

文章编号: 1004 - 2490(2021)04 - 0385 - 10

北盘江光唇裂腹鱼种群基因组 DNA 遗传多样性的 AFLP 分析

杨伟¹, 代应贵^{1,2}, 安丹丹¹, 韩虎峰¹

(1. 贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州大学特种水产研究所, 贵阳 550025)

摘要: 为了解珠江水系北盘江光唇裂腹鱼(*Schizothorax lissolabiatu*s)种群遗传多样性的现状,采用8个引物组合对其30尾个体进行了全基因组DNA扩增片段长度多态性AFLP分析。每个引物组合扩增片段数在8~73之间,扩增片段长度为69~500 bp,基因型数为28~30。8个引物组合共计检测出扩增位点975个,平均每个引物组合扩增出121.88个位点;其中多态性位点897个,多态位点比例为92.00%。观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Nei遗传多样性指数(H)、Shannon信息指数(I)平均值分别为1.9123、1.3690、0.2271和0.3575。个体间遗传距离为0.2147~0.4109,平均为0.3040。基于个体间遗传距离构建的UPGMA和NJ系统树具有相似的拓扑结构,均显示30尾光唇裂腹鱼聚为两支,可能分别来源于两个亚群体。北盘江光唇裂腹鱼种群遗传多样性丰富,但由于受水电站建坝、水质污染、过度捕捞等因素的影响,该种群的分布区已缩小,种群数量减少,种群遗传变异离散程度较低并存在着等位基因丢失的现象,应采取措施恢复北盘江光唇裂腹鱼的种群数量,保护其遗传多样性。

关键词: 珠江; 北盘江; 光唇裂腹鱼; AFLP; 遗传多样性

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

光唇裂腹鱼(*Schizothorax lissolabiatu*s),隶属于鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae)裂腹鱼亚科(Schizothoracinae)裂腹鱼属,分布于元江、澜沧江、怒江和珠江水系南北盘江等地^[1-2],为产地名优野生经济鱼类。近年来,光唇裂腹鱼栖息地遭到破坏,人类活动对其造成了不利影响^[3]。

遗传多样性通常是指种内的遗传多样性,即种内个体之间或一个群体内不同个体遗传变异的总和^[4]。遗传多样性是评价物种资源状况的一个重要指标,是物种适应周围环境变化、维持生存和进化的物质基础^[5]。以DNA为模板的分子标记技术,通过对物种基因的扫描,能够直接反映DNA序列的差异(多态性),具有稳定、高效和准确等优点而被广泛用于物种资源评价、遗传

变异规律分析、辅助育种等^[6-8]。AFLP分子标记结合了RFLP技术的可靠性和PCR技术的高效性,多态性强,分辨率高,获得信息量大,用较少的引物组合即可获得准确的遗传信息,尤其适用于研究背景模糊、材料来源广泛等物种遗传资源的标记分析^[8]。该技术现已被广泛应用于动植物的遗传图谱构建、种质鉴定、遗传多样性分析等研究^[8-10]。

北盘江是珠江水系西江上源红水河的主要支流。目前,光唇裂腹鱼在北盘江仅见于上游可渡河^[3]。本研究通过对北盘江光唇裂腹鱼种群全基因组DNA进行AFLP分析,以期揭示该种群遗传结构及遗传多样性的现状,为开展其野生资源保护和种质资源开发利用提供参考依据。

收稿日期: 2021-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30760189, 30960297); 贵州省留学人员科技活动项目[黔人项目(2013)10]

作者简介: 杨伟(1994—),男,硕士研究生,主要从事水产动物遗传育种与种质资源学研究。E-mail: 1947869630@qq.com

通信作者: 代应贵,教授。E-mail: daiygui@163.com

1 材料与方 法

1.1 样品的采集

本研究所用试验鱼于2010年7月采自珠江水系北盘江可渡河自杨柳至都格河段,用刺网每隔7 km 捕捞7~8尾光唇裂腹鱼,共计30尾鱼。试验鱼体长108~258 mm,体质量23.6~273.0 g。取鱼体背部肌肉用无水乙醇保存并带回实验室备用。

1.2 模板 DNA 的提取

取试验鱼肌肉作为提取DNA的材料,采用北京天根生化科技有限公司提供动物组织DNA提取试剂盒及其操作步骤提取DNA。用1.0%琼脂糖电泳检测DNA并估测其浓度,提取好的DNA置于-20℃冰箱保存备用。

1.3 AFLP 分析

1.3.1 引物接头与引物组合信息

本次实验所用的引物组合由作者自行设计并委托上海生物工程技术有限公司合成,经过初筛,选用8个引物组合对北盘江光唇裂腹鱼种群全基因组DNA进行AFLP分析(表1)。

表1 北盘江光唇裂腹鱼种群 AFLP 分析所用引物组合

Tab.1 Primer pairs used in AFLP analysis for *Schizothorax lissolabiatu*s population from the Beipan River

编号 Number	引物组合 Primer pair
1	E-AAC/ M-CAA
2	E-AAC/ M-CTC
3	E-AGC/ M-CAA
4	E-AGC/ M-CTA
5	E-AGC/ M-CTC
6	E-AGC/ M-CTG
7	E-AGG/ M-CTA
8	E-AGG/ M-CTG

1.3.2 AFLP 分析

反应体系中所用的内切酶为 *EcoRI* 和 *MseI*。酶切与连接反应同时进行。预扩增反应体系共计25 μL,包括模板DNA 2 μL,Pre-ampmix 1 μL, dNTPs 1 μL,10 × PCR buffer 2.5 μL, *Taq* 酶 0.5 μL, ddH₂O 18 μL, PCR 反应程序:94℃ 2 min;94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 80 s(30个循环);72℃ 5

min。将预扩增产物1:20稀释后作为选择性扩增模板,选择性扩增反应体系共计25 μL,包括2 μL 稀释后的预扩增产物,双蒸水 17.5 μL,10 × PCR buffer 2.5 μL, *EcoRI* 引物 1 μL, *MseI* 引物 1 μL, dNTPs 0.5 μL 和 *Taq* DNA 聚合酶 0.5 μL, PCR 反应程序:95℃ 预变性 5 min;95℃ 变性 30 s,50~60℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 1 min,32个循环;72℃ 终延伸 10 min,12℃ 冷却 10 min。PCR 产物 4℃ 保存。

采用贝克曼库尔特公司 CEQ8000 遗传分析系统,运用荧光标记技术和毛细管电泳分离技术,将 PCR 产物在毛细管中电泳分离,以激光激发荧光采集数据,电泳结果通过软件自动统计分析并转换成“0,1”矩阵,保存于 EXCEL 表格供数据处理。

1.4 数据处理

利用 POPGENE3.2 软件统计位点总数、多态位点数、多态位点比例(P),并计算观测等位基因数(N_o)、有效等位基因数(N_e)、Nei 遗传多样性指数(H)、Shannon 信息指数(I)。用 NTSYS2.10 软件计算 30 尾个体间遗传相似性系数(S),根据 NEI 和 LI^[11]的方法计算遗传距离: $D = 1 - S$ 。基于个体间遗传距离矩阵,采用 Mega6 软件构建种群个体的 UPGMA、NJ 系统树。用 Excel 表统计显性位点数据,进行显现基因型频率构图分析。

2 结果与分析

2.1 AFLP 扩增结果

北盘江 30 尾光唇裂腹鱼中,每个引物组合扩增片段数在 8~73 之间,扩增片段长度为 69~500 bp(图 1),个体基因型数为 28~30 个、平均 29.5 个(表 2)。

2.2 种群遗传多样性

北盘江 30 尾光唇裂腹鱼总计扩增出 975 个有效位点,其中多态位点数 897 个,多态位点占总位点数的比例为 92.00%(表 3)。每个引物组合总扩增位点数为 98~151 个,平均 121.88 个;扩增多态位点为 93~140 个,多态位点比例为 79.67%~95.76%,每个引物组合平均多态位点比例为 91.23%。8 个引物组合扩增共有位点数为 5~25 个,平均 10.88 个。

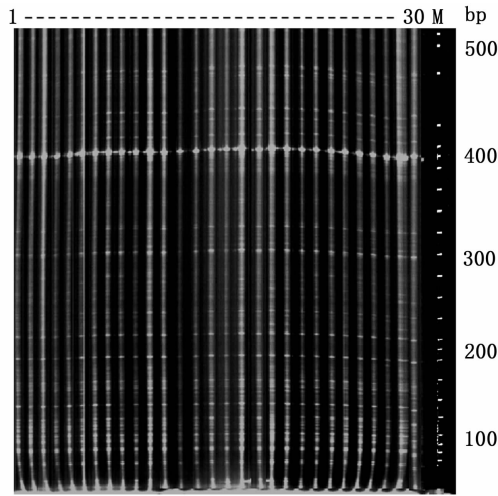


图1 引物组合8扩增的北盘江光唇裂腹鱼种群 DNA 指纹图谱

Fig.1 Electrophoretogram of PCR products by AFLP primer pair 8 in *Schizothorax lissolabiatius* population from the Beipan River

注:M:分子量标准;1~30:光唇裂腹鱼30尾个体
 Note: M:molecular maker;1-30:numbers of 30 individuals of *S. lissolabiatius*

基于8个引物组合的扩增结果,北盘江光唇裂腹鱼种群观测等位基因数(N_a)、有效等位基因

数(N_e)、Nei 遗传多样性指数(H)和 Shannon 信息指数(I)平均值分别为 1.912 3、1.369 0、0.227 1和0.357 5(表3)。

根据8对扩增引物组合扩增出的975个位点,将30尾光唇裂腹鱼扩增位点的显性基因型频率以10%为单位划分为10个区间:1%~9%、10%~19%、20%~29%、30%~39%、40%~49%、50%~59%、60%~69%、70%~79%、80%~89%、90%~99%和0、1两个关键点(图2)。在关键点0扩增位点数出现峰值,在60%~69%区间扩增位点数呈现最低值。

2.3 遗传距离和系统树

北盘江光唇裂腹鱼种群30尾个体间遗传距离为0.214 7~0.410 9,平均为0.304 0。

基于个体间遗传距离对北盘江30尾光唇裂腹鱼进行聚类分析,结果显示采用UPGMA法和NJ法构建的系统树具有相似的拓扑结构,即30尾光唇裂腹鱼均聚为两支(图3,图4)。在UPGMA系统树中,一支由25个个体组成,另一支由5个个体组成;在NJ系统树中,一支代表24个个体,另一支代表6个个体。

表2 8个 AFLP 引物组合的扩增结果

Tab.2 AFLP amplification results by 8 primer pairs in *Schizothorax lissolabiatius* population from the Beipan River

引物组合编号 Number of primer pair	扩增片段数范围 Number of amplified fragment	总扩增片段数 Total number of amplified fragment	扩增片段长度范围 Length of amplified fragment	基因型数 Number of genotype
1	12~62	98	70~500	30
2	42~73	142	69~500	29
3	42~71	123	69~496	30
4	20~73	132	70~500	30
5	40~71	151	70~500	30
6	8~61	118	70~499	30
7	17~58	104	70~498	29
8	13~64	107	71~500	28
总数 Total	-	975	-	236
平均值 Average	-	121.88	-	29.5

表3 光唇裂腹鱼遗传多样性参数

Tab.3 Genetic diversity of *Schizothorax lissolabiatu*s population from the Beipan River

引物组合编号 Number of primer pair	总扩增位点数 Total number of locus	多态位点数 Number of polymorphic locus	多态性 位点比例/% Percentage of polymorphic locus	共有位点数 Number of mutual locus	观测等位基因 数(N_a) Number of observed allele	有效等位基因 数(N_e) Number of effective allele	Nei 遗传多样性 指数(H) Nei's genetic diversity index	Shannon 信息指数(I) Shannon information index
1	98	93	94.90	5	1.949 0	1.374 4	0.223 9	0.350 5
2	142	125	88.03	17	1.880 3	1.409 4	0.250 0	0.387 7
3	123	98	79.67	25	1.796 7	1.358 0	0.220 2	0.343 4
4	132	132	92.96	9	1.929 6	1.405 4	0.249 8	0.390 8
5	151	140	92.72	11	1.927 2	1.425 1	0.259 4	0.402 9
6	118	113	95.76	5	1.957 6	1.352 3	0.218 5	0.350 5
7	104	96	92.31	8	1.923 1	1.269 5	0.176 8	0.291 5
8	107	100	93.46	7	1.934 6	1.358 1	0.217 9	0.343 0
总计 Total	975	897	92.00	87	-	-	-	-
平均值 ± 标准差 Mean ± SD	121.88 ± 17.60	112.13 ± 17.00	91.23 ± 4.86	10.88 ± 6.45	1.912 3 ± 0.050 0	1.369 0 ± 0.050 0	0.227 1 ± 0.030 0	0.357 5 ± 0.030 0

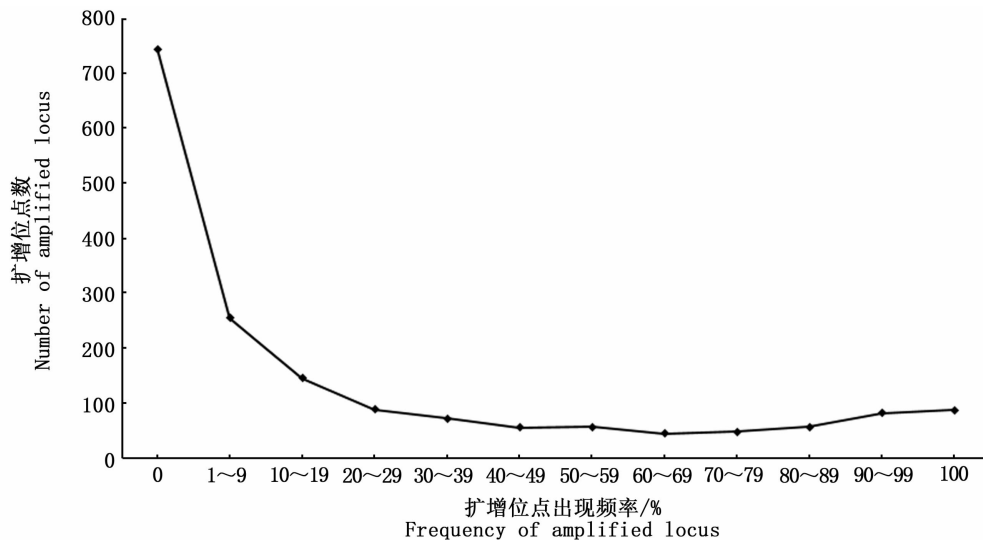


图2 扩增位点数在不同显性基因频率区间内的分布

Fig.2 Number of AFLP amplified locus in different intervals of occurrence frequency of locus in *Schizothorax lissolabiatu*s population from the Beipan River

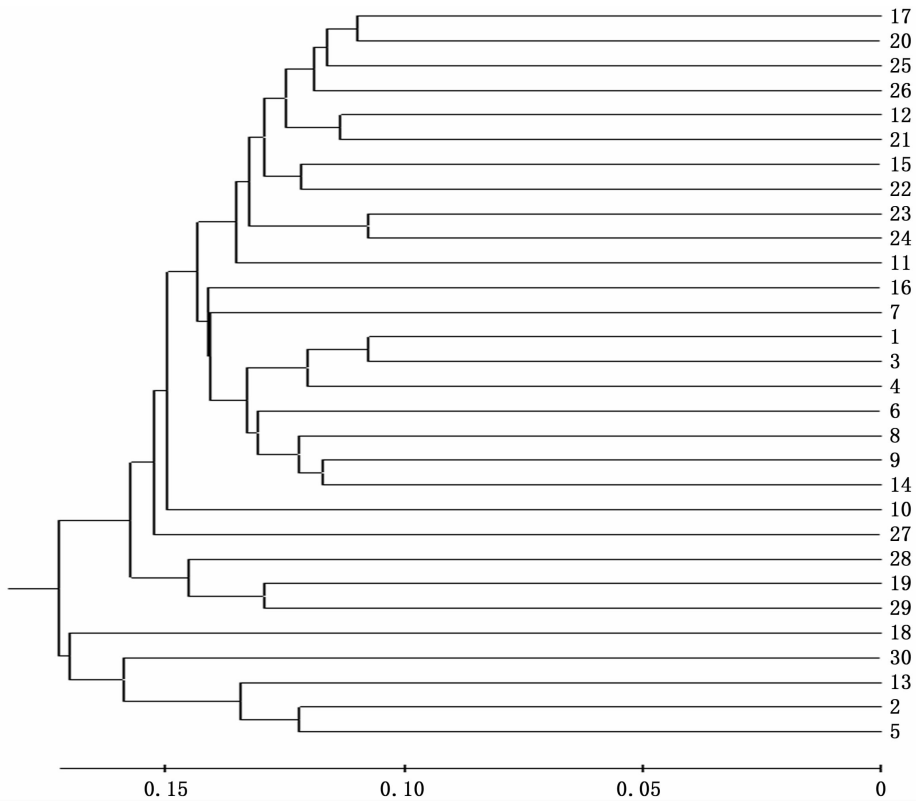


图 3 30 尾光唇裂腹鱼 UPGMA 系统树

Fig.3 UPGMA phylogenetic tree of 30 individuals of *Schizothorax lissolabiatius* from the Beipan River

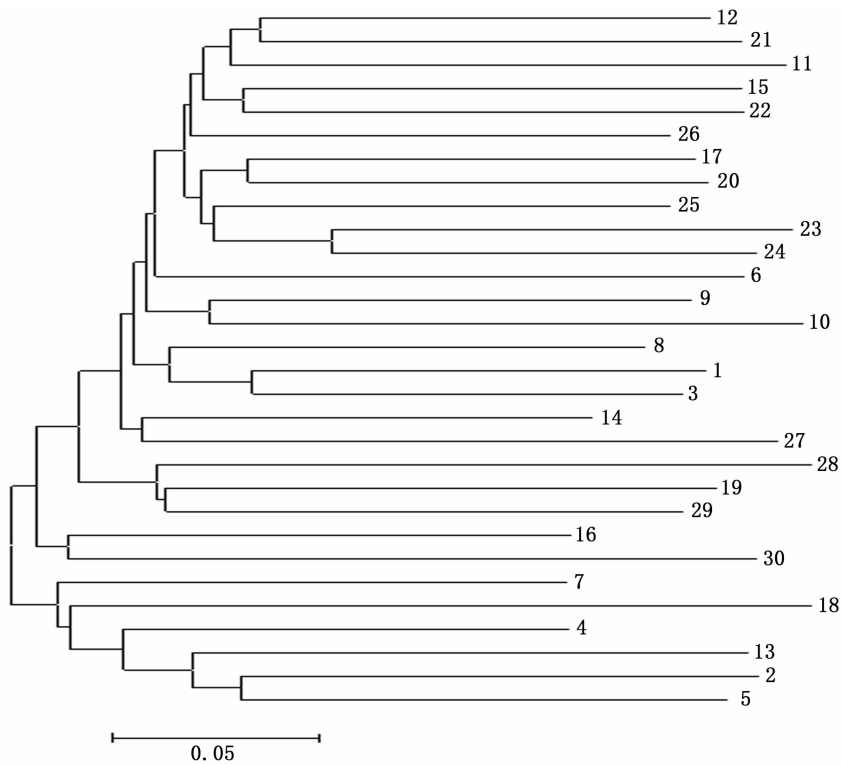


图 4 30 尾光唇裂腹鱼 NJ 系统树

Fig.4 NJ phylogenetic tree of 30 individuals of *Schizothorax lissolabiatius* from the Beipan River

3 讨论

3.1 北盘江光唇裂腹鱼种群的遗传多样性与保护

一个群体(或物种)遗传多样性越高或遗传变异越丰富,表明其对环境变化的适应能力越强,越容易扩展其分布范围和开拓新的环境^[5]。群体遗传多样性每损失 10%,就会对其繁殖能力、存活率、生长等重要生理性状产生极大的负面影响^[12]。因此,对遗传多样性的研究,不仅可以了解物种的进化历史,也可以为分析物种的进化潜力和预测物种发展方向提供重要依据。

多态位点比例(P)和 Nei 遗传多样性指数(H)是评价物种遗传多样性的重要指标^[13]。本研究中,北盘江光唇裂腹鱼种群的多态位点比例(P)、观测等位基因数(N_a)、Nei 遗传多样性指数(H)、Shannon 信息指数(I)分别为 91.23%、1.912 3、0.227 1 和 0.357 5(表 3),高于同属的齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)大渡河种群、雅砻江种群、青衣江雅安多营种群和宝兴种群($P = 67.95\% \sim 77.94\%$)^[14]、昆明裂腹鱼(*Schizothorax grahami*)六冲河群体($P = 60.63\%$)^[15],略低于澜沧江中上游光唇裂腹鱼 4 个地理群体($N_a = 2, H = 0.286 8 \sim 0.324 8, I = 0.426 9 \sim 0.481 1$)^[16],而与已被证实遗传多样性较高的乌江四川裂腹鱼(*Schizothorax kolzovi*)群体($P = 92.99\%, H = 0.212 2$)^[17]处于同一水平。可见,北盘江光唇裂腹鱼种群具有较为丰富的遗传多样性,种质资源较佳。

然而,韩虎峰和代应贵^[3]基于线粒体 DNA 控制区序列分析表明,珠江水系光唇裂腹鱼种群遗传多样性较贫乏,本文研究的结果与之相反。类似地,基于 RAPD^[18]、线粒体控制区^[19]、*Cyt b* 基因^[20]及 AFLP^[21]等不同分子标记,对大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)群体遗传多样性的研究也得出了相反的结论,推测这可能是由于不同标记的 DNA 分子大小、进化速率及多态位点信息等存在差异的结果。本研究中,珠江水系北盘江光唇裂腹鱼种群采用 AFLP 检测显示了较高的遗传多样性,而韩虎峰和代应贵^[3]采用线粒体 DNA 控制区测序方法检测却表明该群体遗传多样性贫乏。其原因可能是由于本研究检测的是种群全基因组 DNA 的变异水平,而韩虎峰和代

应贵^[3]则仅仅检测了该种群线粒体 DNA 控制区部分序列(481 bp)的变异结果,显然本文的研究结果更为可信。

有效等位基因数(N_e)是衡量群体遗传变异程度的指标。有效等位基因数(N_e)与观测等位基因数(N_a)之间的差异,能说明某等位基因在群体内分布的均匀程度。 N_e 与 N_a 之间的差异越小,表明该等位基因在群体内分布的均匀度越高^[7]。本研究中,8 个引物组合 N_e 的范围为 1.269 5~1.425 1、平均为 1.369 0, N_a 的范围 1.796 7~1.957 6、平均为 1.912 3(表 3),显示两者之间差异较大,表明该群体中等位基因分布的均匀度较低,可能存在着等位基因丢失的现象,也表明北盘江光唇裂腹鱼群体个体间基因交流较弱。Shannon 信息指数(I)是反映群体离散程度的一个重要指标,Shannon 信息指数的变化范围通常在 1.5~3.5^[7]。本研究中,北盘江光唇裂腹鱼群体 Shannon 信息指数(I)的平均值为 0.357 5(表 3),显著低于正常值范围,说明光唇裂腹鱼北盘江种群遗传变异离散程度较低。

光唇裂腹鱼为偏 r -型物种^[22],这类鱼类种群结构简单,世代交替快,更新能力强;但易受环境影响,资源稳定性较差^[23]。多年来,北盘江干流梯级水电开发建坝^[24],使河流变成了静水或缓流,阻断了鱼类的洄游通道,从而对适应于流水洄游生活的光唇裂腹鱼产生了不利影响。韩虎峰和代应贵^[3]研究表明,光唇裂腹鱼在北盘江干流因支流革香河洗煤污水汇入而仅见于上游可渡河,种群数量减少。可见,水质污染是破坏北盘江光唇裂腹鱼资源的重要因素。同时,北盘江沿岸渔民的酷渔滥捕也严重影响了该河流的野生鱼类资源,导致其鱼类种群个体明显小型化^[25],进而对河流中光唇裂腹鱼种群造成了威胁。

综上所述,尽管北盘江光唇裂腹鱼种群目前仍具有较丰富的遗传多样性,但因其自身的生态类型以及梯级电站建坝、水域污染和过度捕捞等因素的影响,该种鱼类在北盘江分布区已缩小,资源受到了威胁,遗传变异离散程度较低,存在着等位基因丢失的现象。因此,需要开展北盘江水域污染治理、加强渔政执法实行禁渔、减少北盘江流域水电站的修建及设置水电站过鱼通道、加大对北盘江光唇裂腹鱼资源监测的力度、实施

北盘江光唇裂腹鱼人工增殖放流、设立北盘江光唇裂腹鱼自然保护区等措施,以保护和恢复北盘江光唇裂腹鱼野生资源和种群遗传多样性。

3.2 北盘江光唇裂腹鱼种群系统树分析

韩虎峰和代应贵^[3]构建了珠江水系光唇裂腹鱼可渡河种群 mtDNA 单倍型 NJ 分子系统树,其所属的 40 尾光唇裂腹鱼被分为两支,推测该群体可能源于 2 个母系或两个繁殖群体。王绪祯等^[26]研究表明,青藏高原特有的多倍体化裂腹鱼类包含了两个独立起源的类群。本研究中,光唇裂腹鱼为六倍体^[26],基于个体间遗传距离构建的北盘江光唇裂腹鱼种群 UPGMA 和 NJ 系统树具有相似的拓扑结构,其所属的 30 尾光唇裂腹鱼聚为两支,显示北盘江光唇裂腹鱼种群可能源于具有不同亲缘关系的两个亚群体。

3.3 本研究中 AFLP 标记结果的可靠性

AFLP 标记多态性条带比例高,实验结果较稳定,不受基因组来源和复杂程度的影响,适用于检测亲缘关系较近的生物材料之间的遗传差异^[27]。杨彦平等^[28]采用 AFLP 技术对长江靖江段鳗鲡(*Anguilla japonica*)种群遗传多样性进行了分析,结果表明其多态位点比例高达 95.06%。叶宁等^[29]对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)7 个群体遗传多样性的 AFLP 分析中,7 个引物组合扩增出的多态位点比例为 85.71%。基于 AFLP 方法,刘良国等^[10]对洞庭湖水系五强溪水库光泽黄颡鱼(*Pelteobagrus nitidus*)遗传多样性的分析显示,其多态位点比例为 87.7%。本研究中,用 8 个扩增引物组合共计检测出北盘江光唇裂腹鱼种群多态位点数为 897,多态位点比例为 92.00%(表 3)。可见,AFLP 技术多态性位点检出率高,可获得较丰富的遗传变异信息,是一种高效的分子标记方法,可以用于北盘江光唇裂腹鱼种群遗传多样性及遗传结构的研究。

据 TAJIMA^[30]的 DNA 序列抽样分析理论,在 DNA 水平上估计种群变异时,当样本量 ≥ 10 ,抽样样本的方差便不会太大。大多数学者认为,为了避免因人为取样对遗传多样性研究结果造成影响,实验的样本量应在 30 以上,由此获得的遗传多样性结果才具有较高的可信度^[31]。秦艳杰等^[32]通过逐步增加 AFLP 引物组合数量进行了中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)群体遗传多样性的检测,认为至少要用 3 个引物组合

才能对其群体进行可信的遗传学评价。沈德周等^[6]研究了 AFLP 引物组合数量对马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi*)遗传多样性的影响,表明基于 5 个以上引物组合即可获得较为准确的遗传多样性研究结果。本研究中,供检测的北盘江光唇裂腹鱼种群样本量为 30,引物组合数为 8,可实现对该种群遗传多样性较准确的评价。因此,本研究中获得的北盘江光唇裂腹鱼种群遗传多样性研究结果可信度较高。

参考文献:

- [1] 伍律. 贵州鱼类志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989.
WU L. Fishes of Guizhou[M]. Guiyang: Guizhou Peoples' s Press, 1989.
- [2] 乐佩琦. 中国动物志: 硬骨鱼纲 鲤形目(下卷)[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
LE P Q. Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes III[M]. Beijing: Science Press, 2000.
- [3] 韩虎峰, 代应贵. 珠江水系光唇裂腹鱼可渡河种群 mtDNA D-loop 序列多态性分析[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 143 - 149.
HAN H F, DAI Y G. Sequence polymorphism of mtDNA D-loop in the population of *Schizothorax lissolabiatu*s from Kedu River in Pearl River system [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(1): 143 - 149.
- [4] 钱迎倩, 马克平. 生物多样性研究的原理与方法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994: 13 - 36.
QIAN Y Q, MA K P. Principles and methodologies of biodiversity studies [M]. Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1994: 13 - 36.
- [5] 陈灵芝. 中国的生物多样性: 现状及其保护对策[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
CHEN L Z. Biodiversity in China: Current situation and protection countermeasure [M]. Beijing: Science Press, 1993.
- [6] 沈德周, 纵丹, 周安佩, 等. AFLP 引物组合数对准确分析马缨杜鹃遗传多样性的影响[J]. 西南林业大学学报, 2016, 36(6): 22 - 28, 51.
SHEN D Z, ZONG D, ZHOU A P, et al. Effect of the quantity of AFLP primer combinations on accurately analyzing *Rhododendron delavayi* genetic diversity [J]. Journal of Southwest Forestry University, 2016, 36(6): 22 - 28, 51.
- [7] 葛宝庆, 胡素贤, 孙铁铎, 等. 长白山北部林区野猪局域种群的遗传多样性研究[J]. 野生动物学

- 报,2018,39(2):243-249.
- GE B Q, HU S X, SUN T D, *et al.* Genetic diversity of wild boar in northern Changbai Mountain [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2018,39(2):243-249.
- [8] 邵雪花,刘牛,赖多,等.基于 AFLP 分子标记对广东省番石榴种质资源多样性分析及指纹图谱构建[J].果树学报,2020,37(3):313-321.
- SHAO X H, LIU N, LAI D, *et al.* Diversity and DNA fingerprinting construction of 30 guava (*Psidium guajava*) germplasm resources in Guangdong Province based on AFLP markers [J]. Journal of Fruit Science, 2020,37(3):313-321.
- [9] 周丽青,杨爱国,刘志鸿,等.基于遗传连锁图谱筛选虾夷扇贝性别相关 AFLP 分子标记的方法[J].渔业科学进展,2014,35(6):103-109.
- ZHOU L Q, YANG A G, LIU Z H, *et al.* Screening the sex-related AFLP molecular markers in *Patinopecten yessoensis* based on the genetic linkage map [J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(6):103-109.
- [10] 刘良国,杨品红,王文彬,等.洞庭湖水系五强溪水库光泽黄颡鱼(*Pelteobagrus nitidus*)遗传多样性的 AFLP 分析[J].海洋与湖沼,2018,49(4):919-924.
- LIU L G, YANG P H, WANG W B, *et al.* Analysis of genetic diversity of *Pelteobagrus nitidus* in Wuqiangxi Reservoir of Dong Ting Lake water system by AFLP markers [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2018,49(4):919-924.
- [11] NEI M, LI W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. National Acad Sciences, 1979,76(10):139-147.
- [12] ALLENDORF F W, RYMAN N, UTTER F. Genetic management of hatchery stock [M]. University of Washington Press, 1987:141-159.
- [13] 佟广香,匡友谊,尹家胜,等.野生哲罗鱼种质资源遗传多样性的 AFLP 分析[J].中国水产科学,2009,16(6):833-841.
- TONG G X, KUANG Y Y, YIN J S, *et al.* AFLP analysis of genetic diversity of taimen (*Hucho taimen*) in wild populations [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16(6):833-841.
- [14] 宋昭彬.齐口裂腹鱼和岩原鲤野生种群遗传多样性研究[D].成都:四川大学,2005.
- SONG Z B. Studies on genetic diversity of wild populations of Prenant's schizothoracin (*Schizothorax prenanti*) and rock carp (*Procypris rabaudi*) [D]. Chengdou: Sichuan University, 2005.
- [15] 何勇,安苗,陈祥.乌江上游四川裂腹鱼和昆明裂腹鱼遗传多样性的 RAPD 分析[J].贵州农业科学,2008(3):101-105.
- HE Y, AN M, CHEN X, *et al.* RAPD analysis of genetic diversity of *Schizothorax kozlovi* and *Schizothorax grahami* in upper reaches of Wujiang River [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2008(3):101-105.
- [16] 金方彭,李光华,冷云,等.澜沧江中上游光唇裂腹鱼四个地理群体遗传多样性分析[J].水生生物学报,2021,45(01):60-68.
- JIN F P, LI G H, LENG Y, *et al.* Genetic diversity analysis of four *Schizothorax lissolabiatu* tsao populations in the middle and upper reaches of the Lancang River [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2021,45(01):60-68.
- [17] 安丹丹,代应贵,邹习俊.基于 AFLP 分析的乌江四川裂腹鱼种群遗传结构及多样性研究[J].渔业科学进展,2021,42(4):39-45.
- AN D D, DAI Y G, ZOU X J. AFLP analysis of genetic structure and diversity in population of *Schizothorax kolzovi* from the Wujiang River [J]. Progress in Fishery Sciences, 2021,42(4):39-45.
- [18] 金春华,钟爱华,黄福勇,等.大弹涂鱼自然种群遗传多样性的 RAPD 分析[J].海洋科学,2004,28(12):26-30.
- JIN C H, ZHONG A H, HUANG F Y, *et al.* The research on genetic diversity of *Boleophthalmus pectinirostris* L. from natural population by RAPD method [J]. Marine Sciences, 2004, 28(12):26-30.
- [19] TAKAHIKO M, MANAMI S. Genetic population structure of the mudskipper *Periophthalmus modestus* in Japan inferred from mitochondrial DNA sequence variations [J]. Japanese Journal of Ichthyology, 2006(53):133-141.
- [20] 刘至治,杨金权,王正琦,等.长江口及其南部邻近地区大弹涂鱼种群遗传结构及种群历史分析[J].动物学研究,2009,30(1):1-10.
- LIU Z Z, YANG J Q, WANG Z Q, *et al.* Genetic structure and population history of *Beleophthalmus pectinirostris* in Yangtze River Estuary and its southern adjacent regions [J]. Zoological Research, 2009, 30(1):1-10.
- [21] 陈维,洪万树,陈仕玺,等.西北太平洋大弹涂鱼群体遗传结构的 AFLP 分析[J].中国水产科

- 学, 2014, 21(5):1020-1028.
- CHEN W, HONG W S, CHEN S X, *et al.* AFLP analysis of genetic structure of *Boleophthalmus pectinirostris* populations from the coastal waters of Northwest Pacific[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(5):1020-1028.
- [22] 肖海, 代应贵. 北盘江光唇裂腹鱼年龄结构、生长特征和生活史类型[J]. 生态学杂志, 2011, 30(3):539-546.
- XIAO H, DAI Y G. Age structure, growth and life-history pattern of *Schizothorax lissolabiatu*s in Beipan River[J]. Chinese Journal of Ecology, 2011, 30(3):539-546.
- [23] 罗秉征. 中国近海鱼类生活史型与生态学参数地理变异[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(1):63-73.
- LUO B Z. Life history patterns and geographical variation of ecological parameters for marine fishes in the coastal waters of china [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1992, 23(1):63-73.
- [24] 李惠男, 夏品华, 吴胜利, 等. 北盘江梯级水电站库区重金属分布及富集特征[J]. 科学技术与工程, 2018, 18(9):156-162.
- LI H N, XIA P H, WU S L, *et al.* Heavy metal distribution and plankton enrichment characteristics in cascade reservoirs from Beipan River[J]. Science Technology and Engineering, 2018, 18(9):156-162.
- [25] 莫伟均, 王从锋, 秦孝辉, 等. 北盘江董箐与光照库区鱼类资源水声学调查[J]. 水生态学杂志, 2015, 36(3):10-17.
- MO W J, WANG C F, QIN X H, *et al.* Acoustic monitoring on fish resources in the Dongqing and Guangzhao reservoirs of Beipan River[J]. Journal of Hydroecology, 2015, 36(3):10-17.
- [26] 王绪祯, 甘小妮, 李俊兵, 等. 鲤亚科多倍体物种独立起源及其与第三纪青藏高原隆升的关系[J]. 中国科学:生命科学, 2016, 46(11):1277-1295.
- WANG X Z, GAN X N, LI J B, *et al.* The independent origin of polyploid species of *Cyprinus subfamily* and its relationship with the uplift of the Qinghai-Tibet Plateau in the Tertiary Period [J]. Scientia Sinica Vitae, 2016, 46(11):1277-1295.
- [27] 马妮妮, 魏冬霞, 林瑞庆, 等. AFLP 标记在微生物学上的应用[J]. 热带医学杂志, 2006(9):1048-1051.
- MA N N, WEI D X, LIN R Q, *et al.* Application of AFLP marker in microbiology [J]. Journal of Tropical Medicine, 2006(9):1048-1051.
- [28] 杨彦平, 徐东坡, 方弟安, 等. 基于 AFLP 标记研究长江靖江段日本鳗群体遗传多样性[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(4):460-466.
- YANG Y P, XU D P, FANG D A, *et al.* Analysis of genetic diversity of Japanese eel *Anguilla japonica* from Jingjiang section of the Yangtze River through AFLP [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(4):460-466.
- [29] 叶宁, 包秀凤, 刘建勇. 凡纳滨对虾引进群体与养殖群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 水产学报, 2017, 41(3):339-346.
- YE N, BAO X F, LIU J Y. AFLP analysis of genetic diversity of imported *Litopenaeus vannamei* populations and cultured stocks [J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(3):339-346.
- [30] TAIJIMA E. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite population[J]. Genetics, 1983, (105):437-460.
- [31] 戴习林, 刘洁, 李晶晶, 等. 罗氏沼虾种群 SSR 分析中样本量及标记量对遗传多样性指标的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(7):1083-1095.
- DAI X L, LIU J, LI J J, *et al.* Effects of sample size and loci number on genetic diversity index in *Macrobrachium rosenbergii* with microsatellite markers [J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(7):1083-1095.
- [32] 秦艳杰, 金迪, 初冠囡, 等. 中间球海胆群体遗传学研究中 AFLP 引物数量及样本量的选择[J]. 海洋通报, 2012, 31(1):57-62.
- QIN Y J, JIN D, CHU G N, *et al.* Selection of AFLP primer number and sample size in population genetic study of *strongylocentus intermedium* [J]. Marine Science Bulletin, 2012, 31(1):57-62.

Genetic diversity of genome DNA in *Schizothorax lissolabiatu*s population from the Beipan River based on AFLP Analysis

YANG Wei¹, DAI Yinggui^{1,2}, AN Dandan¹, HAN Hufeng¹

(1. College of Animal Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Special Fisheries Research Institute, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: *Schizothorax lissolabiatu*s, which belongs to Cypriniformes, Cyprinidae, Schizothoracinae and *Schizothorax*, is a wild fish species with high economic value distributed in the Yuanjiang River, the Lancang River, the Nujiang River, and the Nanpan River and the Beipan River in the Pearl River system in China. The habitat environment of the rivers for the species had been destroyed to some extent in recent dozens of years because of the influences of human activity. The genetic diversity of *Schizothorax lissolabiatu*s population from the Beipan River in the Pearl River system was studied based on the DNA inspection in the whole genome of 30 individuals of the species in the river by the method of AFLP with 8 primer pairs in this research. A total of 8-73 fragments comprising 69-500 bp respectively were amplified by each of the 8 primer pairs. The amplified fragments of the 8 primer pairs represented 975 loci with an average of 121.88 loci from each primer pair, including 897 polymorphic loci, accounting for 92.00% of the total. The number of genotypes ranged from 28 to 30. The values of the observed alleles (N_a), the effective alleles (N_e), the Nei's gene diversity index (H) and the Shannon information index (I) in the population averaged 1.912 3, 1.369 0, 0.227 1 and 0.357 5, respectively. The genetic distance between the 30 individuals varied from 0.214 7 to 0.410 9, with an average of 0.304 0. The unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) and neighbor-joining (NJ) phylogenetic trees of the 30 individuals had the similar topological structure according to the genetic distance, which contained 2 branches that probably originated from two different subpopulations respectively. It was speculated that the uplift of the Qinghai-Tibet Plateau caused the ancestral populations of *S. lissolabiatu*s to be distributed in different rivers, the long-term independent evolution and lack of gene exchange between each other had led to the genetic differentiation of the existing *S. lissolabiatu*s populations. This research showed that the genetic diversity of *S. lissolabiatu*s population in the Beipan River was rich. However, the population had a narrower distribution area and smaller size than before and had a low dispersion degree of genetic variation with the loss of alleles due to the adverse factors such as hydropower station dams, water pollution and overfishing in the Beipan River, and therefore it is urgent to take effective measures to restore the size of *S. lissolabiatu*s population and protect its genetic diversity in the river.

Keywords: Pearl River; Beipan River; *Schizothorax lissolabiatu*s; AFLP; genetic diversity