

姚东林, 张涛, 朱静璇. 基于线粒体 DNA D-loop 标记的华南地区 4 种鲤亚科鱼类遗传多样性分析[J]. 渔业研究, 2025, 47(1): 11 – 18.
Yao D L, Zhang T, Zhu J X. Genetic diversity analysis of four Cyprininae fish species in South China based on mitochondrial DNA D-loop sequence[J]. Journal of Fisheries Research, 2025, 47(1): 11 – 18.

基于线粒体 DNA D-loop 标记的华南地区 4 种鲤亚科鱼类遗传多样性分析



姚东林^{1,2}, 张涛³, 朱静璇¹

1. 广东省农业技术推广中心, 广东广州 510520;
2. 华南农业大学海洋学院, 广东广州 510642;
3. 清远市农业科技推广服务中心, 广东清远 511500)

摘要: 【目的】研究华南地区鲤亚科鱼类的遗传多样性, 为开展淡水鱼类的遗传育种工作提供参考。【方法】本研究采集位于海南省、广东省、广西壮族自治区的华南鲤 (*Cyprinus carpio rubrofasciatus* Lacepede)、尖鳍鲤 (*Cyprinus acutidorsalis* Wang)、三角鲤 (*Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey) 和须鲫 (*Carassioides cantonensis* Heincke) 4 种鲤亚科鱼类的 6 个种群共 156 个样本, 采用线粒体 D-loop 标记分析其遗传多样性。【结果】研究结果表明, 华南鲤的海南、珠江和榕江 3 个种群的遗传多样性相对较高, 其线粒体控制区的单倍型多样性分别为 0.814、0.895 和 0.879; 须鲫、尖鳍鲤和三角鲤的单倍型多样性较低, 分别为 0.748、0.794 和 0.536。华南鲤的遗传多样性较高, 其中海南种群略低于珠江种群和榕江种群, 可能与历史上的冰期活动和琼州海峡的阻隔有关。须鲫、尖鳍鲤和三角鲤三者的遗传多样性相对较低, 这可能与 3 个物种本身的分布范围较小、生存能力较差有关。【意义】本研究结果为进一步阐明华南地区鲤亚科鱼类的自然资源状况和开展淡水鱼类的遗传育种工作提供了重要的参考。

关键词: 华南鲤; 尖鳍鲤; 三角鲤; 须鲫; D-loop; 遗传多样性

中图分类号: S965.116 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-9848(2025)01-0011-08

华南地区位于中国最南部, 包括广东省、广西壮族自治区、海南省、香港特别行政区和澳门特别行政区, 该地区雨热充足、生物多样性较高、水系较多, 是中国重要的渔业种质资源宝库。鲤亚科 (Cyprininae) 鱼类在鱼类分类学中属于鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科 (Cyprinidae)。根据《中国鲤科鱼类志》, 中国鲤亚科鱼类一共有 5 个属, 分别是鲃鲤属 (*Puntioplites* Smith)、原鲤属 (*Procypris* Lin)、鲤属 (*Cyprinus* Linnaeus)、须鲫属 (*Carassioides* Ōshima) 和鲫属 (*Carassius* Jarocki)。其中鲤属、原鲤属、须鲫属和鲫属在华

南地区均有分布^[1]。华南鲤 (*Cyprinus carpio rubrofasciatus* Lacepede) 是鲤 (*Cyprinus carpio* Linnaeus) 的一个亚种, 分类上属于鲤属、鲤亚属, 其外形与鲤相似, 只是在侧线鳞和背鳍条等可数形状上有一定的差异^[1-3]。三角鲤 (*Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey) 按照伍献文^[4]的分类应归类为鲤属、中鲤亚属 (*Mesocyprinus* Fang), 又名芝麻鲫、黄板鲫、黄鲫和江鲫, 其分布范围很小, 主要分布于中国珠江水系支流的西江流域, 且主要分布在广西^[4-8]。须鲫 (*Carassioides cantonensis* Heincke) 属于鲤亚科须鲫属, 又名黄鲫、江鲫, 据报道在中

收稿日期: 2023-10-18

修回日期: 2024-10-21

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-45-50)

第一作者: 姚东林, 男, 高级工程师, 研究方向为水产遗传育种。E-mail: yaodonglin_cn@163.com

国珠江流域和海南岛有分布^[1]。目前已知须鲫分布范围小,且相关文献很少,2013年有研究报道,在中国云南地区有须鲫的发现^[9]。尖鳍鲤(*Cyprinus acutidorsalis* Wang)分类上为鲤属、鲤亚属,又名海鲤、海鲫,是中国特有的生活于咸淡水中的鲤科鱼类,主要分布于广西和海南的少数江河出海口^[2-3];其体高较高,背鳍隆起,之后急剧下降,形成尖端突起的背鳍,因此得名尖鳍鲤^[10-13]。

朱华平等^[14]采用16对微卫星引物对华南鲤第5代选育群体(F5)和2个地方品种(乳源群体、乐昌群体)的遗传多样性进行比较分析;邓春兴等^[15]基于线粒体控制区序列对海南须鲫进行遗传多样性分析,发现海南须鲫万泉河和南渡江群体的单倍型多样性分别为0.6762、0.6993;王超等^[16]对钦州尖鳍鲤遗传多样性进行分析,其线粒体单倍型多样性为0.911。目前关于华南鲤、尖鳍鲤、三角鲤和须鲫遗传多样性的研究不多,尤其是对野外资源的研究更少,样本量也偏低,且未见其他关于三角鲤、华南鲤野生种群遗传多样性的研究。因此,本研究基于线粒体D-loop标记分析华南地区4种鲤亚科鱼类(华南鲤、尖鳍鲤、三角鲤和须鲫)6个种群的遗传多样性,旨在进一步探明华南地区鲤亚科鱼类自然资源状况,为开展淡水鱼类的遗传育种工作提供参考。

1 材料与方 法

1.1 仪器

超净工作台;立式电热压力蒸汽灭菌器;超纯水系统;PCR仪;RDY-SPIZ琼脂糖水平电泳仪;小型高速冷冻离心机;涡旋震荡器;电热恒温水浴

锅;ALPHA IMAGER 2200凝胶成像分析系统;-80℃超低温冰箱;-20℃冰箱;电子分析天平;微量移液器等。

1.2 实验试剂与试剂盒

无水乙醇、75%乙醇、去离子水、双蒸水、琼脂糖、TIANGEN蛋白酶K(20 mg/mL)、Tris平衡酚、苯酚、氯仿、异戊醇、核酸染色剂EB(溴化乙锭)、6×Loading buffer上样缓冲液,DL2000 DNA marker、TIANGEN DNA提取试剂盒、TIANGEN普通琼脂凝胶DNA回收试剂盒、2×Taq PCR Master Mix、50×TAE电泳缓冲液、1×TAE电泳缓冲液、组织细胞裂解液、EDTA缓冲液(pH 8.0)等。

1.3 样品采集与处理

如表1所示,本研究共采集位于海南省、广东省、广西壮族自治区的华南鲤、尖鳍鲤、三角鲤和须鲫4种鲤亚科鱼类6个种群,合计156个样本。其中,华南鲤万泉河种群21个,采集地为海南省琼海市,以下简称海南鲤,英文缩写HL;华南鲤珠江种群31个,采集地为广东省肇庆市,以下简称珠江鲤,英文缩写ZL;华南鲤榕江种群22个,采集地为广东省汕头市,以下简称榕江鲤,英文缩写RL;尖鳍鲤钦江种群37个,采集地点为广西钦州市,以下简称尖鳍鲤,英文缩写GJ;须鲫万泉河种群21个,采集地为海南省琼海市,以下简称须鲫,英文缩写XJ;三角鲤珠江种群24个,采集地点为广西南宁,以下简称三角鲤,英文缩写SJ。将采集的鱼取约0.5~1.5 g鳍条或者肌肉组织,放置于装有无水乙醇的5 mL离心管中保存待测。本研究遵守华南农业大学伦理审查委员会规范,样品采集符合实验动物福利要求。

表 1 样品采集地点和种类

Tab. 1 Sample collection location and type

物种 Species	种群 Populations	样本量 Sample sizes	中文简称 Chinese abbreviation	缩写 Abbreviation	采集地 Collection sites
华南鲤 <i>Cyprinus carpio</i> <i>rubrofasciatus</i> Lacepede	华南鲤海南万泉河种群	21	海南鲤	HL	海南省琼海市
	华南鲤珠江种群	31	珠江鲤	ZL	广东省肇庆市
	华南鲤榕江种群	22	榕江鲤	RL	广东省汕头市
尖鳍鲤 <i>Cyprinus acutidorsalis</i> Wang	尖鳍鲤钦江种群	37	尖鳍鲤	GJ	广西壮族自治区钦州市
须鲫 <i>Carassioides cantonensis</i> Heincke	须鲫万泉河种群	21	须鲫	XJ	海南省琼海市
三角鲤 <i>Cyprinus multitaeniata</i> Pellegrin et Chevey	三角鲤珠江种群	24	三角鲤	SJ	广西壮族自治区南宁市

1.4 DNA 提取和检测

1.4.1 提取

本研究DNA提取分为2种,分别为自配试剂提取和试剂盒提取。

1) 试剂盒提取:按照TIANGEN试剂盒说明书操作。

2) 自配试剂提取法

(1) 取保存于无水乙醇的样品约80~100 mg,

用去离子水冲洗一遍，再放入装有去离子水的烧杯漂洗 2 min，用滤纸吸干后置于 1.5 mL 离心管内。

(2) 先加入 50 μ L 裂解液，用剪刀碎组织样品，后再加入 450 μ L 裂解液和 10 μ L 蛋白酶 K 用涡旋振荡器混合 20 s，置于水浴锅中 55 $^{\circ}$ C 恒温裂解 3~7 h，根据裂解效果而定。

(3) 加入 500 μ L Tris 平衡酚，涡旋振荡器混合 20 s 后，置于离心机 12 000 r/min 离心 8 min。

(4) 重新取离心管并标号，每管用移液枪加入对应管的上清液，后加入等体积苯酚：氯仿：异戊醇混合液，涡旋振荡器混合 15 s 后，置于离心机中 12 000 r/min 离心 8 min。

(5) 离心后用移液枪取上清液于已经标号的新离心管中，加入等体积的氯仿，涡旋振荡器混合 15 s 后，置于离心机中 12 000 r/min 离心 8 min。

(6) 取新离心管进行标号，加入上清液，再加入等于上清液 2 倍体积的无水乙醇 (-20° C)，于冰箱中 -20° C 放置 2 h 后，12 000 r/min 离心 10 min。

(7) 去除上清液，每管加入 600 μ L 75% 乙醇 (-20° C) 漂洗，轻轻敲打，让底部白色沉淀悬浮于酒精中后，放入离心机中 12 000 r/min 离心 10 min，离心后取出上清液后，通风晾干约 15~20 min。

(8) 加入 75 μ L TE 缓冲液，放置于 -20° C 冰箱保存待用。

1.4.2 检测

取 2 μ L 已提取的 DNA 样品液并加入 1 μ L $6\times$ Loading buffer 上样缓冲液混匀，用移液枪逐个加入凝胶点样孔中，同时保留一孔点上 DL2000 DNA Marker，设置电压 120 V 进行恒定电压电泳，定时 30 min，取出凝胶并放入凝胶成像系统，打开电脑软件进行观察，拍照并记录 DNA 提取情况。

1.5 引物设计和 PCR 扩增

本研究根据已报道的鲤科目鱼类相关序列，线粒体控制区 D-loop 序列引物采用 2 对引物：三角鲤和华南鲤 D-loop 序列采用 DL1: 5c-ACCCCTG-GCTCCCAAAGC-3c, DL2: 5c-ATCTTAGCATCT-TCAGTG-3c; 尖鳍鲤和须鲤 D-loop 序列采用 D-loop pro: 5c-TCCCAAAGCTAGGATTCTAAACTA-AAC-3c, D-loop pre: 5c-TTCATCTTAACATCTTC-AGTGTTATGC-3c。

线粒体 D-loop 序列引物 DL1/DL2 的 PCR 扩增程序：94.0 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94.0 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 57.0 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72.0 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循

环; 最后 72.0 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

线粒体 D-loop 序列引物 D-loop pro/D-loop pre 的 PCR 扩增程序：94.0 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94.0 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 56.0 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72.0 $^{\circ}$ C 延伸 1 min 10 s, 35 个循环; 最后 72.0 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

PCR 反应体系体积为 50 μ L, 各反应物添加量如表 2 所示。

表 2 PCR 扩增体系
Tab. 2 PCR amplification system

反应物 Reactant substances	体积/ μ L Volume
Buffer 缓冲液 (含 Mg^{2+})	5
dNTPs	5 (各 2.5 mmol/L)
Taq 酶 Taq enzyme	0.5 (2 U)
上游引物 Upstream primer	1 (20 μ mol/L)
下游引物 Downstream primer	1 (20 μ mol/L)
模板 DNA Template DNA	2 (约为 100 ng)
无菌双蒸水 Sterile double distilled water	35.5
合计 Total	50

1.6 DNA 序列测定

将 PCR 所得产物直接进行琼脂糖凝胶电泳检测，将电泳检测获得目的条带的 PCR 产物送往上海美吉生物医药科技有限公司广州测序部进行 DNA 序列测序。

1.7 数据处理

采用 Chromas 软件查看序列的测序效果，并以此为依据判断测序是否准确。使用 MEGA 6.06 软件的 ClustalW 功能进行序列比对，并进行人工矫正，去除受干扰序列片段后，计算碱基组成比例、平均碱基数、简约信息位点等数值。使用 DNASP 软件进行中性假说检验 (Fu's Fs-test 和 Tajima's D 算法) 和核苷酸分析，并计算平均核苷酸差异值和核苷酸多样性。使用 Allequin V3.5.1.3 软件分析单倍型多样性和单倍型组成等。

2 结果与分析

2.1 线粒体 D-loop 序列结构和变异

三角鲤和华南鲤 D-loop 序列用引物 DL1/DL2 扩增获得多条带，尖鳍鲤和须鲤的 D-loop 标记用引物 D-loop pro/D-loop pre 扩增获得了清晰条带。

本研究共获得了 156 个个体的线粒体控制区序列，其中海南鲤 21 个、珠江鲤 31 个、榕江鲤 22 个、须鲤 21 个、尖鳍鲤 37 个、三角鲤 24 个。经过序列比对和处理后，线粒体控制区序列的平均碱基数：海南鲤 727.19、珠江鲤 727.45、榕

江鲤 727.23、尖鳍鲤 727.03、须鲫 727.95、三角鲤 731.04。

在所有控制区序列中，碱基 T、C、A、G 的平均

含量分别为 35.18%±0.60%、18.93%±0.58%、32.30%±0.40%、13.59%±0.07%，其中 A+T 含量 (67.48%±0.57%) 大于 C+G (32.52%±0.57%) (表 3)。

表 3 各种群线粒体控制区序列的碱基组成比例

Tab. 3 The base composition ratio of mitochondrial control region sequences in various populations

种群 Populations	碱基含量/% Base content						碱基数/bp Alkali base
	T	C	A	G	A+T	C+G	
HL	35.47	18.89	31.92	13.72	67.40	32.60	727.19
ZL	35.40	18.91	32.14	13.56	67.54	32.46	727.45
RL	35.42	18.89	32.11	13.58	67.53	32.47	727.23
GJ	35.38	18.96	32.06	13.59	67.45	32.55	727.03
XJ	33.96	19.88	32.63	13.53	66.59	33.41	727.95
SJ	35.43	18.05	32.96	13.57	68.38	31.62	731.04
平均值±标准差 Mean±SD	35.18±0.60	18.93±0.58	32.30±0.40	13.59±0.07	67.48±0.57	32.52±0.57	727.98±1.53

2.2 基于线粒体 D-loop 序列的遗传多样性分析

根据表 4 所示，6 个种群的 156 个线粒体控制区序列中，总样本间的简约信息位点为 115 个，平均核苷酸差异值为 28.527，核苷酸多样性为 0.03946，单倍型个数为 48 个，单倍型多样性为 0.956。在简约信息位点数目中，珠江鲤最高，为 21 个；其次依次为榕江鲤、海南鲤、尖鳍鲤和三角鲤，分别为 20 个、13 个、9 个和 7 个；须鲫最少，为 4 个。在 6 个种群中，榕江鲤的核苷酸多样性差异数最大，为 0.01013，其次是珠江鲤 (0.00996)、海南

鲤 (0.00695)、尖鳍鲤 (0.00244)、须鲫 (0.00186) 和三角鲤 (0.00206)。在单倍型多样性中，珠江鲤 (0.895) 最高，其次为榕江鲤 (0.879)、海南鲤 (0.814)、尖鳍鲤 (0.794)、须鲫 (0.748) 和三角鲤 (0.536)。在单倍型多样性中，珠江鲤 (0.895) 最高，其次分别为榕江鲤 (0.879)、海南鲤 (0.814)、尖鳍鲤 (0.794)、须鲫 (0.748) 和三角鲤 (0.536)。上述指标表明，珠江鲤、榕江鲤和海南鲤 3 个鲤群体的线粒体控制区的多样性较高，而尖鳍鲤、须鲫和三角鲤的遗传变异较少。

表 4 线粒体控制区序列位点信息和多样性分析

Tab. 4 Information and diversity analysis of mitochondrial control region sequence loci

种群 Populations	样本数量 n	简约信息位点 P_i	平均核苷酸差异值 k	核苷酸多样性 π	单倍型多样性 Hd	单倍型 (数量) Haplotype (number)
HL	21	13	5.029	0.00695	0.814	Ha1 (2)、Ha2 (1)、Ha3 (7)、Ha4 (1)、Ha5 (2)、Ha6 (6)、Ha7 (2)
ZL	31	21	7.234	0.00996	0.895	Ha1 (1)、Ha3 (1)、Ha4 (1)、Ha5 (1)、Ha7 (1)、Ha8 (8)、Ha9 (5)、Ha12 (1)、Ha17 (1)、Ha18 (3)、Ha19 (1)、Ha20 (1)、Ha21 (1)、Ha22 (1)、Ha23 (1)、Ha24 (1)、Ha25 (1)、Ha26 (1)
RL	22	20	7.364	0.01013	0.879	Ha5 (4)、Ha8 (4)、Ha9 (6)、Ha10 (2)、Ha11 (1)、Ha12 (1)、Ha13 (1)、Ha14 (1)、Ha15 (1)、Ha16 (1)
GJ	21	9	1.772	0.00244	0.794	Ha1 (1)、Ha3 (1)、Ha27 (13)、Ha28 (11)、Ha29 (1)、Ha30 (3)、Ha31 (1)、Ha32 (1)、Ha33 (2)、Ha34 (1)、Ha35 (1)、Ha36 (1)
XJ	37	4	1.352	0.00186	0.748	Ha37 (9)、Ha38 (2)、Ha39 (4)、Ha40 (1)、Ha41 (2)、Ha42 (1)、Ha43 (1)、Ha44 (1)
SJ	24	7	1.507	0.00206	0.536	Ha45 (16)、Ha46 (2)、Ha47 (4)、Ha48 (2)
所有种群 All populations	156	115	28.527	0.03946	0.956	—

注：n 为样本数量； P_i 为简约信息位点； k 为平均核苷酸差异值； π 为核苷酸多样性；Hd 为单倍型多样性。

Notes: n represents the number of samples; P_i represents the reduced information site; k represents the average nucleotide difference; π represents nucleotide diversity; Hd represents haplotype diversity.

在数据分析过程中，由于 156 个线粒体控制区序列中单倍型数量较多，且 3 个鲤群体和尖鳍鲤、三角鲤之间没有共同单倍型，因此本研究将 3 个华南鲤群体之间单独进行单倍型比较。

在海南鲤、珠江鲤和榕江鲤 3 个群体的线粒体控制区序列中，只有 1 种共同单倍型（Ha5）。除 Ha5 单倍型外，珠江鲤分别与海南鲤、榕江鲤有 4 种、3 种共同单倍型，其中珠江鲤和海南鲤两者的共同单倍型为 Ha1、Ha3、Ha4 和 Ha7；珠江鲤和榕江鲤的共同单倍型为 Ha8、Ha9 和 Ha12。海南鲤共有 7 种单倍型，其中只有 Ha2 和 Ha6 是特有单倍型。珠江鲤有 18 种单倍型，其中有 10 种特有单倍型，为 Ha17~ Ha26。而尖鳍鲤和海南鲤、珠江鲤有 2 种共同单倍型，分别是 Ha1 和 Ha3，但须鲫、尖鳍鲤和三角鲤之间没有共同单倍型，说明这 3 个群体之间具有较大的遗传分化。其中尖鳍鲤有 12 种单倍型，须鲫有 8 种单倍型，而三角鲤只有 4 种单倍型。

2.3 种群动态分析和中性检验

由表 5 可知，珠江鲤和榕江鲤的种内遗传距离最大，其线粒体控制区的遗传距离分别达到了 0.0104、0.0103，而海南鲤相对较低，为 0.0070；须鲫、尖鳍鲤和三角鲤分别为 0.0026、0.0025 和 0.0021，说明三者的内部遗传差异很小。基于线粒体控制区序列的中性检测，种群内和种群间的 Tajima's D 和 Fu's Fs statistic 值不具有显著的差异性，说明群体间的线粒体控制区序列变异较大，尚不能证明符合中性假说。

表 5 中性检验、Kimura 双参数模型遗传距离和标准差结果
Tab. 5 Neutral test, Kimura two-parameter model genetic distance and standard deviation results

种群 Populations	遗传距离 d	标准差 SD	Tajima's D	Fu's Fs statistic
HL	0.007 0	0.001 9	0.480 1	1.825
ZL	0.010 4	0.002 0	-0.543 6	-2.893
RL	0.010 3	0.002 2	1.038 8	0.798
XJ	0.002 6	0.000 9	-0.593 9	-2.357
GJ	0.002 5	0.000 8	-1.510 2	-5.420
SJ	0.002 1	0.000 8	-0.612 4	1.233
所有种群 All populations	—	—	0.632 8	1.955

注：Tajima's D 和 Fu's Fs statistic 值中， $P < 0.05$ 为显著，标注*； $P > 0.05$ 为不显著，不标注。

Notes: In Tajima's D and Fu's Fs statistical values, $P < 0.05$ is significant, marked with *; $P > 0.05$ is not significant and is not labeled.

3 讨论

3.1 华南地区 4 种鲤亚科鱼类种群的遗传多样性

有研究认为核苷酸多样性低于 0.0047 则认为多样性较低^[17]，本研究基于线粒体控制区的核苷酸多样性结果，表明 3 个华南鲤种群核苷酸多样性均高于 0.0047，而须鲫、尖鳍鲤和三角鲤的核苷酸多样性均低于 0.0047，说明华南鲤的遗传多样性较高，而须鲫、尖鳍鲤和三角鲤的遗传多样性较低。本研究表明海南鲤、珠江鲤和榕江鲤种群基于线粒体控制区的单倍型多样性都较高且差异不大，分别为 0.814、0.895 和 0.879，而核苷酸多样性珠江鲤（0.00996）和榕江鲤（0.01013）则明显高于海南鲤（0.00695），说明海南鲤虽然具备较高的单倍型多样性，但是没有足够的时间积累核苷酸多样性，单倍型之间的核苷酸差异小于珠江鲤和榕江鲤。由于淡水水系受地形制约作用明显，而海南岛自冰期以来和欧亚大陆一直处于隔绝状态，外来的鲤鱼种群在冰期后无法进入海南岛水系，且海南岛水系相对较小的种群容易受外界环境的破坏而经历瓶颈效应，从而导致种群数量恢复后遗传同质性较大。基于其中性检测的 Tajima's D 和 Fu's Fs statistic 值均未出现显著差异的负值^[18]，说明如果海南种群经历瓶颈效应的历史比较久，单倍型多样性有所积累，但是核苷酸多样性积累还不够。而珠江和榕江属于大陆水系，洪水和河流改道等因素可以导致外来种群进入该水域，从而导致种群内部存在相对较大的核苷酸差异。

须鲫、尖鳍鲤和三角鲤的基于线粒体控制区的单倍型多样性分别为 0.748、0.794 和 0.536，而核苷酸多样性尤其低，仅为 0.00186、0.00244 和 0.00206，其多样性指标低于华南鲤的珠江、榕江和海南三个种群。王超等^[16]基于线粒体控制区分析广西钦州茅尾海尖鳍鲤群体遗传多样性，得到尖鳍鲤的单倍型多样性为 0.911，并认为该种群遗传多样性相对较低，保护尖鳍鲤种质资源刻不容缓；邓春兴等^[15]基于线粒体控制区分析海南南渡江和万泉河 2 个水系须鲫的遗传多样性，得到万泉河和南渡江群体的单倍型多样性分别为 0.6762、0.6993，并认为海南须鲫遗传多样性低，亟待加强保护。目前尚未发现其他基于华南鲤和三角鲤野外种群的遗传多样性分析的研究。结合上述研究，本研究认为华南鲤、须鲫、尖鳍鲤和三角鲤的野生群体遗传多样性不容乐观。

3.2 华南地区 4 种鲤亚科鱼类种群的亲缘关系

单倍型的组成可以很好地反映物种之间的种群交流,也是研究鱼类种群资源的重要指标之一^[19-20]。3 个华南鲤种群在线粒体控制区存在共同单倍型,其中 3 个种群的共同单倍型只有 1 个,而海南鲤和珠江鲤两者之间共同单倍型为 5 个,珠江鲤和榕江鲤两者之间的共同单倍型为 4 个,海南鲤与榕江鲤两者之间的共同单倍型只有 1 个,这也说明了珠江鲤遗传上可能与海南鲤更加接近,而海南鲤和榕江鲤的遗传差异较大。而尖鳍鲤有 2 个线粒体控制的单倍型和海南鲤、珠江鲤相同,基于 Tajima's D 和 Fu's Fs statistic 的中性检测值符合中性学说,说明群体内的简约位点和单点突变等大多数突变是中性的,且近期并没有较大的自然选择压力。因此本研究认为出现共同单倍型的原因可能是尖鳍鲤和华南鲤之间差异位点不多,而多数简约信息位点都是华南鲤、尖鳍鲤共同拥有的,简约位点多态位点的变异具有随机性,在一些简约位点上刚好出现相同的突变,从而导致出现一样的单倍型,这也可以合理地解释尖鳍鲤只有一个单倍型和华南鲤相同,出现率只有 2/37;而基于这个事实可以认为,尖鳍鲤和华南鲤之间具有很近的亲缘关系。此外,本研究发现尖鳍鲤、三角鲤和须鲫三者没有出现共同单倍型,由此可见,三者之间在短期内没有出现种群交流,同时说明彼此间种群分化较大。而三角鲤、须鲫和华南鲤三者之间也没有共同单倍型,说明三角鲤和须鲫在较近的历史内没有和华南鲤有基因交流,且物种分离的历史比较久远。

参考文献 (References):

- [1] 伍献文. 中国鲤科鱼类志 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964: 406 - 412.
Wu X W. Chinese Cyprinidae fish catalog [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1964: 406 - 412.
- [2] 郑慈英. 珠江鱼类志 [M]. 北京: 科学出版社, 1989: 226 - 233.
Zheng C Y. Pearl River fish catalog [M]. Beijing: Science Press, 1989: 226 - 233.
- [3] 王幼槐. 中国鲤亚科鱼类的分类、分布、起源及演化 [J]. 水生生物学集刊, 1979, 6 (4): 419 - 438.
Wang Y H. Classification, publication, origin, and evolution of Cyprinidae fish in China [J]. Acta Hydrobiolo-

gica Sinica, 1979, 6(4): 419 - 438.

- [4] 陈小勇, 杨君兴. 中鲤亚属的分支系统学分析 (英文) [J]. 动物学研究, 2002, 23 (3): 185 - 194.
Chen X Y, Yang J X. Cladistic analysis of the cyprinid subgenus *Cyprinus* (*Mesocyprinus*) Fang (Teleostei: Cyprinidae) [J]. Zoological Research, 2002, 23(3): 185 - 194.
- [5] 马桂玉, 李坚明, 梁军能. 三角鲤胚后发育研究 [J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31 (4): 37 - 42.
Ma G Y, Li J M, Liang J N. A study on the postembryonic development of *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2011, 31(4): 37 - 42.
- [6] 陈琴, 黄飞鹤. 三角鲤生物学特性及苗种培育技术 [J]. 水利渔业, 2002, 22 (1): 30 - 31.
Chen Q, Huang F H. Biological characteristics and seed cultivation techniques of *Cyprinus multitaeniata* [J]. Water Conservancy and Fisheries, 2002, 22(4): 30 - 31.
- [7] 杨家坚, 梁军能, 卢智发. 三角鲤几种常见天然饲料的营养分析与评价 [J]. 科学养鱼, 2007 (7): 42 - 43.
Yang J J, Liang J N, Lu Z F. Analyses and evaluation of the nutrition of some common natural diets on *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey [J]. Journal of Guangxi Agriculture, 2007, (7): 42 - 43.
- [8] 梁军能, 杨家坚, 侯树鉴, 等. 三角鲤人工催产关键技术研究 [J]. 现代农业科技, 2007 (20), 160 - 164.
Liang J N, Yang J J, Hou S J, et al. Research on the key technology of artificial induction of labor in triangular carp [J]. Modern Agricultural Technology, 2007 (20), 160 - 164.
- [9] 刘淑伟, 陈小勇. 云南省鲤形目鱼类两新纪录——须鲫 (*Carassioides acuminatus*) 及矮身间吸鳅 (*Hemimyzon pumilicorpora*) [J]. 动物学研究, 2013, 34 (5): 504 - 506.
Liu S W, Chen X Y. Two new Cypriniformes fish records from Yunnan Province—*Carassioides acuminatus* and *Hemimyzon pumilicorpora* [J]. Zoological Research, 2013, 34(5): 504 - 506.
- [10] 赵俊, 易祖盛, 陈湘舜, 等. 水温和盐度对尖鳍鲤胚胎发育的影响 [J]. 淡水渔业, 1995, 25 (5): 10 - 12.
Zhao J, Yi Z S, Chen X L, et al. Effects of water temperature and salinity on the embryonic development of *Cyprinus acutidorsalis* [J]. Freshwater Fisheries, 1995, 25(5): 10 - 12.

- [11] 王春, 陈湘麟, 赵俊, 等. 咸淡水养殖新对象——海鲤 [J]. 水产科技情报, 1996, 23 (1): 25 – 26.
Wang C, Chen X L, Zhao J, *et al.* *Cyprinus acutidorsalis*: a new species for brackish water culture [J]. Aquatic Science and Technology, 1996, 23(1): 25 – 26.
- [12] 易祖盛, 陈湘. 盐度对尖鳍鲤 (*Cyprinus acutidorsalis*) 早期发育的影响 [J]. 广州师院学报 (自然科学版), 1999, 20 (5): 61 – 64, 82.
Yi Z S, Chen X. Effects of salinity on the early development of *Cyprinus acutidorsalis* [J]. Journal of Guangzhou Normal University (Natural Science Edition), 1999, 20(5): 61 – 64, 82.
- [13] 王杰. 尖鳍鲤催乳素 (PRL) 及其受体 (PRLR) 的 cDNA 克隆及表达 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
Wang J. Cloning and expression analysis of the prolactin and prolactin receptor of *Cyprinus acutidorsalis* Wang [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [14] 朱华平, 苏换换, 马冬梅, 等. 华南鲤选育品种与地方品种的遗传多样性比较分析 [J]. 农业生物技术学报, 2018, 26 (8): 1371 – 1381.
Zhu H P, Su H H, Ma D M, *et al.* Comparative analysis of genetic diversity in *Cyprinus carpio rubrofasciatus* among selective-breeding population and landraces [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2018, 26(8): 1371 – 1381.
- [15] 邓春兴, 周文漪, 郜星辰, 等. 基于线粒体控制区序列的海南须鲫遗传多样性分析 [J]. 广东农业科学, 2014, 41 (9): 151 – 154.
Deng C X, Zhou W Y, Gao X C, *et al.* Genetic diversity of *Carassioides cantonensis* of Hainan Island based on mitochondrial control region sequences analysis [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(9): 151 – 154.
- [16] 王超, 麦炜, 姚东林, 等. 基于线粒体 DNA 控制区 (mtDNA D-loop) 基因序列分析钦州尖鳍鲤的遗传多样性 [J]. 海南热带海洋学院学报, 2018, 25 (5): 23 – 27.
Wang C, Mai W, Yao D L, *et al.* Genetic diversity analysis of Qinzhou *Cyprinus acutidorsalis* based on mtDNA D-loop sequence [J]. Journal of Hainan Tropical Ocean University, 2018, 25(5): 23 – 27.
- [17] 胡静, 侯新远, 尹绍武, 等. 基于 mtDNA CO I 和 Cyt b 基因序列对南中国海不同海域波纹唇鱼群体遗传多样性的研究 [J]. 水生生物学报, 2014, 38 (6): 1008 – 1016.
Hu J, Hou X Y, Yin S W, *et al.* Genetic diversity and divergence of *Cheilinus undulatus* of different geographic populations of the South China Sea revealed by CO I and Cyt b gene analyses [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1008 – 1016.
- [18] 杨子萍, 李大命, 刘燕山, 等. 基于 Cyt b 序列的太湖和洪泽湖翘嘴鲌遗传多样性和遗传结构分析 [J]. 渔业研究, 2023, 45 (1): 1 – 7.
Yang Z P, Li D M, Liu Y S, *et al.* Genetic diversity and genetic structure of *Culter alburnus* in Tai Lake and Hongze Lake based on mitochondrial DNA Cyt b gene sequences [J]. Journal of Fisheries Research, 2023, 45(1): 1 – 7.
- [19] 蒋飞, 戴习林. 罗氏沼虾 3 个不同群体线粒体 CO I 基因序列变异及遗传多样性分析 [J]. 渔业研究, 2023, 45 (1): 8 – 13.
Jiang F, Dai X L. Analysis of the genetic diversity and sequence variation of mitochondrial CO I gene from three populations of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Journal of Fisheries Research, 2023, 45(1): 8 – 13.
- [20] 廖梦香. 闽江不同河段河蚬的形态学及遗传多样性比较分析 [J]. 渔业研究, 2023, 45 (3): 233 – 245.
Liao M X. Comparative analysis of morphological and genetic diversity of *Corbicula fluminea* in different reaches of Minjiang River [J]. Journal of Fisheries Research, 2023, 45(3): 233 – 245.

Genetic diversity analysis of four Cyprininae fish species in South China based on mitochondrial DNA D-loop sequence

YAO Donglin^{1,2}, ZHANG Tao³, ZHU Jingxuan¹

(1. Agro-Tech Extension Center of Guangdong Province, Guangzhou 510520, China;

2. College of Marine Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3. Qingyuan Agricultural Science and Technology Extension Service Center, Qingyuan 511500, China)

Abstract: [Objective] This study aims to analysis the genetic diversity of Cyprinidae in South China, and provide reference for genetic breeding of freshwater fish. [Methods] The genetic diversity of Cyprininae fish in South China, a total of 156 samples from six populations of four species of Cyprininae fish, including *Cyprinus carpio rubrofusculus* Lacepede, *Cyprinus acutidorsalis* Wang, *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Cheveyand, *Carassioides cantonensis* Heincke, were collected in Hainan Province, Guangdong Province, and Guangxi Zhuang Autonomous Region. The mitochondrial D-loop marker was used to analyze genetic diversity. [Results] This study showed that the genetic diversities of *Cyprinus carpio rubrofusculus* Lacepede had higher genetic diversity. In which, the haplotype diversities based on D-loop were 0.814, 0.895 and 0.879, respectively. The haplotype diversities of *Carassioides cantonensis* Heincke, *Cyprinus acutidorsalis* Wang and *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey based on D-loop were in lower levels, which were 0.748, 0.794 and 0.536, respectively. Among which, the genetic diversity of Hainan population was lower a bit than that of the Pearl River population and Rongjiang population. This may be caused by the Ice Age and the separation of Qiongzhou Strait. The genetic diversities of *Carassioides cantonensis* Heincke, *Cyprinus acutidorsalis* Wang and *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey were in very low levels, which were related with their small distributions and low viabilities. This study found that *Cyprinus acutidorsalis* Wang, *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey, and *Carassioides cantonensis* Heincke did not share any haplotypes, indicating that there was no recent population exchange among these three taxa and suggesting significant population differentiation. Additionally, *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey and *Carassioides cantonensis* Heincke did not share haplotypes with *Cyprinus carpio rubrofusculus* Lacepede, indicating that there was no recent genetic exchange between these two taxa and *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey and *Carassioides cantonensis* Heincke have been separated from the population of *Cyprinus carpio rubrofusculus* Lacepede for a relatively long period of time. [Significance] This research provides important insights into the natural resource status of Cyprinidae fish in South China and offers a reference for future conservation and genetic breeding.

Key words: *Cyprinus carpio rubrofusculus* Lacepede; *Cyprinus acutidorsalis* Wang; *Cyprinus multitaeniata* Pellegrin et Chevey; *Carassioides cantonensis* Heincke; D-loop; genetic diversity