

何美峰, 薛凌展, 吴 斌, 等. 马口鱼不同水系地理种群的遗传多样性分析[J]. 渔业研究, 2025, 47(2): 212 – 222.

He M F, Xue L Z, Wu B, et al. Genetic diversity of *Opsariichthys bidens* among different river system populations[J]. Journal of Fisheries Research, 2025, 47(2): 212 – 222.

## 马口鱼不同水系地理种群的遗传多样性分析



何美峰, 薛凌展, 吴 斌, 樊海平, 崔利峰

(福建省淡水水产研究所, 福建 福州 350002)

**摘要:** 【目的】进一步了解马口鱼的种质资源现状, 为其种质资源的保护和养殖群体的遗传多样性的保持提供科学依据。【方法】本研究利用 PCR 扩增获得 5 个马口鱼群体 (牡丹江、建溪、富屯溪、汀江和南渡江) 共计 136 尾个体的线粒体 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列部分片段, 分析了群体间的遗传分化和遗传多样性。【结果】基于 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列定义的单倍型分别为 35 和 37, 整体单倍型多样性指数和核苷酸多样性分别为 0.922 和 0.05426、0.875 和 0.02824, 2 个标记均显示汀江群体遗传多样性相对较高, 牡丹江群体相对较低。基于 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列计算的马口鱼群体间的遗传距离分别为 0.00304~0.10311、0.00089~0.05153。马口鱼群体间的遗传变异 [96.00% (Cyt *b*)、62.23% (D-loop)] 远高于群体内 [4.00% (Cyt *b*)、33.77% (D-loop)], 群体间遗传分化均达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。基于 Cyt *b* 基因单倍型系统进化树显示, 5 个马口鱼群体可以分为 3 支, 闽江建溪、闽江富屯溪、汀江群体与九龙江群体聚为一支, 牡丹江群体与阿穆尔河、图们江和辽河群体聚为一支, 南渡江群体与海南群体聚为一支, 形成明显的地理谱系格局。牡丹江、闽江 (建溪和富屯溪) 和汀江群体在历史上均未发生扩张事件, 而南渡江群体在历史上可能发生过扩张事件。【结论】南渡江和汀江群体遗传多样性较丰富, 牡丹江、闽江相对较贫乏, 应加大对牡丹江和闽江马口鱼的保护力度。

**关键词:** 马口鱼; Cyt *b* 基因; D-loop 区; 遗传多样性

**中图分类号:** S965 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-9848 (2025) 02-0212-11

马口鱼 (*Opsariichthys bidens*) 隶属于鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科 (Cyprinidae)、鲴亚科 (Danioninae)、马口鱼属 (*Opsariichthys*), 在南起海南岛、元江 (红河), 北至黑龙江流域的中国东部 (台湾岛除外) 的各江河均有分布<sup>[1]</sup>。马口鱼多生活于山谷溪涧中, 性凶猛, 常捕食小鱼、小虾和水生昆虫, 肉味鲜美, 为山区群众日常食用的经济鱼类之一<sup>[2]</sup>。近年来, 由于受人类活动如过度捕捞、环境污染等影响, 马口鱼自然资源急剧下降<sup>[3]</sup>。目前, 马口鱼的全人工繁育和养殖技术已经获得突破, 在南方山区已经形成成熟的马口鱼养殖产业,

市场前景广阔<sup>[4-5]</sup>。而通过线粒体基因序列开展遗传结构和遗传多样性研究, 对马口鱼种群的保护与良种选育具有重要意义<sup>[6]</sup>。

线粒体 DNA (Mitochondrion mt DNA, mtDNA) 是长度为 15~20 kb 的环状 DNA, 具有分子量小、遗传自主性、进化速率快、母系遗传等特点, 是一种重要的分子标记<sup>[7-8]</sup>。mtDNA 中细胞色素 *b* (Cytochrome *b*, Cyt *b*) 是研究较多的编码蛋白质的区域之一, 进化速率一般; mtDNA 控制区 (Control region displacement loop, D-loop) 为不编码的多变区, 进化速率较 mtDNA 其他区段快,

收稿日期: 2024-07-08

修回日期: 2024-09-09

基金项目: 福建省属公益类科研院所基本科研专项 (2021R1014003); 福建省种业创新与产业化工程项目 (2021FJSCZY04); 福建省海洋服务与渔业高质量发展专项资金项目 (FJHY-YYKJ-2022-2-9)

第一作者: 何美峰, 男, 工程师, 博士, 研究方向为淡水渔业资源。E-mail: [hmf917@163.com](mailto:hmf917@163.com)

©《渔业研究》编辑部。本文为使用 CC BY-NC-ND 4.0 许可协议的开放获取作品。

© Editorial Office of Journal of Fisheries Research. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license.

与 Cyt *b* 在进化上存在差别<sup>[8-9]</sup>。因此，mtDNA 中 D-loop 区和 Cyt *b* 常作为分子标记，被广泛用于鱼类的遗传多样性分析<sup>[10-12]</sup>。目前，关于马口鱼 mtDNA 的研究，主要集中在其物种有效性及系统发育关系的探讨上<sup>[13-15]</sup>，以及马口鱼属的迁移历史推测上<sup>[16-17]</sup>。而有关马口鱼种群的遗传多样性研究相对较少，仅见于基于线粒体 Cyt *b* 基因对长江及其以南水系<sup>[18]</sup>、伊洛河<sup>[19]</sup>、钱塘江和瓯江<sup>[6]</sup> 等马口鱼群体的遗传多样性分析。基于 D-loop 区序列的马口鱼种群遗传多样性鲜有研究，但该序列在其他鱼类的种群遗传多样性应用研究较多，如李文俊等<sup>[20]</sup> 基于 mtDNA 控制区序列的珠江和长江水系光倒刺鲃 (*Spinibarbus hollandi*) 群体遗传变异分析；吴俊颀等<sup>[21]</sup> 基于线粒体 D-loop 区的抚仙湖鲮浪白鱼 (*Anabarilius graham*) 遗传多样性分析。据此，本研究拟采用 mtDNA 中 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列对牡丹江、闽江 (含建溪和富屯溪)、汀江

和南渡江马口鱼群体遗传多样性进行分析和评估，旨在从分子水平上丰富中国马口鱼群体遗传多样性数据库资源，为马口鱼的种质资源保护和保持选育群体的遗传多样性提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品与 DNA 提取

2022 年，利用刺网共采集来自牡丹江 (Mudanjiang, MDJ)、闽江富屯溪 (Futunxi, FTX)、闽江建溪 (Jianxi, JX)、汀江 (Tingjiang, TJ) 和南渡江 (Nanduijiang, NDJ) 的马口鱼样品 136 尾。详细采样信息见表 1。取鳍条组织置于无水乙醇中保存。马口鱼基因组 DNA 利用试剂盒 (TIANGEN DP304-02) 进行提取，基因组 DNA 再经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测，保存于 -20 °C 备用。福建省淡水水产研究所实验管理和伦理委员会审批动物实验，批准编号为 FFRIFJ-DW-2022-8。

表 1 各水系马口鱼群体的采集信息

Tab. 1 Sampling informations of wild *O. bidens* collected from different basins

水系 Basins	采样地点 Sampling areas	体长/cm Body length	体质量/g Body mass	尾数 Number
牡丹江 MDJ	黑龙江牡丹江 (N44.06°、E128.96°)	10.0~17.3	13.5~88.9	30
富屯溪 FTX	福建顺昌 (N26.82°、E117.70°)	10.9~15.0	19.0~53.5	31
建溪 JX	福建延平 (N26.82°、E117.67°)	9.8~15.8	18.5~55.2	20
汀江 TJ	福建龙岩 (N25.35°、E116.35°)	11.0~17.1	22.3~97.8	24
南渡江 NDJ	海南白沙 (N19.20°、E109.49°)	6.0~13.1	3.5~41.7	31

### 1.2 PCR 扩增与序列测定

根据 NCBI 公布的马口鱼 mtDNA 全序列 (GenBank: NC\_008744)，利用 Primer Premier 6.0 软件设计引物用于 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列扩增。本研究引物序列为 Cyt *b* F: 5'-AATGACTTGAAGACCACCGT-3'、Cyt *b* R: 5'-CAACGATCTCCGGTTTACAAGAC-3'；D-loop F: 5'-AAAGCATCGG-TCTTGTAATCCGAAG-3'、D-loop R: 5'-CATGGGAGTTTCTTAGGTC-3'。PCR 反应体系 20.0 μL，包含 5×FastPfu Buffer 4.0 μL、2.5 mmol/L dNTPs-2.0 μL、Forward Primer (5.0 μmol/L) 0.8 μL、Fast-Pfu Polymerase 0.4 μL 和 Template DNA 10.0 ng，用 ddH<sub>2</sub>O 补至 20 μL。

扩增程序：95 °C 预变性 5 min；95 °C 变性 30 s，退火 30 s，72 °C 延伸 45 s，35 个循环；72 °C 延伸 10 min，10 °C 保存。

扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后，送样测序。本研究引物合成、扩增及测序均由上海凌

恩生物科技有限公司完成。

### 1.3 数据分析

为构建本研究马口鱼群体的 Cyt *b* 基因遗传进化树，用于比较分析的序列来自 Li 等<sup>[15]</sup> 公布的黑龙江阿穆尔河 (Genbank: FJ602011)、吉林图们江 (FJ601948)、辽宁辽河 (FJ602015)、海南 (FJ601961、FJ601976、FJ601989) 和福建九龙江 (FJ602005~FJ602009) Cyt *b* 基因。利用 BioEdit 7.0 软件对测序结果进行人工校正比对，去除两端冗余序列。利用 Mega 6.0 软件计算碱基含量，并采用最大似然法 (Maximum likelihood, ML) 构建系统发育进化树，各分支置信度用 Bootstrap 重复检测 1000 次<sup>[22]</sup>。运用 DnaSP 5.0 计算单倍型数目 (Number of haplotypes, *h*)、单倍型多样性指数 (Haplotypes diversity, *H<sub>d</sub>*)、核苷酸多样性指数 (Nucleotide diversity,  $\pi$ )、平均核苷酸差异数 (Average number of nucleotide differences, *K*) 和多态位点数目 (Number of polymorphic sites, *S*)<sup>[23]</sup>。

使用 Arlequin 3.5 软件中的分子方差分析 (Analysis of variance, AMOVA) 法计算遗传分化指数 ( $F_{st}$ ) 和进行中性检验, 计算 Tajima's  $D$  和 Fu's  $F_s$  参数, 据此推测马口鱼群体历史演化<sup>[24]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 马口鱼线粒体 Cyt $b$ 基因和 D-loop 区序列及碱基组成

所有样品的测序结果经同源比对后, 获得 Cyt  $b$  基因序列 102 6 bp, 无插入或缺失, 变异位点为 165 个, 单倍型为 35 个, 平均转颠换比值 (TS/TV) 为 10, 4 种碱基 A、T、G、C 的平均含量分别为 24.0%、29.5%、16.5%、30.0%, A+T 含量 53.5% 高于 G+C 含量 46.5%; 获得 D-loop 序列 928 bp, 无插入或缺失, 变异位点为 80 个, 单倍型为

37 个, 平均转颠换比值 (TS/TV) 为 21, 4 种碱基 A、T、G、C 的平均含量分别为 32.4%、33.4%、14.2%、20.0%, A+T 含量 65.8% 高于 G+C 含量 34.2%。两序列均出现明显的 AT 偏移, 这符合已知鱼类线粒体 DNA 序列特征。

### 2.2 群体遗传多样性

马口鱼 5 个群体的 136 个样品中, 基于 Cyt  $b$  基因的单倍型数目 ( $h$ ) 为 35 个, 其中以 MDJ 群体最少 ( $h=1$ ), NDJ 群体最多 ( $h=12$ ); 单倍型多样性指数 ( $H_d$ ) 为 0.922, 其中以 MDJ 群体最低 ( $H_d=0$ ), TJ 群体最高 ( $H_d=0.917$ ); 核苷酸多样性指数 ( $\pi$ ) 为 0.05426, 其中以 MDJ 群体最低 ( $\pi=0$ ), TJ 群体最高 ( $\pi=0.00462$ ); 平均核苷酸差异数 ( $K$ ) 为 55.675 60, 其中以 MDJ 群体最低 ( $K=0$ ), TJ 群体最高 ( $K=4.74275$ ) (表 2)。

表 2 马口鱼群体的遗传多样性

Tab. 2 Genetic diversity of *O. bidens* based on the sequences of mtDNA Cyt  $b$  gene and D-loop region

基因 Genes	群体 Populations	$S$	$h$	$\pi$	$H_d$	$K$	Tajima's $D$	Fu's $F_s$
Cyt $b$	牡丹江 MDJ	0	1	0	0	0	0	0
	富屯溪 FTX	10	4	0.003 27	0.705	3.359 14	1.075 26	4.833 02
	建溪 JX	14	9	0.003 47	0.858	3.563 16	-0.789 92	-1.263 89
	汀江 TJ	18	10	0.004 62	0.917	4.742 75	-0.057 96	-0.426 43
	南渡江 NDJ	34	12	0.003 22	0.875	3.217 74	-2.216 14*	-2.615 11
	全体	165	35	0.054 26	0.922	55.675 60	2.869 72	24.284 60
D-loop	牡丹江 MDJ	2	2	0.000 99	0.460	0.919 54	1.682 64	3.114 77
	富屯溪 FTX	3	2	0.000 59	0.181	0.541 94	-0.648 98	1.826 12
	建溪 JX	6	5	0.001 11	0.505	1.026 32	-1.252 91	-1.048 09
	汀江 TJ	59	16	0.028 74	0.957	26.615 90	2.673 93	1.615 69
	南渡江 NDJ	58	20	0.028 50	0.974	26.387 10	3.051 24	1.005 54
	全体	80	37	0.028 24	0.875	26.148 80	2.512 51	5.012 10

注:  $S$  表示多态位点数目;  $h$  表示单倍型数目;  $\pi$  表示核苷酸多样性指数;  $H_d$  表示单倍型多样性指数;  $K$  表示平均核苷酸差异数; \* 表示极显著 ( $P<0.01$ ) 偏离中性检验模型。

Notes:  $S$  means number of polymorphic sites;  $h$  means haplotype quantity;  $\pi$  means nucleotide diversity;  $H_d$  means haplotypes diversity;  $K$  means average number of nucleotide differences; \* means extremely significant deviated from neutrality model ( $P<0.01$ ).

基于 D-loop 区序列的单倍型数目 ( $h$ ) 为 37 个, 其中以 MDJ 和 FTX 群体最少 ( $h=2$ ), NDJ 群体最多 ( $h=20$ ); 单倍型多样性指数 ( $H_d$ ) 为 0.875, 其中以 FTX 群体最低 ( $H_d=0.181$ ), NDJ 群体最高 ( $H_d=0.974$ ); 核苷酸多样性指数 ( $\pi$ ) 为 0.028 24, 其中以 FTX 群体最低 ( $\pi=0.00059$ ), TJ 群体最高 ( $\pi=0.02874$ ); 平均核苷酸差异数 ( $K$ ) 为 26.148 80, 其中以 FTX 群体最低 ( $K=0.54194$ ), TJ 群体最高 ( $K=26.61590$ ) (表 2)。

### 2.3 群体间遗传距离和遗传分化

各地理群体间遗传距离结果 (表 3) 显示, 基于 Cyt  $b$  基因的 5 个群体间, 以闽江流域的 FTX

和 JX 遗传距离最小 (0.003 04), MDJ 和 NDJ 遗传距离最大 (0.103 11)。基于 D-loop 区序列的 5 个群体间, 以 FTX 和 JX 遗传距离最小 (0.000 89), MDJ 和 TJ 遗传距离最大 (0.051 53), 其次为 MDJ 和 NDJ (0.050 99)。

各地理群体间  $F_{st}$  结果 (表 3) 显示, Cyt  $b$  基因以 JX 和 TJ 群体遗传分化程度最低 ( $F_{st}=0.12100$ ), NDJ 和 MDJ 遗传分化程度最高 ( $F_{st}=0.98712$ )。D-loop 区序列以 NDJ 和 TJ 群体遗传分化程度最低 ( $F_{st}=-0.03396$ ), FTX 和 MDJ 遗传分化程度最高 ( $F_{st}=0.97191$ )。

马口鱼群体间分子方差分析结果 (表 4) 显示,

基于 Cyt *b* 基因的群体间变异贡献率 (96.00%) 远高于群体内 (4.00%); 基于 D-loop 区序列的群体间的群体间变异贡献率 (62.23%) 也高于群体内 (37.77%)。这表明马口鱼群体间的遗传变异主要来自于群体间。

2.4 单倍型分布和系统进化

在 Cyt *b* 基因的单倍型中, MDJ 群体仅有 1 种

单倍型; 单倍型 Hap4 为闽江流域的 FTX 和 JX 所共有, 其他水系间无共享单倍型 (表 5)。在 D-loop 区序列的单倍型中, Hap3 是优势单倍型, 为闽江流域的 FTX 和 JX 所共有; Hap6 为 JX 和 TJ 所共有; Hap10、Hap13、Hap14、Hap15、Hap16 和 Hap22 为 TJ 和 NDJ 所共有, 其他单倍型为各水系独有 (表 5)。

表 3 马口鱼群体的遗传距离和遗传分化指数

Tab. 3 Estimate of genetic distance and fixation index among populations of *O. bidens* based on Cyt *b* gene and D-loop region

群体 Populations	牡丹江 MDJ	富屯溪 FTX	建溪 JX	汀江 TJ	南渡江 NDJ
牡丹江 MDJ		0.949 99 (0.971 91)	0.964 32 (0.963 48)	0.935 03 (0.719 22)	0.987 12 (0.690 88)
富屯溪 FTX	0.023 48 (0.028 75)		0.275 23 (0.053 47)	0.265 71 (0.592 06)	0.974 15 (0.553 58)
建溪 JX	0.022 16 (0.029 26)	0.003 04 (0.000 89)		0.121 00 (0.531 95)	0.974 21 (0.500 30)
汀江 TJ	0.022 37 (0.051 53)	0.003 67 (0.034 45)	0.003 16 (0.034 58)		0.969 78 (-0.033 96)
南渡江 NDJ	0.103 11 (0.050 99)	0.101 60 (0.033 88)	0.101 90 (0.034 28)	0.102 61 (0.028 86)	

注: 对角线下方数值表示群体间遗传距离; 对角线上方数值表示群体间遗传分化指数  $F_{st}$ ; 括号内数值为基于 D-loop 的计算结果。

Notes: The values of the genetic distance among populations are below the diagonal, the above diagonal values show the fixation index ( $F_{st}$ ). The values in brackets are the results based on D-loop region.

表 4 马口鱼群体 Cyt *b* 基因和 D-loop 序列遗传差异的分子方差分析 (AMOVA)

Tab. 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *O. bidens* based on Cyt *b* gene and D-loop region

变异来源 Sources of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	变异组分 Variance component	变异贡献率/% Percentage of variation
群体间 Among populations	4 (4)	3 522.791 (1 055.551)	34.033 28 (9.552 40) Va	96.00 (62.23)
群体内 Within populations	126 (131)	178.675 (759.464)	1.418 06 (5.797 43) Vb	4.00 (37.77)
总计 Total	130 (135)	3 701.466 (1 815.015)	35.451 33 (15.349 83)	

注: 括号内的数值为基于 D-loop 区序列的计算结果; Va 和 Vb 分别表示群体间和群体内变异。

Notes: The values in brackets are the results based on the D-loop region. Va and Vb represent variance components among and within populations, respectively.

表 5 马口鱼线粒体 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列单倍型分布

Tab. 5 Haplotype distribution in *O. bidens* populations based on Cyt *b* gene and D-loop region

基因 Genes	群体 Populations	单倍型数 Haplotype no.	单倍型分布 Haplotypes distribution
Cyt <i>b</i>	牡丹江 MDJ	1	Hap1(30)
	富屯溪 FTX	4	Hap2(14), Hap3(3), Hap4(8), Hap5(6)
	建溪 JX	9	Hap4(5), Hap6(6), Hap7(1), Hap8(1), Hap9(2), Hap10(2), Hap11(1), Hap12(1), Hap13(1)
	汀江 TJ	10	Hap14(2), Hap15(4), Hap16(4), Hap17(1), Hap18(3), Hap19(3), Hap20(1), Hap21(2), Hap22(1), Hap23(3)
	南渡江 NDJ	12	Hap24(8), Hap25(1), Hap26(5), Hap27(1), Hap28(1), Hap29(5), Hap30(1), Hap31(5), Hap32(1), Hap33(1), Hap34(1), Hap35(1)
D-loop	牡丹江 MDJ	2	Hap1(10), Hap2(20)
	富屯溪 FTX	2	Hap3(28), Hap4(3)
	建溪 JX	5	Hap3(14), Hap5(3), Hap6(1), Hap7(1), Hap8(1)
	汀江 TJ	16	Hap6(1), Hap9(2), Hap10(1), Hap11(1), Hap12(1), Hap13(1), Hap14(4), Hap15(3), Hap16(2), Hap17(2), Hap18(1)...Hap23(1)
	南渡江 NDJ	20	Hap10(1), Hap13(1), Hap14(1), Hap15(2), Hap16(2), Hap22(2), Hap24(3), Hap25(2), Hap26(1), Hap27(1), Hap28(1), Hap29(2), Hap30(1), Hap31(1), Hap32(2), Hap33(1), Hap34(2), Hap35(1), Hap36(2)

基于本研究 5 个群体线粒体 Cyt *b* 基因获得的 35 种单倍型，加上选取的 GenBank 中 11 种单倍型，对其采用最大似然法 (ML) 构建系统发育树 (图 1)，显示 46 种单倍型大致分为 3 个分支：1 大分支由 (海南) 南渡江 (NDJ) 群体的所有单倍型与海南 (HN) 3 种单倍型构成；另 1 分支由牡丹江 (MDJ) 群体单倍型与东北河流阿穆尔河 (Amur River)、图们江 (Tumen River)、辽河 (Liao River) 群体单倍型组成；最后 1 分支由福建的富屯溪 (FTX)、建溪 (JX)、汀江 (TJ) 群体与九龙江 (Jiulong River) 构成。另外，东北河

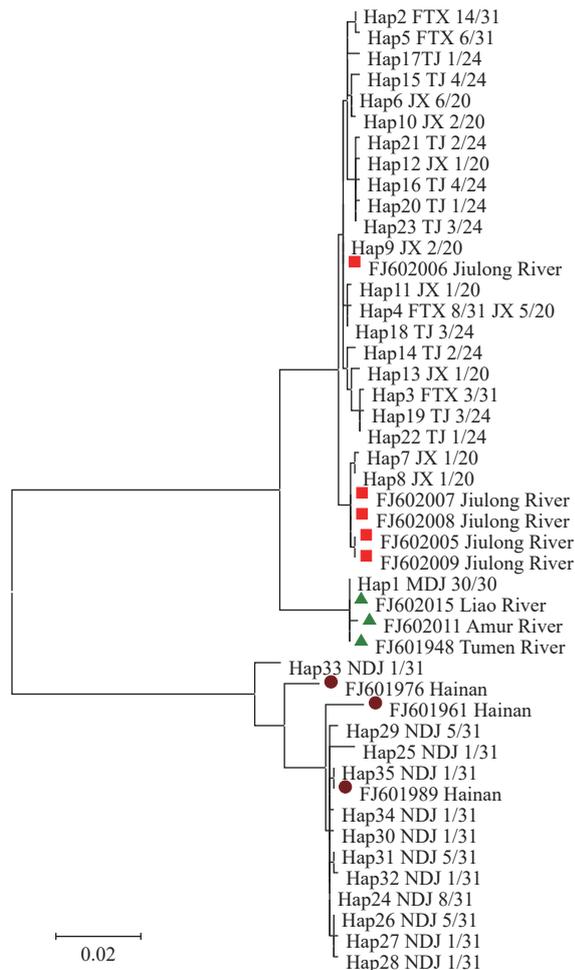


图 1 基于线粒体 Cyt *b* 基因的马口鱼群体单倍型系统进化树

Fig. 1 The phylogenetic tree of *O. bidens* populations based on haplotypes of Cyt *b* gene

注：■表示九龙江群体 GenBank 登录号；▲表示辽河、图们江、阿穆尔河群体 GenBank 登录号；●表示海南群体 GenBank 登录号。

Notes: ■ represents GenBank ID of *O. bidens* populations in Jiulong River; ▲ represents GenBank ID of *O. bidens* populations in Liao River, Tumen River and Amur River; ● represents GenBank ID of *O. bidens* populations in Hainan.

流与福建河流马口鱼群体单倍型先聚在一起，再与海南群体聚在一起，这与上述南渡江和其他群体间遗传距离相对较远 (表 3) 相符。由此表明，福建马口鱼类群与东北马口鱼类群亲缘关系可能更近。

## 2.5 群体历史动态

基于 Cyt *b* 基因的 5 个群体中，MDJ 群体为单一单倍型，不存在多态性，故 Tajima's *D* 和 Fu's  $F_s$  值为 0，不能进行核苷酸错配分析；FTX 群体不存在显著性差异 ( $P>0.05$ )，且核苷酸错配图呈多峰 (图 2a)，表明其历史上未发生过扩张。JX 和 TJ 群体的 Tajima's *D* 和 Fu's  $F_s$  值虽为负值，但其值不存在显著性差异 ( $P>0.05$ )，且核苷酸错配图呈多峰 (图 2b、图 2c)，表明历史上未发生过种群扩张。NDJ 群体的 Tajima's *D* 和 Fu's  $F_s$  值为负值，Tajima's *D* 存在极显著差异 ( $P<0.01$ )，且核苷酸错配图呈单峰，表明南渡江群体历史上可能发生过种群扩张 (图 2d)。基于 D-loop 区序列的 5 个群体中，Tajima's *D* 和 Fu's  $F_s$  值均不存在显著性差异 ( $P>0.05$ )，群体核苷酸错配图也均呈多峰 (图 2e~图 2i)，这表明 5 个群体在历史上均未发生过种群扩张。

## 3 讨论

### 3.1 遗传多样性

物种遗传多样性是长期进化的产物，能反映物种种群适应能力、生存能力和进化潜力，是评价种群资源状况和开展保护工作的重要基础与依据 [12, 25]。本研究的 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列的碱基含量 A+T 均高于 G+C，而且 D-loop 区序列 A+T 含量高于 Cyt *b* 基因。这表现出 mtDNA 中碱基的偏倚性及其组成的不均一性，与硬骨鱼类线粒体基因的碱基组成一致 [26-27]。

根据 Grant 等 [28] 评估物种遗传多样性高低的标准 ( $H_d=0.5$ ,  $\pi=0.005$ )。本研究中，基于 Cyt *b* 基因的 5 个马口鱼群体，每个群体的单倍型多样性 ( $H_d$ ) 和核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 均符合高  $H_d$  和低  $\pi$  类型，可能是这些种群经历了瓶颈效应或建群效应后扩张，同时又无充足时间去积累核苷酸变异；整体上，马口鱼群体符合高  $H_d$  和高  $\pi$  类型，与长江中上游、洞庭湖水系、鄱阳湖水系、东南沿海水系、珠江水系群体 [18] 及钱塘江群体 [6] 类型一致，表明马口鱼可能具有大而稳定的有效群体和较高的进化潜力，对环境变化有较强的响应能力 [18]。基于 D-loop 区序列，汀江和南渡江群体符合高  $H_d$  和高  $\pi$  类型，其可能是由一个大而稳定的种群经过长

时间演化产生的；牡丹江和闽江（包括富屯溪和建溪）符合低  $H_d$  和低  $\pi$  类型，这些群体近期可能发生瓶颈效应或奠基者效应；整体上，5 个群体符合高  $H_d$  和高  $\pi$  类型，与 *Cyt b* 基因所有群体类型是一致的。综上所述，中国马口鱼群体大而

稳定，适应能力和生存能力强，但部分水系，如牡丹江和闽江群体可能近期发生了瓶颈效应或基础群体较小，应加强其保护力度和增加资源量，以提高其遗传多样性水平，防止马口鱼种质资源进一步衰退。

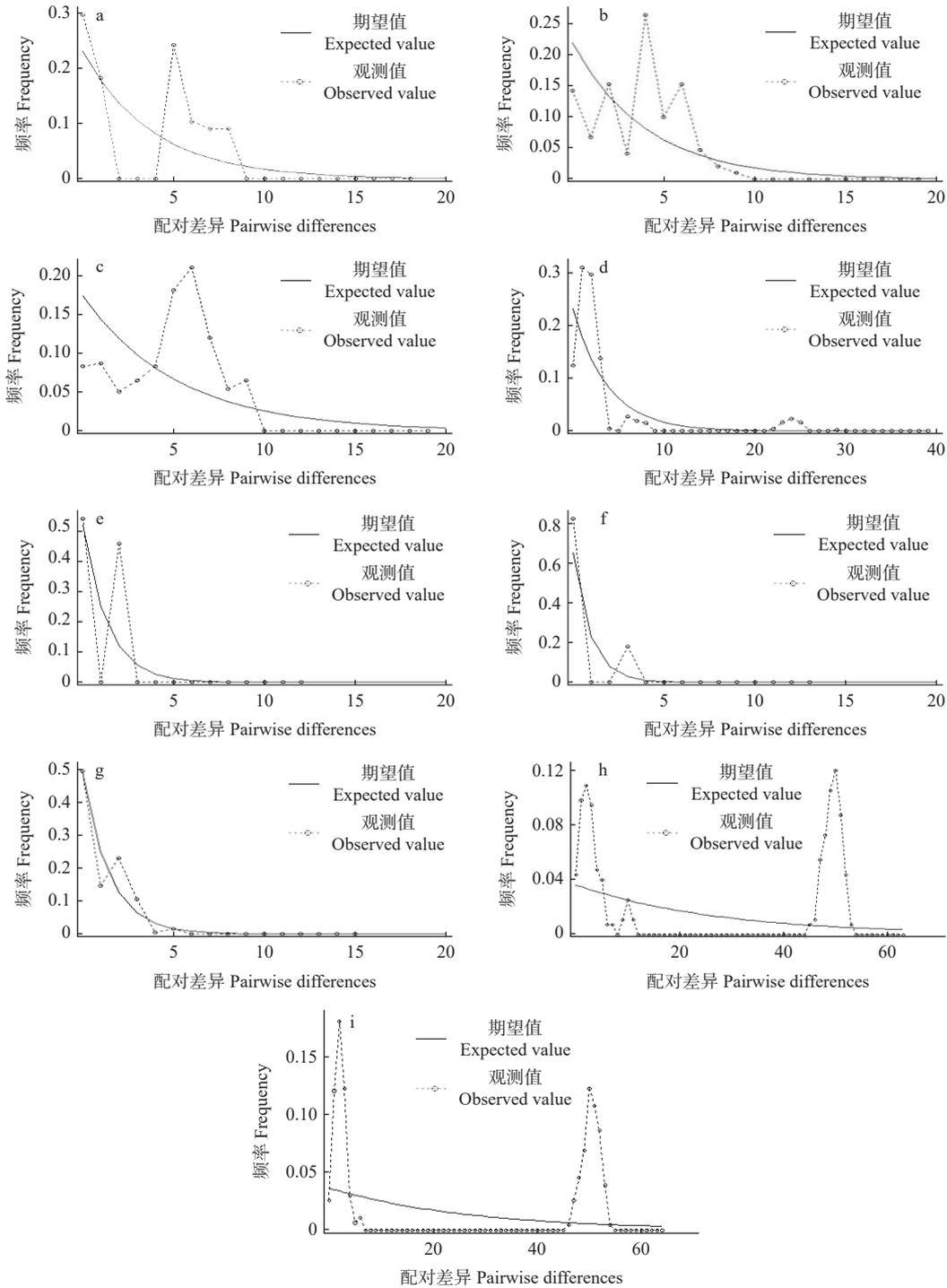


图 2 基于线粒体 *Cyt b* 基因和 D-loop 区序列的马口鱼核苷酸错配分布图

Fig. 2 Mismatch distribution of *O. bidens* based on *Cyt b* gene and D-loop region

注：Cyt *b* (a. 富屯溪；b. 建溪；c. 汀江；d. 南渡江)；D-loop (e. 牡丹江；f. 富屯溪；g. 建溪；h. 汀江；i. 南渡江)。

Notes: Cyt *b* (a. FTX; b. JX; c. TJ; d. NDJ); D-loop (e. MDJ; f. FTX; g. JX; h. TJ; i. NDJ).

一般认为, 线粒体基因组中 D-loop 区序列变异速率是高于 Cyt *b* 基因, 更适用于种内或近缘种水平种群遗传结构及系统地理分析<sup>[10-12]</sup>。本研究发现, 整体上多态位点数 (*S*)、核苷酸多样性指数 ( $\pi$ ) 和单倍型多样性指数 ( $H_d$ ) 均是 D-loop 区序列低于 Cyt *b* 基因 (表 2), 这表明马口鱼 D-loop 区序列变异速率可能低于 Cyt *b* 基因, 后者更适用于马口鱼种内或近缘种遗传结构及系统地理格局研究, 这与赵亮等<sup>[29]</sup> 研究太湖新银鱼 (*Neosalanx taihuensis*) 的结果一致。

### 3.2 遗传分化

种群间的遗传距离和遗传分化指数是衡量种群多态性的重要指标<sup>[6]</sup>。根据 Shaklee 等<sup>[30]</sup> 提出的鱼类遗传距离划分标准。本研究基于 Cyt *b* 基因的 5 个马口鱼群体中, 除 (海南) 南渡江群体与其他群体分化达到种的划分标准 (遗传距离大于 0.05) 外, 其他群体的分化属于种群的水平, 基于 D-loop 区序列的 5 个马口鱼群体中, 所有群体间也属于种群的水平。有学者研究发现, 遗传距离与群体间地理距离呈正相关, 即地理距离越远, 遗传距离越大<sup>[31-32]</sup>。本研究中, 南渡江与其他群体有琼州海峡阻隔, 且地理距离较远, 长期地理隔离可能造成了遗传距离较大; 同属闽江流域的建溪和富屯溪群体地理距离最近, 遗传距离也最小, 这可能与两群体相互间基因交流较多、遗传分化程度较低有关。

根据 Wright<sup>[33]</sup> 采用  $F_{st}$  作为衡量群体间遗传分化标准。本文基于 Cyt *b* 基因的群体间, 仅有汀江和建溪群体间处于中等程度分化 ( $F_{st} = 0.12100$ ), 而其他群体间遗传分化都很大。基于 D-loop 区序列的群体间, 南渡江和汀江  $F_{st}$  为负值, 说明两地理群体之间基因交流频繁; 闽江的两个支流建溪和富屯溪群体处于中等程度分化, 而其他群体间遗传分化很大。分子方差分析 AMOVA 结果显示, 马口鱼群体间遗传变异贡献率高达 96.00% (Cyt *b*) 和 62.23% (D-loop), 说明群体间变异是马口鱼遗传变异的主要来源, 这与群体间 (除闽江的建溪和富屯溪外) 长期的地理隔离限制了其基因交流有关。这与 Perdices 等<sup>[13]</sup> 对长江、珠江、海河 3 水系 28 个马口鱼群体和刘士力等<sup>[6]</sup> 对瓯江和钱塘江等 2 群体的研究结果一致 (即群体间遗传分化达到显著水平, 且遗传变异主要来源于群体间)。李文俊等<sup>[20]</sup> 在研究珠江和长江水系光倒刺鲃群体遗传分化中, 也发现遗传变异主要来自各地理分组间, 变异原因与长期的地理隔离有关。

综上所述, 根据遗传距离和遗传分化标准, 基于 Cyt *b* 基因的 5 个马口鱼群体可能分属 2 个种, 也可从基于 Cyt *b* 基因构建的 ML 系统进化树形成的 2 个明显地理类群看出 (图 1), 与 Li 等<sup>[15]</sup> 研究的中国马口鱼 Cyt *b* 隶属于 2 个分支, 可分为 2 个种一致。但在群体间遗传距离和遗传分化程度上, 马口鱼 D-loop 区序列均与 Cyt *b* 存在差异, 这可能是 mtDNA 的 Cyt *b* 基因和 D-loop 区序列进化速度不同而导致的, 这些结果有待通过分子系统研究并结合形态特征及解剖结构分析进一步论证<sup>[34]</sup>。

### 3.3 群体进化

在单倍型进化关系中, 基于 Cyt *b* 基因的单倍型结果 (表 5), 牡丹江群体仅有 1 种单倍型且独有, 但仍待进一步采集更多样品进行验证; 富屯溪和建溪为闽江上游主要支流, 河道虽有水坝 (沙溪口电站) 阻隔, 但历史上还是相通的, 故群体间遗传距离较近, 具有共享单倍型 (Hap 4); 其他单倍型为各自水系 (或河流) 独有, 这是因为不同水系由于长期地理隔离, 群体间缺乏基因交流, 形成了明显的地理遗传结构, 各自独立进化<sup>[13]</sup>。

在 D-loop 区序列的单倍型中, 富屯溪和建溪群体共享单倍型 Hap 3, 单倍型 Hap 6 为建溪和汀江所共有, 省内河流可能由一个大而稳定的群体经过长期演化而产生或由多个不同系群的群体二次接触而来<sup>[6]</sup>。南渡江和汀江群体间  $F_{st}$  为负值 ( $F_{st} = -0.03396$ ), 且共享 Hap10、Hap13、Hap14、Hap15、Hap16 和 Hap 22 等 6 个单倍型, 说明两群体间可能存在较频繁的基因交流, 这与 Cyt *b* 基因表明的 (海南) 南渡江群体可能是一个独立种相矛盾 (表 5)。据 Chen 等<sup>[17]</sup> 研究发现, 马口鱼种群起源可能来自珠江 (9.28%)、长江 (47.51%)、长江和珠江 (40.56%) 等 3 个祖先, 海南马口鱼种群在更新世中期大约 0.7 Ma 来自珠江水系, 而汀江属于广东韩江水系, 2 个种群间可能存在一定的交流。而鱼类区系调查为这一可能性提供了佐证<sup>[35]</sup>, 但仍待进一步采集更多样品和分子系统研究进行验证。

中性检验中 Tajima's *D* 和 Fu's  $F_s$  是常用的推测种群是否偏离中性突变的方法<sup>[18]</sup>。此外, 若核苷酸错配分布呈泊松分布的单峰, 则表明种群可能经历了种群扩张事件<sup>[12]</sup>。本研究 5 个马口鱼群体中, 从 Tajima's *D* 和 Fu's  $F_s$  显著性检验发现, 牡丹江、闽江富屯溪、闽江建溪和汀江群体在历史上未发生过种群扩张, 且得到核苷酸错配分布图 (呈

多峰)的支持。但南渡江群体 Tajima's  $D$  值显著小于 0, 种群可能经历了规模放大和定向选择, 但未得到基于 D-loop 区序列核苷酸错配分布图(呈多峰)的支持(图 2i)。各谱系的扩张参数和分析图没有得到一致的结果, 可能是因为种群的历史进程较为复杂<sup>[18,36]</sup>, 不同 mtDNA 片段进化速度不同造成的。

### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 陈宜瑜. 中国动物志 硬骨鱼纲 鲤形目 (中卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1998.  
Chen Y Y. Fauna sinica: Osteichthys Cypriniformes (middle volume)[M]. Beijing: Science Press, 1998.
- [ 2 ] 朱元鼎. 福建鱼类志 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1984.  
Zhu Y D. The fishes of Fujian Province[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 1984.
- [ 3 ] 姚崇学. 珍贵稀有的马口鱼 [J]. 中国水产, 1988 (5): 47.  
Yao C X. A rare species of *Opsariichthys bidens*[J]. China Fisheries, 1988(5): 47.
- [ 4 ] 练青平, 张任驰, 宓国强, 等. 马口鱼规模化人工繁殖技术的初步研究 [J]. 浙江海洋大学学报 (自然科学版), 2017, 36 (5): 409 - 413.  
Lian Q P, Zhang R C, Mi G Q, et al. Preliminary study on large-scale of artificial propagation techniques of *Opsariichthys bidens*[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2017, 36(5): 409 - 413.
- [ 5 ] 钟全福, 樊海平, 叶小军. 马口鱼的研究现状及开发利用进展 [J]. 江苏农业科学, 2020, 48 (24): 37 - 41.  
Zhong Q F, Fan H P, Ye X J. Research status and utilization progress of *Opsariichthys bidens*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(24): 37 - 41.
- [ 6 ] 刘士力, 练青平, 贾永义, 等. 基于线粒体 Cyt  $b$  基因序列的浙江省 3 个马口鱼群体遗传多样性分析 [J]. 浙江农业学报, 2023, 35 (2): 293 - 300.  
Liu S L, Lian Q P, Jia Y Y, et al. Genetic diversity analysis of three *Opsariichthys bidens* populations in Zhejiang Province based on mitochondrial Cyt  $b$  gene sequences[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2023, 35 (2): 293 - 300.
- [ 7 ] 郭新红, 刘少军, 刘巧, 等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展 [J]. 遗传学报, 2004, 31 (9): 983 - 1000.  
Guo X H, Liu S J, Liu Q, et al. New progresses on mitochondrial DNA in fish[J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(9): 983 - 1000.
- [ 8 ] 谢振宇, 杜继曾, 陈学群, 等. 线粒体控制区在鱼类种内遗传分化中的意义 [J]. 遗传, 2006, 28 (3): 362 - 368.  
Xie Z Y, Du J Z, Chen X Q, et al. The significance of mitochondria control region (D-loop) in intraspecific genetic differentiation of fish[J]. Hereditas (Beijing), 2006, 28(3): 362 - 368.
- [ 9 ] Gray M W, Burger G, Lang B F. Mitochondrial evolution[J]. Science, 1999, 283(5407): 1476 - 1481.
- [ 10 ] 李娜, 陈少波, 谢起浪, 等. 闽浙地区香鱼线粒体 Cyt  $b$  基因和 D-loop 区序列多态性分析 [J]. 遗传, 2008, 30 (7): 919 - 925.  
Li N, Chen S B, Xie Q L, et al. Polymorphisms of mitochondrial Cyt  $b$  gene and D-loop region in sweetfish (*Plecoglossus altivelis* Temminck et Schlegel) from Zhejiang and Fujian Provinces[J]. Hereditas (Beijing), 2008, 30(7): 919 - 925.
- [ 11 ] 刘伟, 曾圣, 王雪, 等. 基于线粒体 D-loop 区和 Cyt  $b$  基因序列的四川裂腹鱼养殖群体遗传多样性 [J]. 西南农业学报, 2022, 35 (2): 475 - 480.  
Liu W, Zeng S, Wang X, et al. Genetic diversity in farmed *Schizothorax kozlovi* based on mitochondrial DNA D-loop and Cyt  $b$  gene sequence[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(2): 475 - 480.
- [ 12 ] 杨晓鸽, 夏美琪, 姜洁晨, 等. 基于线粒体 Cyt  $b$  基因和 D-loop 区序列的长麦穗鱼遗传多样性研究 [J]. 中国水产科学, 2023, 30 (8): 1031 - 1041.  
Yang X G, Xia M Q, Jiang J C, et al. Genetic diversity of *Pseudorasbora elongata* based on mitochondrial Cyt  $b$  gene and D-loop region sequences[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2023, 30(8): 1031 - 1041.
- [ 13 ] 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.
- [ 14 ] 李高岩. 马口鱼 (*Opsariichthys bidens*) (鲤形目: 鲤科) 系统发育动物地理学及个体生物学的研究 [D]. 北京: 中国科学院动物研究所, 2007.  
Li G Y. Phylogeography and life history of *Opsariichthys bidens* (Cypriniformes: Cyprinidae)[D]. Beijing: Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, 2007.

- [15] Li G Y, Wang X Z, Zhao Y H, *et al.* Speciation and phylogeography of *Opsariichthys bidens* (Pisces: Cypriniformes: Cyprinidae) in China: analysis of the cytochrome *b* gene of mtDNA from diverse populations[J]. *Zoological Studies*, 2009, 48(4): 569 – 583.
- [16] Lin H D, Kuo P H, Wang W K, *et al.* Speciation and differentiation of the genus *Opsariichthys* (Teleostei: Cyprinidae) in East Asia[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2016, 68: 92 – 100.
- [17] Chen W T, Schmidt B V, He S P. The potential colonization histories of *Opsariichthys bidens* (Cyprinidae) in China using Bayesian binary MCMC analysis[J]. *Gene*, 2018, 676: 1 – 8.
- [18] 邓艳. 马口鱼属 (*Opsariichthys*) 分子系统发育及马口鱼 (*Opsariichthys bidens*) 地理种群分化研究 [D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2019.
- Deng Y. Molecular phlogeny of the genus *Opsariichthys* and population differentiation of the *Opsariichthys bidens* (Cypriniformes: Cyprinidae)[D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2019.
- [19] 邓艳, 王雪, 林鹏程, 等. 伊洛河马口鱼遗传差异及其种群分化研究 [J]. *水生生物学报*, 2020, 44 ( 2 ): 339 – 345.
- Deng Y, Wang X, Lin P C, *et al.* Genetic divergence and population differentiation analysis of *Opsariichthys bidens* from Yiluo He[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, 44(2): 339 – 345.
- [20] 李文俊, 李强, 钟良明, 等. 基于线粒体 DNA 控制区序列的珠江和长江水系光倒刺鲃群体遗传变异分析 [J]. *南方农业学报*, 2021, 22 ( 11 ): 3121 – 3129.
- Li W J, Li Q, Zhong L M, *et al.* Analysis of genetic variation among *Spinibarbus hollandi* in the Pearl River and the Yangtze River based on mitochondrial DNA control region sequences[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 22(11): 3121 – 3129.
- [21] 吴俊颀, 李光华, 金方彭, 等. 基于线粒体 D-loop 区的抚仙湖鳊浪白鱼遗传多样性分析 [J]. *水生生物学报*, 2022, 46 ( 3 ): 385 – 394.
- Wu J J, Li G H, Jin F P, *et al.* Genetic diversity analysis of mitochondrial D-loop region of *Anabarilius graham* in Fuxian Lake[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, 46(3): 385 – 394.
- [22] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725 – 2729.
- [23] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451 – 1452.
- [24] Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 564 – 567.
- [25] Ward R D. Genetics in fisheries management[J]. *Hydrobiologia*, 2000, 420(1): 191 – 201.
- [26] 王丹丹, 宋洁, 王旭, 等. 基于线粒体 Cyt *b* 基因和 D-loop 区的鸭绿江流域细鳞鱼群体遗传多样性 [J]. *西北农业学报*, 2023, 32 ( 11 ): 1675 – 1685.
- Wang D D, Song J, Wang X, *et al.* Genetic diversity of *Brachymystax lenok* based on mitochondrial Cyt *b* gene and D-loop region from Yalu River Basin[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2023, 32(11): 1675 – 1685.
- [27] 孔杰, 刘伟, 李世凯, 等. 基于线粒体 D-loop 区序列和 Cyt *b* 基因的鲟鱼群体遗传多样性分析 [J]. *西南农业学报*, 2020, 33 ( 1 ): 206 – 210.
- Kong J, Liu W, Li S K, *et al.* Genetic diversity of *Acipenser* population revealed by Cyt *b* gene and D-loop sequence[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(1): 206 – 210.
- [28] 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]. *Journal of Heredity*, 1998, 89(5): 415 – 426.
- [29] 赵亮, 谢本贵, 刘志瑾, 等. 太湖新银鱼线粒体 D-loop 和 Cyt *b* 片段序列结构与进化速率比较 [J]. *动物学杂志*, 2010, 45 ( 2 ): 27 – 38.
- Zhao L, Xie B G, Liu Z J, *et al.* Molecular structure and DNA substitution rate of the mitochondrial control region and cytochrome *b* in Taihu salangid, *Neosalanx taihuensis*[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2010, 45(2): 27 – 38.
- [30] 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.
- [31] 狄明玉, 周遵春, 李云峰, 等. 海蜆 4 个自然群体遗

- 传多样性的微卫星标记分析 [J]. 水产科学, 2018, 37 (6): 762 – 768.
- Di M Y, Zhou Z C, Li Y F, *et al.* Analysis of genetic diversity in four wild populations of Jellyfish *Rhopilema esculenta* by microsatellite markers[J]. Fisheries Science, 2018, 37(6): 762 – 768.
- [32] 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 (1): 60 – 68.
- Jin F P, Li G H, Leng Y, *et al.* Genetic diversity analysis of four *Schizothorax lissolabiatu*s Tsao populations in the middle and upper reaches of the Lancang River[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, 45(1): 60 – 68.
- [33] Wright S. Evolution and the genetics of populations: a treatise in four volumes. Vol. 4, variability within and among natural populations[M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978: 79 – 103.
- [34] 邹辉, 韦玲静, 黄杰, 等. 基于线粒体 CO I 基因和 D-Loop 区序列的 7 个鲤群体遗传差异分析 [J]. 南方农业学报, 2020, 51 (5): 1209 – 1216.
- Zou H, Wei L J, Huang J, *et al.* Genetic differences among seven carp populations based on mitochondrial CO I gene and D-Loop region sequences[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(5): 1209 – 1216.
- [35] 李金平, 郑慈英. 韩江淡水鱼类区系 [J]. 暨南大学学报 (自然科学版), 1998, 19 (3): 100 – 104, 110.
- Li J P, Zheng C Y. Ichthyofauna of the Hanjiang River for freshwater fishes[J]. Journal of Jinan University (Natural Science), 1998, 19(3): 100 – 104, 110.
- [36] 王雪, 唐琼英, 刘飞, 等. 赤水河两种荷马条鳅属鱼类的遗传多样性及谱系生物地理学过程分析 [J]. 水生生物学报, 2017, 41 (2): 356 – 362.
- Wang X, Tang Q Y, Liu F, *et al.* Genetic diversity and phylogeography of two *Homatula* species (Teleostei: Nemacheilidae) in the Chishui River[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(2): 356 – 362.

## Genetic diversity of *Opsariichthys bidens* among different river system populations

HE Meifeng, XUE Lingzhan, WU Bin, FAN Haiping, CUI Lifeng  
(Freshwater Fisheries Research Institute of Fujian Province, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** [Objective] The genetic and evolutionary variation of different *Opsariichthys bidens* populations were explored, which would provide a theoretical basis for the further protection and the maintenance of genetic diversity of breeding populations. [Methods] In this study, 136 *O. bidens* individuals were collected from Mudanjiang River (MDJ), Futunxi River (FTX), Jianxi River (JX), Tingjiang River (TJ) and Nanduijiang River (NDJ). The mitochondrial DNA (mtDNA) Cyt *b* gene and D-loop region sequences from each individual were identified and analyzed. [Results] The results showed that the total haplotypes defined by Cyt *b* gene and D-loop region in all populations were 35 and 37, respectively; the corresponding overall haplotype diversity ( $H_d$ ) and nucleotide diversity ( $\pi$ ) were 0.922 and 0.05426 (Cyt *b*), and 0.875 and 0.02824 (D-loop), respectively. The data based on Cyt *b* gene and D-loop region showed that the genetic diversity of the TJ population was higher than those of the other four populations, and the MDJ population was lower than other populations. The genetic distances among the population were 0.00304–0.10311 (Cyt *b*) and 0.00089–0.05153 (D-loop). The analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the source of variation between populations [96.00% (Cyt *b*), 62.23% (D-loop)] was significantly higher than that within populations [4.00% (Cyt *b*), 37.77% (D-loop)]. This suggests a substantial genetic differentiation among these populations ( $P < 0.05$ ). Phylogenetic tree constructed by the maximum likelihood (ML) method based on Cyt *b* gene showed that five *O. bidens* populations could be divided into three branches: one branch was clustered with the haplotypes collected from JX, FTX and Jiulong River populations, the second branch was clustered with the haplotypes collected from MDJ, Amur River, Tumen River and Liao River populations, while NDJ and Hainan populations were clustered into the third branch. A neutral test and mismatch distribution analysis suggested that *O. bidens* collected from FTX, JX, TJ and MDJ had no undergone a recent population expansion, and which collected from NDJ had undergone a recent population expansion perhaps. [Conclusion] Overall, obvious genetic differentiation among the five populations were observed with the NDJ and TJ populations having the higher genetic diversity, but MDJ, FTX and JX populations having the lower genetic diversity. The results could provide scientific evidence for the conservation, sustainable development, and commercial utilization of germplasm resources of *O. bidens*.

**Key words:** *Opsariichthys bidens*; Cyt *b* gene; D-loop region; genetic diversity