

doi: 10.7541/2020.009

中国东部沿海中小型河流鱼类的整体遗传多样性评价 ——以曹娥江为例

任 岗¹ 宣鑫玲¹ 谢亚婷¹ 李碧莹¹ 陈 旻² 蔡亚军² 沈文英¹

(1. 绍兴文理学院生命科学院, 绍兴 312000; 2. 绍兴市水政渔业执法局, 绍兴 312000)

摘要: 研究将曹娥江作为东部沿海中小型河流代表, 基于线粒体细胞色素**b**基因(Cyt *b*)分子标记对其鱼类的整体遗传多样性水平进行了评估。结果表明, 21个种26个群体鱼类Cyt *b*基因的单倍型多样性指数(*h*)和核苷酸多样性指数(π)水平分别为0.074—0.987和0.00019—0.00520, 物种间遗传多样性水平差异较大; 比较不同江段鱼类遗传多样性水平发现, 曹娥江鱼类的单倍型多样性指数水平从河口到中下游再到上游逐渐降低($P < 0.05$)。比较同一物种的遗传多样性水平发现, 曹娥江鱼类的核苷酸多样性指数水平低于长江、珠江等大型河流鱼类的相应指数水平($P < 0.05$), 提示曹娥江鱼类的整体遗传多样性处于中等偏下水平, 鱼类资源亟需科学的保护和修复。进一步分析人为扰动因素对曹娥江鱼类遗传多样性水平的影响发现, 敏感型鱼类的单倍型多样性指数水平显著低于中等耐受型鱼类($P < 0.05$); 麦穗鱼(*Pseudorasbora parva*)、光泽黄颡鱼(*Pelteobagrus nitidus*)和刺鳅(*Mastacembelus aculeatus*)3种鱼类的上游镜岭群体单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数水平均低于其中游仙岩群体的相应指数水平。结果提示, 水体污染、过度捕捞可能是造成目前曹娥江鱼类遗传多样性水平较低的主要原因。研究结果将为曹娥江乃至东部中小河流的鱼类资源的管理、保护和开发利用提供重要的理论依据。

关键词: 曹娥江; 遗传多样性; 整体评价; 人为干扰; 细胞色素**b**基因

中图分类号: Q347; S324 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2020)01-0067-08

中国东部除长江、淮河、闽江等大型河流外多为流域面积小、水位落差大、干流长度短、地表径流大的中小型河流, 如曹娥江、甬江、九龙江等。由于处于经济社会发达地区, 水利设施阻隔、水体污染、过度捕捞等因素对河流水生生物特别是鱼类的生境造成了较大的破坏, 生态系统较为脆弱^[1, 2]。物种遗传多样性是指物种内不同群体或同一群体内不同个体的遗传变异总和, 它是生物多样性的的重要组成部分。遗传多样性水平不仅反映了一个物种的进化历史和潜力, 同时也体现了物种对不良生存环境条件的适应和抵抗能力^[3]。开展研究鱼类遗传多样性不仅有助于了解鱼类物种的起源、适应进化历程的遗传基础, 同时也为合理保护和开发利用鱼类资源提供科学依据^[4]。然而, 目前已有的研究对中国东部中小型河流整个水系鱼类的遗

传多样性水平缺乏整体的了解和评估; 同时对于水利工程建设、水体污染、过度捕捞等人为干扰因素对鱼类遗传多样性影响的研究仍多以单一鱼类种类为研究对象, 其影响程度缺乏全面科学的评估。

曹娥江是绍兴市的母亲河, 其自然地理、生物区系组成、遭受的外界环境胁迫等方面在东部中小河流中具有较好的代表性。本研究以曹娥江为例, 分析了来源于不同支流、江段21个种26个群体的代表性鱼类基于线粒体细胞色素**b**基因(Cyt *b*)分子标记的遗传多样性水平, 并对河流鱼类整体的遗传多样性水平进行评估。同时, 本研究进一步探讨水利工程、过度捕捞和水体污染等人为干扰因素对曹娥江鱼类种群遗传多样性水平的影响, 以期更加全面客观的掌握造成目前曹娥江鱼类遗传多样性现状的可能原因, 为曹娥江乃至中国东部沿海河

收稿日期: 2018-12-24; 修订日期: 2019-07-01

基金项目: 绍兴市科技计划项目(2018C20011)资助 [Supported by Science and Technology Planning Project of Shaoxing City (2018C20011)]

作者简介: 任岗(1978—), 男, 浙江绍兴人; 博士; 副教授; 主要研究方向为水生动物资源保护和利用。E-mail: reng@usx.edu.cn

通信作者: 沈文英, E-mail: zoology@usx.edu.cn

流的鱼类资源管理、保护和利用提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究于2018年5—9月选取曹娥江支流的镜岭、黄泽江段,中下游仙岩、三界、上浦江段和河口的滨海共6个地点作为标本采集地(图1),在当地渔民协助下利用流刺网和地笼进行鱼类样品采集。采集的全部鱼类样品活体或冷藏保存带回实验室进行分类鉴定。

1.2 鱼类种类鉴定及样品保存

鱼类样品的物种鉴定参考《浙江动物志:淡水鱼类》、《中国鱼类系统检索》进行^[5,6],其食性类型和对环境的耐受性类型依据参考文献^[6,7]确定。每条鱼样品取背部肌肉用无水乙醇-20℃冷冻保存。每个物种及其不同地理群体尽可能取30—40尾个体。

1.3 组织及DNA提取

剪取80 mg鱼背部肌肉样品采用传统酚—氯仿法提取基因组DNA。

1.4 PCR扩增及测序

以线粒体细胞色素**b**基因(Cyt *b*)作为分子标记,鲤科鱼类Cyt *b*基因的PCR扩增采用通用引物

L14724 和H15915^[8],鲈形目鱼类采用引物AFbL和AFbR^[9]。对花鲢(*Hemibarbus maculatus*)等14种上述引物PCR扩增和测序失败或效果不佳的鱼类根据NCBI数据库中该物种线粒体全基因组序列用Primer Premier 6.0软件^[10]设计引物(表1)。PCR反应体系和扩增程序参考何舜平等^[11]。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后送ThermoFisher公司纯化并双向测序,测序引物为扩增引物。

1.5 序列分析

测序获得的Cyt *b*正反反向序列用ContigExpress软件(版本号Vector NTI Suite 6.0, Invitrogen)进行拼接,同一物种的序列用Clustal X 2.0软件^[12]进行序列比对和校对,并用Mega 7.0软件^[13]计算序列的碱基组成。用DNASP4.10软件^[14]计算多态性位点(S)、单倍型数(N)、单倍型多样性指数(*h*)和核苷酸多样性指数(π)。

1.6 数据分析

曹娥江不同采集江段间、不同环境耐受性类型间的鱼类种群单倍型多样性指数(*h*)和核苷酸多样性指数(π)结果均用“平均值±标准差”表示,结果均用SPSS 20.0软件的单因素方差分析进行组间差异分析,对总体方差差异显著的再用Duncan法进行多重比较,显著差异水平为 $P<0.05$ 。不同食性类型间、曹娥江与中国大型河流间鱼类种群单倍型多样性指数(*h*)和核苷酸多样性指数(π)均用SPSS 20.0软件的*t*检验进行组间差异分析,显著差异水平为 $P<0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 鱼类物种分布

经鉴定共捕获鱼类6目17科57属87种。依据鱼类的分类地位、食性、生活习性和对环境的敏感性等特点及不同采样地点,选取刀鲚(*Coilia nasus*)等代表性鱼类21个种26个群体,分属5目9科属(表2)。

2.2 Cyt *b*基因序列变异特征

通过测序、拼接共获得21个物种26个群体全长1140 bp的Cyt *b*序列638条。Mega 7.0软件分析序列碱基组成表明,所有种类Cyt *b*序列均表现出显著的G碱基偏倚性,A+T含量(平均55%)高于C+G含量(平均45%),符合鱼类线粒体Cyt *b*基因的共有特征^[15]。

2.3 曹娥江鱼类整体遗传多样性水平

单倍型多样性指数(*h*)和核苷酸多样性指数(π)是评价物种遗传多样性的2个重要指标,其数值越大表明该种群的遗传多样性越丰富,对环境改变的适应能力越强,其生存竞争力就越强^[16]。对21种

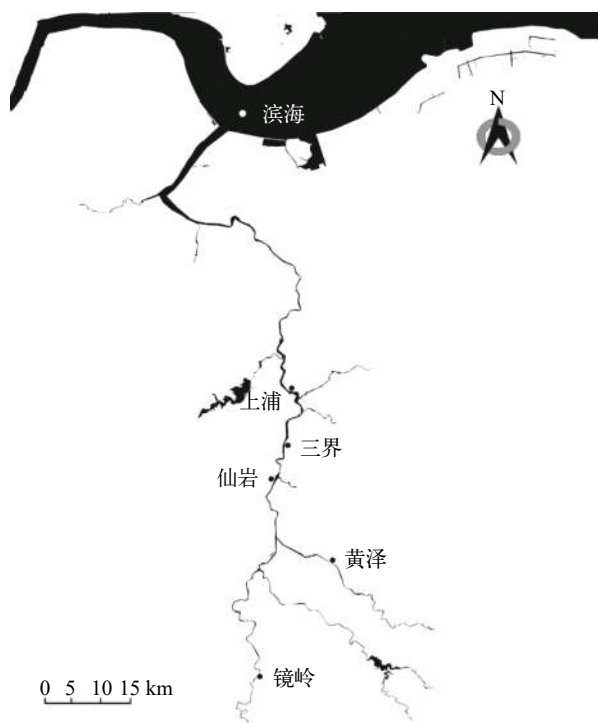


图1 曹娥江流域鱼类采样点(•代表采样点位置)

Fig. 1 Sampling sites of fishes in Cao's River (• represents sampling sites)

鱼的Cyt *b*基因全长序列的单倍型和核苷酸变异数进行分析发现, 多态性位点数(*S*)为1—59, 单倍型数(*N*)为2—21, 单倍型多样性指数(*h*)为0.074—0.987, 核苷酸多样性指数(π)为0.00016—0.01347(表 2)。曹娥江鱼类种群的遗传多样性呈现单倍型多样性指数(*h*)较高而核苷酸多样性指数(π)较低的特征。这与我国东部河流淡水鱼类的种群相对数量大、分布广, 并且总体遗传多样性相对丰富的特征相一致^[17]。

比较不同江段鱼类的遗传多样性指数发现, 从河口、中下游到上游鱼类群体单倍型多样性指数*h*显著降低(表 3, $P < 0.05$), 而核苷酸多样性指数 π 呈逐步增加的趋势。这一结果表明, 曹娥江水系鱼类的有效种群数量从河口到上游逐步降低, 种群变得更不稳定和脆弱^[18]。因此, 在曹娥江鱼类资源的管理和保护工作中, 我们需要通过设立自然保护区、全面禁捕等更多措施来加强上游地区鱼类资源的保护, 增加鱼类种群的数量。

基于多个物种的鱼类遗传多样性分析能够更

好的反应河流鱼类整体的资源状况。然而, 目前对中国东部中小型河流鱼类整体遗传多样性还缺乏相关的研究和评估。本研究选取翘嘴鲌(*Culter alburnus*)、红鳍原鲌(*Chanodichthys erythropterus*)、大眼华鲮(*Sinibrama macrops*)、细鳞斜颌鲴(*Plagiognathops microlepis*)、银鲌(*Squalidus argentatus*)等9种曹娥江鱼类, 将其遗传多样性指数与长江中下游、淮河、珠江等大型河流同一种类的遗传多样性指数进行比较(表 3)。结果发现, 曹娥江鱼类种群的核苷酸多样性指数水平显著低于大型河流鱼类种群($P < 0.05$, 表 3), 表明与大型河流中的鱼类相比, 曹娥江整体的鱼类遗传多样性水平处于中等偏下水平, 其可能受到更大的生存胁迫压力, 正在通过更快的核苷酸序列变异来适应不利的生境^[19]。

2.4 人为干扰因素对曹娥江鱼类遗传多样性的影响

曹娥江等东部中小型河流处于经济社会发达地区, 其生态系统正遭受水利设施阻隔、水质污染、过度捕捞、栖息地破坏等人为干扰因素的巨

表 1 本研究中鱼类线粒体细胞色素*b*基因的PCR扩增引物和PCR产物测序引物信息

Tab. 1 The primers used for PCR and sequencing

引物名称Primers	引物序列Primer sequence (5'—3')	引物适用的物种Species of primers used	用途Usage
CytbF2L14724	GACTTGAAAAACACCGTTG	鲤科通用引物	PCR扩增及测序
CytbR2H15915	CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC	鲤科通用引物	PCR扩增及测序
<i>H. maculatus</i> F	CCCACAACCTAGAGCCACC	花鲢	PCR扩增
<i>H. maculatus</i> R	TTTAACCTCCGATCTTCG	花鲢	PCR扩增
<i>H. maculatus</i> F2	CGCCTTCCACTTCCTGCTC	花鲢	测序
<i>S. macrops</i> F2	CACCCATATTTCTCGTATAAAGACC	大眼华鲮	测序
<i>P. parva</i> F2	CCCGCCAACCCAATAGTCAC	麦穗鱼	测序
<i>S. argentatus</i> F2	CCCATACTTCTCCTATAAAGACCTTC	银鲌	测序
<i>S. nigripinnis</i> F2	CACCCATACTTCTCGTATAAAGACC	黑鳍鲈	测序
<i>X. davidi</i> F2	TTAAACTCCGACGCAGACAA	细鳞斜颌鲴	测序
<i>A. macropterus</i> F1	ACTGAGACCAATGATTTGAAGAACC	大鳍鲃	PCR扩增及测序
<i>A. macropterus</i> R1	CGATCTTCGGGTTACAAGACC	大鳍鲃	PCR扩增及测序
<i>C. sinensis</i> F2	TGGCAAGCCTACGAAAAACAC	中华花鲢	PCR扩增及测序
<i>C. sinensis</i> R2	ATTTAGAATACTGGCTTTGGGAG	中华花鲢	PCR扩增及测序
AFbL	ACCGAGACCAATGACTTGAARAACCACCGTTG	鲈形目通用引物	PCR扩增及测序
AFbR	CTTTGGGAGTTAGGGGTGGGAG	鲈形目通用引物	PCR扩增及测序
<i>O. potamophila</i> F2	TCGCATTCCACTTCCTCTACC	河川沙塘鳢	测序
<i>R. giurinus</i> F1	CCGCCGGTTTACAAGGC	子陵吻虾虎鱼	PCR扩增
<i>R. giurinus</i> R1	GGATTCTAACCAGGACTAATGGC	子陵吻虾虎鱼	PCR扩增
<i>R. giurinus</i> R2	GCAGTAGGGAGGGTTTAACC	子陵吻虾虎鱼	测序
<i>M. aculeatus</i> F1	AACCAGAACCAATGGCTTGA	刺鲃	PCR扩增及测序
<i>M. aculeatus</i> R1	TAGCCTTCGACATTCGACTTAC	刺鲃	PCR扩增及测序
<i>C. lucidus</i> R1	GGCAGGAGGAAGTGAAAGC	棘头梅童鱼	测序
<i>A. parallens</i> F1	ACTGAGACCAATGATTTGAAGAACC	温州光唇鱼	PCR扩增及测序
<i>A. parallens</i> R1	CGATCTTCGGGTTACAAGACC	温州光唇鱼	PCR扩增及测序

表 2 鱼类样品物种、习性、采集地点信息和基于Cyt b基因序列的曹娥江鱼类遗传多样性指数
Tab. 2 The information of fish taxa, habit, sampling locations and the indices of the genetic diversity of fish in Cao'e River based on Cyt b gene

序号 Serial number	分类地位 Taxonomic status		物种名 Species	鱼类习性 Habits of fishes		采集地点 Sampling locations	样本数量 Number of individuals	多态性位点 Number of polymorphic sites	单倍型数 Number of haplotypes	单倍型多样性指数 Haplotype diversity	核苷酸多样性指数 Nucleotide diversity	数据来源 Data sources
	目 Order	科Family		食性 Feeding habits	环境耐受性 Tolerance							
1	鲱形目	鲱科	刀鲚	肉食性	中等耐受型	滨海	29	26	19	0.963	0.00350	本研究
2	鲤形目	鲤科鲃亚科	翘嘴鲃	肉食性	耐受型	上浦、三界	34	30	16	0.900	0.00321	本研究
						上浦、三界	28	11	11	0.807	0.00181	本研究
3			红鳍原鲃	肉食性	耐受型	珠江	176	136	41	0.874	0.00893	参考文献[20]
4			蒙古鲃	肉食性	耐受型	仙岩	25	5	6	0.367	0.00035	本研究
5			大眼华鲃	杂食性	耐受型	仙岩、上浦	30	7	6	0.639	0.00084	本研究
6			细鳞斜颌鲷	杂食性	耐受型	黄泽	26	10	10	0.849	0.00226	本研究
						珠江	148	178	20	0.715	0.00878	参考文献[21]
7			花鲢	肉食性	敏感型	镜岭	27	5	5	0.279	0.00044	本研究
8			麦穗鱼	杂食性	耐受型	淮河	18	111	18	1.000	0.03122	参考文献[22]
9		鲤科鲃亚科	黑鳍鲃	杂食性	敏感型	三界、仙岩	30	47	5	0.453	0.00417	本研究
						镜岭	26	5	6	0.412	0.00052	本研究
10			银鲃	杂食性	耐受型	黄泽	27	43	8	0.602	0.01009	本研究
						黄泽	35	14	12	0.817	0.00184	本研究
11		鲤科鲃亚科	大鳍鲃	杂食性	耐受型	长江等水系	142	-	56	0.971	0.0212	参考文献[23]
						仙岩、上浦	29	15	13	0.884	0.00286	本研究
12			高体鲃	杂食性	敏感型	长江中下游	60	54	37	0.945	0.0041	参考文献[24]
						太湖	22	20	11	0.870	0.00342	参考文献[24]
13			温州光唇鱼	杂食性	敏感型	三界	19	10	7	0.760	0.00384	本研究
14			中华花鲃	杂食性	中等耐受型	黑龙江	14	22	9	0.835	0.00918	参考文献[25]
15			光泽黄颡鱼	肉食性	耐受型	镜岭	29	9	7	0.603	0.00170	本研究
16	鲈形目	狼鲈科	中国花鲈	肉食性	中等耐受型	仙岩	21	5	4	0.700	0.00111	本研究
						黄泽	16	11	11	0.867	0.00213	本研究
17			鳊鱼	肉食性	耐受型	仙岩	18	26	10	0.908	0.00520	本研究
18			棘头梅童鱼	肉食性	中等耐受型	镜岭	11	13	6	0.855	0.00437	本研究
19			河川沙塘鳢	肉食性	中等耐受型	滨海	27	15	8	0.558	0.00145	本研究
20	虾虎鱼科	刺鲃科	子陵吻虾虎鱼	肉食性	耐受型	滨海	25	33	21	0.987	0.00366	本研究
						镜岭	28	30	19	0.881	0.00239	本研究
21			刺鲃	肉食性	中等耐受型	黄泽	38	59	9	0.805	0.01347	参考文献[26]
						鄱阳湖	26	576	24	0.983	0.10679	参考文献[26]
						黄泽	27	3	2	0.074	0.00019	本研究
						黄泽	12	7	4	0.455	0.00115	本研究
						镜岭	11	1	2	0.182	0.00016	本研究
						仙岩	10	18	5	0.844	0.00457	本研究
						江苏	144	38	28	0.588	0.00214	参考文献[27]

大压力。这些人为干扰因素都可能会对曹娥江鱼类的遗传多样性产生重要的影响。

为了探究水利工程曹娥江大坝对鱼类遗传多样性的影响, 本文选取洄游型鱼类刀鲚为研究对象进行河口和内河两个地理群体遗传多样性差异分析。结果表明, 刀鲚内河上浦、三界种群单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数水平($h=0.900$, $\pi=0.00321$)略低于河口滨海种群($h=0.963$, $\pi=0.00350$)。研究表明, 大型水利工程能够阻断鱼类等水生生物的洄游, 阻碍鱼类种群间的基因交流, 从而降低鱼类种群的遗传多样性水平^[28-30]。本研究结果表明, 尽管曹娥江大坝阻碍了刀鲚的洄游, 限制了内河群体数量的补充, 但由于大坝建设时间不长, 同时存在过鱼设施, 因此曹娥江内河刀鲚的种群遗传多样性水平得到了一定程度的维持。此外, 除了曹娥江大坝, 曹娥江干流和支流先后修建了多个拦水大坝、水库等水利设施。水利设施的建设使得河流水体的流速变缓、浮游生物增加, 促使部分植食性和杂食性鱼类数量增加, 而肉食性鱼类数量减少, 进而影响鱼类的遗传多样性水平和结构^[31]。比较曹娥江内河9种杂食性和9种肉食性鱼类之间的Cyt *b* 基因遗传多样性水平发现, 两者的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数均无显著差异(表 3)。这一结果可能与同种食性的鱼类中不同物种对由水利设施引起的生境胁迫压力产生的遗传变异速度不同有关^[32]。

水质条件是鱼类生存的关键因素。为掌握水

质污染对曹娥江鱼类遗传多样性的影响, 本研究对来源于中游三界、上浦和仙岩江段不同环境耐受型鱼类的种群遗传多样性进行了分析。结果表明, 花鲢等敏感型鱼类种群的单倍型多样性指数水平显著低于刺鲃等中等耐受型鱼类(表 4, $P<0.05$)。从20世纪90年代后的近二十年间, 曹娥江中下游水域长期受医药化工、造纸等行业的重金属和持久性有机物等污染物污染, 致使水体环境持续恶化, 对鱼类生存造成了巨大的压力^[33]。本研究结果提示, 曹娥江鱼类特别是敏感型鱼类遗传多样性的下降可能与水质污染引起的种群数量快速减少密切相关。因此, 开展水域水污染治理将对曹娥江鱼类种群数量的维持和遗传多样性的修复具有重要作用。

我们在采样调查中发现曹娥江上游镜岭江段存在不少电捕鱼的违法行为, 可能导致该江段鱼类资源被过度捕捞。为比较过度捕捞对曹娥江鱼类遗传多样性水平的影响, 本研究比较了麦穗鱼、光泽黄颡鱼和刺鲃3种鱼类在上游的镜岭和中游的仙岩两个地点种群间的遗传多样性差异。结果表明, 这3种鱼的镜岭群体的线粒体Cyt *b* 基因单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数均低于仙岩群体(表 3)。研究表明, 过度捕捞可能导致了水域鱼类资源的急剧减少, 促使种群内近交繁殖, 加速群体遗传漂变, 从而使流域内鱼类遗传多样性普遍降低^[34]。因此, 上述结果提示, 过度捕捞可能是导致目前曹娥江上游鱼类种群遗传多样性水平较低的

表 3 基于Cyt *b* 基因序列的曹娥江鱼类不同江段间、曹娥江与中国东部大型河流间鱼类遗传多样性差异比较

Tab. 3 The genetic diversities based on Cyt *b* gene among the fishes from different sections of Cao'e River, and between the fishes from Cao'e River and from the large rivers in East China

类型Types	采集江段Sampling section			曹娥江Cao'e River	大型河流Large rivers
	河口Estuary	中下游 Middle and lower reaches	上游Upstream		
单倍型多样性指数水平 Haplotype diversity	0.847±0.198 ^a	0.726±0.189 ^{ab}	0.567±0.284 ^b	0.765±0.188	0.865±0.137
核苷酸多样性指数水平 Nucleotide diversity	0.00275±0.00103	0.00280±0.00169	0.00319±0.00424	0.00255±0.00137 ^a	0.00798±0.00599 ^b

注: 不同比较组之间的多样性水平显著差异用a、b字母表示($P<0.05$); 下同
Note: The significant different genetic diversity indices were labeled with different letters ($P<0.05$); the same applies below

表 4 基于Cyt *b* 基因序列不同食性类型、环境耐受性类型的曹娥江鱼类遗传多样性差异比较

Tab. 4 The difference of genetic diversity based on Cyt *b* gene in fishes from Cao'e River with different types of food habit, environmental tolerance

类型Types	食性Feeding habits		环境耐受性Tolerance		
	肉食性Predacity	杂食性Omnivory	敏感型Sensitivity	中等耐受型Top tolerance	耐污型Tolerance
单倍型多样性指数水平 Haplotype diversity	0.637±0.283	0.697±0.201	0.643±0.154 ^a	0.838±0.0559 ^b	0.765±0.143 ^{ab}
核苷酸多样性指数水平 Nucleotide diversity	0.00390±0.00417	0.00202±0.00104	0.00221±0.00135	0.00530±0.00546	0.00323±0.00311

重要原因。

3 结论

本研究以中国东部沿海地区中小型河流代表曹娥江为例, 基于线粒体细胞色素**b**基因(Cyt *b*)分子标记对其鱼类的整体遗传多样性进行了系统分析。结果表明, 与长江等大型河流相比, 曹娥江鱼类的整体遗传多样性处于中等偏下水平, 其生物多样性相对较为脆弱。进一步分析人为扰动因素对曹娥江鱼类遗传多样性水平的影响发现, 水体污染、过度捕捞可能是造成目前曹娥江鱼类遗传多样性水平较低的主要原因, 鱼类资源亟需通过水污染控制、全面禁渔和栖息地生态修复等有效措施进行保护。本研究结果将为曹娥江乃至东部中小河流的鱼类资源的管理、保护和开发利用提供了重要的理论依据。

参考文献:

- [1] Shen X Q, Shi Y R, Chao M, *et al.* Analysis of taxonomic diversity of fish community in Yangtze River estuary [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, **34**(4): 1-7. [沈新强, 史赞荣, 晁敏, 等. 长江口鱼类群落分类学多样性变动的分析 [J]. *渔业科学进展*, 2013, **34**(4): 1-7.]
- [2] Lin P C, Liu F, Li M Z, *et al.* Spatial pattern of fish assemblages along the river-reservoir gradient caused by the Three Gorge Reservoir (TGR) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(6): 1124-1134.
- [3] Grant V. The evolutionary process: A critical study of evolutionary theory [M]. New York: Columbia University Press, 1991: 1-487.
- [4] Lan Z J, Li Q, Shu H, *et al.* Genetic diversity and structure of *Spinibarbus hollandi* based on nucleotide sequences of mtDNA cytochrome *b* gene [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2016, **47**(6): 1158-1165. [蓝昭军, 李强, 舒琰, 等. 基于线粒体细胞色素**b**基因的光倒刺鲃遗传多样性与遗传结构研究 [J]. *海洋与湖泊*, 2016, **47**(6): 1158-1165.]
- [5] Chen Q T, Zheng B S. Systematic Synopsis of Chinese Fishes [M]. Beijing: Science Press, 1987: 99-233. [戚庆泰, 郑葆珊. 中国鱼类系统检索 [M]. 北京: 中国科学出版社, 1987: 99-233.]
- [6] Mao J R. Zhejiang Fauna-Freshwater Fish [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 1991: 22-228. [毛节荣. 浙江动物志·淡水鱼类 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1991: 22-228.]
- [7] Chen H W, Zhang M, Liu Z G, *et al.* Assessment on freshwater ecosystem integrity and health in Ganjinag river basin through the fish IBI method [J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2011, **20**(9): 1098-1107. [陈宏文, 张萌, 刘足根, 等. 赣江流域淡水生态系统完整性与健康状态的鱼类F-IBI值评价 [J]. *长江流域资源与环境*, 2011, **20**(9): 1098-1107.]
- [8] Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of *Xenocyprinae* (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, **18**(2): 163-173.
- [9] Zhang Q, Ren G, Qian K C, *et al.* Phylogeny of siniperine fishes based on complete sequences of mitochondrial cytochrome *b* gene [J]. *Ecologic Science*, 2006, **25**(5): 430-436. [章群, 任岗, 钱开诚, 等. 鲃类系统发育的线粒体Cyt**b**基因全序列分析 [J]. *生态科学*, 2006, **25**(5): 430-436.]
- [10] Singh V K, Mangalam A K, Dwivedi S, *et al.* Primer premier: program for design of degenerate primers from a protein sequence [J]. *BioTechniques*, 1998, **24**(2): 318-319.
- [11] He S P, Chen Y Y, Nakajima T. Sequencing and phylogeny of cytochrome *b* gene in lower Cyprinidae fishes from east Asia [J]. *Science Bulletin*, 2000, **45**(21): 2297-2302. [何舜平, 陈宜瑜, T. Nakajima 东亚低等鲤科鱼类细胞色素**b**基因序列测定及系统发育 [J]. *科学通报*, 2000, **45**(21): 2297-2302.]
- [12] Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, *et al.* Clustal W and Clustal X version 2.0 [J]. *Bioinformatics*, 2007, **23**(21): 2947-2948.
- [13] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, **33**(7): 1870-1874.
- [14] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, *et al.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. *Bioinformatics*, 2003, **19**(18): 2496-2497.
- [15] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. *Molecular Biology Evolution*, 1992, **9**(3): 552-569.
- [16] Wang J J, Tong J G, Zhang Y G, *et al.* Study on the genetic diversity of two wild population of *Megalobrama pellegrini* (Teleostei, Cyprinidae) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, **38**(5): 975-979. [王瑾瑾, 童金苟, 张耀光, 等. 厚颌鲂两个野生群体遗传多样性分析 [J]. *水生生物学报*, 2004, **38**(5): 975-979.]
- [17] Grant W, Bowen B. 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.
- [18] Frankham R. Relationship of genetic variation to population size in wildlife [J]. *Conservation Biology*, 1996, **10**(6): 1500-1508.
- [19] 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. [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.]
- [20] Chen D. Analysis of genetic structure in mitochondrial cytochrome *b* of *Coilia ectenes* in Yangtze River [D]. Guangzhou: Jinan University, 2006: 40-43. [陈迪. 长江刀鲚遗传多样性的细胞色素*b*基因序列分析 [D]. 广州: 暨南大学, 2006: 40-43.]
- [21] Yang Z T. Study on genetic structure and genetic diversity of three cultrinae fishes in the pearl river [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016: 58-66. [杨子拓. 珠江流域三种鲮亚科鱼类的遗传结构及遗传多样性分析 [D]. 广州: 华南农业大学, 2016: 58-66.]
- [22] Qiao D L, He X M, Wei C B, *et al.* Genetic variation of mt DNA-Cyt *b* gene in three populations of *Plagiognathops microlepis* [J]. *Journal of Lake Science*, 2011, **23**(5): 813-820. [乔德亮, 何晓梅, 韦传宝, 等. 细鳞斜颌鲷(*Plagiognathops microlepis*)三个群体线粒体Cyt*b*基因的遗传变异 [J]. *湖泊科学*, 2011, **23**(5): 813-820.]
- [23] Liu S Q, Tang Q Y, Li X J, *et al.* Phylogenetic analyses of *Sarcocheilichthys nigripinnis* (Teleostei: Cyprinidae) [J]. *Animal Research*, 2013, **34**(5): 437-445. [刘思情, 唐琼英, 李小娟, 等. 基于线粒体细胞色素*b*基因的黑鳍鲮(*Sarcocheilichthys nigripinnis*)生物地理学过程分析 [J]. *动物学研究*, 2013, **34**(5): 437-445.]
- [24] Yang J Q, Tang W Q, Liao T Y, *et al.* Phylogeographical analysis on *Squalidus argentatus* recapitulates historical landscapes and drainage evolution on the island of Taiwan and mainland China [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, **13**(2): 1405-1425.
- [25] Zhu Y R, Liu H Z. Genetic diversity and biogeographical process of *Acheilognathus macropterus* revealed by sequence variation of mitochondrial cytochrome *b* gene [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(2): 134-140. [朱玉蓉, 刘焕章. 大鳍鱮基于细胞色素*b*基因序列的遗传变异及生物地理过程 [J]. *水生生物学报*, 2006, **30**(2): 134-140.]
- [26] Xu Y, Zhong L Q, Li X X, *et al.* Genetic variation analysis of *Odontobutis potamophila* from five lakes based on Mitochondrial DNA cyt *b* [J]. *Journal of Lake Science*, 2015, **27**(4): 693-699. [徐宇, 钟立强, 李潇轩, 等. 5个湖泊河川沙塘鳢(*Odontobutis potamophila*)种群线粒体细胞色素*b*基因的遗传变异分析 [J]. *湖泊科学*, 2015, **27**(4): 693-699.]
- [27] Zhao Z M, Ye J S, Liu M J, *et al.* Genetic diversity of spiny eel (*Mastacembelus sinensis*) from five lakes based on Mitochondrial DNA cyt *b* gene [J]. *Journal of Lake Science*, 2016, **28**(5): 1031-1038. [赵子明, 叶建生, 刘美剑, 等. 五个湖泊中华刺鲃(*Mastacembelus sinensis*)种群线粒体细胞色素*b*遗传多样性分析 [J]. *湖泊科学*, 2016, **28**(5): 1031-1038.]
- [28] Zhu Y. Commentary on dam influence on fish habitat and evaluation on assessment method [J]. *Journal of China Institute of Water Resources and Hydropower Research*, 2005, **3**(2): 100-103. [朱瑶. 大坝对鱼类栖息地的影响及评价方法述评 [J]. *中国水利水电科学研究院学报*, 2005, **3**(2): 100-103.]
- [29] Yi Y J, Wang Z Y. Impact from dam construction on migration fishes in Yangtze River Basin [J]. *Water Resources and Hydropower Engineering*, 2009, **40**(1): 29-33. [易雨君, 王兆印. 大坝对长江流域洄游鱼类的影响 [J]. *水利水电技术*, 2009, **40**(1): 29-33.]
- [30] Zhang D Y. Influence of water conservancy and hydropower engineering on fish and protection measures [J]. *Water Resource Protection*, 2011, **27**(5): 75-77. [张东亚. 水利水电工程对鱼类的影响及保护措施 [J]. *水资源保护*, 2011, **27**(5): 75-77.]
- [31] Li J Y. Studies on the characteristics of physical environment and fish spatiotemporal distribution in downstream reaches near to the Gezhouba Dam, Yangtze River [D]. Chongqing: Southwest University, 2017: 58-60. [李君轶. 葛洲坝下近坝江段物理环境与鱼类时空分布特征的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2017: 58-60.]
- [32] Laura G, Giacomo B, Gilles L, *et al.* Long-term effects of flow regulation by dams simplify fish functional diversity [J]. *Freshwater Biology*, 2018(63): 293-305.
- [33] Dou Y J, Yang W. Effect of water resource projects along Caoe River Basin on ecological environments [J]. *Advance in Water Science*, 1996, **7**(3): 77-84. [窦贻俭, 杨戊. 曹娥江流域水利工程对生态环境影响的研究 [J]. *水科学进展*, 1996, **7**(3): 77-84.]
- [34] Pinsky M L, Palumbi S R. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations [J]. *Molecular Ecology*, 2014, **23**(1): 29-39.

EVALUATION OF GENERAL GENETIC DIVERSITY OF FISHES FROM MIDDLE AND SMALL RIVERS ON THE EAST CHINA—— TAKING CAO'E RIVER AS AN EXAMPLE

REN Gang¹, XUAN Xin-Ling¹, XIE Ya-Ting¹, LI Bi-Ying¹, CHEN Min², CAI Ya-Jun² and SHEN Wen-Ying¹

(1. College of Life Science, Shaoxing University, Shaoxing 312000, China; 2. Enforcement of Water and Fishery Administration of Shaoxing, Shaoxing 312000, China)

Abstract: The genetic diversity of fish is seriously inferred from human disturbance factors such as water pollution and habitat destruction. Recent studies on the genetic diversity of fishes in small and medium-sized rivers in eastern China have focused on simple species, but there has been less comprehensive evaluation of fish genetic diversity and its causes. In this study, Cao'e River was selected as the representation of middle and small rivers in East China to evaluate the general genetic diversities of its fishes using mitochondrial cytochrome *b* gene (Cyt *b*). The results showed that the haplotype diversity indices of Cyt *b* from the 21 species and 26 population were ranged from 0.074 to 0.987, and their nucleotide diversity indices were ranged from 0.00019 to 0.00520. The genetic diversities among different species were large. Comparing the genetic diversities of fishes in different sections of Cao's River, the haplotype diversity indices of fishes decreased gradually from the estuary to upstream ($P<0.05$). The haplotype diversity indices in species populations from Cao'e River were significantly lower than that of same species from large rivers such as the Yangtze River and Yellow River ($P<0.05$). The haplotype diversity indices of sensitive fishes were significantly lower than those of middle tolerance fishes ($P<0.05$). Both the haplotype diversity indices and nucleotide diversity indices of three species, *Pseudorasbora parva*, *Pelteobagrus nitidus* and *Mastacembelus aculeatus*, in the populations from the upstream sampling site of Jinling were lower than those in the populations of same species from the sampling site of middle and lower reaches, Xianyan. This result implied that the overall genetic diversities of fishes from Cao'e River lied in middle or even low level, and that water pollution and overfishing might be the mainly reasons to reduce the genetic level of Cao'e River. In summary, our results provided an important theoretical basis for the management, protection, exploitation and utilization of fish resource of Cao'e River, and even of the middle and small rivers in East China.

Key words: Cao'e River; Genetic diversity; General evaluation; Artificial interference factors; Mitochondrial cytochrome *b*