

长江刀鲚体内派氏异尖线虫感染特征及遗传结构

杨彦平 程鑫 华忠 应聪萍 马凤娇 刘凯

PARASITIC CHARACTERISTICS AND GENETIC STRUCTURE ANALYSIS OF *ANISAKIS PEGREFFII* IN *COILIA NASUS*

YANG Yan-Ping, CHENG Xin, HUA Zhong, YING Cong-Ping, MA Feng-Jiao, LIU Kai

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3724/1000-3207.2025.2024.0392>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

长江安庆段刀鲚寄生虫群落结构及感染特征

COMMUNITY STRUCTURE AND INFECTION CHARACTERISTICS OF NEMATODES IN THE *COILIA NASUS* IN ANQING SECTION OF THE YANGTZE RIVER

水生生物学报. 2023, 47(6): 917–923 <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0099>

长江刀鲚生殖洄游期间脂肪酸组成及含量变化分析

CHANGES OF FATTY ACID COMPONENTS AND CONTENT OF *COILIA NASUS* IN THE YANGTZE RIVER DURING SPAWNING MIGRATION

水生生物学报. 2023, 47(1): 156–167 <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0047>

三峡库区短颌鲚年龄和生长特性的研究

AGE AND GROWTH CHARACTERISTICS OF *COILIA NASUS* IN THE THREE GORGES RESERVOIR REGION

水生生物学报. 2022, 46(1): 17–28 <https://doi.org/10.7541/2021.2021.082>

从江及周边地区稻田鲤的遗传结构及系统发育关系

GENETIC STRUCTURE AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF RICE FIELD CARP (*CYPRINUS CARPIO* LINNAEUS) IN CONGJIANG AND SURROUNDING AREAS

水生生物学报. 2022, 46(7): 939–950 <https://doi.org/10.7541/2022.2021.0163>

海南金鲳人工养殖群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析

MICROSATELLITE ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY AND STRUCTURE IN CULTURED POPULATIONS OF GOLDEN POMPANO, *TRACHINOTUS BLOCHII* IN HAINAN PROVINCE

水生生物学报. 2024, 48(9): 1573–1580 <https://doi.org/10.7541/2024.2024.0098>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

Yang Y P, Cheng X, Hua Z, et al. Parasitic characteristics and genetic structure analysis of *Anisakis pegreffii* in *Coilia nasus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(9): 092505. [杨彦平, 程鑫, 华忠, 等. 长江刀鲚体内派氏异尖线虫感染特征及遗传结构 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(9): 092505.]

长江刀鲚体内派氏异尖线虫感染特征及遗传结构

杨彦平^{1*} 程鑫^{2*} 华忠¹ 应聪萍¹ 马凤娇² 刘凯^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业农村部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 无锡 214081;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 无锡 214081)

摘要: 为掌握长江刀鲚(*Coilia nasus*)感染派氏异尖线虫(*Anisakis pegreffii*)状况及派氏异尖线虫群体遗传特征以探究长江刀鲚海水生活史背景, 于2021年4—7月长江刀鲚生殖洄游汛期, 在长江下游设置崇明、泰州和安庆3个样区, 采集长江刀鲚样本, 以ITS区作为分子标记对长江刀鲚感染线虫进行物种鉴定, 并进一步分析派氏异尖线虫群体遗传结构。结果显示, 在135尾长江刀鲚样本中共鉴定出派氏异尖线虫354条, 感染率为77.78%, 平均感染强度为(3.37±2.97)条/尾, 平均感染丰度为(2.62±2.97)条/尾。时间特征分析显示, 调查早期派氏异尖线虫感染率最大为86.67%, 明显高于中晚期的75.56%和71.11%, 调查末期平均感染强度最大, 为(5.27±3.96)条/尾, 显著高于早中期的(3.07±3.13)和(3.01±2.21)条/尾($P<0.05$), 平均感染丰度随时间变化差异不显著; 空间特征分析显示: 安庆样区派氏异尖线虫感染率和平均感染强度、感染丰度均最大, 分别为88.89%、(4.83±3.63)和(4.29±3.75)条/尾, 平均感染强度、感染丰度均极显著高于崇明和泰州样区($P<0.01$), 泰州样区各项指标均最小, 其中感染强度和感染丰度与崇明样区差异不显著。遗传结构分析共筛选多态性位点369个, 包含6个单一信息位点, 363个简约信息位点; 定义了23个单倍型, 其中Hap_1与Hap_2为主要单倍型; 单倍型多样性指数(H_d)为0.523, 核苷酸多样性指数(π)为0.23633, 平均核苷酸差异数(K)为162.123。基于ML法和NJ法构建的单倍型系统发育树显示长江刀鲚感染派氏异尖线虫群体来源于2个谱系; AMOVA分析显示, 2个谱系群体之间产生了极显著的遗传分化($F_{st}=0.98946$, $P<0.01$), 错配分析及中性检验进一步表明派氏异尖线虫两个谱系群体在近期发生过明显的种群扩张。

关键词: 感染特征; 遗传结构; 长江刀鲚; 派氏异尖线虫

中图分类号: S932.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2025)09-092505-09

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2024.0392 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2024.0392



寄生虫按生态类型可分为自由生活型和寄生生活型, 其中寄生生活型主要寄生于生物体内, 通过汲取宿主的营养物质生存, 可引发寄生虫病。有研究显示鱼类寄生线虫主要寄生于体腔、胃、肠道、肠系膜、肝脏等部位, 通过汲取宿主营养, 阻碍鱼体生长发育、繁殖, 严重时可导致宿主死亡^[1]。自20世

纪70年代以来, 研究发现鱼类与寄生虫之间可构成宿主-寄生虫系统^[2], 两者之间存在相互作用、协同发展的进化关系, 为寄生虫相关研究及其病害防治奠定了理论基础。同时还发现鱼类感染寄生虫的种类、数量与水体的理化参数、生物组成和季节等密切相关^[3]。因此, 鱼类寄生虫也作为鱼类种群补

收稿日期: 2024-10-10; 修订日期: 2025-02-17

基金项目: 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2023TD11); 农业农村部财政专项“长江禁捕后常态化监测专项”; 江苏省农业农村厅渔业生态与资源监测专项“长江干流江苏段水生生物资源监测”资助 [Supported by the Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2023TD11); Ministry of Agriculture and Rural Affairs Financial Special Project “Normalized Monitoring after the Ban on Fishing in the Yangtze River”; Jiangsu Provincial Department of Agriculture and Rural Affairs Procurement Project for Fisheries Ecology and Resources Monitoring Services “Monitoring of Aquatic Biological Resources in Jiangsu Section of Yangtze River Main Stream”]

作者简介: 杨彦平(1989—), 男, 助理研究员; 研究方向鱼类生态学。E-mail: yangyp@ffrc.cn 程鑫(1997—), 男, 硕士研究生; 研究方向分子生态学, *共同第一作者

通信作者: 刘凯(1980—), 男, 研究员; 研究方向鱼类生态学。E-mail: liuk@ffrc.cn

充、季节性迁移、饵料组成、系统发育及遗传进化等内容的主要研究对象^[4,5],但目前这一领域相关研究处于起步阶段,主要集中于海洋不同区域,沿海与河口及不同湖泊间寄生虫的物种鉴定^[6-8]。

随着科学技术的不断发展,分子生物学技术已经成为研究物种组成、分类鉴定及遗传进化的有效手段之一。核基因(rDNA)可以提供亲本遗传物质,其 ITS 区中性进化区域中的基因流和遗传漂变等进化力量占主导地位,能更好地解释近缘物种间的相互关系^[9],目前已被广泛应用于不同生物种群遗传结构和谱系地理学过程的研究。有研究表明群体遗传结构可以阐明种群分布格局的成因及对宿主防御的适应、抗药性进化^[10,11]等复杂过程,这类研究主要针对人类寄生虫^[12,13],而对于鱼类寄生虫种群遗传学的研究报道则较少,尤其是海淡水长距离洄游性鱼类(如长江刀鲚),其感染线虫遗传结构的研究报道则更少。

有学者研究发现长江刀鲚感染线虫主要为异尖科线虫,包括异尖属、宫脂属与针晶蛔属等^[14],其中派氏异尖线虫为长江刀鲚生殖洄游群体感染异尖科线虫的优势种(数量占比达84.84%),其寄生过程始发于海洋小型动物,且仅在海洋哺乳动物体内完成繁殖,研究者据此将其作为识别长江刀鲚具

有海水生活史履历的生物标志物^[14]。进一步通过分析、比对派氏异尖线虫 ITS 区中性进化区域,准确掌握其群体遗传结构及遗传进化演变过程,有助于支撑长江刀鲚种质现状和迁移规律等洄游生态学相关研究。因此,本研究以长江刀鲚感染异尖属线虫为研究对象,探究长江刀鲚体内派氏异尖线虫感染状况,并利用 rDNA ITS 区分子标记技术对派氏异尖线虫群体遗传结构进行分析,摸清派氏异尖线虫遗传演变特征,为长江刀鲚海水生活史生物标志物的筛选、生境履历识别及长江刀鲚种群动态、洄游特征等研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2021年3—7月长江刀鲚汛期,在长江下游及长江口设置安庆(AQ: 30° 29' 11" N, 116° 59' 39" E)、泰州(TZ: 32° 12' 14" N, 119° 53' 40" E)和崇明(CM: 31° 29' 52" N, 121° 36' 36" E) 3个调查样区(图 1),网具分别采用流刺网(泰州和安庆:网长200—300 m,网高2—4 m,网目4 cm)和定置刺网(崇明:网长150 m,网高12 m,网目4 cm)。

1.2 实验方法

样本处理 每个样区汛期早、中、末期各

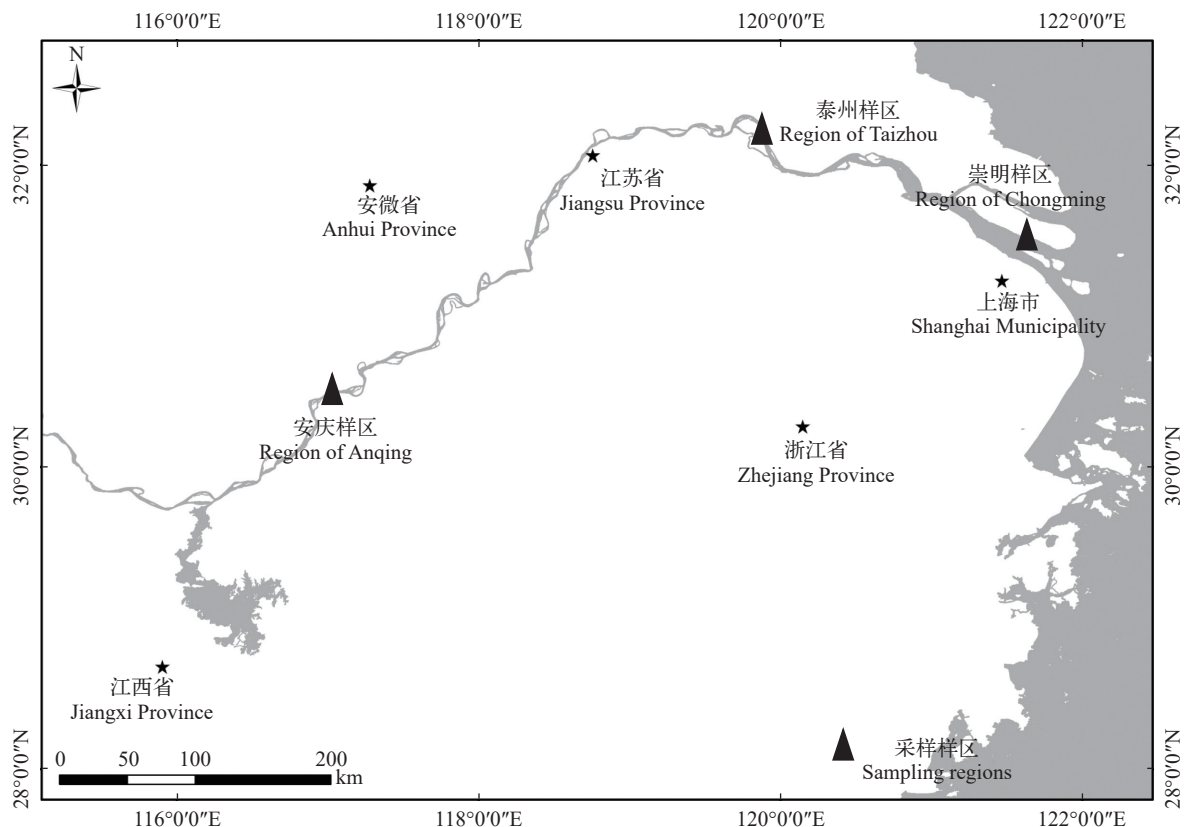


图 1 长江刀鲚样本采集位点示意图

Fig. 1 Sketch of sampling regions of *C. nasus*

随机采集15尾样本, 共计135尾, 经表观生物学测定后, 解剖统计寄生线虫数量并置于培养皿清水中暂存, 后转置于无水乙醇中保存备用。

DNA提取 从无水乙醇中取出单条虫体, 无菌水反复冲洗后置于灭菌的1.5 mL离心管中。用灭菌的手术剪将线虫剪碎后置于1.5 mL离心管中并做好样本标记, 按上海生工生物工程股份有限公司Ezup柱式动物基因组DNA抽提试剂盒使用说明书操作步骤提取DNA。(1)加入180 μ L Buffer ACL、20 μ L Proteinase K溶液, 振荡混匀, 56℃水浴1h, 每10min颠倒混匀1次至细胞完全裂解;(2)加入200 μ L Buffer CL, 充分颠倒混匀;(3)加入200 μ L无水乙醇, 充分颠倒混匀;(4)将吸附柱放入收集管中, 用移液器将溶液和半透明纤维状悬浮物全部转移至吸附柱中, 静置2min, 10000 r/min室温离心1min, 倒掉收集管中废液;(5)将吸附柱放回收集管中, 向吸附柱中加入500 μ L CW1 Solution, 10000 r/min离心30s, 倒掉收集管废液;(6)将吸附柱放回收集管中, 重复步骤(5);(7)将吸附柱重新放回收集管中, 12000 r/min室温离心2min, 离去残留的CW1 Solution;(8)取出吸附柱, 放入1.5 mL离心管中, 加入50—200 μ L CE Buffer静置3min, 12000 r/min室温离心2min, 收集DNA溶液。

PCR扩增及测序 以提取的DNA为模板, 采用通用引物扩增ITS序列。扩增的rDNA ITS区包括ITS-1和ITS-2, 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成(NC1和NC2), 预期扩增的片段大小约为1000 bp。上游引物NC1: 5'-TAGGTGAACCTGCGG AAGGATCATT-3'; 下游引物NC2: 5'-TTAGTTTC TTTTCCTCCGCT-3'。

PCR实验扩增体系(25 μ L): 上下游引物各1 μ L; DNA模板1 μ L; Dntp (mix) 1 μ L; Taq Buffer (with MgCl₂) 2.5 μ L; Taq酶0.2 μ L; 灭菌去离子水18.3 μ L。PCR反应条件: 95℃预变性5min, 94℃变性30s, 63℃退火(每循环降低0.5℃) 30s, 72℃延伸30s, 10个循环, 最后95℃预变性30s, 58℃退火30s, 72℃延伸30s, 30个循环。将扩增产物经5 μ L 1%的琼脂糖进行电泳检验(150 V, 100 mA, 10—20min), 将凝胶条带大小与预期结果相符的样本回收并送至上海生工生物工程股份有限公司进行测序。

寄生虫生态学指标测算 参照Bush等^[15]和吴金英等^[16]所述, 使用以下寄生虫生态学指标: 感染率、平均感染强度和平均感染丰度。各生态学指标公式:

$$\text{感染率}(\%) = (\text{线虫感染阳性宿主数} / \text{被检测样本总数}) \times 100$$

$$\text{平均感染强度} = \text{线虫检出总数} / \text{感染阳性宿主数}$$

$$\text{平均感染丰度} = \text{线虫检出总数} / \text{被检查宿主总数}$$

利用SPSS 26.0软件完成不同样区、不同时间长江刀鲚感染派氏异尖线虫指标的单因素方差ANOVA显著性分析, 经2019 Excel软件完成数据分析以及图表制作。

序列比对和遗传结构分析 将派氏异尖线虫作为独立数据集进行以下分析, (1)对线虫ITS序列进行多序列比对, 运用Dnasp 5.0软件分析序列数据的标准遗传多态性指数: 群体间遗传距离, 单倍型数量(H), 单倍型多样性(Haplotype diversity, H_d), 核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π); 通过单因素方差分析(Analysis of molecular variance, AMOVA)计算两种优势种不同谱系群体内与群体间遗传分化系数(F-statistics, F_{st}), 检验其显著性, 判断是否存在遗传分化(显著性检验运行1000次重复进行), 利用Arlequin 3.5软件对不同谱系群体间基因流(N_m ; 在计算基因流时假设与迁移速率相比两个群体间的突变速率可以忽略)及同一谱系不同样区之间的遗传结构及遗传分化进行统计分析, 并使用Dnasp5.0软件计算不同谱系两个遗传分化指数 G_{st} 和 N_{st} , 检查系统地理结构的存在。一般认为当 $N_{st} > G_{st}$ 时, 群体间存在明显的谱系地理结构。

单倍型系统发育树及网络图构建 利用MEGA X软件采用K 2-P距离模型(Kimura 2-parameter model)基于邻接法(Neighbor-joining, NJ)和最大似然法(Maximum likelihood, ML)构建NJ树及ML树, 使用Popart软件基于TCS法对派氏异尖线虫各单倍型之间的亲缘关系网络图进行构建, 进而判断不同谱系群体单倍型之间的聚集情况。

种群历史动态分析 使用Dnasp 5.0软件执行派氏异尖线虫不同谱系群体的错配分析(Mismatch-distribution), 分析比较不同谱系线虫观察到的单倍型与预期扩张模型下的群体单倍型差异频率分布(单峰分布的谱系说明种群最近经历了扩张; 多峰分布的谱系说明种群亚分化或者处于动态平衡状态), 并进行Tajima's D 和Fu's F_s 中性检验, 结合单倍型网络图的分布情况(单倍型TCS简约网络图呈现星状分布, 表示历史上出现过明显的种群扩张), 分析不同谱系线虫历史动态。

2 结果

2.1 派氏异尖线虫寄生特征

从135尾长江刀鲚样本中共鉴定派氏异尖线虫354条, 对应测序结果与目标物种同源性均高于

96% (表 1)。

结果显示, 派氏异尖线虫感染率为77.78%, 平均感染强度为 (3.37 ± 2.97) 条/尾, 平均感染丰度约为 (2.62 ± 2.97) 条/尾。时间特征分析显示, 调查早期派

表 1 线虫ITS序列NCBI比对结果

物种Species	数量Sample	序列号Sequence ID
派氏异尖线虫 <i>Anisakis pegreffii</i>	254	LC536533.2
	32	MH211473.1
	23	OP176012.1
	15	MF422222.1
	8	KF923926.1
	8	KX354832.1
	3	JQ934874.1
	3	KJ011498.1
	3	MW370785.1
	2	KF923927.1
	1	MF422207.1
	1	JN968605.1
	1	MH211517.1

氏异尖线虫感染率最大为86.67%, 明显高于中晚期的75.56%和71.11%, 调查末期平均感染强度最大为 (5.27 ± 3.96) 条/尾, 显著高于早中期的 (3.07 ± 3.13) 和 (3.01 ± 2.21) 条/尾($P < 0.05$), 平均感染丰度随时间变化差异不显著(图 2)。空间特征分析显示: 安庆样区派氏异尖线虫感染率和平均感染强度、感染丰度均最大, 其中感染率为88.89%, 平均感染强度、感染丰度分别为 (4.83 ± 3.63) 和 (4.29 ± 3.75) 条/尾, 平均感染强度和感染丰度均极显著高于崇明和泰州样区($P < 0.01$); 泰州样区各项指标均最小, 其中感染率为66.67%, 平均感染强度、感染丰度分别为 (1.87 ± 0.97) 和 (1.24 ± 1.19) 条/尾, 平均感染强度、感染丰度与崇明样区差异不显著(图 3)。

2.2 派氏异尖线虫遗传特征

单倍型系统发育分析 共检测到多态性位点369个, 占全部序列的36.17%, 其中有6个单一信息位点, 363个简约信息位点, 定义了23个单倍型, 单倍型多样性指数(H_d)为 0.523 ± 0.023 ; 核苷酸多样性指数(π)为 0.23633 ± 0.00869 , 平均核苷酸差异数(K)为162.123, 其中Hap_1及Hap_2为群体主要单

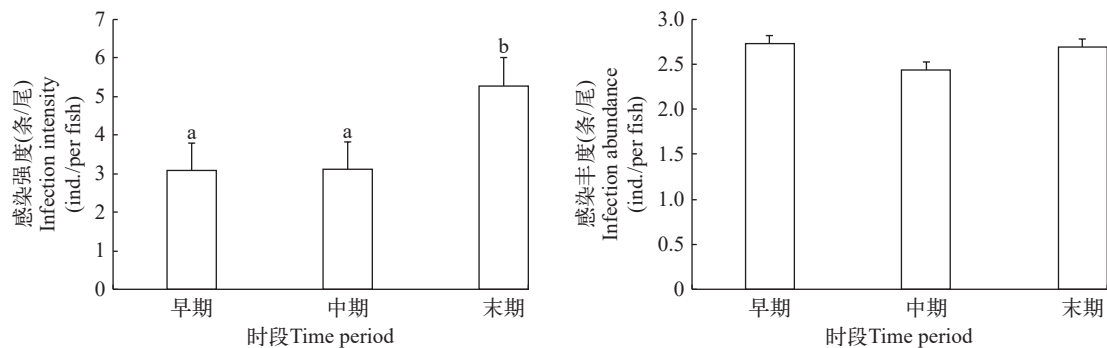


图 2 长江刀鲚感染派氏异尖线虫时间特征

Fig. 2 Temporal characteristics of intensity of *A. pegreffii*

不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$

Different lowercase letters indicate significant difference, $P < 0.05$

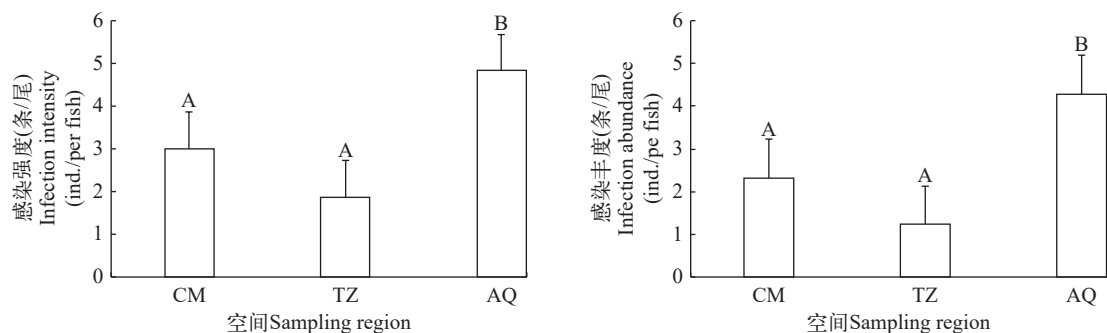


图 3 长江刀鲚感染派氏异尖线虫空间特征

Fig. 3 Spatial characteristics of intensity of *A. pegreffii*

不同大写字母表示差异极显著, $P < 0.01$

Different capital letters indicate extremely significant, $P < 0.01$

倍型。

利用ML法和NJ法构建单倍型系统发育树, 结果显示长江刀鲚感染派氏异尖线虫主要聚为两支(图4), 但支持率都较低。单倍型网络图分析显示23个单倍型聚为两个谱系, 谱系1(Cluster1)和谱系2(Cluster2)不同单倍型间演化关系均呈星状分布(图5和图6)。

群体遗传多样性

进一步分析两个谱系的遗传多样性指标, 结果显示谱系1群体的单倍型多样性指数(H_d)为0.101, 核苷酸多样性(π)为0.00026; 谱系2群体的 H_d 为0.326, π 为0.00098, 谱系1的单倍型多样性和核苷酸多样性均小于谱系2, 但均表现出较低的单倍型多样性和核苷酸多样性($H_d < 0.5$, $\pi < 0.05$); 空间特征显示, 两个谱系的 H_d 和 π 无明显规

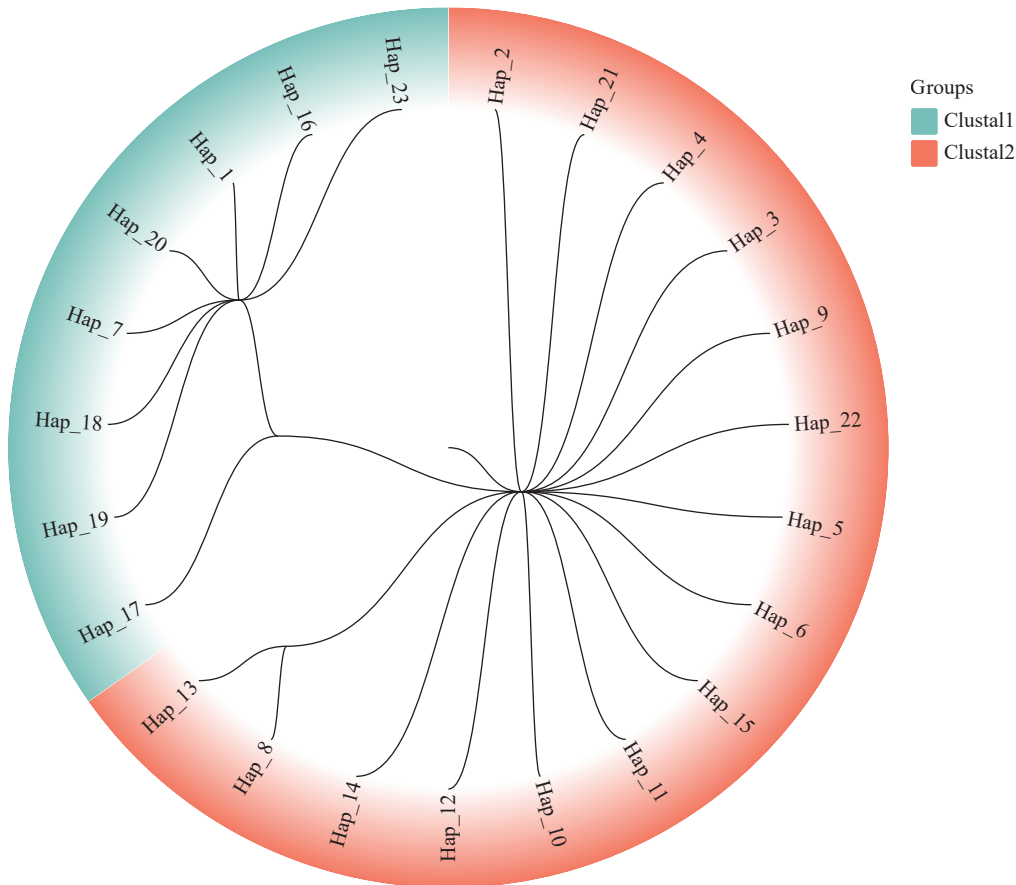


图4 基于ML法与NJ法构建的派氏异尖线虫单倍型系统发育树

Fig. 4 Haplotype phylogenetic tree of *A. pegreffii* constructed based on ML and NJ methods

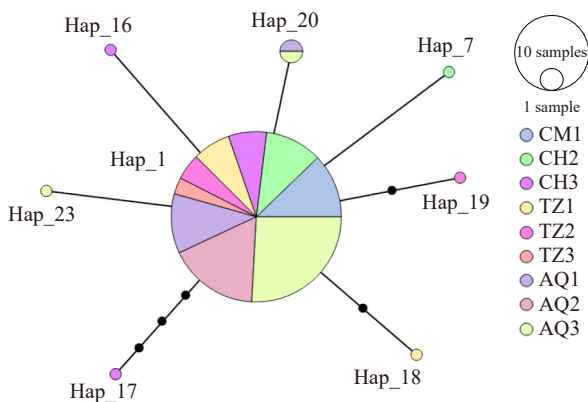


图5 基于ITS序列构建的谱系1群体TCS单倍型网络图

Fig. 5 TCS haplotype network of Clustal1 population based on ITS sequence

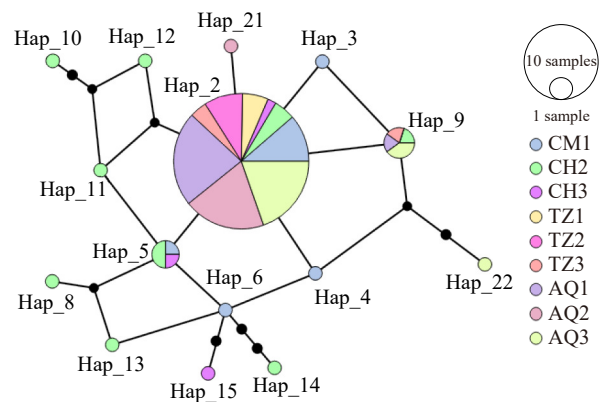


图6 基于ITS序列构建的谱系2群体TCS单倍型网络图

Fig. 6 TCS haplotype network of Clustal2 population based on ITS sequence

律(表 2)。

群体遗传结构 遗传距离和遗传分化指数分析显示, 谱系1与2之间的遗传距离为0.927, 遗传距离较远, 遗传分化指数 F_{st} 为0.98946, 组间遗传分化估计值 K_s 、 K_{st} 也存在显著性($P<0.05$), GammaSt 值为0.97904。基因差异分化系数 G_{st} 与 N_{st} 比较结果显示, $N_{st}>G_{st}$ ($G_{st}=0.68168$, $N_{st}=0.99931$), 且两个群体间存在极低的基因流($N_m=0.12$)。AMOVA分析结果表明, 组群间变异概率高达98.95%, 群体内变异概率为1.05%(表 3)。

不同谱系的空间特征显示, 无论是谱系1还是谱系2, 3个地理群体间的 F_{st} 值极低(表 4和表 5), N_m 值都小于1。

2.3 派氏异尖线虫种群历史动态

基于ITS序列对不同谱系派氏异尖线虫群体分布进行中性检测。结果显示2个谱系间的Tajima's D 和Fu's F_s 值均呈现负值, 且达到极显著水平($P<0.01$)。进一步分析两个谱系群体核苷酸错配分布, 结果显示各谱系动态均呈单峰分布(图 7)。

3 讨论

3.1 长江刀鲚感染异尖线虫现状

鱼类寄生线虫种类繁多, 类型多样, 形态结构各异, 是开展鱼类种群生态学研究的良好材料。研究表明, 不同环境中鱼类寄生虫的物种组成和数量存在差异^[3], 这与栖息水域环境特征、生物组成及

表 2 不同谱系派氏异尖线虫群体遗传多样性
Tab. 2 Genetic diversity of the two Cluster *A. pegreffii*

群体 Cluster	样品数 Sample	单倍型数 H Number of haplotype	单倍型多样性 H_d Haplotype diversity	核苷酸多样性 π Nucleotide diversity
Cluster1	CM	70	3 (H1、H16—H17)	0.084±0.046
	TZ	36	3 (H1、H17—H18)	0.262±0.096
	AQ	125	3 (H1、H20、H23)	0.109±0.038
	Total	231	8 (H1、H7、H16—20、H23)	0.101±0.027
Cluster2	CM	33	15 (H2—H6、H8—H15、H22—H23)	0.737±0.084
	TZ	20	2 (H2、H9)	0.100±0.088
	AQ	65	2 (H2、H11)	0.150±0.060
	Total	118	14 (H2H6、H8—H15、H21)	0.326±0.057

表 3 两个谱系派氏异尖线虫群体核糖体基因单倍型差异来源分析
Tab. 3 Analysis of molecular variance for ribosome haplotypes of the two Cluster *A. pegreffii*

差异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	百分率 Percentage of variation (%)	F_{st}	P 值 P value
组内Intra-group	1	27991.793	180.21024 Va	99.91	0.98946	<0.001*
组间Between-group	346	58.900	0.17023 Vb	0.09		
总计Total	347	1901.609	180.13343	0.98946		

注: F_{st} , 遗传分化系数; *, 差异极显著; 下同
Note: F_{st} , Fixation index-statistics; *, Extremely significant difference; The same applies below

表 4 派氏异尖线虫谱系1群体核糖体基因单倍型差异来源分析
Tab. 4 Analysis of molecular variance for ribosome haplotypes of the Cluster1 *A. pegreffii*

差异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	百分率 Percentage of variation (%)	F_{st}	P 值 P value
组内Intra-group	2	0.283	0.00088 Va	1.06	0.01065	<0.001*
组间Between-group	228	18.583	0.08150 Vb	98.94		
总计Total	230	18.866	0.08238			

表 5 派氏异尖线虫谱系2群体核糖体基因单倍型差异来源分析
Tab. 5 Analysis of molecular variance for ribosome haplotypes of the Cluster2 *A. pegreffii*

差异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	百分率 Percentage of variation (%)	F_{st}	P 值 P value
组内Intra-group	2	3.730	0.04466 Va	12.30	0.12298	<0.001*
组间Between-group	114	36.304	0.31846 Vb	87.70		
总计Total	116	40.034	0.36311			

鱼类季节迁移等因素密切相关,也为寄生虫能否作为生物标志物提供判定依据。派氏异尖线虫作为海水性寄生虫,其整个生活史需寄生多个物种,最终在海洋哺乳动物体内繁殖,进而完成生活史过程。长江刀鲚作为长江流域典型的江海洄游性鱼类,主要在海水中的生长育肥,在淡水中繁殖^[17],生殖洄游过程经历了海水、咸淡水和淡水。因此,以派氏异尖线虫作为生物标志物,可判定长江刀鲚是否具有海水生活史履历。同时,基于感染强度、感染丰度等可探究长江刀鲚生殖洄游群体的海水生活史背景差异,也可评估宿主的健康、生存状况及宿主因组织损伤造成的死亡对其群体补充的影响^[18]。

在本研究中,随着长江刀鲚生殖洄游群体溯河迁移时段后移和迁移距离增加,派氏异尖线虫的平均感染强度、感染丰度显著上升。推测派氏异尖线虫寄生特征的变化与其宿主长江刀鲚生殖洄游群体的来源有关,间接反映出其在海洋动物初级宿主中的寄生背景存在差异,提示不同时段、不同江段采集的长江刀鲚可能来源于不同海域,因各海域派氏异尖线虫寄生背景差异而造成长江刀鲚感染派氏异尖线虫的状况差异。每年春季刀鲚自近海向长江口水域集中,分批上溯洄游,因栖息于不同海域的刀鲚群体在洄游时到达长江口的时间不同^[19],从而刀鲚样本体内派氏异尖线虫的平均感染强度、感染丰度等寄生指标表现出时空差异。

3.2 长江刀鲚感染派氏异尖线虫遗传结构

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分,反映了物种对不同环境的适应能力和进化潜力。作为遗传多样性水平评估指标,若 $H_d > 0.5$ 且 $\pi > 0.05$,则认为该群体遗传多样性较高^[20, 21]。在本研究中,系统发育树和单倍型网络结构显示派氏异尖线虫群体主要来源于两个谱系,两个谱系群体间的遗传距

离较大,但单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数均 > 0.05 ,表明本研究中所采集的派氏异尖线虫群体是由一个大而稳定的种群经过长时间演化产生的两个不同系群。刘凯等^[14]研究显示派氏异尖线虫群体的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数均较低,其主要原因可能是早前长江流域尚未全面禁捕,受人为捕捞干扰,叠加样本抽检及采集时间不同的影响,导致抽样群体中派氏异尖线虫谱系相对单一,遗传多样性水平明显低于本研究结果。

遗传距离大小是衡量物种间或同一物种不同群体间亲缘关系远近的常用指标,遗传距离越大说明种间遗传分化越明显^[22]。本研究结中派氏异尖线虫两个谱系群体间的遗传距离达到了0.927, F_{st} 值趋近于1,说明两个群体间存在明显的遗传分化,而AMOVA分析结果(组间变异高达99.91%)验证了这一结论,表明两个谱系群体已经分化成了两个独立群体,符合Wright^[23]的遗传分化理论。而极低基因流 N_m 预示着两个群体间的遗传交流受阻,证明两个群体间存在隔离,这一结果得到了 G_{st} 值与 N_{st} 值的支持($N_{st} > G_{st}$),推测不同时间、空间采集的长江刀鲚可能来源于不同海域,且彼此之间距离较远,产生了隔离,这对长江刀鲚海水生活史研究是一个重要提示。

3.3 长江刀鲚感染派氏异尖线虫种群扩张动态

Tajima's D 与Fu's F_s 检验对于种群扩张的检测是比较敏感的,当明显偏离中性突变时, D 值与 F_s 值为负值,表明发生过群体扩张事件^[24];核苷酸错配分布曲线呈单峰时表明群体发生过扩张,呈双峰或多峰形时表明群体未经历扩张,而是保持相对稳定的状态^[25]。本研究发现两个谱系群体遗传多样性空间变化趋于平稳,AMOVA分析显示遗传变异只发生在两个谱系群体之间,中性检验结果均为负值

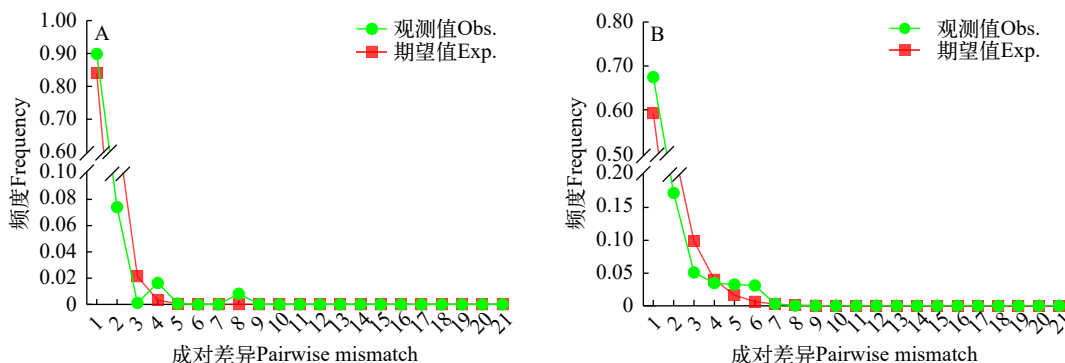


图7 派氏异尖线虫ITS单倍型的歧点分布

Fig. 7 Mismatch distribution of ITS of haplotypes the two Cluster *A. pegreffii*

A. 谱系1; B. 谱系2

A. Cluster1; B. Cluster2

且呈现极显著差异($P<0.01$), 核苷酸错配分布曲线基本呈单峰形特征, 说明两个谱系群体近期都经历了种群扩张, 推测海洋环境变化、寄生习性及其宿主群体演变、迁移、栖息地变化等可能是导致其种群扩张的主要因素。

综上所述, 本研究中长江刀鲚感染派氏异尖线虫存在两个谱系群体, 遗传变异主要来源于群体之间, 表现出明显的遗传分支与地理群体聚类。由于异尖属线虫仅存在海洋中, 且无法在中间宿主长江刀鲚体内完成繁殖, 因而长江刀鲚感染派氏异尖线虫全部来源于近海栖息地, 可作为判别洄游性长江刀鲚的生物标志物, 而不同谱系群体的感染现状指示了长江刀鲚生殖洄游群体来源的背景差异, 至于其在海洋中具体的栖息水域、洄游路线等海水生活史特征, 还需进一步跟踪研究。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Zhang Q Z. Studies on the ecology of parasitic *Camallanus cotti* Fujita in the host *Mystus macropterus* Bleeker [J]. *Journal of Southwest China Normal University* (Natural Science), 1993, **18**(1): 85-89. [张其中. 寄生于大鳍鲮的杜父鱼驼形线虫的生态研究 [J]. 西南师范大学学报 (自然科学版), 1993, **18**(1): 85-89.]
- [2] Li W X, Wang G T. Regulation of parasites on host population: a brief review [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, **26**(5): 550-554. [李文祥, 王桂堂. 寄生虫对宿主种群的调节 [J]. 水生生物学报, 2002, **26**(5): 550-554.]
- [3] Li W X, Wang G T. Helminth communities in *Coilia nasus* from anadromous, freshwater and landlocked stocks [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2014, **49**(2): 233-243. [李文祥, 王桂堂. 洄游型、淡水型和陆封型刀鲚的寄生蠕虫群落结构 [J]. 动物学杂志, 2014, **49**(2): 233-243.]
- [4] MacKenzie K. Parasites as indicators of host populations [J]. *International Journal for Parasitology*, 1987, **17**(2): 345-352.
- [5] Williams H H, MacKenzie K, McCarthy A M. Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet, and phylogenetics of fish [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1992, **2**(2): 144-176.
- [6] MacKenzie K, Campbell N, Mattiucci S, et al. Parasites as biological tags for stock identification of Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus* L. [J]. *Fisheries Research*, 2008, **89**(2): 136-145.
- [7] Marques J F, Santos M J, Costa J L, et al. Metazoan parasites as biological indicators of population structure of *Halobatrachus didactylus* on the Portuguese coast [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2005, **21**(3): 220-224.
- [8] Bailey R E, Margolis L. Comparison of parasite fauna of juvenile sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) from southern British Columbian and Washington State lakes [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1987, **65**(2): 420-431.
- [9] Wu S G. Population biology and molecular ecology of the nematode *Camallanus cotti* [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2007: 10, 45-65. [吴山功. 杜父鱼驼形线虫种群生物学和分子生态学的研究 [D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2007: 10, 45-65.]
- [10] Bouree P, Paugam A, Petithory J C. Anisakidosis: Report of 25 cases and review of the literature [J]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 1995, **18**(2): 75-84.
- [11] McCoy K D, Boulinier T, Tirard C, et al. Host specificity of a generalist parasite: genetic evidence of sympatric host races in the seabird tick *Ixodes uriae* [J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2001, **14**(3): 395-405.
- [12] Blouin M S, Dame J B, Tarrant C A, et al. Unusual population genetics of a parasitic nematode: mtDNA variation within and among populations [J]. *International Journal of Organic Evolution*, 1992, **46**(2): 470-476.
- [13] Blouin M S, Liu J, Berry R E. Life cycle variation and the genetic structure of nematode populations [J]. *Heredity*, 1999, **83**(3): 253-259.
- [14] Liu K. Research on immune adaptive response of *Coilia nasus* infected with nematode in the Yangtze River based on multi-omics techniques [D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2019. [刘凯. 基于多组学技术研究长江刀鲚感染线虫后的免疫适应机制 [D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2019.]
- [15] Bush A O, Lafferty K D, Lotz J M, et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited [J]. *The Journal of Parasitology*, 1997, **83**(4): 575-583.
- [16] Wu J Y, Lü J Y, Zeng H, et al. Studies on community ecology of helminthes parasitic in *Mugil cephalus* in Guangdong province, China [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, **21**(6): 1003-1008. [吴金英, 吕军仪, 曾华, 等. 鲮鱼(*Mugil cephalus*)寄生蠕虫群落生态研究 [J]. 生态学报, 2001, **21**(6): 1003-1008.]
- [17] Li M M, Jiang T, Chen T T, et al. Otolith microchemistry of the estuarine tapertail anchovy *Coilia nasus* from the Anqing section of the Yangtze River and its significance for migration ecology [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, **37**(8): 2788-2795. [李孟孟, 姜涛, 陈婷婷, 等. 长江安庆江段刀鲚耳石微化学及洄游生态学意义 [J]. 生态学报, 2017, **37**(8): 2788-2795.]
- [18] Cheng X, Yang Y P, Ying C P, et al. Investigation on Anisakidae nematode parasitic status of *Cioliannasus* at the early stages of banning fishing in Yangtze River [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2023, **45**(2): 142-149. [程鑫, 杨彦平, 应聪萍, 等. 禁捕初期长江刀鲚异尖科线虫寄生现状调查 [J]. 海洋湖沼通报, 2023, **45**(2): 142-149.]
- [19] Ma F J, Yang Y P, Fang D A, et al. Characteristics of

- Coilia nasus* resources after fishingban in the Yangtze River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(10): 1580-1590. [马凤娇, 杨彦平, 方弟安, 等. 长江禁捕后长江口刀鲚资源特征 [J]. *水生生物学报*, 2022, **46**(10): 1580-1590.]
- [20] Yan H C, Gao L, Fu C L, *et al.* Molecular methods and advances on genetic diversity evaluation in Fish [J]. *Fishes Science*, 2004, **23**(12): 44-48. [闫华超, 高岚, 付崇罗, 等. 鱼类遗传多样性研究的分子学方法及应用进展 [J]. *水产科学*, 2004, **23**(12): 44-48.]
- [21] Grant W, 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.
- [22] Xiao W H, Zhang Y P. Genetics and evolution of mitochondrial DNA in fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, **24**(4): 384-391. [肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体DNA的遗传与进化 [J]. *水生生物学报*, 2000, **24**(4): 384-391.]
- [23] Wright S. Evolution in mendelian populations [J]. *Genetics*, 1931, **16**(2): 97-159.
- [24] Chen Y N, Li W H, Chen Y P, *et al.* Water conveyance in dried-up riverway and ecological restoration in the lower reaches of Tarim River, China [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, **27**(2): 538-545. [陈亚宁, 李卫红, 陈亚鹏, 等. 新疆塔里木河下游断流河道输水与生态恢复 [J]. *生态学报*, 2007, **27**(2): 538-545.]
- [25] Mondal D, Dutta S, Mallik A, *et al.* Mitochondrial DNA diversity: Insight into population diversity, structure and demographic history of *Penaeus monodon* along the entire coastal region of India [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(11): 4649-4680.

PARASITIC CHARACTERISTICS AND GENETIC STRUCTURE ANALYSIS OF *ANISAKIS PEGREFFII* IN *COILIA NASUS*

YANG Yan-Ping¹, CHENG Xin², HUA Zhong¹, YING Cong-Ping¹, MA Feng-Jiao² and LIU Kai^{1,2}

(1. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

Abstract: In order to obtain the parasitics and population genetic structure of *Anisakis pegreffii* in *Coilia nasus* and deeply understand its marine life background, three sampling areas were set up as Chongming, Taizhou, and Anqing sections in the lower reaches of Yangtze River. A total of 15 fish were sampled during the early, middle, and late fishing season of different river sections from April to July in 2021. The *A. pegreffii* parasitized in *C. nasus* was identified and its population genetic structure was analyzed using a molecular marker of ITS region. Results showed that totally 354 *A. pegreffii* were identified from 135 samples, the infection rate of *A. pegreffii* was 77.78%, with an average infection intensity of (3.37±2.97) individuals per fish and an average infection abundance of (2.62±2.97) individuals per fish. In terms of time characteristics, the highest infection rate (86.67%) occurred during the early fishing season, which was significantly higher than that in the middle (75.56%) and late fishing season (71.11%). And the highest infection intensity [(5.27±3.96) individuals per fish] was observed in late investigation, which was significantly higher than that in the early [(3.07±3.13) individuals per fish] and middle [(3.01±2.21) individuals per fish] investigation ($P<0.05$). However, there was no significance for the infection abundance among three different periods. In terms of spatial characteristics, both the average of infection intensity and infection abundance of *A. pegreffii* were the maximum in Anqing segment reached as 4.83 and 4.29 individuals per fish respectively, which showed extremely significant ($P<0.01$) compared to Taizhou and Chongming segments. Correspondingly, the lowest values were observed in Taizhou segment, with no significant difference compared to Chongming. For genetic structure analysis, totally 369 polymorphic loci were screened, in which 6 single information loci and 363 reduced information loci were found. Furthermore, twenty-three haplotypes were identified and Hap_1 and Hap_2 were the dominant haplotypes. Haplotype diversity index (H_d), nucleotide diversity index (π) and average nucleotide difference number (K) were synchronously analyzed and the value reached as 0.523, 0.23633 and 162.123 respectively. The haplotype phylogenetic tree based on ML and NJ method showed that *A. pegreffii* in *C. nasus* originated from two lineages, and genetic differentiation was significant between two lineages ($F_{st}=0.98946$, $P<0.01$) through AMOVA analysis. Finally, Mismatch analysis and neutrality test also indicated the two lineages experienced a significantly population expansion in recent.

Key words: Infection characteristics; Genetic structure; *Coilia nasus*; *Anisakis pegreffii*