· 生物多样性和生态文化 ·
DOI：10.15886/j.cnki.rdswxb.20230112

主持人：任明迅

保亭近腹吸鳅遗传多样性及保护建议

邓树庆[1,2]，蔡杏伟[1,4]，王　韩[3]，符成慧[3]，张清凤[1,4]，
申志新[1,4]，李高俊[1,4]，李芳远[1,4]

（1. 海南省海洋与渔业科学院，海口 571126; 2. 长江文明馆（武汉自然博物馆），武汉 430010; 3. 海南热带雨林国家公园管理局 鹦哥岭分局，海南 白沙 572800; 4. 海南淡水生物资源及生态环境保护研究中心，海口 571126）

摘　要：为了提供保亭近腹吸鳅（*Plesiomyzon baotingensis*）遗传多样性现状与种质资源保护相关实验数据，采集海南省保亭八村、鹦哥岭、琼中、红军潭和崩岭等5个地理群体共计103尾保亭近腹吸鳅，基于线粒体*Cytb*基因序列开展遗传多样性分析，结果在1 047 bp的*Cytb*序列中共检测出58个变异位点和11个单倍型，呈现较高的单倍型多样性（h=0. 815）和较高的核苷酸多样性（π=0. 024 71）。AMOVA分析显示，保亭近腹吸鳅的大多数遗传差异来自群体间（77. 86%）；5个群体间的F_{st}值为0. 779（$P < 0. 01$），种群间的遗传距离0. 000 3~ 0. 046 4，其中八村和红军潭群体间遗传距离最大（0. 046 4），鹦哥岭和琼中群体遗传距离最小（0. 000 3）。中性检验结果显示鹦哥岭群体的Fu’s *Fs*值为负值（$P < 0. 05$），表明鹦哥岭群体可能经历了种群扩张事件。研究发现保亭近腹吸鳅群体核苷酸多样性低，表明其对环境变化的适应能力低；系统发育进化树结果表明，保亭近腹吸鳅的5个地理种群形成了2个谱系。为了更好地保护保亭近腹吸鳅野生资源和遗传结构，建议应重点关注保亭近腹吸鳅的2个线粒体DNA谱系分支。此外，崩岭地理种群在2个遗传谱系中均有分布，且在5个地理种群中含有的单倍型和特有单倍型数量均最多，建议应加大崩岭地区的保护力度。

关键词：保亭近腹吸鳅；线粒体DNA；*Cytb*基因；遗传多样性

中图分类号：S931　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674-7054（2024）04-0419-08

邓树庆，蔡杏伟，王韩，等. 保亭近腹吸鳅遗传多样性及保护建议 [J]. 热带生物学报，2024，15(4)：420-427. doi：10.15886/j.cnki.rdswxb.20230112

保亭近腹吸鳅（*Plesiomyzon baotingensis* Zheng et Chen 1980）隶属于鲤形目（Cypriniformes）腹吸鳅科（Gastromyzontidae）近腹吸鳅属（*Plesiomyzon*），是该属的唯一种类，为海南岛特有种，分布于海南岛万泉河、陵水河和昌化江水系上游的山涧溪流[1]。20世纪初，海南省从马来西亚引进了第一批橡胶苗，随后进行了大面积推广种植[2]，使得橡胶树成为热带雨林分布的人工林生态系统中唯一优势种，造成溪流沿岸森林群落结构单一化，植被水分涵养能力下降，沿岸带水土流失严重，溪流水文特征和水环境发生变化。保亭近腹吸鳅作为典型的溪流鱼类，溪流的水文特征和水环境变化的直接影响其生存，可作为环境监测的指示物种；同时，保亭近腹吸鳅是腹吸鳅科鱼类中较为原始的类群[3]，有严格的栖息地要求，迁移能力较弱，是研究物种起源、扩散、地理分布和进化的重要实验材料。保亭近腹吸鳅身体修长，背鳍前端的体型呈圆筒形，背鳍后呈侧扁形，体侧和背面颜色呈棕黄色，镶嵌着不规则的黑斑，背鳍和尾鳍具有黑色条纹，具有较高的观赏价值，深受鱼类爱好者和水族市场喜爱。近年来，江河污染、过度捕捞、外来物种入侵和栖息地被破坏等对保亭近腹吸鳅资源造成了严重影响[4]，在2021年被列为易危物种（VU）[5]，但其目前的资源状况尚不够清晰。

收稿日期：2023－09－17　　**修回日期：**2023－11－26
基金项目：海南省科技厅重点研发项目（ZDYF2023HFZ132）；海南省自然科学基金项目（320RC748）
第一作者：邓树庆（1992-），女，博士。研究方向：鱼类分类。E-mail：782236149@qq.com
通信作者：蔡杏伟（1989-），男，副研究员。研究方向：鱼类生态学。E-mail：Caixw618@163.com

遗传多样性(Genetic diversity)又称为基因多样性(Genes diversity),是生物多样性的重要组成部分,也是评估生物资源现状的重要参数[6-7]。广义的遗传多样性指的是地球上全部生物携带遗传信息的总和;狭义的遗传多样性指的是生物种群间或种群内存在遗传变异的总和[8]。本研究所述的遗传多样性指的是狭义的遗传多样性。遗传多样性越高的生物,遗传变异就越丰富,表示其对环境的适应能力越强[9-10];遗传多样性较低的生物,一旦有效种群数量较小,瓶颈效应和近交衰退将会加速种群遗传分化的进程[11],如一些濒危物种受生境退化、过度捕捞等影响,其遗传多样性会持续降低,最终可能灭绝。因此,对遗传多样性的研究可以揭示物种或种群发展趋势。目前对保亭近腹吸鳅的研究甚少,有关保亭近腹吸鳅遗传多样性的研究至今未见报道。线粒体细胞色素b(*Cytb*)基因作为蛋白质编码基因,进化速率适中,易于扩增和测序,能敏锐地检测出潜在的种群遗传分化问题,被广泛应用于鱼类群体遗传多样性研究[12-14]。本研究首次基于海南省境内保亭近腹吸鳅5个地理种群的线粒体*Cytb*基因序列,分析不同地理种群的遗传多样性和遗传结构,以期为今后其种质的资源保护和管理提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料 2019年9月至2020年6月,在海南省5个采样点2019年9月至2020年6月,在海南省5个采样点共采集保亭近腹吸鳅标本103尾,其中八村34尾,鹦哥岭13尾,琼中9尾,红军潭25尾,崩岭22尾(见表1)。共采集保亭近腹吸鳅标本103尾,其中八村34尾,鹦哥岭13尾,琼中9尾,红军潭25尾,崩岭22尾。剪取标本右侧腹鳍,经过无水乙醇脱水后保存于75%的乙醇溶液。用于分子生物学实验的样品保存于海南省海洋与渔业科学院的鱼类标本馆。

表1 保亭近腹吸鳅鱼类样本采集信息

Tab. 1 Collecting information of *Plesiomyzon baotingensis* samples

采样点	采样日期	采样数目/尾	经度	纬度	河流水系
八村BC	2020-04-26	34	109°44′ 17″	18°45′ 14″	陵水河上游
鹦哥岭YGL	2020-05-19	13	109°34′ 21″	19°1′ 54″	昌化江
琼中QZ	2020-06-21	9	109°48′ 49″	19°2′ 9″	万泉河
红军潭HJT	2019-09-26	25	110°19′ 17″	19°14′ 59″	万泉河
崩岭BL	2020-06-21	22	109°48′ 51″	18°45′ 58″	万泉河

1.2 DNA提取及PCR扩增 本研究使用康为试剂盒提取鳍条组织的总DNA。使用通用引物扩增*Cytb*基因序列,通用引物名称为L14724和H15915(L14724: GACTTGAAAAACCACCGTTG; H15915: TCCGATCTCCGGATTACAAGAC)[13]。PCR反应体系的总体积为50 ul,反应条件:94 ℃预变性3 min;94 ℃变性30 s,60 ℃退火30 s,72 ℃延伸1 min,共运行35个循环;72 ℃延伸10 min后保存于4 ℃冰箱。PCR产物由青岛华大基因研究院完成纯化和双向测序。

1.3 数据分析 使用Seqman软件拼接和手工校正序列[16]。本研究共分析了104尾保亭近腹吸鳅的基因序列,其中103条来自本研究,剩下1条序列下载自GenBank(序列号:KF732713)。使用DnaSP 5.0软件统计单倍型多样性、单倍型数目和核苷酸多样性以及核酸错配分析曲线[17]。使用Arlequin 3.5软件进行群体分子变异分析(AMOVA)、Tajima's *D*检验和Fu's *Fs*检验[18];使用MEGA 7.0软件统计序列各碱基的含量和变异情况,并基于p-distance模型(1000 bootstrap)计算群体间和群体内的遗传距离[19]。选取思凡腹吸鳅*Sewellia lineolata*(序列号:AP011292)作为外类群[20],使用最大似然法(Maximum likelihood,ML)构建系统发育进化树,各节点支持率选取Bootstrap 10 000次重复检验置信度。

2 结果与分析

2.1 保亭近腹吸鳅mtDNA序列分析 用于分析的*Cytb*基因序列长度为1 047 bp。103条序列中腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和胞嘧啶(C)碱基含量分别为25.7%、15.0%、29.0%和30.3%,A+T含量为54.7%,C+G含量为45.3%,表现出A+T

偏好性;存在58个变异位点,包括3个单核苷酸变异位点和55个简约信息位点。

使用DnaSp V5对保亭近腹吸鳅5个群体103个个体mtDNA *Cytb*进行遗传多样性分析,共检测出11个单倍型(表2),整体单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数分别为0.815±0.018和0.024 71±0.010 64。5个保亭近腹吸鳅种群单倍型多样性指数在0.295 ~ 0.615(表3),核苷酸多样性指数在0.000 37 ~ 0.021 88,各种群单倍型多样性指数与核苷酸多样性指数表现呈正相关。

表2　保亭近腹吸鳅*Cytb*基因单倍型及其在群体中的分布

Tab. 2　Haplotypes of *Cytb* gene and their distributions in *P. baotingensis* population

单倍型	不同地点分布个体数/尾					总群体/尾
	八村BC	鹦哥岭YGL	琼中QZ	红军潭HJT	崩岭BL	
Hap 1	19					19
Hap 2	15					15
Hap 3		11	7	12	2	32
Hap 4		1	2			3
Hap 5		1				1
Hap 6				11	5	16
Hap 7				1		1
Hap 8				1		1
Hap 9					13	13
Hap 10					1	1
Hap 11					1	1
总计/尾	34	13	9	25	22	103

表3　保亭近腹吸鳅各群体遗传多样性及其在谱系1和谱系2中的个体数

Tab. 3　Genetic diversity of *P. baotingensis* for diferent popolations and the number of individuals in lineage 1 and lineage 2

种群	样本数/尾	单倍型数量	单倍型多样性	核苷酸多样性	谱系1中个体数(百分比)	谱系2中个体数(百分比)
八村BC	34	2	0.508	0.002 43	34 (69.39%)	0
鹦哥岭YGL	13	3	0.295	0.000 29	0	13 (24.07%)
琼中QZ	9	2	0.389	0.000 37	0	9 (16.67%)
红军潭HJT	25	4	0.597	0.004 45	0	25 (46.30%)
崩岭BL	22	5	0.615	0.021 88	15 (30.61%)	7 (12.96%)
合计	103	11	0.815	0.024 71	49 (100%)	54 (100%)

2.2　保亭近腹吸鳅不同群体的遗传距离和遗传分化分析　在MEGA 6.0中,基于p-distance模型计算5个保亭近腹吸鳅种群间和种群内的遗传距离,结果表明:种群间遗传距离为0.000 3 ~ 0.046 4(表4),八村与红军潭群体遗传距离最远(0.046 4),鹦哥岭和琼中群体遗传距离最近(0.000 3);组内遗传距离为0.000 3 ~ 0.021 9,崩岭群体组内遗传距离最大(0.021 9),琼中群体组内遗传距离最小(0.000 3)。分子变异方差分析(AMOVA)结果表明,变异贡献率主要来自群体间(77.86%),群体内变异贡献率为22.14%(表5)。所有群体间的F_{st}值为0.779($P < 0.01$),表明群体间有明显的遗传结构。群体间两两之间的F_{st}分析结果(表4)表明,除了鹦哥岭群体与琼中群体遗传分化值不显著($F_{st} = -0.014\ 8$, $P > 0.05$),其他群体间均达到高度遗传分化水平($F_{st} > 0.25$, $P < 0.05$)。

表4 保亭近腹吸鳅群体间遗传分化系数(F_{st}，对角线下方)和遗传距离(对角线上方)以及群体内的遗传距离(对角线)

Tab. 4 Fixation index among populations (F_{st}, below diagonal), pairwise genetic distance (above diagonal) and genetic distance within population (diagonal) of *P. baotingensis*

种群	八村 BC	鹦哥岭 YGL	琼中 QZ	红军潭 HJT	崩岭 BL
八村 BC	0.002 4	0.045 4	0.045 2	0.046 4	0.016 5
鹦哥岭 YGL	0.959 5*	0.000 3	0.000 3	0.004 2	0.032 7
琼中 QZ	0.955 7*	−0.014 8	0.000 4	0.004 3	0.032 6
红军潭 HJT	0.929 1*	0.362 8*	0.331 5*	0.004 5	0.033 0
崩岭 BL	0.311 4*	0.602 4*	0.565 0*	0.612 8*	0.021 9

注:*表示差异显著($P < 0.05$)。

表5 基于*Cytb*基因的AMOVA分析

Tab. 5 The analysis of Amova based on *Cytb* gene

变异来源	自由度	平方和	方差成分	变异比例	遗传分化指数 F_{st}
群体间	4	977.794	12.265 37 Va	77.86	
群体内部	98	341.779	3.487 54 Vb	22.14	
总计	102	1 319.573	15.752 91		0.779 ($P < 0.01$)

2.3 保亭近腹吸鳅不同群体的系统发育关系 基于*Cytb*基因构建ML系统发育树(图1)显示,保亭近腹吸鳅不同地理群体按照一定规律散布在系统发育进化树上,形成了2个明显的系统发育谱系(谱系1和谱系2)。谱系1包含八村和崩岭地理种群;谱系2鹦哥岭、琼中、红军潭和崩岭等地理种群。崩岭地理种群大部分的个体聚集在谱系1中。琼中、崩岭和红军潭样点属于万泉河水系;八村样点属于陵水

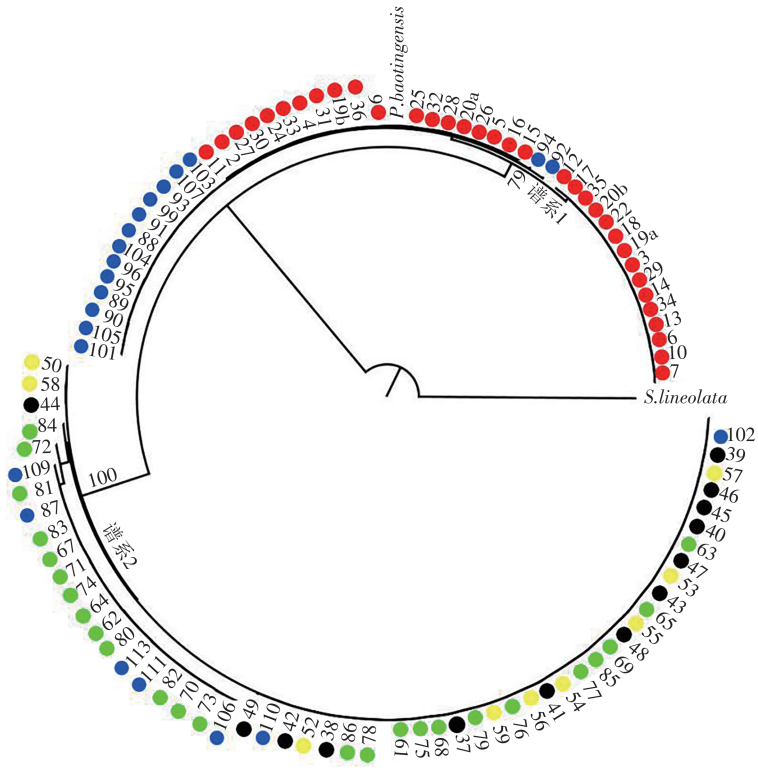

图1 基于*Cytb*基因构建保亭近腹吸鳅ML系统发育树

Fig. 1 Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree based on *Cytb* gene of *Plesiomyzon baotingensis*

河水系，与万泉河水系的崩岭距离较近，均为河流的源头；鹦哥岭属于昌化江水系上游支流，而昌化江和万泉河南源分别发源于五指山北麓和东麓。

2.4　保亭近腹吸鳅种群历史动态分析　通过 Tajima's *D* 和 Fu's *Fs* 检测及核酸错配分布对保亭近腹吸鳅群体进行中性检测，结果表明，仅鹦哥岭群体的 Tajima's *D* 和 Fu's *Fs* 值均为负值，其他地理种群的 Tajima's *D* 和 Fu's *Fs* 值均为正值。把 5 个保亭近腹吸鳅群体作为一个整体进行中性检验的分析，结果表明，总群体 Tajima's *D*（Tajima's *D*= 1.337 78，*P* > 0.05）和 Fu's *Fs* 值（Fu's *Fs*=6.002 61，*P* > 0.05）结果均为正值（表 6），核酸错配分布未呈现单峰"泊松分布"（图 2）。

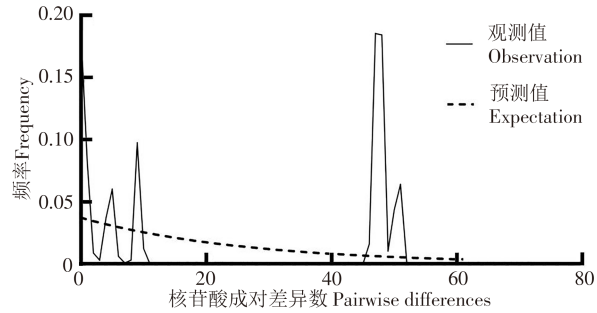

图 2　保亭近腹吸鳅核酸错配分布

Fig. 2　Nucleotide mismatch of *P. baotingensis*

表 6　保亭近腹吸鳅 5 个群体中性检验

Tab. 6　The Neutrality tests of 5 different geographical populations of *P. baotingensis*

中性检验	八村 BC	鹦哥岭 YGL	琼中 QZ	红军潭 HJT	崩岭 BL	总体 Total
Tajima's D	2.848 14	−1.468 01	0.156 47	3.098 83	2.053 47	1.337 78
Tajima's D *P*-value	0.998	0.058	0.742	1.000	0.950	0.750
Fu's FS	7.767 84	−1.401 5	0.477 44	6.053 33	17.115 97	6.002 61
Fu's FS *P*-value	0.997	0.021	0.427	0.986	1.000	0.682

3　讨　论

3.1　保亭近腹吸鳅 *Cytb* 基因序列分析和各地理群体遗传多样性分析　遗传多样性是物种长期生存和进化的前提，与物种繁衍、疾病抵抗及适应生活环境息息相关，研究物种遗传多样性在评估物种资源现状、制定野生种群保护策略及养殖品种的遗传改良等方面发挥着重要作用[21−23]。评估群体遗传多样性的指标有单倍型多样性指数和核酸多样性指数。本研究在 103 个保亭近腹吸鳅样品中检测出单倍型 11 个，整体单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数分别为 0.815 和 0.024 71，比一些腹吸鳅科鱼类的遗传多样性低，如东江水系的平舟原缨口鳅的单倍型多样性和核苷酸多样性分别是 0.971 和 0.048[24]。依据 Grant 等[25]提出的 h= 0.5，π= 0.005 阈值，本研究中保亭近腹吸鳅整体单倍型多样性指数（0.815）和核苷酸多样性指数（0.024 71）分别处于 ≥ 0.5、≥ 0.5% 的水平，即表现为"高单倍型多样性和高核苷酸多样性"水平；八村群体（h=0.508，π=0.002 43）和红军潭群体（h= 0.597，π=0.004 45）均表现为"高单倍型多样性和低核苷酸多样性"水平。俞丹等[8]的研究发现墨脱裂腹鱼呈现"高单倍型多样性和低核苷酸多样性"模式，推测这可能是墨脱裂腹鱼种群经历瓶颈效应后发生快速扩张，种群在扩张过程中积累的遗传变异会增加其单倍型多样性，此时核苷酸多样性仍处于较低水平，也可能是种群进化历史较短造成的。Tajima's *D* 和 Fu's *Fs* 检测及核酸错配分布的结果表明保亭近腹吸鳅群体近期没有经历种群扩张事件，因此，推测八村和红军潭群体呈现"高单倍型多样性和低核苷酸多样性"模式的原因是种群进化历史较短造成的。鹦哥岭地理种群的单倍型多样性指数（0.295）和核苷酸多样性指数（0.000 29）均小于 0.5%，表现为"低单倍型多样性和低核苷酸多样性"，推测可能是该地理种群进化历史较短且经历瓶颈效应后发生快速扩张等原因造成的。

3.2　保亭近腹吸鳅群体遗传距离及遗传分化　群体间的遗传距离是分类的一个重要依据。就淡水鱼类而言，种间序列差异的阈值为 0.02[26]。本研究结果表明群体间遗传距离在 0.000 3−0.046 4，八村与红军潭群体遗传距离最大（0.046 4）；组内遗传距离在 0.000 3 ~ 0.021 9，崩岭群体组内遗传距离最大（0.021 9）。尽管群体间的遗传距离和群体内

的遗传距离均有超过0.02的阈值，但是这些群体间并未发现有其他形态学上的差异。芦丽[24]在研究平舟原缨口鳅种群遗传变异中发现，沅江和赣江种群与其余12条水系种群间遗传距离大于0.08，其中赣江水系和北江水系种群遗传距离达到0.095。Shaklee等[27]提出按照遗传距离对鱼类属、种和种群进行界定，阈值分别为0.9、0.3和0.05，本研究中保亭近腹吸鳅的种群内和种群间的遗传距离均未超过种群的阈值（0.05）。遗传分化系数是反映亚群体间遗传分化的重要指标。群体的遗传分化由群体内的遗传漂变和种群间的基因交流决定，而地理隔离能阻隔群体间基因交流，造成群体间出现遗传分化，同时生境异质性和自然选择作用也会影响种群结构[23]。Wright[28]提出依据F_{st}值把种群的分化程度划分为不存在分化（0 ~ 0.05）、中度分化（0.05 ~ 0.15）和高度分化（0.15 ~ 0.25）。在本研究中的5个保亭近腹吸鳅地理种群中，除了鹦哥岭和琼中种群间不存在分化（F_{st}=−0.014 8），其他地理种群间存在高度分化。AMOVA结果表明，保亭近腹吸鳅的大多数遗传变异来自群体间的变异，且存在显著差异（$P < 0.05$）。因此，保亭近腹吸鳅各地理种群之间存在遗传分化，缺少基因交流。造成保亭近腹吸鳅地理群体间遗传分化显著的主要原因一方面归结于保亭近腹吸鳅生活史特征：保亭近腹吸鳅为营溪流鱼类，常见于山涧溪流的源头，喜居的水体平均流速为0.1 ~ 0.4 m·s^{-1}[1]，吸附于砾石上以刮食藻类和流水中有机碎屑为食，无法适应宽广的河面。此外，琼中、崩岭和红军潭属于万泉河水系；八村样点属于陵水河水系，与万泉河水系的崩岭距离较近，均为河流的源头；鹦哥岭属于昌化江水系上游支流，而昌化江和万泉河南源分别发源于五指山北麓和东麓。系统发育树显示万泉河水系在2个谱系中均有，其中，崩岭样点与陵水河上游八村样点地理位置较近，可能历史上存在河流袭夺，八村部分种群扩散至昌化江水系；系统发育树显示琼中与鹦哥岭聚为1个谱系，这2个样点分别处于昌化江和万泉河的上游，推测历史上可能出现河流袭夺导致万泉河种群扩散至昌化江。此后，不同河流水系之间存在地理隔离，长期的地理隔离造成了生殖隔离，进而不同地理种群间发生分化。

3.3 保亭近腹吸鳅种群保护 保亭近腹吸鳅是海南省特有的土著鱼种，是各支流水生生态系统的重要组成部分，对维系整个生态系统结构完整起着重要作用。本研究结果显示保亭近腹吸鳅5个地理种群的单倍型数量较少，整体遗传多样性较低，表明保亭近腹吸鳅对环境适应能力较弱，容易受外界环境变化等因素影响。八村、鹦哥岭、琼中、红军潭、崩岭等地理种群含有单倍型数量分别是2、3、2、4、5。除了琼中种群外，其他地理种群均含有特有单倍型，其中崩岭地理种群含有的特有单倍型数量最多（3个）。因此，为了防止遗传资源丧失，建议在遗传资源保护管理中对昌化江、陵水河和万泉河鱼类资源加强保护。Moritz[29]提出独立的进化显著单元（ESU）的概念，将其定义为有显著遗传分化且在线粒体基因组及核基因组上是单系的群体。研究人员基于长江江豚的群体重测序分析，确定了长江江豚与黄海江豚有不同的进化谱系，把这2个亚种的分类地位提升至种[30]，长江江豚由国家二级保护野生动物变更为国家一级保护野生动物。本研究的系统发育树结果显示保亭近腹吸鳅的5个地理种群形成了2个不同的进化谱系。因此，为了更好地保护保亭近腹吸鳅野生资源，应给予2个线粒体DNA谱系分特别关注，后续可在增加该物种的生物学特征和核基因多样性等数据的基础上，综合分析后确立其进化显著单元（Evolutionarily Significant Units，ESUs）和管理单元（Management Units，MUs）等保护单元。崩岭地理种群在2个谱系中均有分布，且在5个地理种群中含有的单倍型和特有单倍型数量均最多，建议应加强崩岭地区的保护力度。

目前，扩增片段长度多态性、单核苷酸多态位点、微卫星、线粒体基因、简化基因组等分子遗传标记常常用于评估鱼类遗传多样性、系统发育和进化方面的研究[31]。由于不同分子遗传标记通常从不同角度和层面去挖掘遗传信息，选取多个分子遗传标记往往能更充分和准确地揭示鱼类遗传多样性与系统发育特征[32-34]。本研究利用线粒体DNA初步评估了保亭近腹吸鳅遗传多样性现状，今后将使用多种遗传标记深入研究保亭近腹吸鳅遗传多样性和腹吸鳅科鱼类系统进化，旨在为保亭近腹吸鳅种质资源保护提供重要理论依据。

参考文献：

[1] 蔡杏伟, 王裕旭, 吴善宇. 保亭近原吸鳅 [J]. 生物资源,

2019, 41(6): 562.
[2] 王群, 李东海, 杨小波, 等. 海南霸王岭橡胶林林下植物多样性特征研究 [J]. 林业资源管理, 2022(5): 76-83.
[3] 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.
[4] 申志新, 李高俊, 蔡杏伟, 等. 海南省淡水野生鱼类多样性演变及保护建议 [J]. 中国水产, 2018(11): 56-60.
[5] 张鹗, 曹文宣. 中国生物多样性红色名录: 脊椎动物: 淡水鱼类 [M]. 北京: 科学出版社, 2021.
[6] 李文静, 王环珊, 刘焕章, 等. 赤水河半鳌的遗传多样性和种群历史动态分析 [J]. 水生生物学报, 2018, 42(1): 106-113.
[7] 夏聪, 张雨阳, 戴逢斌, 等. 长江干流水系鲢遗传多样性现状及成因分析 [J]. 中国水产科学, 2022, 29(11): 1612-1624.
[8] 俞丹, 张智, 张健, 等. 基于 *Cyt b* 基因的雅鲁藏布江下游墨脱江段及察隅河墨脱裂腹鱼的遗传多样性及种群历史动态分析 [J]. 水生生物学报, 2019, 43(5): 923-930.
[9] 任海, 王俊, 陆宏芳 . 恢复生态学的理论与研究进展 [J]. 生态学报, 2014, 34(15): 4117-4124.
[10] 彭敏, 韩耀全, 王大鹏, 等. 基于线粒体 *Cytb* 基因序列的西江流域广西境内卷口鱼遗传多样性分析 [J]. 南方水产科学, 2020, 16(5): 10-18.
[11] ZATTARA E E, PREMOLI A C. Genetic structuring in Andean landlocked populations of *Galaxias maculatus*: effects of biogeographic history [J]. Journal of Biogeography, 2005, 32(1): 5-14.
[12] 李小兵, 唐琼英, 俞丹, 等. 基于线粒体细胞色素 b 基因序列探讨长江流域斑点蛇种群遗传结构和地理分化 [J]. 四川动物, 2018, 37(3): 251-259.
[13] 李大命, 唐晟凯, 刘燕山, 等. 基于 *Cytb* 基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(3): 416-425.
[14] 高嘉昕, 俞丹, 刘焕章. 基于 cyt b 基因的长江中上游大鳞马口鱼遗传多样性及谱系生物地理学过程分析 [J]. 四川动物, 2021, 40(4): 361-373.
[15] 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.
[16] BURLAND T G. DNASTAR′s Lasergene sequence analysis software [J]. Methods in Molecular Biology, 2000, 132: 71-91.
[17] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
[18] 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.
[19] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
[20] SHI L X, ZHANG C, WANG Y P, et al. Evolutionary relationships of two balitorids (Cypriniformes, Balitoridae) revealed by comparative mitogenomics [J]. Zoologica Scripta, 2018, 47(3): 300-310.
[21] 施立明 . 遗传多样性及其保存 [J]. 生物科学信息, 1990, 2(4): 158-164.
[22] 单斌斌, 宋娜, 刘淑德, 等. 基于线粒体 COI 基因序列的金乌贼群体遗传学研究 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2017, 47(5): 50-56.
[23] 岳丽佳, 熊良伟, 王帅兵, 等. 基于线粒体 Cytb 序列的 3 个宽体金线蛭群体遗传多样性分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(1): 9-16.
[24] 芦丽. 平舟原缨口鳅和海南原缨口鳅的遗传变异和地理分化 [D]. 广州: 华南师范大学, 2012.
[25] 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.
[26] WARD R D, WOODWARK M, SKIBINSKI D O F. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes [J]. Journal of Fish Biology, 1994, 44(2): 213-232.
[27] 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.
[28] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations: Variability within and among populations V. 4 [M]. Chicago:University of Chicago Press, 1978.
[29] MORITZ C. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation [J]. Trends in Ecology & Evolution, 1994, 9(10): 373-375.
[30] ZHOU X, GUANG X, SUN D, et al. Population genomics of finless porpoises reveal an incipient cetacean species adapted to freshwater [J]. Nature Communications, 2018, 9: 1276.
[31] 谭鑫鑫, 李明. 从保护遗传学到保护基因组学 [J]. 安徽大学学报(自然科学版), 2018, 42(6): 22-28.
[32] MARIE-STEPHANE T, MIREILLE O, SERGE K. An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) [J]. Zoologica Scripta, 2012, 41(1): 68-78.
[33] 吴俊颉, 李光华, 金方彭, 等. 基于线粒体 D-loop 区的抚仙湖鳡浪白鱼遗传多样性分析 [J]. 水生生物学报, 2022, 46(3): 385-394.
[34] SZÖLLŐSI G J, TANNIER E, DAUBIN V, et al. The inference of gene trees with species trees [J]. Systematic Biology, 2015, 64(1): e42-e62.

Genetic diversity of *Plesiomyzon baotingensis*, a rare and endangered fish in Hainan Province, and its conservation

DENG Shuqing[1,2], CAI Xingwei[1,4], WANG Han[3], FU Chenghui[3], ZHANG Qingfeng[1,4], SHEN Zhixin[1,4], LI Gaojun[1,4], LI Fangyuan[1,4]

(1. Hainan Academy of Ocean and Fisheries Sciences, Haikou, Hainan 571126, China; 2. The Changjiang Civilization Museum (Wuhan Natural History Museum), Wuhan, Hubei 430010, China; 3. Yinggeling Branch, Hainan Tropic Rainforest National Park Administration, Baisha, Hainan 572800, China; 4.Hainan Research Center for Freshwater Biological Resource and Ecological Environmental Protection Haikou, Hainan 571126, China)

Abstract: *Plesiomyzon baotingensis* is endemic to Hainan province. Due to river pollution, overfishing, invasive species and habitat degradation, the wild population of *P. baotingensis* is quite small in Hainan Province. An attempt was made to estimate genetic diversity of *P. baotingensis* to provide experimental data of its germplasm resources. An analysis was made of 103 individuals including 5 geographic populations (Bacun, Yinggeling, Qiongzhong, Hongjuntan and Bengling). Partial sequences of *Cytb* gene (1 047 bp) were obtained from these individuals. Fifty-eight variable sites and 11 haplotypes were identified in the whole populations, respectively with relatively high haplotype diversity (h=0.815) and high nucleotide diversity (π=0.024 71). The analysis of molecular variance of the populations indicated that most of genetic variation (77.86%) came from between population. F_{st} value among five populations was 0.779 ($P < 0.01$), and the genetic distance between populations ranged from 0.000 3 to 0.046 4; the farthest genetic distance (0.046 4) of *P. baotingensis* was identified between Bacun and Hongjuntan populations, and the closest genetic distance (0.000 3) was found between Yinggeling and Qiongzhong populations. Fu's *Fs* neutral test showed that historical population expansion was observed in the Yinggeling population. Phylogenetic tree showed there were two lineages in the five *P. baotingensis* populations in Hainan. In order to better conserve the wild resources and genetic structure of *P. baotingensis*, two mitochondrial DNA lineages should be paid more attention to. The geographical population of *P. baotingensis* in Bengling was found to contain two lineages, and its haplotypes and endemic haplotypes were the largest in number among the five geographical populations. It is suggested to strengthen the conservation of *P. baotingensis* in the Bengling area.

Keywords: *Plesiomyzon baotingensis*; mitochondrial DNA; *Cytb* gene; genetic diversity

(责任编辑:钟云芳)