

文章编号: 1674-5566(2018)05-0666-08

DOI:10.12024/jsou.20171102165

锦江河 3 种鳊的遗传变异及其多样性评价

李 珊¹, 郭健康², 安 苗¹, 曹恒源³, 陈薛伟杰¹

(1. 贵州大学 动物科学学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵阳市修文县农业局, 贵州 贵阳 550200; 3. 水利部中国科学院水工程生态研究所 水利部水工程生态效应与生态修复重点实验室, 湖北 武汉 430079)

摘 要: 为探究锦江河国家级水产种质资源保护区内鳊类遗传变异特征及其多样性水平, 基于 PCR 扩增与测序技术对大眼鳊、斑鳊和中国少鳞鳊 3 个群体 97 尾鱼的线粒体控制区序列进行比较分析。结果显示, 大眼鳊序列长度为 843 bp, 无变异位点, 只有 1 种单倍型, 斑鳊有 852 bp 和 856 bp 两种序列, 28 个多态位点和 11 个单倍型, 中国少鳞鳊也有 845 bp 和 846 bp 两种长度, 5 个多态位点和 5 个单倍型; 大眼鳊、斑鳊和中国少鳞鳊 3 种鳊鱼群体内的遗传距离分别为 0.000 0、0.008 7 ± 0.002 0 和 0.002 0 ± 0.000 9, 单倍型多样性和核苷酸多态性分别为 0.000 0、0.859 9、0.736 7 和 0.000 0、0.008 7、0.002 0。分析表明, 3 种鳊鱼在终止序列区和保守序列区存在种或属间差异, 锦江斑鳊是一个遗传变异大, 多样性丰富的稳定种群; 中国少鳞鳊虽然单倍型多样性丰富, 但遭受过瓶颈效应, 导致其核苷酸多样性偏低; 大眼鳊遗传组成单一, 多样性十分贫乏, 推测可能有入侵的养殖群体。锦江系梵净山国家级自然保护区内最大的河流, 历史上鳊类资源丰富, 但已遭严重的破坏, 加强其鳊类遗传资源的研究与保护十分必要。

关键词: 大眼鳊; 斑鳊; 中国少鳞鳊; mtDNA D-loop; 遗传多样性

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

锦江是沅江水系辰水的上源, 发源于武陵山脉主峰(梵净山), 其西坡的牛尾河流经贵州省江口县的德旺和闵孝, 与发源于东坡的太平河汇合后经坝盘进入铜仁市境内称锦江, 下游分别又有小江、石竹河、三寨河和瓦屋河等支流汇入, 最后经下施滩进入湖南省麻阳县后称辰水。锦江在贵州省境内长 158 km, 流域面积 4 115 km²。其中, 铜仁市境内的长坪至漾头河段于 2009 年被农业部列为锦江河特有鱼类国家级水产种质资源保护区, 其核心区面积 600 hm², 实验区面积 380 hm², 保护的主要对象是黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* 和鳊类。

20 世纪锦江的鳊类资源十分丰富, 共有 8 种鳊类(中国少鳞鳊 *Coreoperca whiteheadi*、斑鳊 *Siniperca scherzeri*、波纹鳊 *Siniperca undulata*、暗鳊 *Siniperca obscura*、长身鳊 *Coreosiniperca roulei*、鳊 *Siniperca chuatsi*、大眼鳊 *Siniperca kneri*、漓江少鳞

鳊 *Coreoperca loona*)^[1-3], 21 世纪初, 代应贵等^[4]只采集到中国少鳞鳊和斑鳊 2 种鳊类, 2011 年, 禹真等^[5]也只采集到大眼鳊、中国少鳞鳊和斑鳊 3 种鳊类。上述资源调查表明, 近年来锦江鳊类资源已遭到了严重的破坏, 物种数急剧减少。造成这一现象的原因可能是修建电站、水库和水体污染等^[6-7]。目前关于锦江鳊类遗传学评估的报道较少, 仅有郭健康等^[8-9]对大眼鳊做了 rDNA ITS-1 和 mtDNACOI 序列特征及其遗传多样性的研究。控制区(D-loop 区)是线粒体 DNA 中变异最大的片段, 其进化速率是其他区段的 5 ~ 10 倍^[10], 已广泛应用于鱼类群体遗传学的研究。本文拟对锦江河保护区 3 种鳊的线粒体控制区(D-loop 区)基因序列进行测定, 分析其遗传结构及其遗传多样性, 为其种质资源评价提供参考资料, 也为日后对其资源的保护与开发利用打下基础。

收稿日期: 2017-11-09 修回日期: 2018-03-13

基金项目: 国家自然科学基金(31660741); 贵州省科技计划项目[黔科合平台人才(2017)5788 号]

作者简介: 李 珊(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物遗传育种与利用。E-mail:1095578560@qq.com

通信作者: 安 苗, E-mail:gzuam@163.com

1 材料与方 法

1.1 材 料

3 种野生鳊类均于 2014 年 10 月 21 日采自锦江河国家级水产种质资源保护区(铜仁市段),共 97 尾。其中斑鳊 33 尾(群体记作 JB),大眼鳊 31 尾(群体记作 JD),中国少鳞鳊 33 尾(群体记作 JS)。

活鱼样本解剖取背部肌肉 3 ~ 5 g 浸泡于无水乙醇中,置于 -20 °C 保存备用。利用血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根)提取 3 种鳊的肌肉基因组 DNA,1.0% 琼脂糖凝胶电泳检验其完整性,紫外分光光度计(ThermoNanoDrop2000C)测定其吸光值。

1.2 引物设计与 PCR 扩增

参照 GenBank 中斑鳊(JQ010988.1)、大眼鳊(JN378751)和中国少鳞鳊(KJ149811.1) D-Loop 区序列设计引物,由北京诺赛基因组研究中心有限公司合成。三种鳊引物序列分别为 BG3F:5'-ATCCTCCCTACTGCTCAA-3', BG3R:5'-GTAAAGTCAGGACCAAGC-3'; LSF:5'-TCCTCCCTAATGCTCAA-3', LSR:5'-ATACCAGCTCCTTGTTCC-3'; SLGF:5'-TAAAATCCTCCCTACTGCTCAA-3', SLGR:5'-GATAGTAAAGTCAGGACCAAGC-3'。

PCR 反应体系为 30 μ L:模板 DNA 3 μ L;2 \times

Taq PCR Master Mix(北京天根)15 μ L;上下游引物分别 1.5 μ L;剩余体积用双蒸水补齐。PCR 扩增反应在 AB 公司梯度 PCR 仪(型号:Veriti)上完成。扩增条件:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 45 s,56 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 1 min,35 个循环;最后再 72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。

1.3 测 序 与 序 列 分 析

根据目的片段扩增结果,将目的条带清晰明亮 PCR 产物送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序。利用 DNASTAR 5.0 软件包中的 SeqMan 做正反向链的拼接,结合测序峰图手动校正。运用 Mega 6.06 统计碱基组成、变异位点,计算遗传距离、建立 NJ 系统进化树。采用 DnaSP 5.10 软件计算单倍型多样性(Hd)、核苷酸多样性(Pi)和遗传分化指数(Fst),基因流由 $Nm \approx (1-Fst)/(4Fst)$ 计算。

2 结果与分析

2.1 D-loop 区的序列特征和单倍型数

分别以 GenBank 中斑鳊、大眼鳊、中国少鳞鳊(JQ010988、EU659699 和 EU659708)序列为参考,经比对后保留含终止序列区、中央保守区和保守序列区 3 个部分的序列,其位点长度分别为 857 bp、844 bp 和 849 bp,并对其碱基组成和序列长度进行统计,结果见表 1。

表 1 3 种鳊 D-loop 区的碱基组成及序列长度

Tab.1 Nucleotide compositions of D-loop in three species of Siniperce fishes

种 Species	A/%	T/%	C/%	G/%	A + T/%	C + G/%	序列长度及分布/尾 sequence length and distribution				
							843 bp	845 bp	846 bp	852 bp	856 bp
斑鳊(JB)	33.8	30.3	20.2	15.7	64.1	35.9				10	23
大眼鳊(JD)	33.6	30.8	20.3	15.3	64.4	35.6	31				
中国少鳞鳊(JS)	32.1	31.4	20.8	15.7	63.5	36.5		21	12		

表 1 显示:JD 的序列长度为 843 bp;JS 有 845 bp 和 846 bp 两种类型;JB 有 852 bp 和 856 bp 两种长度。碱基含量上,JB 和 JD 的差别不大,JS 的碱基 A 略低于另 2 种鳊,而碱基 T 则略高些,3 种鳊的 A + T 含量都明显高于 C + G 含量,呈明显的偏倚性。

JB 检测到 28 个多态位点(单一多态位点 7 个,简约信息位点 21 个),5 个插入/缺失(1 个全部缺失,4 个缺失同时插入)位点,24 个转换位

点,4 个颠换位点,转换/颠换比值为 7.64;JD 的 31 条序列一样,只存在 1 个缺失位点;JS 检测到 5 个多态位点(都为简约信息位点)和 4 个插入/缺失(1 个缺失同时插入,3 个全部缺失)位点,5 个转换位点,无颠换发生。

97 条序列共界定了 18 种单倍型:Hap1 ~ Hap11 为斑鳊,其中 4 个单倍型拥有 25 尾个体,为优势的单倍型,其余 7 个单倍型所代表的 1 ~ 2 尾个体;Hap12、Hap18 为大眼鳊;Hap13 ~ Hap17

为中国少鳞鳊,其中 3 个单倍型代表 30 尾个体,为核心群体,剩余 3 尾分属另外 2 个单倍型。

2.2 遗传变异及遗传构成

JD 的 31 尾个体序列一致,遗传距离为 0,表明个体间无差异;JS 群体内存在一定遗传变异(遗传距离范围 0.000 0 ~ 0.006 0,平均值为 0.002 0 ± 0.000 9);JB 的遗传距离变幅较大(0.000 0 ~ 0.017 9,平均值最大为 0.008 7 ± 0.002 0),其变异程度最高。

97 条序列经比对,保留 872 bp,基于 Kimura 双参数模型计算种间遗传距离,JB 与 JD 之间值为 0.068 8,JB 与 JS 之间为 0.144 5,JD 与 JB 之间为 0.161 7。基于 Kimura 2-parameter 模型,以青石斑鱼(*Epinephelus awoara*; EU236592.1)为外群,构建 NJ 分子系统树(图 1),3 种鳊以较高的置信度分别聚在一起,青石斑鱼单独聚为一支,与传统分类结果一致。

2.3 种群历史动态

JB 和 JS 2 个群体的 Tjajima's *D* 和 Fu's *F_s* 检

测结果见表 2,其碱基序列构建歧点分布见图 2。2 种鳊的 Tajimas' *D* 检验值(*D*)和 Fu's *F_s* 检验值(*F_s*)值都是正数,不具统计学意义。JB 群体呈明显的多峰分布,呈稳定种群状态,并无群体扩张事件^[11];JS 呈双峰分布,说明历史上也无明显的种群扩张史。

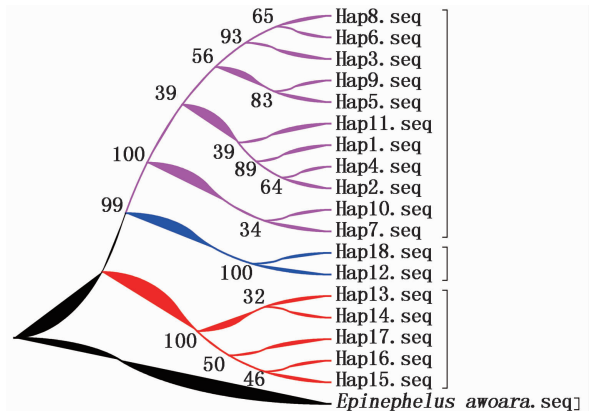


图 1 3 种鳊的 NJ 系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on three Siniperca fishes by NJ

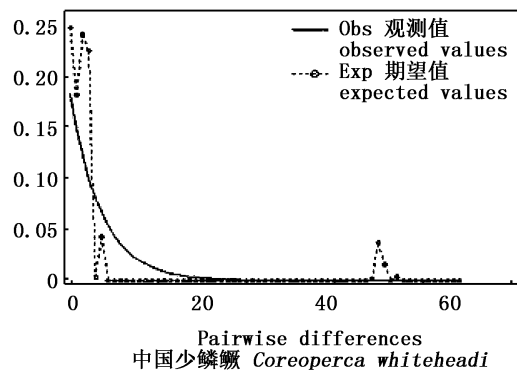
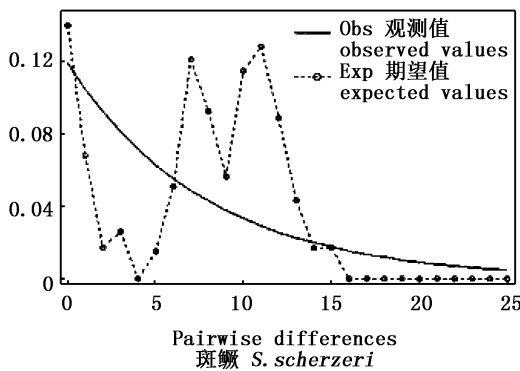


图 2 2 种鳊 mtDNA D-loop 序列错配碱基分布图

Fig. 2 The mismatch distribution of the mtDNA D-loop sequences of two Siniperca fishes

表 2 2 种鳊的中性检验

Tab. 2 Neutrality test for two species of Sinipercae

种 Species	<i>D</i>	<i>F_s</i>
班鳊(JB)	0.239 9(<i>P</i> >0.10)	1.611 4(<i>P</i> >0.05)
中国少鳞鳊(JS)	0.931 6(<i>P</i> >0.10)	0.885 7(<i>P</i> >0.05)

2.4 遗传多样性

3 个群体的单倍数(*H*)、变异位点型数(*S*)、*H_d*/*P_i* 和平均核苷酸差异数(*K*) 5 个遗传多样性参数见表 3。由表 3 可知,JB 群体的 5 个遗传多样性参数值最高,其次是 JS,而 JD 最低。

表 3 3 种鳅的遗传多样性
Tab.3 Genetic diversity of three Siniperce fish

种 Spies	单倍型数 Number of haplotypes (<i>H</i>)	变异位点数 Polymorphic sites (<i>S</i>)	单倍型多样性 Haplotype diversity (<i>Hd</i>)	核苷酸多态性 Nucleotide diversity (<i>Pi</i>)	平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences (<i>K</i>)
斑鳅 (JB)	11	28	0.859 9	0.008 7	7.367 4
大眼鳅 (JD)	1	0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
中国少鳞鳅 (JS)	5	5	0.736 7	0.002 0	1.662 9

3 讨论

3.1 控制区序列差异

D-loop 区是 mtDNA 中碱基序列和长度变异最大的区域,其位点变异主要表现为碱基的替换和插入/缺失。碱基替换是 mtDNA 进化的主要方式,其中转换数明显超过颠换数^[12]。本文的斑鳅和中国少鳞鳅的碱基转换偏倚性符合上述规律,其碱基替换未达到饱和,而大眼鳅无突变发生。3 种鳅的 D-loop 序列与报道的鳅类比较,同样识别了终止序列区 (ETAS)、中央保守区 (CSB-F、CSB-E 和 CSB-D) 和保守序列区 (CSB-1、CSB-2 和 CSB-3) 3 个部分^[13],中央保守区高度一致,但不同之处是:保守序列区的 CSB-1 的通式是 AT----GATATCAAGAGCATAA (“-” 变异碱基); CSB-2 的通式是 TAAA-CCCCCTACCCCC (“-” 变异碱基),其中,斑鳅和大眼鳅在变异处为碱基缺失,中国少鳞鳅为碱基 A; CSB-3 的通式是 TGAAAACCCCC---AAACA,变异处斑鳅和大眼鳅为 CGG,而中国少鳞鳅为 TT-,第三个变异位点缺失;如果 3 种鳅的序列一起比对,中国少鳞鳅的 ETAS 终止序列区核心序列 TGCAT 起始位置较斑鳅和大眼鳅提前 7 个位点,有多达 7 个缺失位点,其序列长度是 TGCATA-T-ATGTAT-TA---ACACCATACATTTATATTAACAT (“-” 缺失位点)。从 3 种鳅的突变位点发生区域比较,斑鳅在终止序列区 (CSB-F 之前) 有 26 个,占总突变位点比例为 78.79%,保守序列区 (CSB-D 之后) 为 21.21%,而中国少鳞鳅则相反,在终止序列区为 22.22%,保守序列区为 77.78%。说明斑鳅在控制区 5' 端变异最大,而中国少鳞鳅在 3' 端变异大,具有属或种间差异。

3.2 群体遗传结构差异

BILLINGTON 等^[14]指出鱼类种内遗传变异的峰值是 10%,而其他一些动物的 D-loop 区结果表明种内个体间的序列差异一般在 0 ~

4.06%^[15]。锦江河保护区 3 种鳅群体内变异水平 (0, 0.20%, 0.87%) 均在上述阈值范围。通常认为遗传距离大于 0.01, 表明其群体遗传变异较大^[16], 保护区斑鳅的遗传距离 (0.008 7) 接近 0.01, 部分个体间距离 (0.000 0 ~ 0.017 9) 也接近亚种间 (0.02 ~ 0.20) 变异水平^[17], 这表明其群体遗传变异较大, 远高于同水域的中国少鳞鳅, 而大眼鳅群体无差异。在 3 种鳅群体间遗传结构中, 除大眼鳅与斑鳅间的 6.68% 低于 10% 水平外, 其余两个种之间的变异值 (14.45%, 16.17%) 高于 10% 的水平。从单倍型数 (表 2) 和系统发育树 (图 1) 可以看出, 斑鳅群体系统聚类的枝系发达, 分属 11 个单倍型, 其遗传组成复杂, 中国少鳞鳅次之, 有 5 种单倍型, 而大眼鳅系统组成极为简单, 遗传组成单一。

遗传多样性是生物多样性的基础, 是评价物种种质资源的理论依据。mtDNA 遗传变异水平常用遗传距离 (*d*)、单倍型多样度和核苷酸多态性 3 个参数予以综合评判^[18]。王伟伟等^[19]报道了国内 5 个水体斑鳅的控制区序列特征及群体遗传差异, 周文漪^[20]报道了 7 个水系 10 个斑鳅地理群体 *Cytb* 基因呈单倍型多样性高而核苷酸多样性低。与之相比, 锦江保护区斑鳅群体的 *d* = 0.008 7、*Hd* = 0.859 9 和 *Pi* = 0.008 7 三个遗传多样性参数值都较高, 属高单倍型多样度和高核苷酸多态性^[21], 结合其种群无扩张事件, 说明斑鳅适合生长于锦江水域环境中, 有着较强的适应能力、生存能力和进化潜力, 并呈现出一个大而稳定的种群动态, 其群体内遗传变异大, 遗传多样性丰富。

中国少鳞鳅属中小型鳅类, 生活于河流上游及支流的溪涧中, 生境狭小, 扩散能力弱, 群体较小, 不同地理种群间的基因交流甚少, 遗传分化显著^[22-24], 已有演化新种例证^[25]。笔者在做贵州省鳅类调查及样品采集过程中, 也只在清水江和锦江等少数几个水体能采集到中国少鳞鳅样品,

而原来有分布^[21]的松桃河、濠阳河、都柳江、樟江和红水河等水域已难见其踪迹。赵丽丽等^[22-23]报道了长江、钱塘江、西江和南渡江 4 个不同地理群体内的遗传多样性偏低, CAO 等^[24]报道 6 个群体的 *Cytb* 基因的 $Hd = 0.000\ 0 \sim 0.800\ 0$ 和 $Pi = 0.000\ 0 \sim 0.002\ 81$ 。与之相比, 锦江中国少鳞鳅群体 ($d = 0.002\ 0$, $Hd = 0.736\ 7$, $Pi = 0.002\ 0$) 的遗传多样性丰富, 但与鳅比较呈高单倍型多样度和低核苷酸多态性^[20, 26-27], 推测目前锦江的中国少鳞鳅可能因为早期修建水库、电站等因素破坏了栖息地, 种群数量迅速减少, 遭受过瓶颈效应, 后期环境稳定后又由一个较小的种群迅速发展而来并积累了较高单倍型多样度, 但未能积累丰富的核苷酸多态性^[28]。

大眼鳅群体 3 个遗传参数都为 0, 呈极低单倍型多样度和极低核苷酸多态性, 基因序列同质化十分严重, 遗传多样性贫乏。关于锦江大眼鳅资源, 20 世纪 80—90 年代有其分布^[2-3], 2001—2003 年代应贵等^[4]未采集到, 禹真等^[5]2011 年采集的标本主要来自下游漾头水域。有关其遗传多样性极低, 推测锦江河大眼鳅资源曾受到极大破坏, 目前的群体主要由单一或少数的种群个体发展而来, 因奠基者效应或瓶颈效应导致其遗传多样性偏低, 结合之前的 rDNA *ITS-1* 和 mtDNA *COI* 基因多样性贫乏, 人工养殖群体逃逸进入锦江河的可能性极大。

3.3 鳅类研究意义

梵净山是雄踞贵州省东北部边缘武陵山脉的主峰, 为乌江水系和沅江水系的分水岭之一。梵净山国家级自然保护区内森林茂密, 地质构造、地史演化及地貌结构复杂, 第四纪冰川遗迹保存完好^[29], 是不少森林植物种群在冰川期的“避难所”^[30], 第四纪以来该区一直处于稳定而温暖潮湿的气候条件^[31], 山脉四周溪沟、河流甚多, 呈放射状分布, 为鱼类繁衍和进化提供了理想场所。发源于西麓的锦江是其最大河流, 鱼类资源也十分丰富, 有 99 种(亚种)^[1-4], 其中土著鱼类 52 种^[4], 目前中国少鳞鳅、斑鳅和大眼鳅仍是其渔获物中常见种类^[4-5], 但另 5 种鳅处于濒危或灭绝状态。大眼鳅和斑鳅是我国人工养殖 2 大鳅类, 其养殖前景和遗传改良潜力巨大, 研究表明斑鳅群体遗传多样性十分丰富, 因此加强其种群的保护和育种研究十分必要。中国少鳞

鳅是鳅类中相对古老的物种, 迁移能力有限, 地理群体遗传分化显著, 加之锦江发源地的独特地质背景以及相比于国内其他地理群体的丰富遗传多样性, 对于今后进一步探讨武陵山区乃至我国其他水体中国少鳞鳅的起源、扩散及分子系统地理学具有重要的参考价值。

3.4 保护区 3 种鳅资源保护的对策

本研究表明锦江保护区的 3 种鳅类种群中, 斑鳅和中国少鳞鳅遗传多样性较高, 大眼鳅遗传多样性十分贫乏, 其种群数量十分有限, 这对于生活于多变喀斯特山区河流环境中的野生种群是极大威胁。针对当前我省几大流域水系梯级水电站的大量规划建设, 河流生境的片断化和破碎化已不可逆转^[32-33]。锦江虽然建立了国家级水产种质资源保护区, 在一定程度上缓解了过度捕捞和环境污染对其种群的压力, 但其种质状况并不乐观, 尤其是大眼鳅的种质资源显得十分匮乏。为此, 进行保护区内工作仍需从三个方面着手: 一是水库、电站等水利设施要采取补救措施, 如过鱼设施配套增加一些拦鱼、诱鱼等设施, 增加鱼类通过通道口的概率, 与此同时调节繁殖季节泄洪量等, 减小水利工程对鱼类上、中、下游种群之间基因交流的影响, 提高鳅类鱼的多样性水平; 二是加大禁渔期工作力度, 维持其足够的种群数量得以繁衍生息, 保护稀有的单倍型基因, 进而保存西部山区特有的鳅类物种资源; 三是加强人工养殖鳅类管理, 防止人工养殖鳅逃入河流中, 导致野生鳅类种质资源下降。

参考文献:

- [1] 伍律, 李德俊, 赵执桴, 等. 贵州鱼类志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989: 260-266.
WU L, LI D J, ZHAO Z F, et al. Fishes of Guizhou[M]. Guiyang: Guizhou People's Publishing House, 1989: 260-266.
- [2] 郑建州, 李德俊. 梵净山地区鱼类资源调查及鱼类区系初探[M]//周政贤. 梵净山研究. 贵阳: 贵州人民出版社, 1990: 392-399.
ZHENG J Z, LI D J. Study on fishes and fish-fauna in Fanjing Mountain area[M]//ZHOU X Z. Study on Fanjing Mountain. Guiyang: Guizhou People's Publishing House, 1990: 392-399.
- [3] 陈景星, 唐文乔, 张春光, 等. 武陵山区鱼类资源与渔业[M]//宋大祥. 西南武陵山地区动物资源和评价. 北京: 科学出版社, 1994: 15-18, 84-98.
CHEN J X, TANG W Q, ZHANG C G, et al. Fish resources

- and fishery in Wuling Mountain [M]//SONG D X. Animal Resources and Evaluation in Wulingshan Area, Southwest China. Beijing: Science Press, 1994: 15-18, 84-98.
- [4] 代应贵, 李敏. 梵净山及邻近地区鱼类资源的现状[J]. 生物多样性, 2006, 14(1): 55-64.
DAI Y G, LI M. Fish resources around Fanjing Mountain, Guizhou[J]. Biodiversity Science, 2006, 14(1): 55-64.
- [5] 禹真, 冉辉, 樊均德, 等. 锦江河国家级水产种质资源保护区鳊类资源调查[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(11): 146-148, 151.
YU Z, RAN H, FAN J D, et al. Investigation on siniperine fishes in the national endemic fish resources protection area Jinjiang River[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2013, 41(11): 146-148, 151.
- [6] 李慧, 周易勇, 余能智. 锦江河沉积物磷形态与吸附行为及磷释放风险[J]. 水生态学杂志, 2017, 38(4): 27-35.
LI H, ZHOU Y Y, YU N Z. Determination of phosphorus forms and adsorption behavior of sediments in Jinjiang River and the risk of phosphorus release [J]. Journal of Hydroecology, 2017, 38(4): 27-35.
- [7] 吴万刚. 锦江河流域下游水环境修复探讨[J]. 绿色科技, 2015(10): 220-222.
WU W G. Discussion on the remediation of water environment of downstream in Jinjiang River basin [J]. Journal of Green Science and Technology, 2015(10): 220-222.
- [8] 郭健康, 安苗, 王金娜, 等. 贵州大眼鳊 3 个群体 rDNA ITS-1 序列分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(6): 1383-1387.
GUO J K, AN M, WANG J N, et al. Sequence analysis of rDNA ITS-1 from three populations of *Siniperca kneri* in Guizhou[J]. Genomics and Applied Biology, 2016, 35(6): 1383-1387.
- [9] 郭健康, 安苗, 周其椿, 等. 喀斯特山区大眼鳊线粒体 CO I 基因序列分析[J]. 水产科学, 2016, 35(6): 649-657.
GUO J K, AN M, ZHOU Q C, et al. Sequence analysis of cytochrome c oxidase subunit I CO (I) of mitochondrial DNA gene of bigeye mandarin fish *Siniperca kneri* in Karst Mountain [J]. Fisheries Science, 2016, 35(6): 649-657.
- [10] NIELSEN J L, GAN C, THOMAS W K. Differences in genetic diversity for mitochondrial DNA between hatchery and wild populations of *Oncorhynchus* [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1994, 51(s1): 290-297.
- [11] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [12] WOLSTENHOLME D R, CLARY D O. Sequence evolution of drosophila mitochondrial DNA [J]. Genetics, 1985, 109(4): 725-744.
- [13] ZHAO J L, WANG W W, LI S F, et al. Structure of the mitochondrial DNA control region of the siniperine fishes and their phylogenetic relationship [J]. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(9): 793-799.
- [14] BILLINGTON N, HEBERT P D N. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1991, 48(s1): 80-94.
- [15] YANG X G, WANG Y Q, ZHOU K Y, et al. Authentication of oviductus ranae and Its original animals using molecular marker [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2002, 25(8): 1035-1039.
- [16] LAN H, SHI L M. The origin and genetic differentiation of native breeds of pigs in southwest China: an approach from mitochondrial DNA polymorphism [J]. Biochemical Genetics, 1993, 31(1/2): 51-60.
- [17] 根井正利. 分子群体遗传学与进化论 [M]. 王家玉, 译. 北京: 农业出版社, 1983: 121-167.
NEI M. Molecular population genetics and evolution [M]. WANG J Y, Trans. Beijing: Agricultural Publishing House, 1983: 121-167.
- [18] NEIGEL J E, AVISE J C. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation [J]. Genetics, 1993, 135(4): 1209-1220.
- [19] 王伟伟, 赵金良, 李思发. 我国斑鳊不同群体 mtDNA 控制区序列的遗传变异 [J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 398-402.
WANG W W, ZHAO J L, LI S F. Genetic variation of the mitochondrial DNA control region among 5 populations of *Siniperca scherzeri* steindachner in China [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2006, 15(4): 398-402.
- [20] 周文漪. 基于线粒体细胞色素 b 的 7 水系斑鳊遗传多样性分析 [D]. 广州: 暨南大学, 2014.
ZHOU W Y. MtDNA Cytb Diversity of *Siniperca scherzeri* from seven water systems [D]. Guangzhou: Jinan University, 2014.
- [21] GRANT W A S, BOWEN B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. The Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415-426.
- [22] 赵丽丽, 赵金良. 中国少鳞鳊不同群体 mtDNA 控制区序列的遗传变异分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2007, 16(5): 409-413.
ZHAO L L, ZHAO J L. Genetic variation of the mitochondrial DNA control region among 4 populations of *Coreoperca whiteheadi* [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(5): 409-413.
- [23] 赵丽丽, 赵金良. 中国少鳞鳊不同地理群体遗传变异的 AFLP 分析 [J]. 农业生物技术学报, 2008, 16(5): 907-908.
ZHAO L L, ZHAO J L. AFLP analysis on genetic variation among different geographic populations of *Coreoperca whiteheadi* [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2008,

- 16(5): 907-908.
- [24] CAO L, LIANG X F, TANG W Q, et al. 2013. Phylogeography of *Coreoperca whiteheadi* (Perciformes: Coreoperca) in China based on mitochondrial and nuclear gene sequences [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 50: 223-231.
- [25] 曹亮, 梁旭方. 中国浙江少鳞鳊属一新种(鲈形目, 鳊科, 鳊亚科)[J]. *动物分类学报*, 2013, 38(4): 891-894.
- CAO L, LIANG X F. A new freshwater perch species of the genus *Coreoperca herzenstein* (Perciformes, Serranidae, Sinipercinae) from Zhejiang Province, China [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2013, 38(4): 891-894.
- [26] 司从利. 珠江水系鳊鱼的遗传多样性研究[D]. 广州: 暨南大学, 2012.
- SI C L. Study on genetic diversity of *Siniperca chuatsi* sensu lato in the Pearl River[D]. Guangzhou: Jinan University, 2012.
- [27] 袁希平, 李成, 李鸿, 等. 洞庭湖水系鳊遗传结构[J]. *淡水渔业*, 2012, 42(5): 8-12.
- YUAN X P, LI C, LI H, et al. Population genetic structure of Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) in Dongting Lake[J]. *Freshwater Fisheries*, 2012, 42(5): 8-12.
- [28] AVISE J C. *Phylogeography: the history and formation of species*[M]. Cambridge, MA: Harvard University Press, 2000.
- [29] 李兴中, 王立亭, 刘家仁, 等. 梵净山第四纪冰川地质研究[J]. *贵州地质*, 2013, 30(3): 203-212, 202.
- LI X Z, WANG L T, LIU J R, et al. Study on quaternary glaciers geology of Fanjing Mountain[J]. *Guizhou Geology*, 2013, 30(3): 203-212, 202.
- [30] 余天虹. 梵净山、荔波茂兰植物区系分析比较[J]. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, 2002, 20(2): 50-54.
- YU T H. Comparison between the flora of Mt. Fanjingshan and Maolan Area[J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences)*, 2002, 20(2): 50-54.
- [31] 周政贤, 杨业勤, 陈克贤, 等. 梵净山研究[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1990: 1.
- ZHOU Z X, YANG Y Q, CHEN K X, et al. Study on Fanjing Mountain [M]. Guiyang: Guizhou People's Publishing House, 1990: 1.
- [32] 周路, 张竹青, 李正友, 等. 北盘江光照水电站建设前后鱼类资源变化[J]. *水生态学杂志*, 2011, 32(5): 134-137.
- ZHOU L, ZHANG Z Q, LI Z Y, et al. Changes of fish resources after construction of Guangzhao hydropower station on Beipan River [J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(5): 134-137.
- [33] 周路, 张竹青, 魏浪, 等. 贵州骨干水源工程建设对鱼类资源的影响及对策[J]. *贵州农业科学*, 2011, 39(3): 176-178.
- ZHOU L, ZHANG Z Q, WEI L, et al. Influence and its countermeasures of the implementation of key water project construction planning on fish resources of Guizhou Province [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2011, 39(3): 176-178.

Genetic diversity and variation of three Sinipercine fishes in Jinjiang River

LI Shan¹, GUO Jiankang², AN Miao¹, CAO Hengyuan³, CHEN Xueweijie¹

(1. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. Agricultural Bureau of Guiyang Xiuwen County, Guiyang 550200, Guizhou, China; 3. Key Laboratory of Ecological Impacts of Hydraulic-projects and Restoration of Aquatic Ecosystem of Ministry of Water Resources, Institute of Hydroecology, Ministry of Water Resources and Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430079, Hubei, China)

Abstract: The aim of this study was to explore the genetic variation characteristics and the level of genetic variation of *Sinipercine* fishes in the National Aquatic Germplasm Resources Protection Area of Jinjiang River. Based on PCR amplification and sequencing technologies, the mitochondrial control region (D-loop) sequences of *Siniperca kneri*, *Siniperca scherzeri*, *Coreoperca whiteheadi* (3 groups, 97 fish) were compared and analyzed. The results showed that: the sequence length of *Siniperca kneri* was 843 bp with no variation sites and 1 haplotype was identified; The *Coreoperca whiteheadi* length sequence had two types of 852 bp and 856 bp, and 28 polymorphic loci and 11 unique haplotypes were identified; The length sequences of *Siniperca scherzeri* were 845 bp and 846 bp with 5 polymorphic loci and 5 haplotypes were identified. The genetic distance were 0.000 0, 0.002 0 ± 0.000 9 and 0.008 7 ± 0.002 0 in the three groups; The haplotype diversity and nucleotide polymorphism were 0.000 0, 0.859 9, 0.7367 and 0.000 0, 0.008 7, 0.002 0, respectively. The experiment and analysis indicated that there were differences among the termination sequence regions and the conserved sequence regions. For the three populations, *Coreoperca whiteheadi* was a stable population with great genetic variation and rich diversity. Due to bottleneck effect, although the *Siniperca scherzeri* had rich haplotype diversity, but had low nucleotide diversity; *Siniperca kneri* had single hereditary composition, and diversity was very poor. Presumably, there may be a invasive breeding population. Jinjiang, as the biggest river of Fanjing Mountain National Nature Reserve area, once with rich resources of the Sinipercine, but had been badly damaged. It is necessary to strengthen the research and protection of the genetic resources.

Key words: *Siniperca kneri*; *Siniperca scherzeri*; *Coreoperca whiteheadi*; control region; genetic diversity