤超,梁宏伟,李忠,等. 黄颡鱼微卫星标记的筛选及三个野生群体的遗传结构分析[J]. 生物技术通报,2010(3):154-163.
- [22] 梁宏伟,邹桂伟,罗相忠,等. 3 种中国鲤 mtDNA D-Loop 序列的多态性与系统进化研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2009,37(3):55-65.
- [23] 彭珊,代应贵. 濒危鱼类稀有白甲鱼清水江群体 mtDNA D-loop 序列多态性[J]. 水产学报,2009,33(2):196-200.
- [24] WRIGHT. Evolution and the genetics of populations [M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978: 1-30.
- [25] 马波,姜作发,霍堂斌. 下游黑龙江茴鱼种群遗传变异及地理分化的微卫星分析[J]. 中国水产科学,2009,16(5):678-688.
- [26] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human, 1980, 32(3): 314-331.
- [27] SCRIBNER K T, EVANS J E, MORREALE S J, et al. Genetic divergence among populations of the yellow-bellied slider turtle (*Pseudemys scripta*) separated by aquatic and terrestrial habits [J]. Copeia, 1986 (3): 691-700.