

云南澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性分析

赵静霞, 熊合勇, 吴俊颀, 金方彭, 高海涛, 赵承远, 雷春云, 李光华

Genetic diversity analysis of *Triplophysa brevicauda* in the upper reaches of Lancang River in Yunnan Province

ZHAO Jingxia, XIONG Heyong, WU Junjie, JIN Fangpeng, GAO Haitao, ZHAO Chengyuan, LEI Chunyun, LI Guanghua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20201203236>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于 *Cytb* 基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析

Genetic diversity and population structure of *Protosalanx hyalocranius* in Jiangsu Province based on *Cytb* gene sequences

上海海洋大学学报. 2021, 30(3): 416 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190702720>

基于线粒体 *Cytb* 序列的3个宽体金线蛭群体遗传多样性分析

Genetic diversity analysis of three populations of *Whitmania pigra* Whitman based on mitochondrial *Cytb* gene

上海海洋大学学报. 2020, 29(1): 9 <https://doi.org/10.12024/jsou.20181102429>

基于线粒体基因标记的太平洋褶柔鱼群体遗传结构及变异分析

Genetic variation and genetic structure analysis of *Todarodes pacificus* based on mitochondrial DNA markers

上海海洋大学学报. 2021, 30(4): 763 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200703103>

白洋淀流域宽鳍遗传多样性及种群历史动态

Genetic diversity and population historical dynamics of *Zacco platypus* in Baiyangdian Basin

上海海洋大学学报. 2021, 30(5): 837 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200903178>

基于 CO I 基因分析7个罗非鱼群体的遗传变异

Genetic variation analysis of seven tilapia populations based on CO I gene

上海海洋大学学报. 2019, 28(6): 827 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190102510>

文章编号: 1674-5566(2022)01-0052-09

DOI:10.12024/jsou.20201203236

云南澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性分析

赵静霞¹, 熊合勇², 吴俊颖¹, 金方彭¹, 高海涛¹, 赵承远², 雷春云¹,
李光华¹

(1. 云南省渔业科学研究院, 云南 昆明 650224; 2. 华能澜沧江水电股份有限公司, 云南 昆明 650214)

摘要: 通过线粒体 D-loop 控制区全序列分析澜沧江上游表村(BC)、叶枝(YZ)、里底(LD)以及乌弄龙(WNL)等 4 个群体, 共计 77 尾短尾高原鳅的遗传多样性, 为澜沧江上游短尾高原鳅的遗传多样性现状与种质资源保护提供相关实验数据。结果表明: 在 921 bp 的 D-loop 控制区序列中, 共发现变异位点 22 个, 其中, 单一变异位点 8 个, 简约变异位点 14 个, 定义单倍型 21 个; 澜沧江上游短尾高原鳅群体单倍型多样性指数(H_d)为 0.837~0.942, 核酸多样性指数(π)为 0.005 16~0.005 72; 里底群体单倍型多样性最高, 表村群体最低, 且各群体呈现出“高 H_d 低 π ”遗传多样性模式。分子方差分析(AMOVA)结果表明: 短尾高原鳅遗传差异主要来自于群体内部(97.91%), 2.09% 遗传变异来自于群体之间; 各群体之间不存在遗传分化($F_{st} = -0.021 3, P = 0.805$); 表村和里底群体间遗传距离最远(0.005 67), 叶枝和乌弄龙群体遗传距离最近(0.005 11); 核酸中性检测结果均不显著(Tajima's $D = 0.624, P = 0.737$; Fu's $F_s = -0.669, P = 0.377$), 核酸错配未呈“泊松”单峰分布均表明澜沧江上游短尾高原鳅近期未经历过种群扩张事件。澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性较为丰富, 群体间遗传分化程度较低。

关键词: 短尾高原鳅; D-loop; 遗传多样性; 澜沧江
中图分类号: Q 319.1 **文献标志码:** A

澜沧江-湄公河是东南亚最大的河流, 也是世界上淡水生物多样性最高的三大河流之一^[1]。根据沿江水文特征, 澜沧江分为河源(从源头至昌都)、上游(昌都以下至功果桥)、中游(功果桥以下至景临桥)、下游(景临桥至勐腊县南腊河口)。从河源到下游, 鱼类野生种质资源呈显著增多之势, 表现为由适应高原生活的冷水性鱼类裂腹鱼亚科(Schizothoracinae)、高原鳅(Triplophysa)等逐渐过渡到以鲃亚科(Barbinae)、野鲮亚科(Labeoninae)、鲃科(Sisoridae)为主的高多样性鱼类区系。据多次资源调查及相关文献记载, 澜沧江上游鱼类主要以裂腹鱼(Schizothoracinae)、高原鳅(Triplophysa)等为主^[2]。随着澜沧江干流梯级水电工程建设, 澜沧江某些土著鱼类生境和种群数量已经受到一定程度的影响^[3]。目前澜沧江流域多数土著鱼类

野生种质资源与遗传多样性分布尚属空白。因此, 深入研究澜沧江流域鱼类的遗传多样性变化趋势, 为保护澜沧江内土著鱼类提供理论依据, 开展鱼类遗传多样性研究是十分必要的。

高原鳅属(Triplophysa)鱼类栖息于青藏、云贵高原等海拔较高的河流中^[4]。目前普遍认为, 高原鳅属鱼类分化与青藏高原的隆起、形成有关^[5]。其生存于高寒环境, 造就了生长速度缓慢、性成熟周期长以及繁殖力低等特点^[6], 一旦种质资源受到破坏, 很难在短时间内得到修复。作为云南土著鱼类重要分支, 高原鳅对维持水生生态系统和生物多样性起着重要作用。据陈小勇^[7]报道, 在云南境内各水系中, 分布有安氏高原鳅(Triplophysa angeli, 金沙江水系)、前鳍高原鳅(Triplophysa anterodorsalis, 金沙江水系)、短尾高原鳅(Triplophysa brevicauda, 澜沧江、金沙江水

收稿日期: 2020-12-02 修回日期: 2021-02-01

基金项目: 国家十二五科技支撑计划项目(2013BAB06B03); 云南澜沧江鱼类增殖放流效果监测及评估(HY2017/S14)

作者简介: 赵静霞(1990—), 女, 硕士, 研究方向为水产遗传与育种。E-mail: zjxgzzy01@163.com

通信作者: 熊合勇, E-mail: xionghyong@qq.com

系)、抚仙高原鳅 (*Triplophysa fuxianensis*, 抚仙湖)、昆明高原鳅 (*Triplophysa gejiuensis*, 滇池流域、金沙江水系)、怒江高原鳅 (*Triplophysa nujiangensis*, 怒江水系)等 24 种高原鳅,澜沧江流域主要分布有短尾高原鳅 (*Triplophysa brevicauda*)及细尾高原鳅 (*Triplophysa stenura*),且遗传多样性评估研究均属空白。短尾高原鳅 (*Triplophysa brevicauda*) 隶属鲤形目 (Cypriniformes) 鳅科 (Cobitidae) 条鳅亚科 (Nemacheilinae) 高原鳅属 (*Triplophysa*),根据《云南鱼类名录》描述,短尾高原鳅主要分布于澜沧江、怒江以及金沙江上游云南境内,作为高原鳅在澜沧江流域的主要类群,其生物学及遗传多样性特征在澜沧江上游高原鳅鱼类中具有一定代表性。

线粒体 DNA (mt DNA) 具有母系遗传、结构简单、进化速率快且无组织特异性表达等特点,是一种十分理想的分子标记^[8-9]。其中,由于缺少编码压力的影响,线粒体 D-loop 控制区序列存在大量插入、缺失,是线粒体中突变速率最快、变异最大的一个区域^[10],为遗传结构关系判定、鱼类遗传育种、遗传资源保护等领域提供了重要理论基础^[11-12],被广泛应用于鱼类遗传多样性评估研究^[13-14]中。为进一步填补基础研究数据的空白,对来自澜沧江上游 4 个地理群体的短尾高原鳅开展基于 mt DNA D-loop 控制区序列的遗传多样性评估,以期为积累高原鳅属鱼类在澜沧江上游基础性分子资料、为云南土著鱼类种质资源保护提供理论依据的同时,亦可为后续高原鳅属鱼类系统分化研究提供重要实验数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

短尾高原鳅采集自澜沧江干流上游云南境内的 4 个采样点 (图 1),分别为表村 (99°12' E, 26°07' N)、叶枝 (99°04' E, 27°41' N)、里底 (99°02' E, 27°51' N) 和乌弄龙 (99°00' E, 27°52' N),共计 77 尾。剪取鳍条,放入无水乙醇脱水后置于 -20 °C 保存。

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

采用醋酸铵沉淀法提取每尾鱼鳍条组织 DNA^[15],提取的 DNA 通过 NanoDrop2000 紫外分光光度计进行浓度及质量测定,DNA 浓度稀释至

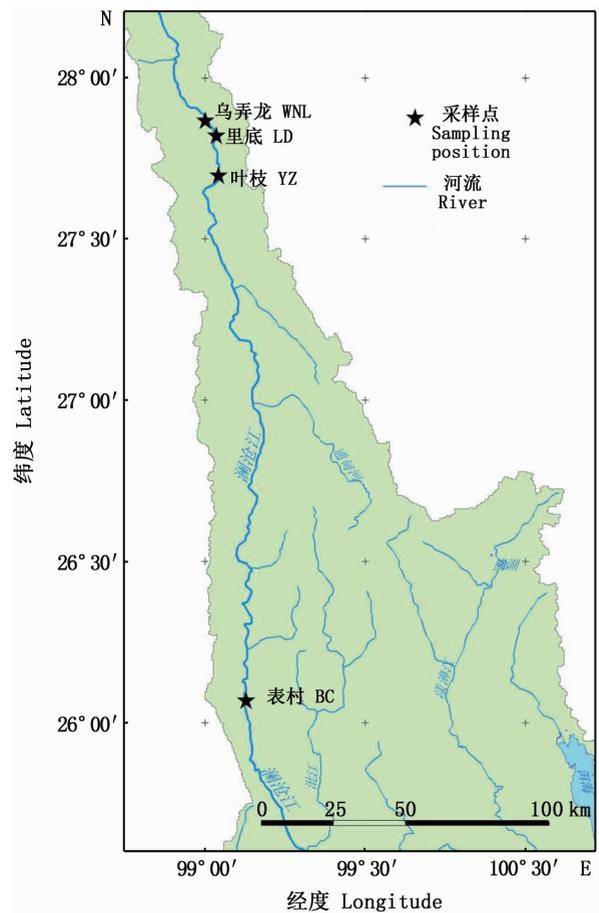


图 1 短尾高原鳅采样点

Fig. 1 The sampling position of *Triplophysa brevicauda*

100 ng/μL 作为模板待用。根据 NCBI GenBank 数据库中已公布的短尾高原鳅线粒体基因组全长序列 (accession number: KT213588.1) 设计 D-loop 控制区全长引物 (dw-Dloop-F: 5'-AACGCGGCCTAACCTTTC-3', dw-Dloop-R: 5'-GCCTGATACCTGCTCCTCGTC-3'),引物由擎科生物技术有限公司合成。PCR 反应体系为 25 μL,模板用量为 1 μL,上、下游引物 (浓度:10 mmol/μL) 各 0.5 μL,擎科金牌 Mix 23 μL。扩增反应在 Bio-Rad T100 PCR 仪上进行,反应条件为:98 °C 预变性 2 min;98 °C 变性 10 s,57 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 25 s,35 个循环;72 °C 延伸 3 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,由擎科生物技术有限公司进行双向测序。

1.3 数据分析

在 SeqMan 软件包中,将正、反向测序峰图进行拼接。拼接结束后,将 77 尾短尾高原鳅 D-loop

序列导入 MEGA 中进行比对和人工校正。通过 MEGA 统计碱基组成及转换/颠换,基于 Kimura 双参数模型计算各群体内部及群体间遗传距离;通过 DnaSP 软件统计核酸变异位点、计算单倍型数目、单倍型多样性指数 (H_d) 等参数;通过 Arlequin 软件进行群体分子方差分析 (AMOVA)、估算遗传分化指数 (F_{st}) 及种群历史动态等参数;通过 jModeltest 估算序列核酸替代模型,并将计算结果代入 PhyML 中构建基于最大似然法 (Maximum Likelihood, ML) 的系统发育树,并通过设置 Bootstrap = 100 评价系统发育树各分支置信度。

2 结果

2.1 短尾高原鳅 mt DNA 序列特征分析

通过 NCBI GenBank 数据库已公布的短尾高原鳅 (*Triplophysa brevicauda*, ID: KT213588.1) mt DNA 全长序列设计 D-loop 控制区引物。通过 PCR 扩增及测序,获得来自表村 (BC)、里底 (LD)、乌弄龙 (WNL) 和叶枝 (YZ) 4 个群体共 77 尾短尾高原鳅 D-loop 全长序列。经 MEGA 比对,共获得 mt DNA D-loop 控制区全长序列 921 bp。经 Dnasp 分析,共包含变异位点 22 个(单一变异位点 8 个,简约变异位点 14 个)。胸腺嘧啶 (T)、胞嘧啶 (C)、腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G) 碱基含量分别为 32.37%、21.4%、32.9% 和 13.35%,其中 A + T 含量 (65.26%) 显著高于 G + C 含量 (34.74%);表村群体 A + T、G + C 含量分别为 65.28% 和 34.72%,里底群体 A + T、G + C 含量分别为 65.22% 和 34.78%,乌弄龙群体 A + T、G + C 含量分别为 65.26% 和 34.74%,叶枝群体 A + T、G + C 含量分别为 65.27% 和 34.73%,各群体间 A + T 和 G + C 含量无显著差异。转换与颠换比为 2.57。

2.2 短尾高原鳅遗传多样性与单倍型分析

通过 Dnasp 分析发现,4 个群体 77 尾短尾高原鳅 D-loop 序列可定义 21 个单倍型(图 2),其中:单倍型 Hap_1 和 Hap_4 为 4 个群体共享,Hap_2 为表村、乌弄龙、叶枝 3 个群体共享,Hap_3 为表村、里底、叶枝 3 个群体共享,Hap_9 和 Hap_12 为里底、乌弄龙、叶枝 3 个群体共享,Hap_6 为表村、叶枝 2 个群体共享,Hap_7 为里底、乌弄龙 2 个群体共享,Hap_11、Hap_13 和 Hap_14 为里底、叶枝 2 个群体共享;Hap_5 为表村群体特有单倍型,Hap_8、Hap_10 和 Hap_15 为里底群体独有单倍型,Hap_16 和 Hap_17 为乌弄龙群体独有单倍型,Hap_18、Hap_19、Hap_20 和 Hap_21 为叶枝群体独有单倍型。

4 个群体短尾高原鳅总体单倍型多样性指数 (H_d) 为 0.906 ± 0.013 ,核酸多样性指数 (π) 为 0.00536 ± 0.00019 ,见表 1。各群体单倍型多样性指数 (H_d) 在 0.837 至 0.942 之间,其中:里底群体单倍型多样性指数 (H_d) 最高 (0.942 ± 0.035),表村群体最低 (0.837 ± 0.045);各群体核酸多样性指数 (π) 在 0.00516 至 0.00572 之间,表村群体最高 (0.00572 ± 0.00045),乌弄龙群体最低 (0.00516 ± 0.00091)。

2.3 基于 mt DNA D-loop 区的遗传距离、遗传分化及系统发育分析

在 MEGA 中,通过 Kimura 2 parameter 模型评估 4 个群体之间的遗传距离。各群体之间为 0.00511 至 0.00567。里底和表村群体之间的遗传距离最远,为 0.00567,乌弄龙和叶枝群体遗传距离最近为 0.00511;组内遗传距离分析显示:乌弄龙 (0.00519) < 叶枝 (0.00533) < 里底 (0.00567) < 表村 (0.00576);在 Arlequin 中进行群体间遗传分化分析,各群体之间遗传分化指数 (F_{st}) 均为不显著负值 ($P > 0.05$),表明各群体

表 1 基于 mt DNA D-loop 区的短尾高原鳅遗传多样性分析

Tab. 1 Genetic diversity analysis in 4 populations of *Triplophysa brevicauda* in mt DNA D-loop

群体 Population	样本数 Number of samples	单倍型多样性指数 Haplotype diversity (H_d)	核酸多样性指数 Nucleotide diversity (π)	单倍型数量 Number of haplotypes
表村 BC	18	0.837 ± 0.045	0.00572 ± 0.00045	6
里底 LD	19	0.942 ± 0.035	0.00564 ± 0.00045	12
乌弄龙 WNL	12	0.909 ± 0.056	0.00516 ± 0.00091	8
叶枝 YZ	28	0.905 ± 0.028	0.00524 ± 0.00031	14

之间无显著遗传分化(表2)。群体间和群体内部分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)表明,遗传变异主要来自于群体内部

(97.91%),见表3。单倍型 ML 系统发育树显示,各群体单倍型混杂分布,未形成4个地理单元(乌弄龙、里底、叶枝、表村)的聚合群(图2)。

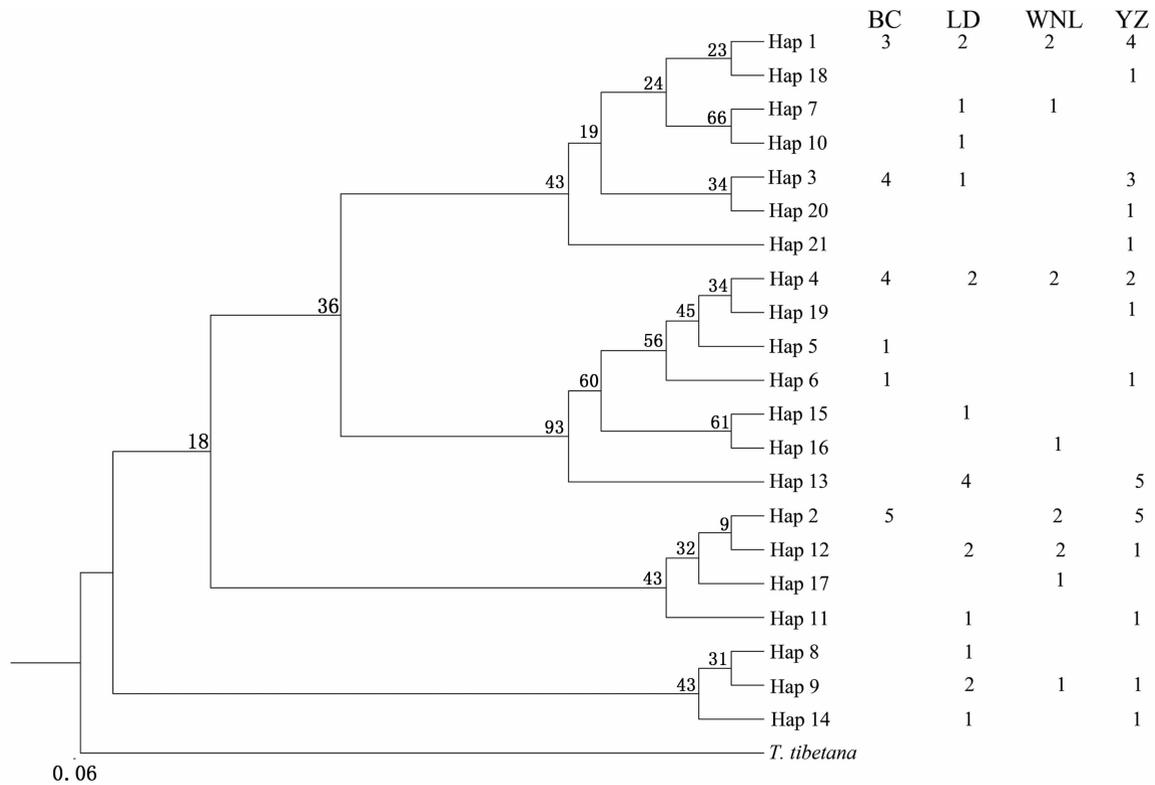


图2 短尾高原鳅 mt DNA D-loop ML 系统发育树及各群体单倍型分布

Fig. 2 mt DNA D-loop ML phylogenetic tree and haplotypes distribution of *Triplophysa brevicauda*

表2 基于 mt DNA D-loop 区的各群体间 Kimura 双参数遗传距离和遗传分化指数 F_{st}

Tab. 2 Genetic distance (Kimura 2-parameter model) and F_{st} among population in mt DNA D-loop

群体 Population	表村 BC	里底 LD	乌弄龙 WNL	叶枝 YZ
表村 BC	0.005 76	-0.009 26 ($P=0.436$)	-0.005 14 ($P=0.405$)	-0.033 05 ($P=0.847$)
里底 LD	0.005 67	0.005 67	-0.020 38 ($P=0.505$)	-0.023 79 ($P=0.649$)
乌弄龙 WNL	0.005 43	0.005 33	0.005 19	-0.024 32 ($P=0.631$)
叶枝 YZ	0.005 36	0.005 36	0.005 11	0.005 33

注:对角线(粗体)为组内遗传距离;对角线以上为遗传分化指数 F_{st} ; 对角线以下为群体间遗传距离。

Notes: Diagonal (bold) is the genetic distance within the group; Above the diagonal was F_{st} ; Below the diagonal is the genetic distance between groups.

表3 基于 mt DNA 的 AMOVA 分析

Tab. 3 The analysis of AMOVA based on mt DNA

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差成分 Variance components	变异比例 Percentage of variation	遗传分化指数 F_{st}
群体间 Among populations	3	5.127	0.058 5 V_a	2.09	
群体内部 Within population	73	204.497	2.743 0 V_b	97.91	
总计 Total	76	209.624	2.801 5		-0.021 3 ($P=0.805$)

2.4 短尾高原鳅群体历史动态分析

在 Arlequin 中, Tajima's D 及 Fu's F_s 中性

检验被用于种群扩增历史判定。总群体 Tajima's D 及 Fu's F_s 检验结果均不显著 (Tajima's $D =$

0.624, $P = 0.737$; $Fu's F_s = -0.669$, $P = 0.377$), 且检验也不显著(表4)。此外, 碱基错

配分布亦未呈“泊松分布”(图3)。这表明澜沧江4个地理群体近期并未经过种群扩张事件。

表4 澜沧江短尾高原鳅4个群体中性检验

Tab. 4 The Neutrality tests of 4 different geographical populations of *Triplophysa brevicauda* from Lancang River

中性检验 Neutrality tests	表村 BC	里底 LD	乌弄龙 WNL	叶枝 YZ	总体 Total
Tajima's D	1.443	0.0145	0.416	0.622	0.624
Tajima's D P -value	0.946	0.527	0.703	0.772	0.737
$Fu's F_s$	2.834	-2.297	-0.826	-2.386	-0.669
$Fu's F_s$ P -value	0.887	0.158	0.318	0.144	0.377

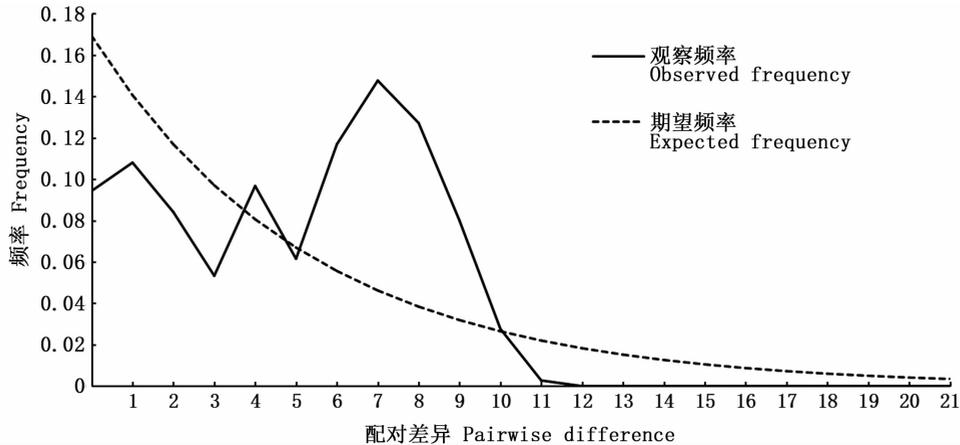


图3 短尾高原鳅核酸错配分布

Fig. 3 Nucleotide mismatch of *Triplophysa brevicauda*

3 讨论

近年来,随着梯级水电工程建设对当地土著鱼类产生了一定程度影响,澜沧江鱼类群落结构发生了变化,鲤形目种类数占比逐渐减少,由1990年以前的72.2%逐步下降至2018—2019年的59.5%,鱼类多样性及物种丰富度大幅下降,尤其是土著鱼类^[3,16]。澜沧江流域的高原鳅主要有短尾高原鳅和细尾高原鳅^[7],短尾高原鳅为一种主要分布于青藏高原及邻近较高区域的广布种^[7,17],与其他高原鱼类一样,具有生长缓慢、繁殖力低以及性成熟周期长等特点,种群生境一旦遭到破坏,很难在短时间内恢复^[5]。

利用分子生物学手段评估云南境内高原鳅属鱼类遗传多样性,本研究尚属首次。通过对来自里底、乌弄龙、叶枝以及表村等4个群体的77尾短尾高原鳅进行线粒体DNA D-loop控制区遗传多样性分析发现,短尾高原鳅线粒体A+T含量为65.26%,G+C含量为34.74%,核酸组成与很多鱼类一样,存在“高A/T、低C/G”偏

好^[18-20],这可能是由于在进化历程中线粒体D-loop控制区展现出较高突变速率且腺嘌呤和胸腺嘧啶键能较低造成的^[21-22]。

物种遗传多样性是衡量一个物种对环境适应能力强弱的重要依据,而单倍型多样性指数(H_d)和核酸多样性指数(π)通常作为评判种群、物种遗传多样性的重要指标^[23-25]。对于高原鳅属鱼类,杨成等^[26]对青海省龙羊峡、李家峡等地硬刺高原鳅开展分析发现,其单倍型多样性指数(H_d)为0.65~0.89,核酸多样性指数(π)为0.0010~0.0025;张艳萍等^[27]对黄河玛曲段似鲃高原鳅分析后,发现其单倍型多样性指数(H_d)为0.861,核酸多样性指数(π)为0.01419;李兰兰等^[28]就目前已有的分子数据记录的高原鳅种类(细尾高原鳅、东方高原鳅、拟鲃高原鳅、达里湖高原鳅、湘西盲高原鳅)进行了遗传多样性和系统发育分析,分析结果表明细尾高原鳅单倍型多样性指数(H_d)最高(0.899),湘西盲高原鳅最低(0.286),拟鲃高原鳅核酸多样性指数(π)最高(0.04259),湘西盲高原鳅最低(0.0005)。本研

究发现澜沧江上游短尾高原鳅单倍型多样性指数(H_d)为0.837~0.942,核酸多样性指数(π)为0.005 16~0.005 72,与他们相比澜沧江上游短尾高原鳅具有较高的遗传多样性,但与澜沧江流域中目前已知鱼类相比,本研究中的澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性程度适中。在澜沧江中下游的宽额鳊单倍型多样性指数(H_d)为0.573,核苷酸多样性(0.017)^[29];老挝纹胸鮡单倍型多样性指数(H_d)为0.844 4~1.000 0,核酸多样性指数(π)0.002 1~0.004 1^[30]。本研究中,4个群体均出现高单倍型多样性、低核酸多样性,即“高 H_d 低 π ”的遗传多样性模式。这可能是由于短尾高原鳅曾经历过较小的种群快速扩增事件,此过程中,单倍型得以扩充而核酸变异缺乏有效积累(核酸变异所需时间更长)^[31-32]。

群体间的遗传距离是分类的一个重要依据。根据 SHAKLEE 等^[33]提出的鱼类在种群(0.05)、种(0.3)和属(0.9)水平上的遗传距离分类依据。本研究中各群体间的遗传距离为0.005 11~0.005 67,短尾高原鳅的群体内和群体间遗传距离都在种群的范围内,且群体间遗传距离与群体内的遗传距离差异不明显,短尾高原鳅群体间无明显的种群分化。虽然4个群体间遗传分化程度很低,但基于 Kimura 双参数的各群体间遗传距离显示,表村群体与里底、乌弄龙群体遗传距离稍远。这可能是由于表村与里底、乌弄龙等地理位置相距较远且近年新建的水利工程相隔造成的。Tajima's D 与 Fu's F_s 检验通常作为判定种群中性进化的检测方法^[34]。本研究中, Tajima's D 与 Fu's F_s 检验均证实澜沧江上游短尾高原鳅群体遵行中性进化。同时,核酸错配分布并未呈现单峰“泊松分布”,也支持上述结论。

F_{st} 作为测量群体间遗传分化的重要参数,不同值代表不同程度的分化^[18]: $F_{st} < 0.05$, 无遗传分化; $0.05 \leq F_{st} < 0.15$, 较小遗传分化; $0.15 \leq F_{st} < 0.25$, 中度遗传分化; $F_{st} \geq 0.25$, 遗传分化较大)。本研究中4个群体间的遗传分化指数 F_{st} 值在 -0.033 05 与 -0.005 14 之间,均低于0.05,表明澜沧江上游各群体短尾高原鳅群体可能不存在遗传分化。另外,分子方差分析结果显示,短尾高原鳅群体内遗传变异占97.91%,且遗传分化指数仅为 -0.021 3 ($P = 0.805$),表明短尾高原鳅整体的遗传变异绝大部分来自群体内部,

可能是群体间基因交流频繁,缺乏遗传变异所致^[35]。基于21个单倍型构建的系统发育树分析,发现单倍型分布混杂,未能观察到明显的地理聚群或分化形成独立的一支,同样也支持澜沧江上游4个短尾高原鳅群体种群未发生明显分化。此外,本项目研究发现澜沧江上游江段,短尾高原鳅仅出现在乌弄龙、里底、叶枝和表村4个采样点附近,这可能是几个方面的原因造成的:一是短尾高原鳅自身的生活习性所导致;二是水电工程修筑所引起的物种生境缩小所致;三是本研究中采样点设置受现实条件影响有一定局限性导致,下一步我们将对此继续深入研究。

生物多样性是人类赖以生存的物质基础,包括遗传多样性、物种多样性和生态系统多样性等多个层次^[1]。遗传突变造就了物种的遗传多样性,而丰富的遗传多样性通常又左右着物种对环境变化的适应能力。澜沧江流域中各鱼类的遗传多样性数据较少,尤其是土著鱼类^[29-30,36-37],依据现有的数据还不能对澜沧江流域整体的鱼类遗传多样性做出完整的评估,我们拟通过该项目中积累的相关实验数据,尤其是群体遗传多样性现状的数据,作为目前澜沧江流域水电工程修建初期的基础数据,后续通过不断加强监测,将遗传多样性的数据与短尾高原鳅等土著鱼类的繁殖、孵化场所、迁移生活习性等结合,对土著鱼类在澜沧江上游的资源情况进行更全面的评估。

参考文献:

- [1] 李雪晴,孙赫英,何德奎,等.澜沧江-湄公河中上游淡水鱼类多样性[J].生物多样性,2019,27(10):1090-1100.
LI X Q, SUN H Y, HE D K, et al. Freshwater fish diversity in the upper and middle reaches of the Lancang-Mekong River[J]. Biodiversity Science, 2019, 27(10): 1090-1100.
- [2] 康斌,何大明.澜沧江鱼类生物多样性研究进展[J].资源科学,2007(5):195-200.
KANG B, HE D M. Research progress of biodiversity of fish species in the Lancangjiang River[J]. Resources Science, 2007(5): 195-200.
- [3] 洪迎新,施文卿,陈宇琛,等.水电梯级开发进程中澜沧江干流鱼类群落演变特征[J].生态学报,2021,41(1):1-19.
HONG Y X, SHI W Q, CHEN Y C, et al. Succession of fish community in the mainstream of Lancang River during cascade hydropower development[J]. Acta Ecologica Sinica,

- 2021, 41(1): 1-19.
- [4] 何春林, 宋昭彬, 张鄂. 中国高原鳅属鱼类及其分类研究现状[J]. 四川动物, 2011, 30(1): 150-155.
HE C L, SONG Z B, ZHANG E. *Triplophysa* fishes in China and the status of its taxonomic studies[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2011, 30(1): 150-155.
- [5] 冯晨光, 童超, 张仁意, 等. 青藏高原东北部边缘高原鳅属鱼类的多样性与分布格局[J]. 生物多样性, 2017, 25(1): 53-61.
FENG C G, TONG C, ZHANG R Y, et al. Biodiversity and distribution patterns of *Triplophysa* species in the northeastern margin of the Tibetan Plateau [J]. Biodiversity Science, 2017, 25(1): 53-61.
- [6] 王树森, 谢佳燕, 任程, 等. 短尾高原鳅繁殖力初步研究[J]. 四川动物, 2016, 35(3): 440-443.
WANG S S, XIE J Y, REN C, et al. Research of reproductive characteristics in *Triplophysa brevicauda* [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2016, 35(3): 440-443.
- [7] 陈小勇. 云南鱼类名录[J]. 动物学研究, 2013, 34(4): 281-343.
CHEN X Y. Checklist of fishes of Yunnan [J]. Zoological Research, 2013, 34(4): 281-343.
- [8] 肖海霞, 玉山江, 王兵强, 等. 线粒体 DNA 在动物起源进化和遗传多样性中的应用[J]. 兽医导刊, 2015, (12): 39-40.
XIAO H X, YU S J, WANG B Q, et al. Application of mitochondrial DNA in animal origin evolution and genetic diversity [J]. Animal Health, 2015, (12): 39-40.
- [9] 倪攀. 线粒体从头组装揭示欧亚猪遗传多样性及分子进化[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018, 1-6.
NI P. De novo assembly of mitochondrial genomes provides insights into genetic diversity and molecular evolution in European and Asian pigs [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018, 1-6.
- [10] 刘红艳, 余来宁, 张繁荣. 鱼类线粒体 DNA 控制区的分子结构及应用进展[J]. 水利渔业, 2008, 28(2): 4-8.
LIU H Y, YU L N, ZHANG F R. Molecular structure and application of mitochondrial DNA control region in fish [J]. Journal of Hydroecology, 2008, 28(2): 4-8.
- [11] 廖小林. 长江流域几种重要鱼类的分子标记筛选开发及群体遗传分析[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(水生生物研究所), 2006, 1-5.
LIAO X L. Development of molecular markers and population genetic analyses in several important fishes distributed in the Yangtze River system [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2006, 1-5.
- [12] 张琴, 曹洋铭, 陆化杰, 等. 基于线粒体基因标记的太平洋褶柔鱼群体遗传结构及变异分析[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(4): 763-769.
ZHANG Q, CAO Y M, LU H J, et al. Genetic variation and genetic structure analysis of *Todarodes pacificus* based on mitochondrial DNA markers [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30(4): 763-769.
- [13] CAO Y B, CHEN X Q, WANG S, et al. Evolution and regulation of the downstream gene of Hypoxia-Inducible factor-1 α in Naked Carp (*Gymnocypris przewalskii*) from Lake Qinghai, China [J]. Journal of Molecular Evolution, 2008, 67(5): 570-580.
- [14] 黄志坚, 徐晓鹏, 唐晶晶, 等. 淡水鱼类线粒体 DNA D-loop 基因的引物设计及应用[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2009, 48(4): 84-88.
HUANG Z J, XU X P, TANG J J, et al. Application and primer design of mitochondrial DNA D-loop of freshwater fishes [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2009, 48(4): 84-88.
- [15] 吴俊颖. XY 和 YY 黄颡鱼精巢转录组分析以及 rbmX 基因在鱼类性腺发育中的功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017, 17-19.
WU J J. Transcriptome analysis of XY, YY Yellow Catfish testes and functional study of rbmX in fish gonad development [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017, 17-19.
- [16] 张超. 梯级水电开发背景下澜沧江鱼类物种多样性和系统发育多样性的变化[D]. 昆明: 云南大学, 2018, 36-40.
ZHANG C. Responses of species and phylogenetic diversity of fish communities in the Lancang River to cascade hydropower development [D]. Kunming: Yunnan university, 2018, 36-40.
- [17] 朱松泉. 中国条鳅志[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1989: 107-108.
ZHU S Q. The Nemacheilidae of China [M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House, 1989: 107-108.
- [18] 彭敏, 王大鹏, 施军, 等. 西江流域卷口鱼线粒体 D-loop 序列的遗传多样性分析[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(5): 30-37.
PENG M, WANG D P, SHI J, et al. Genetic diversity analysis of mitochondrial D-loop sequence of *Ptychidio jordani* in Xijiang River basin [J]. Marine Fisheries Research, 2020, 41(5): 30-37.
- [19] 时伟, 孔晓瑜, 江金霞, 等. 舌鳎亚科鱼类线粒体控制区快速进化及其重复序列延伸机制初步研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2012, 42(s1): 81-87.
SHI W, KONG X Y, JIANG J X, et al. Preliminary study on the rapid evolution of mtDNA control region and the mechanism of tandem repeat units in Cynoglossinae Fishes [J]. Periodical of Ocean University of China, 2012, 42(s1): 81-87.
- [20] 刘滨, 刘新富, 刘思涛, 等. 大菱鲆引进群体与国内累代繁养群体线粒体 D-loop 区部分序列的遗传多态性分析[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 31-36.
LIU B, LIU X F, LIU S T, et al. Genetic diversity of partial mtDNA D-loop region among stocks of turbot *Scophthalmus*

- maximus recently introduced and long-farmed in China[J]. Marine Fisheries Research, 2013, 34(6): 31-36.
- [21] XU S, SCHAACK S, SEYFERT A et al. High mutation rates in the mitochondrial genomes of *Daphnia pulex* [J]. Molecular biology and evolution, 2012, 29(2): 763-769.
- [22] ZEVIANI M, SERVIDEI S, GELLERA C, et al. An autosomal dominant disorder with multiple deletions of mitochondrial DNA starting at the D-loop region[J]. Letters to Nature, 1989, 339(6222): 309-311.
- [23] 李珊, 郭健康, 安苗, 等. 锦江河 3 种鳅的遗传变异及其多样性评价[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(5): 666-673.
- LI S, GUO J K, AN M, et al. Genetic diversity and variation of three Siniperine fishes in Jinjiang River[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(5): 666-673.
- [24] 魏广莲, 徐钢春, 顾若波, 等. 基于 mtDNA Cytb 序列分析养殖与野生刀鲚群体的遗传多样性[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(6): 1216-1221, 1244.
- WEI G L, XU G C, GU R B, et al. Studies on the genetic diversity of farmed and wild population of *Coilia nasus* by analysing mitochondrial DNA Cytb genes [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2012, 34(6): 1216-1221, 1244.
- [25] 张宏, 赵良杰, 胡忠军, 等. 千岛湖和长江黄尾鲴种群的遗传变异研究[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(1): 12-19.
- ZHANG H, ZHAO L J, HU Z J, et al. Genetic variation analysis of *Xenocypris davidi* populations from Qiandao Lake and Yangtze River [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(1): 12-19.
- [26] 杨成, 申志新, 王国杰, 等. 基于 Cytb 基因序列的拟硬刺高原鳅遗传多样性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(25): 15395-15396.
- YANG C, SHEN Z X, WANG G J, et al. Study on genetic diversity of *Triplophysa pseudoscleroptera* based on Cytb gene sequence[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(25): 15395-15396.
- [27] 张艳萍, 娄忠玉, 王太, 等. 黄河玛曲段似鲑高原鳅的种群遗传多样性[J]. 淡水渔业, 2013, 43(6): 86-89.
- ZHANG Y P, LOU Z Y, WANG T, et al. Population genetic diversity of *Triplophysa siluroides* in Maqu section in upper reaches of Yellow River[J]. Freshwater Fisheries, 2013, 43(6): 86-89.
- [28] 李兰兰, 权金强, 王乃亮, 等. 基于 mtDNA D-loop 分析高原鳅群体遗传多样性和系统发育[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(1): 143-152.
- LI L L, QUAN J Q, WANG N L, et al. Analysis of genetic diversity and phylogeny on mtDNA D-loop of *Triplophysa*[J]. Genomics and Applied Biology, 2021, 40(1): 143-152.
- [29] 薛丹, 章群, 郜星辰, 等. 基于线粒体控制区的云南澜沧江和海南岛主要水系宽额鳊遗传变异分析[J]. 水生生物学报, 2015, 39(06): 1107-1116.
- XUE D, ZHANG Q, GAO X C, et al. The analysis of genetic variation based on mtDNA control region sequences of *channa gachus* in the Lancang River in Yunnan province and the main rivers in Hainan province of China [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(06): 1107-1116.
- [30] 金菊. 澜沧江老挝纹胸鲃遗传结构分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011, 23-24.
- JIN J. The analysis of genetic structure on *Glyptothorax Laosensis* Fowler in Lancang River[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011, 23-24.
- [31] 库喜英, 周传江, 何舜平. 中国黄颡鱼的线粒体 DNA 多样性及其分子系统学[J]. 生物多样性, 2010, 18(3): 262-274.
- KU X Y, ZHOU C J, HE S P. Validity of *Pseudobagrus sinensis* and mitochondrial DNA diversity of *Pseudobagrus fulvidraco* populations in China [J]. Biodiversity Science, 2010, 18(3): 262-274.
- [32] MANSION G, ROSENBAUM G, SCHOENENBERGER N, et al. Phylogenetic analysis informed by geological history supports multiple, sequential invasions of the Mediterranean Basin by the angiosperm family Araceae [J]. Systematic Biology, 2008, 57(2): 269-285.
- [33] 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.
- [34] CASULLI A, INTERISANO M, SRETER T, et al. Genetic variability of *Echinococcus granulosus* sensu stricto in Europe inferred by mitochondrial DNA sequences [J]. Infection, Genetics and Evolution, 2012, 12(2): 377-383.
- [35] 李敏, 孔啸兰, 许友伟, 等. 基于线粒体控制区序列的花斑蛇鲷遗传多态性分析[J]. 热带海洋学报, 2020, 39(4): 42-49.
- LI M, KONG X L, XU Y W, et al. Genetic polymorphism of the Brushtooth lizardfish *Saurida undosquamis* based on mitochondrial D-loop sequences [J]. Journal of Tropical Oceanography, 2020, 39(4): 42-49.
- [36] 杨丽萍, 胡俊仪, 秦超彬, 等. 基于线粒体 Cyt b 分析入侵云南四大水系的麦穗鱼群体遗传结构[J]. 水产学报, 2020, 44(3): 339-350.
- YANG L P, HU J Y, QIN C B, et al. Genetic structure analysis of *Pseudorasbora parva* in the four major river systems in Yunnan based on mitochondrial Cyt b [J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(3): 339-350.
- [37] 秦凯波, 仇玉萍, 郑毅. 云南 8 个地区食蚊鱼种群的遗传结构分析[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2017, 37(4): 113-119.
- QIN K B, QIU Y P, ZHENG Y. Genetic structure of *Gambusia affinis* in 8 regions of Yunnan [J]. Journal of Southwest Forestry University (Natural Sciences), 2017, 37(4): 113-119.

Genetic diversity analysis of *Triplophysa breviceauda* in the upper reaches of Lancang River in Yunnan Province

ZHAO Jingxia¹, XIONG Heyong², WU Junjie¹, JIN Fangpeng¹, GAO Haitao¹, ZHAO Chengyuan², LEI Chunyun¹, LI Guanghua¹

(1. Yunnan Academy of Fishery Sciences, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Huaneng Lancang River Hydropower Inc., Kunming 650214, Yunnan, China)

Abstract: For further realizing the genetic diversity and provide experimental data of germplasm resources for *Triplophysa breviceauda* in the upper reaches of Lancang River in Yunnan Province, 77 individuals including 4 geographic populations (Biaocun, Yezhi, Lidi and Wu Nonglong) were analyzed. After sequencing, the total length of 921 bp of D-loop control region were obtained, and 22 variable sites (including 8 singleton variable sites and 14 parsimony informative sites) and 21 haplotypes were identified in whole populations, respectively; the haplotypic diversity (H_d) and nucleotide diversity (π) of *Triplophysa breviceauda* in the upper reaches of Lancang River was 0.837–0.942 and 0.005 16–0.005 72, respectively; among them, the highest H_d was identified in Lidi population, the lowest H_d was identified in Biaocun population, and a genetic character of “high H_d low π ” was presented; The results of AMOVA indicated that most of genetic variation (97.91%) came from within population and little of genetic variation (2.09%) was came from between populations; no significant genetic differentiation was detected between the comparison groups ($F_{st} = -0.021 3$, $P = 0.805$); the farthest genetic distance (0.005 67) of *Triplophysa breviceauda* was identified between Biaocun and Lidi population, and the closest genetic distance (0.005 11) was found between Yezhi and Wu Nonglong population; no recent population expansion event happened in the evolutionary history of *Triplophysa breviceauda*, which was proved by the evidence of non-poisson distribution of nucleotide mismatch and insignificant neutral test result (Tajima's $D = 0.624$, $P = 0.737$; Fu's $F_s = -0.669$, $P = 0.377$). The results showed relatively abundant genetic diversity and low level of genetic differentiation of *Triplophysa breviceauda* in the upper reaches of Lancang River.

Key words: *Triplophysa breviceauda*; D-loop; genetic diversity; Lancang River