

文章编号: 1000-0615(2017)10-1489-11

DOI: 10.11964/jfc.20161010572

基于mtDNA *Cytb* 基因序列的我国不同水系野生鲇种群遗传多样性与种群历史分析

徐丹丹¹, 黄燕², 曾庆², 李斌¹, 彭作刚^{2*}

(1. 内江师范学院生命科学学院, 长江上游鱼类资源保护与利用四川省重点实验室, 四川内江 641100;

2. 西南大学淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 为进一步了解鲇这一广布种的遗传多样性与种群遗传结构, 阐明该经济鱼类的种群历史动态, 本研究对我国长江(上游、中游)、珠江、福建、海南、辽河地区的野生鲇样本进行mtDNA *Cytb* 基因序列测定与种群遗传多样性和遗传结构分析。结果显示, 在所分析的216个序列样本中, 共检测出78个单倍型, 其中Hap_45在鲇不同群体中分布最为广泛; 鲇总群体具有较高的单倍型多样性($H_d=0.948\pm 0.009$)和核酸多样性($P_i=0.017\ 99\pm 0.000\ 55$), 暗示了其自然种群数量的相对稳定; 单倍型系统发育与网络关系图分析显示, 78种单倍型被分为4个分支, 且不同单倍型分布相对集中, 划分为4个谱系。中性检验与错配分析表明, 不同水系野生鲇种群(4个谱系)在约晚更新世时期(0.04~0.05百万年)经历过近期种群扩张事件。

关键词: 鲇; 细胞色素b (*Cytb*); 线粒体DNA; 种群历史

中图分类号: Q 347; S 917.4

文献标志码: A

探究江河渔业资源种群遗传多样性是实现合理开发和可持续发展的基础。种群遗传结构的研究不仅可以为了解渔业资源环境适应、区系分布和种群结构等方面提供生物学基础信息^[1-2], 同时也可以为人类制定科学合理的保护与开发措施提供理论依据^[3]。近年来, 随着分子生物学技术在渔业资源种群遗传结构中的广泛应用, 解决了渔业资源中行为学和形态学难以区分的遗传结构难题^[4]。目前, 分子遗传学技术已经被广泛应用于江河渔业资源物种鉴定、种群结构和遗传分化等研究中^[3, 5-8]。线粒体DNA (mtDNA) 是解决种群差异与生物地理关系的有效工具^[9]。鱼类线粒体细胞色素b基因(*Cytb*)进化速率适中, 在一定的进化尺度内不受饱和效应的严重影响, 且易被保守引物扩增^[10-11], 适合物种遗传分化与种群结构研究, 被认为是解决种群遗传分化、分类和进化最可信的分子标记之一^[5, 12]。

鲇(*Silurus asotus*)隶属鲇形目(Siluriformes)、鲇科(Siluridae)、鲇属(*Silurus*)。俗称河鲇、鲇拐子、泥鱼等^[13], 广泛分布于我国, 其中以南方水系分布占优, 生长速率快、肉质鲜嫩、高蛋白低脂肪, 深受消费者青睐^[14]。近年来由于人类过度捕捞、环境污染和水利工程建设等综合因素的影响, 鲇自然群体资源量呈现急剧下降趋势^[15-16]。因此, 开展我国鲇种群遗传结构的研究对其资源的保护与开发具有重要意义。目前, 关于鲇遗传学方面的研究已有报道^[17-21], 但研究内容涉及群体量少, 并缺乏对其各种群整体遗传结构的研究。因此, 本研究拟应用线粒体细胞色素b基因序列对我国不同江河水系野生鲇的种群遗传结构及其变异情况进行探究, 以期获得我国不同水系鲇自然资源种群遗传结构数据, 为野生鲇资源的可持续开发、管理与保护提供重要的理论支持。

收稿日期: 2016-10-11 修回日期: 2017-01-07

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903048-089); 内江师范学院校级项目(15JC12)

通信作者: 彭作刚, E-mail: pengzuogang@gmail.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用野生鲇6个种群样品于2011年10月至2012年12月分别采自长江上游(CJ_S)、长江中游(CJ_Z)、珠江水系(ZJ)、福建(FJ)、海南(HA)和辽河(LH)地区,样品共计216尾。具体采样点和样品数量见表1。所有鲇标本采用95%的乙醇固定,保存在西南大学水产科学重庆市市级重点实验室。

1.2 DNA提取、基因扩增和测序

基因组DNA提取使用DNeasy Blood & Tissue

Kit试剂盒(Qiagen, 德国)和HOM Buffer 2种提取法,提取后gDNA于4 °C保存备用。扩增引物使用Cytb基因通用引物^[11]进行PCR扩增。序列扩增采用50 μL反应体系,其中含模板DNA (50 ng/μL) 1.0~5.0 μL、10×buffer 5.0 μL、25 mmol/L MgCl₂ 3.0 μL、2.5 mmol/L dNTPs 4.0 μL、10 μmol/L引物 2.0 μL及2.5 U Tap酶1.0 μL,加双蒸水至50 μL。PCR反应程序:94 °C预变性3 min,94 °C变性0.5 min,52~56 °C退火0.5 min,72 °C延伸1.5 min,共30个循环,最后72 °C延伸5 min。所得PCR产物在1.5%琼脂糖凝胶上进行电泳检测,凝胶成像系统拍照观察,确认得到清晰、单一、明亮的目的条带送华大基因公司进行双向测序,测序

表1 鲇采集地及样本量

Tab. 1 Sampling location and sample size for *S. asotus*

种群 population	河流(湖泊) river (lake)	采样点 location	个体数/尾 sample size	采样水系 sampling drainage
鲇 <i>S. asotus</i>	长江	宜宾	16	长江上游水系 CJ_S
鲇 <i>S. asotus</i>	岷江	眉山	16	长江上游水系 CJ_S
鲇 <i>S. asotus</i>	大渡河	乐山	2	长江上游水系 CJ_S
鲇 <i>S. asotus</i>	嘉陵江	合川	26	长江上游水系 CJ_S
鲇 <i>S. asotus</i>	长江	云阳	18	长江上游水系 CJ_S
鲇 <i>S. asotus</i>	乌江	武隆	16	长江上游水系 CJ_S
鲇 <i>S. asotus</i>	长江	武汉	8	长江中游水系 CJ_Z
鲇 <i>S. asotus</i>	洞庭湖	岳阳	6	长江中游水系 CJ_Z
鲇 <i>S. asotus</i>	湘江	长沙	19	长江中游水系 CJ_Z
鲇 <i>S. asotus</i>	红水河	都安	27	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	红水河	天峨	5	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	右江	西林	8	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	漓江	田朔	6	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	右江	平果	15	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	左江	崇左	5	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	灵渠	全州	3	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	漓江	阳朔	1	珠江水系 ZJ
鲇 <i>S. asotus</i>	闽江	武夷山	5	福建(闽江水系) FJ
鲇 <i>S. asotus</i>	九龙江	上杭	5	福建(九龙江水系) FJ
鲇 <i>S. asotus</i>	南渡江	澄迈	5	海南(南渡江水系) HA
鲇 <i>S. asotus</i>	万泉河	琼海	1	海南(万泉河水系) HA
鲇 <i>S. asotus</i>	辽河	辽宁开原	3	辽河 LH
南方鲇 <i>S. meridionalis</i>	嘉陵江	合川	3	长江上游水系 CJ_S

引物同PCR扩增引物。

1.3 序列处理及数据分析

所得序列采用Clustal X和SEAVIEW^[22]软件进行编辑、排序和校对。采用DNAsp 5.10.01^[23]软件对多态位点数、单倍型数、核苷酸多样性(P_i)、单倍型多样性(H_d)、平均核苷酸差异数(K)等遗传多样性参数进行计算;采用MEGA 5^[24]软件进行遗传距离计算和聚类分析,并通过MEGA 5软件的Kimura's 2-parameter模型^[25]构建单倍型邻接树分支的可信度;采用Bootstrap统计1000次重复抽样检验;同时使用Network 4.6.1.1构建单倍型中介(Median-Joining)网络图^[26]并计算各单倍型分布频率。采用Arlequin 3.11软件进行*Cytb*单倍型错配分布分析并绘制歧点分布图,利用其中无限突变位点模型分别计算Tajima's D 和Fu's F_s 值和 P 值,群体的遗传结构进一步采用Arlequin 3.01软件^[27]中的分子变异分析(AMOVA)方法进行检测。利用公式 $\tau=2ut$ 和 $T=t \times G$ 进行鲈种群扩张时间的估算。式中, G 表示代时,由研究对象的性成熟年龄决定, t 表示种群扩张至今所经历的代数, τ 是错配分布的模型,可由Arlequin 3.11软件分析获得, u 是所有单倍型的变异率,用公式 $u=2\mu K$ 计算(K 为序列中核苷酸的数量, μ 为核苷酸变异速率)^[28]。

2 结果与分析

2.1 序列变异及遗传多样性

对6个不同地理区域的野生鲈种群的216尾样品的*Cytb*进行了测序,经比对校正后获得长度为1110 bp的同源序列。样品中共检测到多态位点133个,占总位点数的11.98%,简约信息位点80个;单倍型78种,多样性指数(H_d)为 0.948 ± 0.009 ,其中以Hap_45分布最为广泛,特有单倍型达到63个(表2);核苷酸多样性指数(P_i)为 0.01799 ± 0.00055 。

2.2 种群遗传距离与基因流

依据鲈地理及水系分布(表1)可分为6个种群,分别为海南群体(HA)、珠江群体(ZJ)、长江上游群体(CJ_S)、长江中游群体(CJ_Z)和福建群体(FJ)以及辽河群体(LH),它们之间的平均遗传距离为 0.0093 ± 0.0069 (表3)。参照Shaklee等^[29]的方法(鱼类在属间、种间和种群间三级水平上的平均遗传距离)可知上述6个种群均未达到亚种分化水平。海南群体(HA)与长江上游群体(CJ_S)是种群间平均遗传距离最大的群体($Da=0.02324$);福建群体(FJ)与长江上游(CJ_S)以及长江中游群体(CJ_Z)的遗传距离较小,分别为0.00098和0.00188。分析显示多数群体间基因流水平都偏低($N_m < 1$),

表 2 鲈单倍型分布及遗传多样性分析

Tab. 2 Distribution of the haplotypes and genetic diversity analysis for *S. asotus*

种群 population	样本数 sample size	单倍型数/个 number of haplotypes	单倍型(个) haplotypes (number of individuals)	单倍型多样性(H_d) haplotypes diversity	核苷酸多样性(P_i) nucleotide diversity
CJ_S	94	38	Hap22(1), Hap23(1), Hap24(1), Hap26(1), Hap27(2), Hap39(35), Hap40(1), Hap41(1), Hap42(1), Hap43(1), Hap45(9), Hap46(1), Hap47(1), Hap49(2), Hap_50(1), Hap51(1), Hap52(1), Hap53(1), Hap54(1), Hap55(1), Hap56(2), Hap57(1), Hap59(1), Hap60(1), Hap61(1), Hap62(1), Hap63(1), Hap64(1), Hap65(5), Hap67(1), Hap68(3), Hap70(1), Hap71(6), Hap72(1), Hap73(1), Hap74(1), Hap75(1), Hap76(1)	0.848	0.00528
CJ_Z	33	13	Hap22(5), Hap26(4), Hap29(1), Hap30(8), Hap32(1), Hap39(3), Hap44(1), Hap45(4), Hap48(1), Hap59(1), Hap66(2), Hap69(1), Hap77(1)	0.898	0.01422
ZJ	70	26	Hap5(2), Hap6(1), Hap7(1), Hap8(1), Hap9(3), Hap10(14), Hap11(2), Hap12(1), Hap13(2), Hap14(1), Hap15(1), Hap16(1), Hap17(5), Hap18(1), Hap19(2), Hap20(1), Hap27(1), Hap34(13), Hap35(1), Hap36(1), Hap37(8), Hap38(1), Hap39(1), Hap45(3), Hap57(1), Hap78(1)	0.910	0.01570
LH	3	3	Hap21(1), Hap25(1), Hap28(1)	1.00	0.00240
FJ	10	6	Hap31(1), Hap33(2), Hap45(2), Hap58(1), Hap59(3), Hap69(1)	0.889	0.01326
HA	6	5	Hap1(2), Hap2(1), Hap3(1), Hap4(1), Hap17(1)	0.933	0.00258

表 3 鲇各群体间的遗传分化

Tab. 3 Genetic differentiation among different populations of *S. asotus*

种群 Pop	种群 Pop	基因多样性 HS	平均核苷酸差异数 Kxy	基因分化系数 Gst	遗传分化系数 Gamma ST	遗传分化指数 Fst	核苷酸分歧度 Dxy	平均净遗传距离 Da	基因流 N_m
HA	ZJ	0.911 43	14.357 14	0.040 92	0.039 91	0.293 40	0.012 93	0.003 79	1.204 158
HA	LH	0.946 67	7.833 33	0.028 55	0.539 06	0.646 81	0.007 06	0.004 56	0.273 025
HA	CJ_Z	0.901 80	17.797 98	0.045 76	0.148 89	0.475 99	0.016 03	0.007 63	0.550 442
HA	CJ_S	0.852 08	30.156 03	0.046 47	0.344 44	0.855 27	0.027 17	0.023 24	0.084 611
HA	FJ	0.903 70	24.933 33	0.047 78	0.471 54	0.651 96	0.022 46	0.014 64	0.266 918
ZJ	LH	0.911 45	16.242 86	0.071 56	0.031 24	0.381 59	0.014 63	0.005 58	0.810 307
ZJ	CJ_Z	0.906 26	22.751 08	0.042 59	0.146 06	0.270 17	0.020 50	0.005 54	1.350 687
ZJ	CJ_S	0.874 73	30.786 02	0.058 46	0.469 86	0.621 83	0.027 74	0.017 25	0.304 078
ZJ	FJ	0.907 91	27.517 14	0.036 82	0.140 14	0.420 15	0.024 79	0.010 42	0.690 051
LH	CJ_Z	0.900 92	13.848 48	0.066 95	0.054 07	0.333 77	0.012 48	0.004 16	0.998 038
LH	CJ_S	0.850 18	27.765 96	0.074 93	0.202 07	0.846 42	0.025 01	0.021 17	0.090 723
LH	FJ	0.901 23	22.466 67	0.050 31	0.338 63	0.618 20	0.020 24	0.012 51	0.3088
CJ_Z	CJ_S	0.860 94	17.690 52	0.035 94	0.249 21	0.388 15	0.015 94	0.006 19	0.788 162
CJ_Z	FJ	0.895 91	17.221 21	0.036 00	0.068 55	0.121 00	0.015 51	0.001 88	3.632 231
CJ_S	FJ	0.851 77	11.264 89	0.038 70	0.047 05	0.096 71	0.010 15	0.000 98	4.670 096

但海南(HA)和珠江(ZJ)、福建(FJ)与长江上游(CJ_S)及中游(CJ_Z)群体间的基因流水平却相对较高($N_m > 1$),其中以福建(FJ)与长江上游(CJ_S)、中游(CJ_Z)群体间基因流水平最高(分别为4.67和3.63),表明它们之间的基因交流较为频繁。

2.3 单倍型系统发育树

单倍型中以南方鲇为外类群构建(邻接法)了单倍型系统进化树(图1)。78种单倍型可分为A、B、C和D 4个谱系:单倍型数量分支最多的为谱系A,有39个,占总数的1/2[由分布于长江上游的群体(CJ_S)构成]且存在共享单倍型;谱系B中单倍型均来自珠江水系(ZJ),与其他地理分布的群体间无共享单倍型,构成了珠江水系(ZJ)特有单系群;谱系C中单倍型的分布较为复杂,既包括了海南群体(HA)之外其他所有地理群体的单倍型,同时也有来自不同地理分布的单倍型;谱系D中大部分由珠江群体组成,包括少部分的海南群体。

2.4 单倍型聚类分析

单倍型在各分支系中的分布情况与系统发育树的分析结果相一致,聚集形成了4个主要的

单倍型类群,可分为类群A、B、C和D,与系统发育树中的4个谱系相对应(图2)。类群A中Hap_39和Hap_45的分布频率占类群总数的64.04%,并广泛分布于CJ_S各群体中,是长江上游鲇种群的优势单倍型;其中Hap_39在CJ_S群体中出现频率最高、分布最广,被认为是长江上游其他单倍型的祖先。此外,Hap_34和Hap_10在谱系B和D中的分布频率分别超过总数的70%,是2个谱系中的优势单倍型。

2.5 种群遗传分化

鲇种群间和种群内分子变异的分析(AMOVA)分为几个不同层次。以每个采样点作为一个独立群体时,群体间分化占主要比例(64.21%);不同河流和不同地理分布种群的分子方差分析结果均显示了群体间遗传分化大于群体内遗传分化;而在不同谱系间70.90%的遗传分化都发生在群体间,只有15.5%的遗传变异产生于群体内(表4)。

2.6 种群历史动态

单倍型错配分布分析发现,鲇4个谱系的单倍型错配分布呈单峰分布(图3),同时Tajima's D 和Fu's F_s 检验结果也均为负值(表5)。尽管

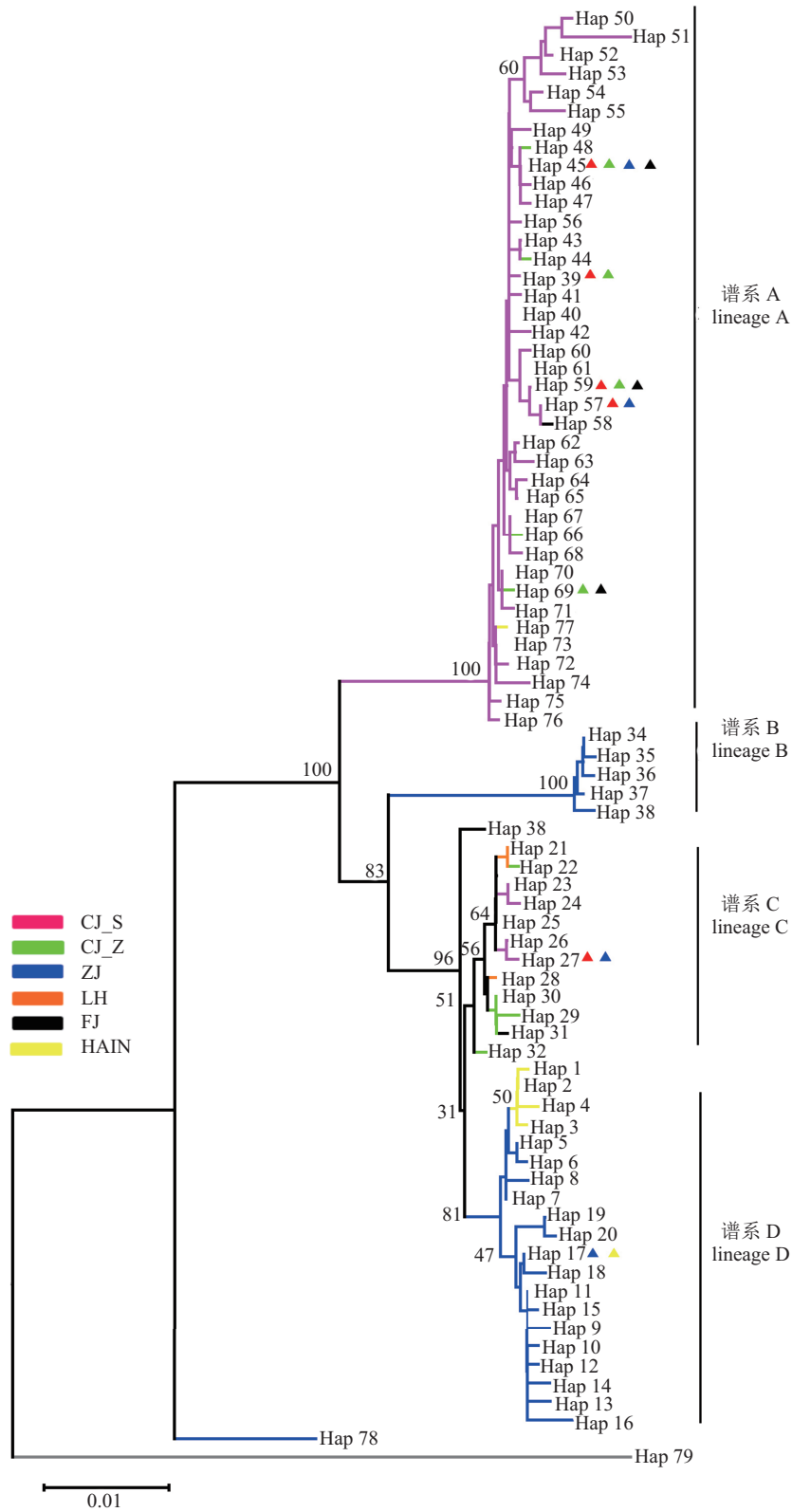


图 1 基于Kimur's -2-parameter遗传距离构建的单倍型邻接树

以南方鲈为外类群。各地理群体用不同的颜色表示, 下同

Fig. 1 Neighbor-Joining phylogenetic tree of *S. asotus* based on Kimura's 2-parameter distance

S. meridionalis was used as outgroup. Different colors indicate different geographic locations: pink (upper reaches of Yangtze River), green (middle reaches of the Yangtze River), blue (Pearl River), orange (Liaoh river), black (Fujian drainage), yellow (Hainan drainage), the same below

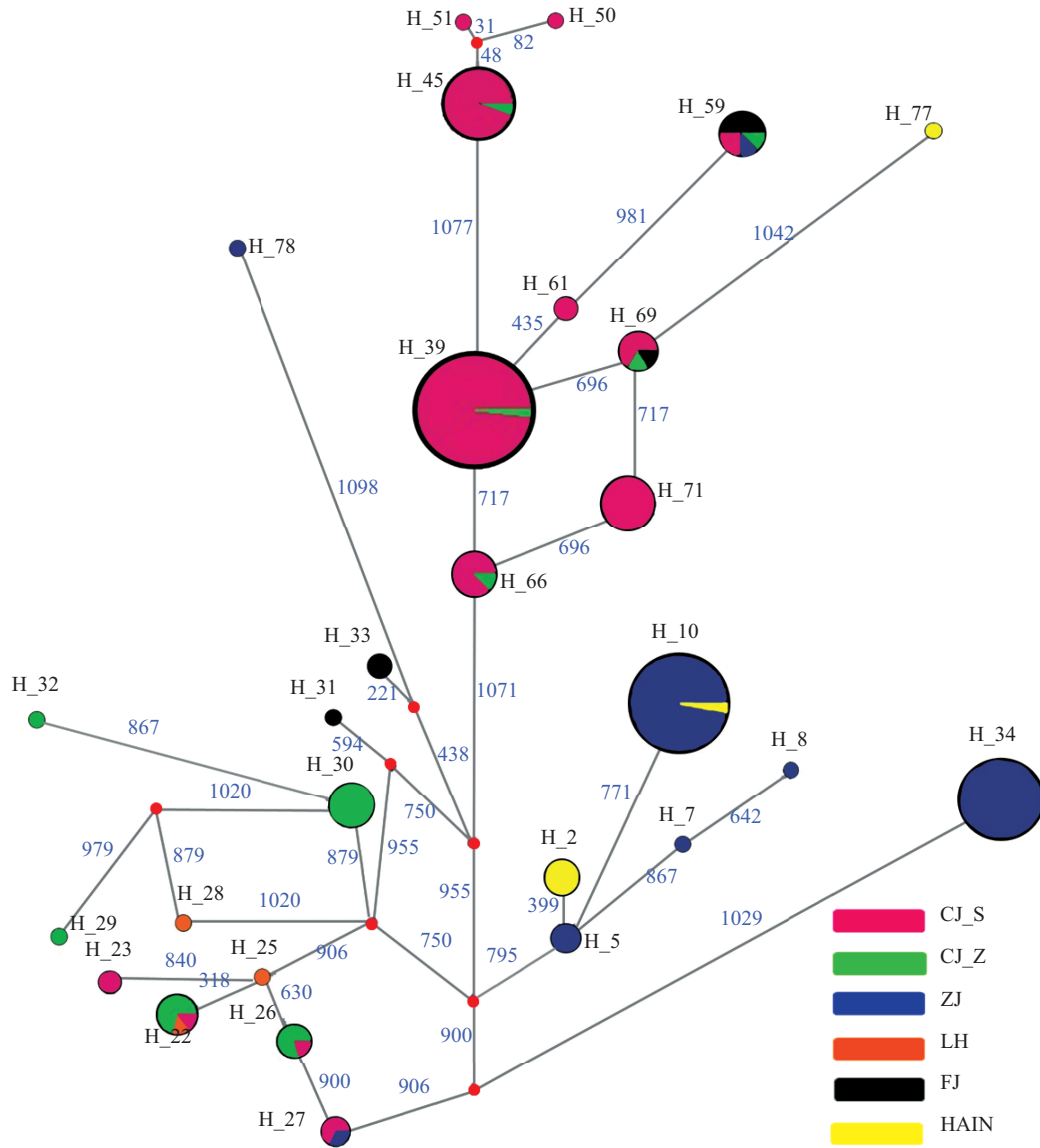


图 2 基于鲈线粒体 *Cytb* 基因 78 个单倍型构建的网络关系图

圆形的大小代表所示单倍型的频率，连接单倍型的直线上的数字代表两个单倍型之间的突变数，图中连线上的红色节点代表缺失单倍型

Fig. 2 Network of the observed 78 haplotypes of mtDNA *Cytb* gene sequences of *S. asotus*

Circle sizes are proportional to the frequencies of the respective haplotype, the number on the line indicate the steps of substitutions separating two haplotypes, the red node on the line represents the missing haplotype

表 4 鲈种群分子方差分析

Tab. 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *S. asotus* populations

组别 groups	F_{ST}	F_{CT}	F_{SC}	群体间/% among groups	群体内/% within populations	P
谱系间 lineages	0.845	0.709	0.467	70.90	15.50	<0.001
水域间 drainages	0.685	0.451	0.426	45.13	31.52	<0.001
河流间 rivers	0.672	0.438	0.417	43.78	32.76	<0.001
种群间 populations	0.642			64.21	35.79	<0.001

注: F_{ST} 总分化系数; F_{CT} 种群间分化系数; F_{SC} 种群内分化系数

Notes: F_{ST} total variance; F_{CT} intergroup variation, F_{SC} intragroup variation among populations

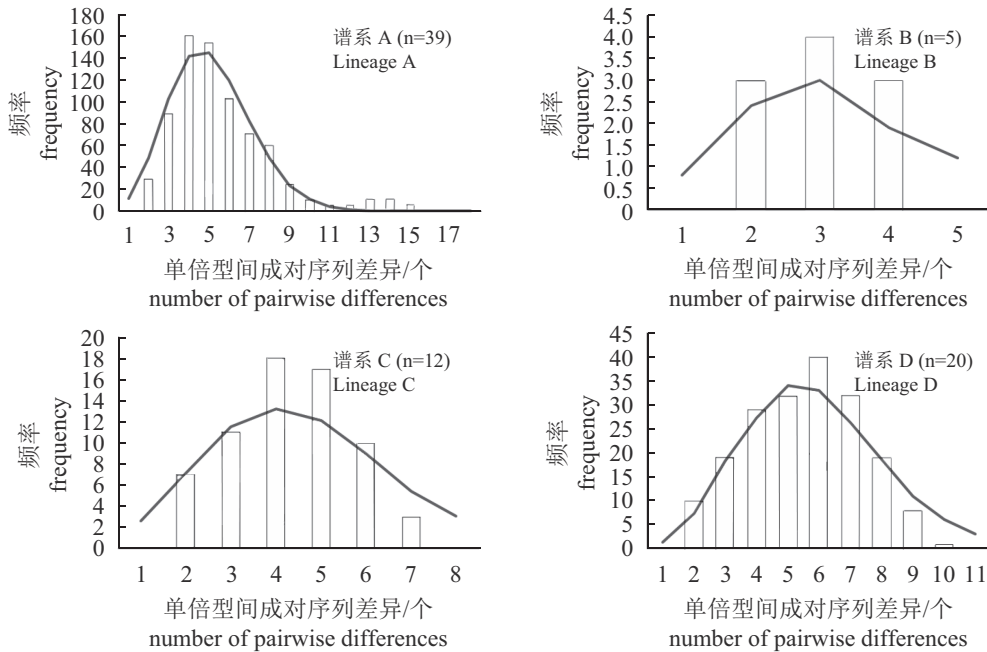


图 3 鲇4个谱系的单倍型错配分布

柱状图代表出现频率的观察值, 曲线代表基于种群扩张事件模型的期望频率

Fig. 3 Mismatch distribution of Cytb haplotypes in lineage A-D

The histograms indicate the observed frequencies, and the lines represent the expected frequencies based on the model of sudden population expansion

表 5 鲇4个谱系Tajima's D和Fu's Fs检验结果

Tab. 5 Tajima's D and Fu's Fs neutrality test of four lineages in S. asotus

群体 Pop		A	B	C	D
Tajima中性进化模型检验	Tajima's D test	-2.105 02	-1.123 97	-0.970 81	-1.574 57
P		0.003 00	0.094 00	0.170 00	0.055 00
Fu中性进化模型检验	Fu's Fs test	-25.636 95	-3.068 05	-10.646 61	-20.566 52
P		0.000 00	0.004 00	0.000 00	0.000 00

Tajima's D检验中谱系B、C和D未达到显著性($P < 0.05$), 但在Fu's Fs检验中4个谱系都具有较高的显著性。为了进一步了解鲇种群扩张发生的地质历史背景, 使用 τ 来估算其发生扩张的时间, 其中鲇4个谱系的 τ 分别为 $\tau (A) = 4.035$ 、 $\tau (B) = 3.061$ 、 $\tau (C) = 3.568$ 和 $\tau (D) = 4.792$, $K = 1110$, 代时取1, 并参考Avise^[30]提出的线粒体Cytb基因2%的突变速率, 计算出鲇各种群发生扩张事件的时间为0.040~0.054百万年, 即晚更新世时期。

3 讨论

3.1 鲇遗传多样性

研究物种遗传多样性是揭示物种多样性起

源、变异和进化的重要技术手段^[31]。本研究基于Cytb为分子标记探究了长江中上游、珠江、闽江、九龙江、辽河以及海南万泉河和南渡江共计6个不同地理单元鲇种群的遗传多样性。在鲇野生种群的216个样本中共检测出78种单倍型, 表明我国野生鲇群体存在丰富的mtDNA多态性, 也暗示了目前鲇的野生群体数量相对庞大且较为稳定^[32]。该结果与王庆容等^[19]、李学英等^[20]和肖明松等^[21]研究结论相一致。当前, 环境污染、水利工程建设及酷渔滥捕等因素对我国不同河流域鱼类资源造成了难以逆转的破坏^[33], 而鲇资源仍然具有较高的遗传多样性, 反映了鲇作为我国重要淡水经济鱼类特殊的生命进化历程和适应复杂环境的能力。

3.2 单倍型分布与系统发育分析

由单倍型系统发育树和单倍型网络关系图可知, 2种方法得到的结果基本一致。单倍型网络关系图可直接反映出单倍型之间的进化关系, 进化树表现出了4个不同的分支, 且不同单倍型分布相对集中, 形成明显的4个地理结构(谱系A、B、C和D); 其中, CJ_S和ZJ鲈种群遗传分化明显, 可作为2个单独的谱系; 而在谱系D中2个单系类群的节点支持率较低, 与HA和ZJ群体的部分单倍型出现交错分布的现象, 表明二者之间的亲缘关系较为密切, 可作为一个共同的谱系单位。通常认为, 共享单倍型源于共同的祖先, 是一种较为稳定、能够适应环境选择的单倍型^[34-35]。本研究Hap_39是CJ_S鲈种群(谱系A)的祖先单倍型, 而在其余种群中未发现祖先单倍型。其原因: ①可能与某些地理单元的样本量较少, 导致部分数据信息丢失有关(例如LH、HA和FJ种群); ②多数鲈群体间基因流水平偏低($N_m < 1$), 可能导致群体间发生“遗传漂变”而丢失了一些等位基因进而无法追溯其祖先单倍型^[36]。

3.3 遗传距离与遗传分化

通常, 物种的扩散能力越强, 其在不同区域间的遗传分化现象就越弱。该研究中, 鲈不同地理种群间无显著的遗传分化, 仅有较小序列的差异, 该结果与肖明松等^[21]研究结论一致。这可能归因于鲈群体分化程度是与当地水域生态环境相适应的结果, 环境影响的强度与方向相似, 可能会导致不同区域内的种群在遗传水平上难以形成显著的分化^[37]。由于地理隔离, 例如琼州海峡的阻隔可能造成了HA和CJ_S的2个地理种群之间具有较高的遗传分化。Boivin等^[38]研究指出不同种群间的基因交流越充分, 其遗传分化就越小($N_m > 1$, 表明群体间基因流水平高^[39])。可见我国长江流域与福建地区的鲈群体间基因交流充分(平均值 $N_m = 4.15$), 制约了地理种群间的遗传分化。本研究在一定程度上为我国鲈野生种群的系统演化研究提供了分子水平证据, 也为该物种的有效保护积累了分子生物学方面的资料。

3.4 种群遗传结构与种群历史分析

群体遗传结构强调物种或群体的遗传变异是一种非随机分布, 这种分布是由不同过程共

同作用产生的, 包括物种分布区改变、生境破碎、长期进化历史、突变、遗传漂变、基因流、繁育系统与选择等^[40]。所以深入掌握鲈种群遗传结构有助于为鲈的基础生物学和地理变异格局提供重要信息^[41]。鲈的游泳能力、地理隔离、洪水泛滥及人类活动干扰(人工捕捞、养殖等)皆可能影响鲈的种群结构。总体上, 我国长江流域、珠江流域及福建等南方区域在汛期时洪水多发, 且这些区域也是人工养殖鲈的主产区, 洪水泛滥在一定程度上加大了鲈种群间的交流机会, 可能使得我国南方区域同一水系不同地理种群间鲈表现出具有较小的遗传分化。

通过中性进化检验并结合单倍型错配分布可知, 4个鲈谱系都经历过近期的种群扩张事件, 其发生时间约在晚更新世时期(0.04~0.05百万年)。另外, 单倍型的星状网络图也被认为是种群扩张的证据之一。扩张事件可能导致长江中、上游鲈种群的部分群体曾以广东、江西这一地理区域作为冰期的暂时避难所, 冰期后才扩散至相邻的福建地区。因此福建鲈种群与长江种群之间拥有相对较近的遗传距离和较高的基因流。

参考文献:

- [1] Lintas C, Hirano J, Archer S. Genetic variation of the European eel (*Anguilla anguilla*)[J]. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1998, 7(4): 263-269.
- [2] Amaral A, Sequeira M, Martínez-Cedeira J, *et al.* New insights on population genetic structure of *Delphinus delphis* from the northeast Atlantic and phylogenetic relationships within the genus inferred from two mitochondrial markers[J]. *Marine Biology*, 2007, 151(5): 1967-1976.
- [3] Han Z Q, Li Y Z, Chen G B, *et al.* Population genetic structure of coral reef species *Plectorhinchus flavomaculatus* in South China Sea[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2008, 7(11): 1774-1781.
- [4] 李红梅, 吕振明, 刘立芹, 等. 基于Cyt *b*基因序列的中国沿海4个长蛸(*Octopus variabilis*)群体的种群遗传结构分析[J]. *海洋与湖沼*, 2013, 44(3): 626-631.
Li H M, Lv Z M, Liu L Q, *et al.* Genetic structure in 4 *Octopus variabilis* populations from China coastal waters based on mitochondrial Cyt *b* gene sequence[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 44(3): 626-

- 631(in Chinese).
- [5] Bennetts R Q, Grady J M, Rohde F C, *et al.* Discordant patterns of morphological and molecular change in broadtail madtoms (genus *Noturus*)[J]. *Molecular Ecology*, 1999, 8(10): 1563-1569.
- [6] Perdices A, Sayanda D, Coelho M M. Mitochondrial diversity of *Opsariichthys bidens* (Teleostei, Cyprinidae) in three Chinese drainages[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, 37(3): 920-927.
- [7] 周伟, 王俊, 金斌松, 等. 黄颡鱼群体遗传变异分析[J]. *水产学报*, 2016, 40(10): 1531-1541.
Zhou W, Wang J, Jin B S, *et al.* Genetic variation based on the mitochondrial DNA control region of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(10): 1531-1541(in Chinese).
- [8] 胡玉婷, 江河, 胡王, 等. 安徽长江流域黄鳝6个地理种群的遗传变异研究[J]. *四川动物*, 2015, 34(1): 21-28.
Hu Y T, Jiang H, Hu W, *et al.* Genetic variation in six populations of *Monopterus albus* from Anhui Province in Yangtze River basin[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2015, 34(1): 21-28(in Chinese).
- [9] Avise J C, Arnold J, Ball R M, *et al.* Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1987, 18(1): 489-522.
- [10] Graves J E. Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes[J]. *Journal of Heredity*, 1998, 89(5): 427-437.
- [11] Xiao W H, Zhang Y P, Liu H Z. 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.
- [12] 程起群, 马春艳, 庄平, 等. 基于线粒体Cyt b基因标记探讨凤鲚3群体遗传结构和进化特征[J]. *水产学报*, 2008, 32(1): 1-7.
Chen Q Q, Ma C Y, Zhuang P, *et al.* Genetic structure and evolution characters in three populations of *Coilia mystus* based on cytochrome b gene segment sequence of mitochondrial DNA[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(1): 1-7(in Chinese).
- [13] 丁瑞华. *四川鱼类志*[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994.
Ding R H. *The Fishes of Sichuan, China*[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1994 (in Chinese).
- [14] 陈湘舜. 我国鲶科鱼类的总述[J]. *水生生物学集刊*, 1977, 6(2): 197-218.
Chen X L. A review of the Chinese Siluridae[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1977, 6(2): 197-218(in Chinese).
- [15] 茹辉军, 王海军, 赵伟华, 等. 黄河干流鱼类群落特征及其历史变化[J]. *生物多样性*, 2010, 18(2): 169-174.
Ru H J, Wang H J, Zhao W H, *et al.* Fishes in the mainstream of the yellow river: assemblage characteristics and historical changes[J]. *Biodiversity Science*, 2010, 18(2): 169-174(in Chinese).
- [16] 张春光, 赵亚辉, 邢迎春, 等. 北京及其邻近地区野生鱼类物种多样性及其资源保育[J]. *生物多样性*, 2011, 19(5): 597-604.
Zhang C G, Zhao Y H, Xing Y C, *et al.* Fish species diversity and conservation in Beijing and adjacent areas[J]. *Biodiversity Science*, 2011, 19(5): 597-604(in Chinese).
- [17] Yoon J M, Kim G W. Randomly amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction analysis of two different populations of cultured Korean catfish *Silurus asotus*[J]. *Journal of Biosciences*, 2002, 26(5): 641-647.
- [18] 王朝明, 邹桂伟, 郑蓓蓓, 等. 三种鲇遗传多样性的RAPD分析[J]. *淡水渔业*, 2005, 35(4): 14-17.
Wang C M, Zou G W, Zheng B B, *et al.* RAPD analysis of genetic diversity of *Silurus meridionalis* chen, *Silurus asotus* Linnaeus and their hybrid F1[J]. *Freshwater Fisheries*, 2005, 35(4): 14-17(in Chinese).
- [19] 王庆容, 李黛. 鲇细胞色素b基因序列差异及遗传多样性分析[J]. *水生态学杂志*, 2009, 2(1): 40-44.
Wang Q R, Li D. Genetic diversity of *Silurus asotus* on mitochondrial cytochrome b gene sequence[J]. *Journal of Hydroecology*, 2009, 2(1): 40-44(in Chinese).
- [20] 李学英, 王大忠, 邹焰, 等. 鲇核基因组遗传结构的RAPD分析[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2009, 37(1): 177-179.
Li X Y, Wang D Z, Zou Y, *et al.* RAPD analysis on nDNA of *Silurus asotus*[J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science)*, 2009, 37(1): 177-179(in Chinese).
- [21] 肖明松, 崔峰, 康健, 等. 淮河野生鲇鱼线粒体Cyt b基因的序列变异与遗传结构分析[J]. *动物学杂志*, 2013, 48(1): 75-86.

- Xiao M S, Cui F, Kang J, *et al.* Genetic structure and variation of wild Chinese catfish from Huaihe River based on cytochrome *b* gene sequences[J]. Chinese Journal of Zoology, 2013, 48(1): 75-86(in Chinese).
- [22] 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.
- [23] Galtier N, Gouy M, Gautier C. SEAVIEW and PHYLO_WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny[J]. Bioinformatics, 1996, 12(6): 543-548.
- [24] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [25] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2): 111-120.
- [26] Bandelt H J, Forster P, Rhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.
- [27] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47-50.
- [28] 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.
- [29] Shaklee J B, Tamaru C S, Waples R S. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins[J]. Pacific Science, 1982, 36(2): 141-157.
- [30] Avise J C. Molecular Markers, Natural History and Evolution[M]. New York: Chapman and Hall, 1994.
- [31] Lohman D J, Peggie D, Pierce N E, *et al.* Phylogeography and genetic diversity of a widespread Old World butterfly, *Lampides boeticus* (Lepidoptera: Lycaenidae)[J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8: 301.
- [32] 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.
- [33] 胡贤江, 潘庭双, 侯冠军, 等. 安徽省野生鲢鱼资源现状和保护利用价值[J]. 安徽农业科学, 2002, 30(2): 233, 247.
- Hu X J, Pan T S, Hou G J, *et al.* The present situation and the value of protection and utilization of wild grass carp in Anhui province[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2002, 30(2): 233, 247(in Chinese).
- [34] 张立勋, 阮禄章, 安蓓, 等. 西藏雪鸡青海亚种的种群遗传结构和地理变异[J]. 动物学报, 2005, 51(6): 1044-1049.
- Zhang L X, Ruan L Z, An B, *et al.* Genetic structure and geographic variance of the Tibetan snowcock Przewalsky's subspecies *Tetraogallus tibetanus przewalskii* populations[J]. Acta Zoologica Sinica, 2005, 51(6): 1044-1049(in Chinese).
- [35] 周志军, 张艳霞, 常岩林, 等. 暗褐蝟蝻不同地理种群间的遗传分化[J]. 遗传, 2011, 33(1): 75-80.
- Zhou Z J, Zhang Y X, Chang Y L, *et al.* Genetic differentiation among different geographic populations of *Gampsocleis sedakovii*[J]. Hereditas, 2011, 33(1): 75-80(in Chinese).
- [36] Finston T L, Peck S B. Population structure and gene flow in *Stomion*: a species swarm of flightless beetles of the Galápagos Islands[J]. Heredity, 1995, 75(4): 390-397.
- [37] Armstrong K F, Wratten S D. The use of DNA analysis and the polymerase chain reaction in the study of introduced pests in New Zealand[M]//Symondson W O C, Liddell J E. The Ecology of Agricultural Pests: Biochemical Approaches. Melbourne: Chapman and Hall, 1996: 231-263.
- [38] Boivin T, Bouvier J C, Beslay D, *et al.* Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2004, 83(3): 341-351.
- [39] Millar C L, Libby W J. Strategies for conserving clinal, Ccotypic, Ana disjunct population diversity in widespread species[M]//Fald D A, Holsinger K E. Genetics and Conservation of Rare Plant. New York:

- Oxford University Press, 149-170.
- [40] Anderson S J, Conrad K F, Gillman M P, *et al.* Phenotypic changes and reduced genetic diversity have accompanied the rapid decline of the garden tiger moth (*Arctia caja*) in the U. K.[J]. *Ecological Entomology*, 2008, 33(5): 638-645.
- [41] Miller N J, Birley A J, Overall A D J, *et al.* Population genetic structure of the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius* (L.), in relation to geographic distance, gene flow and host plant usage[J]. *Heredity*, 2003, 91(3): 217-223.

Genetic diversity and population history among geographic populations of *Silurus asotus* in different water systems in China based on mtDNA *Cytb* gene sequences

XU Dandan¹, HUANG Yan², ZENG Qing², LI Bin¹, PENG Zuogang^{2*}

(1. Key Laboratory of Sichuan Province for Fishes Conservation and Utilization in the Upper Reaches of the Yangtze River, School of Life Sciences, Neijiang Normal University, Neijiang 641100, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development (Ministry of Education), Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: The catfish, *Silurus asotus*, is an important commercial fish in East Asia, and it is widely distributed throughout rivers and freshwater lakes of China. Unfortunately, population quantities of *S. asotus* decreased sharply in recent years because of overfishing and habitat fragmentation. Genetic diversity and population genetic structure are important aspects of the population genetics of fish, and provide essential information for understanding local adaptation and dispersal patterns, and for clarifying the genetic variation. Cytochrome b (*Cytb*) has a moderate evolutionary rate and a clear evolutionary pattern, suitable for the studies of phylogenetic evolution at the intra- and inter-specific levels. To identify the genetic diversity and population history among geographic populations of *S. asotus* in different water systems in China, including Yangtze River, Pearl River, Liao River and Southeast coastal rivers, and clarify its population demographic history and genetic structure, the genetic diversity, structure, differentiation, and molecular variance were analyzed using DNAsp5.10.01 and Arlequin 3.11. In the present study, 1110 bases of mtDNA *Cytb* gene were obtained from 216 of *S. asotus* collected in the different water systems in China from 2011 to 2012. Generally, there exists high diversity between haplotype ($H_d=0.948\pm 0.009$) and nucleotide ($P_i=0.017\ 99\pm 0.000\ 55$) in all populations of the catfish, suggesting that the populations were relatively large and stable. In addition, seventy-eight haplotypes, Hap45 was shared in individuals of all populations. Phylogenetic analysis of the MEGA5 was conducted to determine the relationships between *S. asotus* haplotypes, and detect discernible groups related to geography, and these analyses distinguished four inclusive clades. Moreover, the median-joining network was similar to the topology of the phylogenetic tree with 78 haplotypes, and revealed obviously four lineages in phylogeographic pattern. The results of neutrality tests on *S. asotus* data set of the four lineages, combined with the unimodal mismatch distribution, indicated recent population expansion of *S. asotus* on large spatial scales in the period of late Pleistocene (0.04–0.05 Ma).

Key words: *Silurus asotus*; cytochrome b (*Cytb*); mtDNA; population history

Corresponding author: PENG Zuogang. E-mail: pengzuogang@gmail.com

Funding projects: Special Fund for Agro-Scientific Research in the Public Interest (200903048-089); the Project of Neijiang Normal University (15JC12)