

多涅茨尾孢虫 ITS-5.8S rDNA 的种群地理学研究*

高永杰, 杨承忠, 赵元著

(重庆师范大学 生命科学学院 动物生物学重庆市重点实验室, 重庆 401331)

摘要:利用 ITS-5.8S rDNA 为分子标记研究了采自重庆市大竹林、两路、磁器口和江西省鄱阳湖的多涅茨尾孢虫(*Henneguya doneci*) 种群地理变异情况。通过系统发育、遗传距离、变异位点和 AT 含量分析, 结果显示: 重庆磁器口种群是所有种群中变异最大的种群, 也是最原始的种群; 江西鄱阳湖种群与重庆大竹林种群 1 和重庆两路种群有较近的亲缘关系; 重庆大竹林 1 种群与重庆两路种群间无差异; ITS-5.8S rDNA 各基因片段中, ITS-1 和 ITS-2 的 AT 含量最高, 也是在种群间变异最大的基因, 而 5.8S rDNA 则相对保守。研究提示: 江西鄱阳湖种群可能由重庆种群通过人为因素引入; 重庆磁器口种群极可能是一个外来种群; 重庆大竹林 1 种群与重庆两路种群间可能存在较频繁的基因交流; ITS-1 和 ITS-2 是粘孢子虫种群水平分析中较理想的分子标记, 5.8S rDNA 则相对较为保守, 在遗传分析中并不能较好的反映种群水平的变异情况。

关键词:多涅茨尾孢虫(*Henneguya doneci*); ITS-5.8S rDNA; 地理变异

中图分类号: Q958.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2015)03-0000-00

粘孢子虫(Myxosporidia)是一类主要寄生于鱼类等水生动物的寄生虫^[1-4]。迄今, 已发现的粘孢子虫有 62 属 2 180 余种^[3,5-6]。早期粘孢子虫分类鉴定的主要依据是粘孢子虫的形态特征^[7-10]。然而, 由于粘孢子虫结构简单、多样性极为丰富、各类群形态相似性大, 单从形态学角度无法满足所有类群的准确鉴定和系统分类^[11]。近年来随着分子生物学方法在粘孢子虫研究中的广泛应用, 为粘孢子虫的种类鉴定提供了新的思路, 并引领着该领域研究的深入与拓展^[12]。目前, 运用于粘孢子虫遗传学研究的分子标记主要集中在 18S rDNA 和 28S rDNA 等基因上^[13-15], 而对于 ITS(Internal transcribed spacer)内转录间隔区的研究较少^[16]。由于 ITS 属于非编码区序列, 最终不加入形成成熟的核糖体, 所以受到的选择压较小, 进化速度较快。因此, ITS 序列能够提供比较丰富的变异位点和信息位点^[17]。迄今, 在已研究的动物类群的 ITS 序列中, ITS 序列表现为存在多层次水平的差异, 不仅在不同物种间存在着差异性, 甚至在同一个种的不同地理种群中也存在着明显的差异性, 这种差异性在不同物种中表现也不同, 并且由于个体基因组中有多个 rDNA 拷贝存在, 不同的 ITS 间隔序列之间也存在着差异, 这些差异也体现在长度和序列两个方面。5.8S rDNA 为一编码区域, 在不同物种中颇为保守, 因此被用于许多较高等的分类阶元间系统发生关系的探讨^[18]。基于 ITS-1 长度和序列的基因多态性, 用于研究近亲物种及种内关系非常有效。Andree 等人对取自加利福尼亚、西弗吉尼亚和德国的 *Myxobolus cerebralis* 进行了 ITS-1 的研究, 结果显示 3 个种群的 ITS-1 序列并没有差异, 并表明美国存在的 *M. cerebralis* 是近期由人为因素由欧洲引入的, 并非起源于美国本土^[17]; 另外 Atkinson 等人根据 ITS-1 序列含有多个多态信息位点和三核苷酸重复(ATC)特点, 定义了 4 种基因型(O、I、II、III), 通过研究发现非克拉马斯流域本地的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)在上游和下游为基因型 II 和少量 III 感染, 而在上游为基因型 II 和基因型 III 感染, 然而下游为基因型 I 主导, 基因型 I 未在上游检测出而基因型 O 仅出现在上游^[19]。

本文通过对不同地理种群的多涅茨尾孢虫(*Henneguya doneci*)ITS-5.8S rDNA 进行研究, 期望从遗传学角度探索多涅茨尾孢虫的扩散规律, 以为鱼类粘孢子虫病的防治提供参考资料。

1 材料与方法:

1.1 标本采集与虫种鉴定

寄主鱼鲫(*Carassius auratus*)分别采自于2010年6月重庆市渝北区两路(简称重庆两路种群)、2012年重庆市沙坪坝区嘉陵江磁器口江段(简称重庆磁器口种群)、2014年7月重庆市北部新区大竹林嘉陵江段(重庆大竹林1)、2014年8月江西省星子县鄱阳湖(江西鄱阳湖种群)和2013年10月重庆市北部新区嘉陵江大竹林江段(重庆大竹林2)。标本的处理、观察、测量和鉴定方法以及所用术语参照文献[20]。

1.2 DNA 提取、扩增和测序

1.2.1 DNA 提取 将孢囊从寄主鱼的鳃中用镊子小心的分离到 1.5 mL 离心管中, 用灭菌的解剖针将之刺破, 使孢子分散于盛有灭菌蒸馏水的离心管中, 离心富集, 并悬浮 2~3 次以去除杂质。用 DNEASY TISSUE KIT(QIAGEN)试剂盒按照厂家提供的使用说明进行样本 DNA 的提取, 将提取的总 DNA 进行电泳检测, 将较好的 DNA 样本保存在 -20 °C。

1.2.2 DNA 扩增与测序 本研究对样本 DNA 进行 ITS-5.8 rDNA 扩增, 扩增引物为 ERIB10-V: 5'-CCG TAG GTG AAC CTG CGG AAG-3'; 28S1R: 5'-GTG TTT CAA GAC GGG TCG-3'。25 μL 的 PCR 反应体系, 包括

* 收稿日期: 2015-01-27

资助项目: 国家自然科学基金项目(No.31172068; No.31471980); 重庆市科委项目(No.CSTC2010CA1010; No.CSTC2014JCYJA80014); 重庆市教育委员会科学技术研究项目(No.KJ1400502); 重庆师范大学博士启动基金项目(No.14XLB006)

作者简介: 高永杰, 男, 研究方向为寄生虫进化生态学, E-mail:15035665279@163.com; 通讯作者:杨承忠, 副教授, E-mail: drczyang@126.com

2.5 μL 10×Ex Taq(Mg²⁺ free), 2.5 μL MgCl₂ (25 mmol·L⁻¹), 2.5 μL dNTP (25 mmol·L⁻¹), 引物各 0.5 μL (10 μmol·L⁻¹) mM, 1.2 ng 的模板 DNA, 0.2 μL Ex Taq 酶(5U·μL⁻¹)(TaKaRa), 用灭菌双蒸水补足至 25 μL。反应程序为: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 45 s, 56 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 35 次; 最后 72 °C 延伸 10 min。反应完成后保温 12 °C。取 3 μL 扩增产物于 1 % 的琼脂糖凝胶电泳检测, 然后将 PCR 产物用胶回收试剂盒 Gel Extraction Kit(OMEGA)进行纯化回收。最后将纯化产物送公司测序(使用测序仪为 ABI, 3730XL)。

1.3 序列和系统发育分析

将获得的 5 个种群的 DNA 序列进行比对分析。用 MEGA 4.0 软件分别计算各种群间相应的 ITS-5.8S rDNA (ITS-1、5.8S 和 ITS-2 rDNA 联合序列)、ITS-1 rDNA、ITS-2 rDNA 的遗传距离及 AT 含量^[21]。同时利用软件 RAxMLWeb-Servers 构建 ML 系统树^[22]。

2 结果

多涅茨尾孢虫鉴定: 孢子壳面观为圆形或椭圆形, 缝面观透镜形, 孢子有 2 个大小相等的极囊, 壳片后端形成两根等长和等粗尾突。孢子长(9.4±0.9) μm, 范围 8.6~10.0 μm (n=26); 孢子宽(8.6±0.5) μm, 范围 8.0~9.5 μm (n=26); 极囊长(5.3±0.4) μm, 范围(4.6~5.8) μm (n=26); 极囊宽(3.3±0.3) μm, 范围(2.9~3.8) μm (n=26); 极丝圈数 4~5 圈。通过形态和分子数据比对(NCBI BLAST), 确定所采集的种类为多涅茨尾孢虫(封三彩图 1)。

AT 含量分析表明, 粘孢子虫 ITS-5.8S rDNA 各基因区段均表现为 AT 含量丰富模式(AT-rich pattern), 其中 ITS-1 和 ITS-2 基因片段 AT 含量相对偏高(表 1)。重庆大竹林种群 1(DZL1)和重庆两路种群(LL)对应各基因区段的 AT 含量相同(表 1)。重庆地区各种群的 ITS-1 的 AT 含量一致, 有别于江西鄱阳湖种群(JX)。ITS-1 和 ITS-2 序列分析结果显示, 江西鄱阳湖种群的 AT 含量相对于重庆地区种群有明显的差异, 而 5.8S rDNA 并未表现出江西鄱阳湖种群的这种差异性。

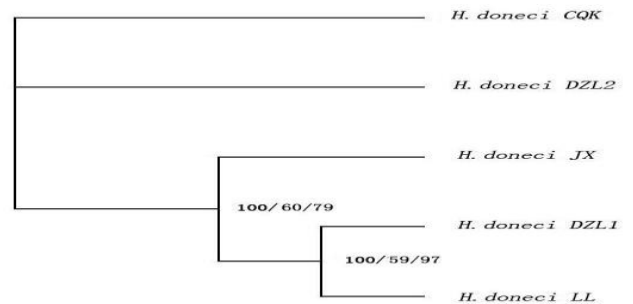
系统树结构显示, 无论是 ITS-1、ITS-2 还是 ITS-5.8S rDNA 所构建的系统树, 都呈现一致的拓扑结构(图 2)。重庆大竹林 1 种群(*H. doneci* DZL1)与重庆两路种群(*H. doneci* LL)聚为一支, 共同形成的进化支与江西鄱阳湖种群(*H. doneci* JX)形成姐妹群关系, 重庆瓷器口种群(*H. doneci* CQK)为最原始种群, 而重庆大竹林 1(*H. doneci* DZL1)与重庆大竹林 2(*H. doneci* DZL2)种群没有聚在一起(图 2)。

遗传距离计算结果显示, 重庆瓷器口种群(*H. doneci* CQK)在 ITS-1、ITS-2、ITS-5.8S rDNA 中遗传距离相对其他种群最远, 重庆大竹林 1(*H. doneci* DZL1)与重庆两路种群(*H. doneci* LL)序列无任何差异, 江西鄱阳湖种群(*H. doneci* JX)未表现出与重庆种群明显差异, 而同一地理位置采到的重庆大竹林 1(*H. doneci* DZL1)和重庆大竹林 2(*H. doneci* CQK)存在一定的遗传距离(表 2~表 4)。

表 1 多涅茨尾孢虫 5 个种群的 AT 含量
Tab. 1 AT-content of *Henneguya doneci* in five populations

	DZL1	DZL2	CQK	LL	JX
ITS-1	59.21	59.21	59.21	59.21	59.08
5.8S rDNA	54.12	54.71	54.71	54.12	54.71
ITS-2	62.77	62.41	62.41	62.77	63.14
ITS-5.8S rDNA	58.55	58.62	58.62	58.55	58.69

注: DZL1-重庆大竹林种群 1;DZL2-重庆大竹林种群 2;CQK-重庆磁器口种群;LL-重庆两路种群;JX-江西鄱阳湖种群。



注: 结点分别为 ITS-1、ITS-2、ITS-5.8S rDNA 支序树的支持率。
图 2 利用 ML 法构建多涅茨尾孢虫 ITS-1/ITS-2/ITS-5.8S rDNA 支序树的拓扑结构

Fig. 2 Topological structure of Phylogenetic trees of *Henneguya doneci* generated by ML method based on the ITS-1, ITS-2 and ITS-5.8S rDNA sequences data, respectively

表 2 基于 ITS-5.8 rDNA 基因的各种群间的遗传距离

Tab. 2 Genetic distances between populations based on ITS-5.8 rDNA	1	2	3	4
<i>H. doneci</i> DZL1				
<i>H. doneci</i> LL	0.000			
<i>H. doneci</i> JX	0.003	0.003		
<i>H. doneci</i> CQK	0.004	0.004	0.006	
<i>H. doneci</i> DZL2	0.007	0.007	0.006	0.006

表 3 基于 ITS-1 rDNA 基因的各种群间的遗传距离

Tab. 3 Genetic distances between populations based on ITS-1 rDNA	1	2	3	4
<i>H. doneci</i> DZL1				
<i>H. doneci</i> LL	0.000			
<i>H. doneci</i> JX	0.001	0.001		
<i>H. doneci</i> CQK	0.004	0.004	0.003	
<i>H. doneci</i> DZL2	0.004	0.004	0.003	0.003

表 4 基于 ITS-2 rDNA 基因的各种群间的遗传距离

Tab. 4 Genetic distances between populations based on ITS-2 rDNA	1	2	3	4
<i>H. doneci</i> DZL1				
<i>H. doneci</i> LL	0.000			
<i>H. doneci</i> JX	0.004	0.004		
<i>H. doneci</i> DZL2	0.004	0.004	0.007	
<i>H. doneci</i> CQK	0.011	0.011	0.007	0.007

序列变异位点分析结果显示: 在 1 203 bp 长度序列上, 包含 11 个变异位点。重庆大竹林 1 种群和重庆两路种群之间序列无变异。与其他种群相比, 重庆瓷器口种群突变位点最多, 为 9 个; 重庆大竹林 2 突变位点为 5 个; 江西鄱阳湖种群突变位点为 3 个。第 945 位点、971 位点、1 033 位点、1 267 位点为重庆瓷器口种

群特异性变异位点; 第 823 位点和 1037 位点为重庆大竹林 2 种群特异性变异位点(图 3)。



注: ITS-1 碱基范围: 188~948; 5.8S 碱基范围: 949~1 118; ITS-2 碱基范围: 1 119~1 392。

图 3 各种群 ITS-5.8S rDNA 变异位点

Fig. 3 Variable sites of ITS-5.8S rDNA in five populations

3 讨论

ITS-5.8S rDNA 作为分子标记在其他类群的种内关系方面已有不少研究, 但对于粘孢子虫则相对匮乏 [17,19], 而在多涅茨尾孢虫不同种群的种内关系方面仍属空白。本文通过系统发育、遗传距离、变异位点和 AT 含量分析得到了一致的结果。从正常的地理距离与遗传距离的关系来考虑, 江西鄱阳湖种群无论从遗传距离还是序列变异度都应该是最大的变异种群, 并在系统发育中应该处于一个独立的支系, 而来自于同一个地区的重庆多个种群应该具有较近的亲缘关系。然而, 本实验结果表明, 江西鄱阳湖种群与重庆大竹林 1 种群和重庆两路种群有很近的亲缘关系。而处于同一地点所采集的重庆大竹林 1 与重庆大竹林 2 种群却没有表现出相邻地理种群间应有的亲缘关系。在所研究的 5 个种群中, 磁器口种群为变异最大的种群。

鉴于江西鄱阳湖种群和除磁器口外的重庆其他种群如此近的亲缘关系, 可以推断江西鄱阳湖的这个种群可能是历史上由重庆种群通过人为因素(如来往商船携带等途径)到达江西鄱阳湖境内所发展起来的, 由于所经历的隔离时间不长而不足以形成较大的遗传差异。Foerstner 等人认为环境会对物种的碱基含量产生一定影

响^[23]。通过各种群各基因片段的 AT 含量分析,研究发现江西种群与重庆其他种群的 AT 含量整体上有较明显的差异(表 1),这可能表明来源于重庆的江西鄱阳湖种群由于受当地环境的影响,在碱基组成上已经出现了一定的差异。而同样为重庆地区的种群,磁器口种群在遗传(遗传距离、变异位点和系统发育)上表现了极大的差异,研究推断这个种群的起源可能不在重庆,可能是由其他地区通过某种人为方式(如前述的过往商船携带等)迁入重庆而形成的。同时由于环境的影响,这个种群的 AT 含量出现了与重庆其他种群趋同的效应。重庆大竹林 1 种群与重庆两路种群间的 ITS-5.8S rDNA 序列并未出现差异,这表明这两个种群可能存在较频繁的基因交流。

从不同种群间的 AT 含量来看,最低的 AT 含量都达到 54.12%, ITS-1 与 ITS-2 的 AT 含量相对较高。综合 5 个不同种群的 AT 含量、分子系统发育、遗传距离以及变异位点分析表明 ITS-1 与 ITS-2 是变异度比较大的基因,较高的 AT 含量有利于 DNA 序列变异,而这对于粘孢子虫种群水平上的地理变异分析是较理想的分子标记。通过对 5.8S rDNA 在以上各方面的分析,表明这个基因在种群遗传差异性分析方面未表现出优势。同时,不同于 ITS-1 和 ITS-2,由于这个基因的保守性,江西鄱阳湖种群并没有表现 AT 含量与环境的关联性(表 1)。

参考文献:

- [1] Canning E U, Okamura B. Biodiversity and evolution of the myxozoa[J]. *Advances in Parasitology*, 2004, 56: 43-131.
- [2] 宋微波, 赵元著, 徐奎栋, 等. 海水养殖中的危害性原生动物[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 315-428.
Song W B, Zhao Y J, Xu K D, et al. Pathogenic protozoa in mariculture[M]. Beijing: Science Press, 2003: 315-428.
- [3] Lom J, Dykova I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and species[J]. *Folia Parasitologica*, 2006, 53(1): 1-36.
- [4] 索栋, 赵元著. 尼氏单极虫(粘体门, 双壳目)的重描述及基于 18S rDNA 的系统地位分析[J]. *动物分类学报*, 2010, 35(1): 90-95.
Suo D, Zhao Y. Morphological redescription of *T. nikolskii* Achmerov, 1955 (Myxozoa, Bivalvulida) and phylogenetic analysis of *Thelohanellus nikolskii* inferred from 18S rDNA[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2010, 35(1): 90-95.
- [5] Cuadrado M, Albinyana G, Padrós F, et al. An unidentified epi-epithelial myxosporean in the intestine of gilthead sea bream *Sparus aurata* L[J]. *Parasitology research*, 2007, 101(2): 403-11.
- [6] Quraishy S A, Koura E, Abdel-Baki A, et al. Light and electron microscopic studies on *Kudoa pagrusi* sp. n. (Myxosporea: Multivalvulida) infecting the heart of sea bream *Pagrus pagrus* from the Red Sea[J]. *Parasitology research*, 2008, 102(2): 205-209.
- [7] 赵元著. 海淡水粘孢子虫学研究的现状与展望[J]. *重庆师范大学学报: 自然科学版*, 2004, 21(2): 55-59.
Zhao Y J. Perspective in Myxosporean research from freshwater and seawater fishes[J]. *Journal of Chongqing Normal University: Natural Science*, 2004, 21(2): 55-59.
- [8] 马成伦, 赵元著. 四川省西部鱼类寄生粘孢子虫[J]. *重庆师范学院学报: 自然科学版*, 1996, 13(1): 1-8.
Ma C, Zhao Y J. The Myxosporidia of freshwater fishes from the west region of Sichuan province (Myxosporidia: Bivalvulida)[J]. *Journal of Chongqing Normal University: Natural Science*, 1996, 13(1): 1-8.
- [9] 马成伦, 董新民. 四川省鱼类寄生粘孢子虫: III. 碘泡虫(粘孢子纲: 双壳目)[J]. *重庆师范学院学报: 自然科学版*, 1998, 15(4): 1-6.
Ma C L, Dong X M. The Myxosporidia of freshwater fishes from Sichuan Province: III. *Myxobolus* *Bubtschli* (Myxosporidia: Bivalvulida)[J]. *Journal of Chongqing Normal University: Natural Science*, 1998, 15(4): 1-6.
- [10] 马成伦, 董新民. 四川省鱼类寄生粘孢子虫: IV. 尾孢虫和单极虫(粘孢子纲: 双壳目)[J]. *重庆师范学院学报: 自然科学版*, 1999, 16(1): 12-15.
Ma C L, Dong X M. The Myxosporidia of freshwater fishes from Sichuan province: IV. *Henneguya* *Thelohan* and *Thelohanellus* *Kudo* (Myxosporidia: Bivalvulida)[J]. *Journal of Chongqing Normal University: Natural Science*, 1999, 16(1): 12-15.
- [11] Kent M L, Andree K B, Bartholomew J L, et al. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa[J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2001, 48(4): 395-413.
- [12] Yang C Z, Xiao Z, Zou Y, et al. DNA barcoding revises a misidentification on musk deer[J]. *Mitochondrial DNA*, 2014, DOI: 10.3109/19401736.2014.
- [13] Zhao Y J, Li N N, Tang F H, et al. Remarks on the validity of *Myxobolus ampullicapsulatus* and *Myxobolus honghuensis* (Myxozoa: Myxosporia) based on SSU rDNA sequences[J]. *Parasitology research*, 2013, 112(11): 3817-3823.
- [14] Fiala I. The phylogeny of Myxosporia (Myxozoa) based on small subunit ribosomal RNA gene analysis[J]. *International Journal for Parasitology*, 2006, 36(14): 1521-1534.
- [15] Liu Y, Whipps C M, Gu Z, et al. *Myxobolus honghuensis* n. sp. (Myxosporia: Bivalvulida) parasitizing the pharynx of allogynogenetic gibel carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) from Honghu Lake, China[J]. *Parasitology research*, 2012, 110(4): 1331-1336.
- [16] 董江丽, 赵元著, 唐发辉, 等. 黄颡单尾虫(粘体门, 双壳目)的重描述及基于 28S rDNA 和 ITS-5.8S 序列的系统地位分析[J]. *动物分类学报*, 2011, 36(1): 84-92.
Dong J L, Zhao Y J, Tang F H, et al. Redescription of *Unicauda pelteobagrus* Ma, 1998 (Myxozoa, Bivalvulida) with phylogenetic analysis inferred from 28S rDNA and ITS-5.8S sequence data[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2011, 36(1): 84-92.
- [17] Andree K B, El-Matbouli M, Hoffman R W, et al. Comparison of 18S and ITS-1 rDNA sequences of selected geographic isolates of *Myxobolus cerebralis*[J]. *International Journal for Parasitology*, 1999, 29(5): 771-775.
- [18] Kumazaki T, Hori H, Osawa S. Phylogeny of protozoa deduced from 5S rRNA sequences[J]. *Journal Molecular Evolution*, 1983, 19(6): 411-419.
- [19] Atkinson S D, Bartholomew J L. Disparate infection patterns of *Ceratomyxa shasta* (Myxozoa) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) correlate with internal transcribed spacer-1 sequence variation in the parasite[J]. *International Journal for Parasitology*, 2010, 40(5): 599-604.
- [20] 赵元著, 马成伦, 宋微波. 海水养殖中原生动物病原虫的鉴定—II. 粘孢子虫原生动物的研究及鉴定方法[J]. *青岛海洋大学学报*, 2001, 31(5): 681-688.
Zhao Y J, Ma C L, Song W B. Illustrated guide to the identification of pathogenic protozoa in mariculture—II, diagnostic methods for the myxosporean[J]. *Journal of Qingdao Ocean University*, 2001, 31(5): 681-688.
- [21] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular

Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0[J].Journal Molecular Evolution,2007,24(8):1596-1599.
[22] Stamatakis A, Hoover P, Rougemont J A. Rapid bootstrap algorithm for the RAx ML Web-servers[J]. Systems

Biology, 2008, 57(5): 758-771.
[23] Foerster K U, Mering C, Hooper S. et al. Environments shape the nucleotide composition of genomes[J]. Embo reports, 2005, 6(12): 1208-1213.

Animal Sciences

Population Geography of *Henneguya doneci* Base on ITS-5.8S rDNA

GAO Yongjie, YANG Chengzhong, ZHAO Yuanjun

(Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: In the present study, the geographic variability of *Henneguya doneci*, collected from Dazhulin, Lianglu, Ciqikou in Chongqing and Poyang Lake in Jiangxi, was investigated based on ITS-5.8S rDNA. Phylogeny, genetic distance, variable sites and AT content analysis for the five populations of *Henneguya doneci* were conducted, the results indicated that there was a relatively close genetic relationship between the population from Poyang Lake in Jiangxi and other population from Chongqing except Ciqikou; the population of Ciqikou was the greatest variation and ancient population. ITS-5.8S rDNA of population 1 from Dazhulin and Lianglu doesn't show any difference. The content of AT on ITS-1 and ITS-2 in different population analyzed is comparatively high, while the content of 5.8S rDNA is low. Hence, we speculated that the population of Poyang Lake might be original from Chongqing by human factors; the population of Ciqikou was like an introduced population from somewhere; there could be a frequent gene exchange between population 1 from Dazhulin and the population from Lianglu; The analysis of individual gene region of ITS-5.8S rDNA showed that ITS-1 and ITS-2 genes were quite variable, while 5.8S rDNA was more conservative. ITS-1 and ITS-2 genes are ideal genetic markers for the population level of myxosporean, however, 5.8S rDNA doesn't have advantages on this level.

Key words: *Henneguya doneci*; ITS-5.8S rDNA; geographic variability