

甘肃省3种裂腹鱼遗传多样性与地理种群分化

娄晋铭¹ 张智² 王太³ 高坚¹

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070; 2. 中国科学院水生生物研究所水生生物多样性与保护重点实验室, 武汉 430072;
3. 甘肃省水产科学研究所/甘肃省冷水性鱼类种质资源与遗传育种重点实验室, 兰州 730030

摘要 于甘肃省境内长江水系、黄河水系和内陆河水系共8个采样点, 采集3种裂腹鱼亚科鱼类——黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*)、祁连裸鲤(*Gymnocypris chilianensis*)和嘉陵裸裂尻鱼(*Schizopygopsis kilingensis*)样本294尾, 以线粒体Cyt *b*基因为分子标记, 对3种裂腹鱼的系统发育关系进行分析, 并对其不同地理种群的遗传多样性现状与遗传分化情况进行研究。基于NJ和BI法构建的单倍型分子系统发育树结果发现, 黄河裸裂尻鱼构成单系, 且具有较高支持率; 而嘉陵裸裂尻鱼位于祁连裸鲤的分支内部。遗传多样性分析结果显示, 70尾黄河裸裂尻鱼的Cyt *b*基因共检测出23个单倍型, 单倍型多样性及核苷酸多样性分别为0.917和0.003 10; 132尾祁连裸鲤的Cyt *b*基因共检测出28个单倍型, 单倍型多样性及核苷酸多样性分别为0.819和0.009 82; 92尾嘉陵裸裂尻鱼的Cyt *b*基因共检测出13个单倍型, 单倍型多样性及核苷酸多样性分别为0.706和0.002 33。种群遗传分化研究结果表明, 这3种裂腹鱼同一物种的不同地理种群间均存在显著的遗传分化, 该结果揭示了地理隔离对3种裂腹鱼有显著的阻隔影响, 对整体的分化适应有重要作用, 因此在资源保护管理中应当作为不同的单元分别加以对待。

关键词 裂腹鱼; Cyt *b*基因; 遗传多样性; 种群分化; 甘肃省

中图分类号 Q 959.46⁺8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)04-0077-08

遗传多样性是指种内个体遗传变异的总和^[1]。种内的遗传多样性是物种及以上各水平多样性的最重要来源, 是物种进化和对环境适应的基础^[2]。因此, 对遗传多样性的研究可以揭示物种和种群分化的过程, 同时也可以了解种群的资源现状和历史动态, 促进生物多样性的保护与持续利用^[3]。

裂腹鱼类隶属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、裂腹鱼亚科(Schizothoracinae), 因其肛门和臀鳍两侧具有特化的臀鳞, 并在两列臀鳞之间的腹部中线上形成一条裂缝, 故被称为裂腹鱼类。裂腹鱼类是第三纪晚期分布于青藏高原的原始鲃类(Barbinae)长期适应于高原特殊环境的一个自然类群, 主要分布于青藏高原及其周围水系^[4-5]。甘肃省地处中国西北内陆, 自然环境复杂多样, 为黄土高原、青藏高原和蒙新高原的交汇地带。省境中部及南部为外流河, 分属黄河和长江两大水系; 省境北部为发源于祁连山脉的内陆河水系^[6]。目前, 甘肃省共调查发现裂腹鱼类6属11种, 广泛分布于以上

三大水系^[7]。前期野外调查研究发现黄河裸裂尻鱼、祁连裸鲤和嘉陵裸裂尻鱼在甘肃省境内多数流域中分布, 但系统发育分析发现裸鲤属及裸裂尻鱼属都不构成单系群^[8-9], 且几种高度特化等级的裂腹鱼类的系统发育关系尚未明确。此外, 针对这几种鱼类不同地理种群水平的遗传多样性与种群分化研究开展较少, 目前仅见基于线粒体控制区的嘉陵裸裂尻鱼种群遗传结构分析研究^[10]以及基于线粒体控制区与线粒体细胞色素*b*(Cyt *b*)基因对黄河裸裂尻鱼群体遗传结构的研究^[11-12], 但采样点和样本量都极为有限。因此, 通过扩大采样点及样本量, 可以进一步厘清物种间系统发育关系, 同时通过了解3种裂腹鱼遗传多样性现状和地理种群分化情况, 为制定相应保护对策的有效方法提供支撑。

线粒体DNA具有进化速率快、遗传变异较大以及遵循严格的母系遗传等特点, 目前已广泛应用于各种动物类群的系统发育和群体遗传学研究^[13-14]。Cyt *b*基因不仅能有效地评估物种与种群

收稿日期: 2019-03-11

基金项目: 甘肃省创新研究群体计划项目(1308RJIA003)

娄晋铭, 硕士研究生。研究方向: 鱼类分子生态学。E-mail: loujinming@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 高坚, 博士, 教授。研究方向: 水产动物营养与生理学。E-mail: gaojian@mail.hzau.edu.cn

的遗传多样性,同时也能比较和评估种群间遗传分化情况^[15-17],因此被广泛应用于分子系统发育与种群遗传学研究。

本研究采用线粒体 *Cyt b* 基因为分子标记,对分布于甘肃省境内的 3 种裂腹鱼类的遗传多样性及不同地理种群分化情况进行研究,分析其现有分布格局的形成及种群动态,以期对甘肃省裂腹鱼类的生物多样性研究及其资源保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

本研究所需的样本于 2017 年至 2018 年采自甘肃省内不同河段,分别隶属于长江水系嘉陵江支流、黄河水系部分支流以及内陆河水系,共计裂腹鱼亚科鱼类 3 种 294 尾。根据其地理分布,将其划分为 11 个地理种群。其中,黄河裸裂尻鱼 3 个种群共 70 尾,祁连裸鲤 5 个种群共 132 尾,嘉陵裸裂尻鱼 3 个

种群共 92 尾。由于祁连裸鲤黑河种群样本量较少,后续分析中将祁连裸鲤的黑河种群与黄羊河种群结合在一起共同分析。采集标本均用 95% 乙醇固定,保存于甘肃省冷水性鱼类种质资源与遗传育种重点实验室的标本室。标本详细信息见表 1。

1.2 基因组 DNA 的提取、PCR 扩增及测序

基因组 DNA 的提取采用高盐提取法进行^[18]。*Cyt b* 基因扩增和测序引物为 L14724 (5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGTTG-3') 和 H15915 (5'-CTCCG ATCTC CGGAT TACAA GAC -3')^[19]。PCR 反应总体积为 20 μ L,反应体系包括:2 \times Master Mix (Tsinke, Beijing) 10 μ L,上下游引物各 0.5 μ L (10 μ mol/L),基因组 DNA 模板 1 μ L,灭菌双蒸水 8 μ L。PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测目的片段,成功后送武汉天一辉远生物技术有限公司完成纯化与测序。

表 1 甘肃省 3 种裂腹鱼样本采集信息及基于线粒体 *Cyt b* 基因的遗传多样性信息

Table 1 Descriptive statistics by sampling site and genetic diversity for three Schizothoracinae fishes from Gansu Province

物种 Species	地点 Sampling sites	编号 Number	种群 大小 N	单倍 型数 h	变异位 点数 S	单倍型多 样性 Hd	核苷酸 多样性 Pi
祁连裸鲤 <i>Gymnocypris chilianensis</i>	内陆河_昌马河 Changma River, inland river	Q1	28	7	7	0.714	0.000 94
	内陆河_黑河 Hei River, inland river	Q2	2	1	0	/	/
	内陆河_东大河 & 西大河 Dongdahe River & Xidahe River, inland river	Q3	41	6	7	0.313	0.000 42
	内陆河_黄羊河 Huangyang River, inland river	Q4	29	10	45	0.773	0.006 04
	黄河_大夏河 Xia River, Yellow River	Q5	32	6	6	0.292	0.000 33
	合计 Total		132	28	59	0.819	0.009 82
黄河裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis pylzovi</i>	内陆河_黑河 Hei River, inland river	H1	29	9	12	0.852	0.002 62
	内陆河_黄羊河 Huangyang River, inland river	H2	6	2	7	0.533	0.003 27
	黄河_大夏河 Xia River, Yellow River	H3	35	15	17	0.889	0.002 62
	合计 Total		70	23	28	0.917	0.003 10
嘉陵裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis kialingensis</i>	嘉陵江_益哇乡 Yiwa Town, Jialing River	J1	23	4	9	0.249	0.000 76
	嘉陵江_腊子口 Lazikou Town, Jialing River	J2	32	3	3	0.486	0.000 87
	嘉陵江_白龙江 Bailong River, Jialing River	J3	37	9	12	0.637	0.002 28
	合计 Total		92	13	13	0.706	0.002 33

1.3 数据分析

DNA序列的比对采用Clustal X v2.0软件^[20],并在SeaView v4.7程序中进行手工校正^[21]。采用MEGA v6.0软件分析序列中各碱基含量及变异情况,并采用Kimura双参数模型计算转换/颠换比率(T_i/T_v)^[22]。使用DnaSP v6.0软件计算单倍型数目(number of haplotypes, h)、变异位点数目(number of polymorphic sites, S)、单倍型多样性(haplotype diversity, Hd)和核苷酸多样性(nucleotide diversity, Pi)^[23]。系统发育分析分别采用邻接法(neighbor-joining, NJ)和贝叶斯法(Bayesian, BI),以草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*, GenBank 登录号AF051860)以及裂腹鱼亚科厚唇裸重唇鱼(*Gymnodiptychus pachycheilus*)、花斑裸鲤(*Gymnocypris eckloni*)和青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*) (均为本研究采集、提取、扩增及测序)作为外类群。NJ树在MEGA v6.0软件中构建,系统树各分支的置信度采用自引导法(bootstrap)重复检验;采用Modeltest程序进行AIC检验选择最合适的进化模型后,利用MrBayes软件构建BI树,各分支的置信度以后验概率(posterior probability)来表示^[24]。使用Arlequin v3.5软件计算种群遗传分化水平,通过分子变异分析(analysis of molecular variance, AMOVA)检测遗传变异的来源,估算种群遗传结构和地理种群遗传变异的分布^[25]。在Arlequin软件中用种群差异的精确性检验(exact test of population differentiation)估算两两种群间分化水平指数 F_{ST} ^[25]。

2 结果与分析

2.1 Cyt b 基因序列变异分析

1)黄河裸裂尻鱼。本研究共得到70条黄河裸裂尻鱼Cyt b序列,比对后得到序列长度为1 140 bp,序列中无碱基的插入和缺失。共有28个变异位点,占总位点数的2.46%,其中单突变位点有11个,简约信息位点有17个。70尾黄河裸裂尻鱼样本的平均碱基组成为:A=25.4%,T=30.9%,G=17.0%,C=26.7%,平均 T_i/T_v 的值为9.02。

2)祁连裸鲤。本研究共得到132条祁连裸鲤Cyt b序列,比对后得到序列长度为1 140 bp,序列中无碱基的插入和缺失。共检测到59个变异位点,占总位点数的5.18%,其中单突变位点仅5个,而简约信息位点有54个。132尾祁连裸鲤Cyt b序列的

平均碱基组成为:A=25.4%,T=31.0%,G=17.1%,C=26.5%,平均 T_i/T_v 的值为4.24。

3)嘉陵裸裂尻鱼。本研究共得到92条嘉陵裸裂尻鱼Cyt b序列,比对后得到序列长度为1 140 bp,序列中无碱基的插入和缺失。共有13个变异位点,占总位点数的1.14%,其中单突变位点有4个,简约信息位点有9个。92尾嘉陵裸裂尻鱼样本的平均碱基组成为:A=25.8%,T=30.9%,G=16.7%,C=26.6%,平均 T_i/T_v 的值为4.41。

所有Cyt b基因序列的转换和颠换均未达到饱和,转换数明显大于颠换数,所有个体平均碱基组成A+T的含量高于G+C的含量,G的含量尤其在第3位密码子的含量最低,碱基组成表现出了明显的偏倚,符合脊椎动物线粒体DNA的共同特征^[16-17]。所有Cyt b基因单倍型序列已全部提交至GenBank,登录号为MK690948~MK691011。

2.2 系统发育关系

利用NJ法和BI法对单倍型构建系统发育树,探讨3种裂腹鱼的系统发育关系。结果显示2种方法做出的系统发育树拓扑结构一致,以NJ树为例(图1),黄河裸裂尻鱼黄河水系种群和内陆河水系种群聚为一支构成单系。而祁连裸鲤则明显分为三支,分别是黄河水系种群、内陆河水系昌马河种群以及内陆河水系黑河、东西大河及黄羊河种群,特别是祁连裸鲤黄河种群和昌马河种群首先与嘉陵江水系嘉陵裸裂尻鱼聚在一起,而后才与其他祁连裸鲤种群聚在一起。祁连裸鲤未与裸鲤属花斑裸鲤、青海湖裸鲤聚为一支,反而与裸裂尻鱼属鱼类聚为一支。

2.3 单倍型多样性和核苷酸多样性

3种裂腹鱼合计294尾样本,共检测到64个单倍型,不同物种间无共享单倍型。其中,黄河裸裂尻鱼整体单倍型多样性最高,为0.917;祁连裸鲤次之,为0.819;嘉陵裸裂尻鱼整体单倍型多样性最低,为0.706。而祁连裸鲤整体核苷酸多样性最高,为0.009 82;而黄河裸裂尻鱼和嘉陵裸裂尻鱼整体核苷酸多样性都较低,分别为0.003 10和0.002 33。将3种裂腹鱼分别单独分析不同地理种群遗传多样性,结果如下:

1)黄河裸裂尻鱼。70尾黄河裸裂尻鱼样本共由23个单倍型组成,其中黄河大夏河(H3)种群单倍型多样性最高,为0.889;内陆河水系黑河(H1)种群次之,为0.852;黄羊河(H2)种群单倍型多样性最

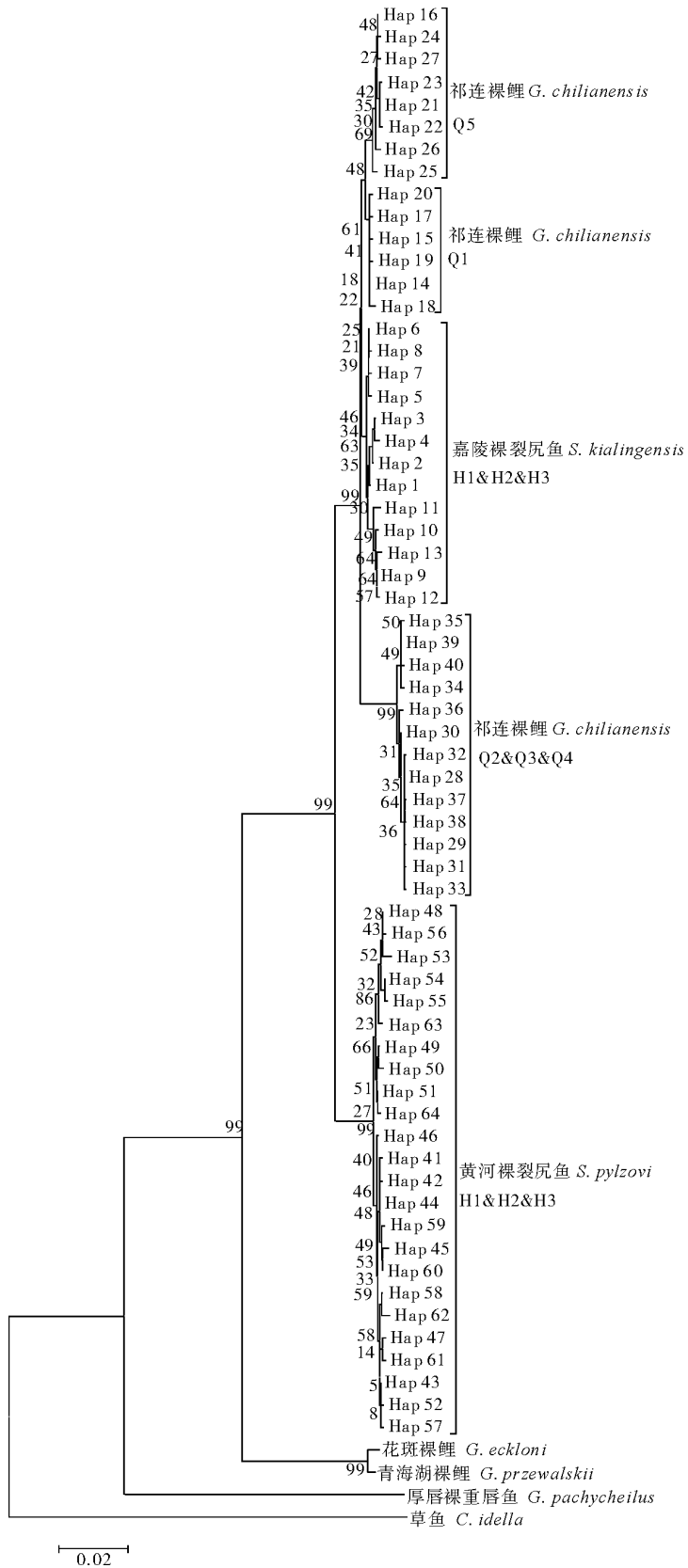


图 1 基于 *Cyt b* 基因的甘肃省裂腹鱼类单倍型 NJ 树 (节点处数值为支持率)

Fig.1 Phylogenetic relationships of haplotypes derived from NJ analyses based on *Cyt b* gene sequences (the value at nodes represent support value)

低,仅为 0.533。而黄羊河种群(H2)核苷酸多样性最高,为 0.003 27;黑河(H1)种群及黄河大夏河种群(H3)核苷酸多样性较低,均为 0.002 62。

2)祁连裸鲤。132 尾祁连裸鲤由 28 个单倍型组成,内陆河水系黄羊河(Q4)种群单倍型多样性最高,为 0.773,昌马河(Q1)种群次之;而黄河大夏河(Q5)种群单倍型多样性最低,仅为 0.292。黄羊河(Q4)种群核苷酸多样性同样最高,达到 0.006 04;而黄河大夏河(Q5)种群核苷酸多样性最低,为 0.000 33。

3)嘉陵裸裂尻鱼。92 尾嘉陵裸裂尻鱼仅存在 13 个单倍型,其中白龙江(J3)种群单倍型多样性最

高,为 0.637;而益哇乡(J1)种群单倍型多样性最低,为 0.249。白龙江(J3)种群核苷酸多样性同样最高,为 0.002 28;益哇乡(J1)种群核苷酸多样性最低,为 0.000 76。

2.4 地理种群结构与遗传分化

1)黄河裸裂尻鱼。将黄河裸裂尻鱼几个地理种群根据不同水系分为黄河水系和内陆河水系 2 组进行分子方差分析,AMOVA 结果表明(表 2),黄河裸裂尻鱼种群内存在较高的遗传变异(78.94%)。通过 Arlequin 软件对黄河裸裂尻鱼不同种群间遗传分化情况进行分析,结果表明,黄河裸裂尻鱼 3 个种群间均存在显著的高度分化(表 3)。

表 2 黄河裸裂尻鱼种群基于 Cyt b 的分子方差分析

Table 2 AMOVA for different populations of *Schizopygopsis pylzovi* based on Cyt b gene

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	变异分量 Variance components	变异百分比/% Percentage of variation
组间 Among groups	1	12.986	-0.148 00	-7.67
组内种群间 Among populations within groups	1	7.033	0.554 25	28.74
种群内 Within populations	67	101.995	1.522 32	78.94
总计 Total	69	122.014	1.928 57	

表 3 黄河裸裂尻鱼种群基于 Cyt b 序列的成对 F_{ST} 值

Table 3 Pairwise F_{ST} among different geographic populations of *Schizopygopsis pylzovi*

种群 Population	H1	H2	H3
H1		**	**
H2	0.262 2		**
H3	0.215 4	0.201 4	

注 Note: H1:黑河 Hei River; H2:黄羊河 Huangyanghe River; H3:大夏河 Xia River; 对角线以上为校正 P 值:
** $P < 0.01$ 。Above diagonal: ** $P < 0.01$ 。

2)祁连裸鲤。祁连裸鲤同样可根据不同水系分为黄河水系与内陆河水系 2 组进行分子方差分析,AMOVA 结果则表明(表 4),遗传变异主要发生在组内种群间(82.16%)。种群间遗传分化分析结果表明(表 5),祁连裸鲤 5 个种群间除黄羊河与东西大河种群间呈中度分化外,其余各种种群间全部存在显著的高度分化。

表 4 祁连裸鲤种群基于 Cyt b 的分子方差分析

Table 4 AMOVA for different populations of *Gymnocypris chilianensis* based on Cyt b gene

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	变异分量 Variance components	变异百分比/% Percentage of variation
组间 Among groups	1	206.704	0.295 08	4.08
组内种群间 Among populations within groups	3	400.243	5.938 12	82.16
种群内 Within populations	127	126.299	0.994 48	13.76
总计 Total	131	733.447	7.227 67	

表 5 祁连裸鲤种群基于 Cyt b 序列的成对 F_{ST} 值

Table 5 Pairwise F_{ST} among different geographic populations of *Gymnocypris chilianensis*

种群 Population	Q1	Q2 & Q4	Q3	Q5
Q1		**	**	**
Q2 & Q4	0.808 9		**	**
Q3	0.965 2	0.090 6		**
Q5	0.879 7	0.802 8	0.974 7	

注 Note: Q1:昌马河 Changma River; Q2 & Q4:黑河 & 黄羊河 Hei River & Huangyanghe River; Q3:东大河 & 西大河 Dongdahe & Xidahe River; Q5:黄河 Yellow River. 对角线以上为校正 P 值: ** $P < 0.01$ 。Above diagonal: ** $P < 0.01$ 。

3)嘉陵裸裂尻鱼。由于嘉陵裸裂尻鱼采样点全部属于长江水系嘉陵江支流白龙江上游,故未进行分子方差分析。种群间遗传分化分析结果表明(表 6),嘉陵裸裂尻鱼腊子口种群与白龙江和益哇乡种群均存在显著的高度分化,而白龙江与益哇乡种群检测出显著的中度分化。

3 讨论

3.1 甘肃省 3 种裂腹鱼的系统发育关系及物种分化 He 等^[8] 以及 He 等^[26-27] 基于线粒体 Cyt b 序

表 6 嘉陵裸裂尻鱼种群基于 Cyt b 序列的成对 F_{ST} 值Table 6 Pairwise F_{ST} among different geographic populations of *Schizopygopsis kialingensis*

种群 Population	J1	J2	J3
J1		*	**
J2	0.770 7		**
J3	0.102 1	0.460 2	

注 Note: J1: 益哇乡 Yiwa Town; J2: 腊子口 Lazikou Town; J3: 白龙江 Bailong River. 对角线以上为校正 P 值。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Above diagonal; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

列分析了裂腹鱼类的系统发育关系,结果表明系统发育分析与形态学研究结果不完全一致,主要分歧表现为裸鲤属与裸裂尻鱼属不构成单系群。张艳萍等^[9]基于线粒体 Cyt b 基因对甘肃省几种裂腹鱼系统发育关系研究同样得到了相似的结论,特别是祁连裸鲤首先与嘉陵裸裂尻鱼和黄河裸裂尻鱼聚在一起,而未与同属的花斑裸鲤等聚为一支。本研究中,系统发育分析结果与上述研究结果一致,祁连裸鲤与 2 种裸裂尻鱼聚为一支,而未与裸鲤属的花斑裸鲤和青海湖裸鲤聚为一支。基于以上结果,我们认为祁连裸鲤的物种分类可能需要重新探讨。此外,种间和种内的分子系统关系表明这 3 个物种种群并未形成各自独立的谱系,特别是祁连裸鲤黄河种群和昌马河种群与异域分布的嘉陵裸裂尻鱼个体保持更近的亲缘关系,而与之同域分布的黄河裸裂尻鱼亲缘关系更远,这暗示它们拥有一个最近的共同祖先。我们推断这可能是由于这 2 个物种处于物种分化的早期阶段,嘉陵裸裂尻鱼起源于祁连裸鲤的某一个种群,在嘉陵裸裂尻鱼独立成种后,剩下的祁连裸鲤种群不构成单系,而是形成并系。类似的现象在我国克氏鳊的物种分化中也有出现^[28-29]。本研究结果表明,嘉陵裸裂尻鱼与祁连裸鲤可能还处在不完全的谱系分选阶段(incomplete lineage sorting),尚未分别形成单系。我们推测在地质构造变动过程中,一部分内陆河水系的祁连裸鲤经由可能存在的路径进入长江水系,并在后来的进化过程中,长期的地理隔离以及巨大的环境差异等原因导致了嘉陵裸裂尻鱼的物种形成。

3.2 甘肃省 3 种裂腹鱼的地理种群分化

同一种鱼类栖息于不同的环境中,可能造成鱼类基因流的限制或中断^[16-17]。种群遗传分化系数(F_{ST})可在一定程度上指示种群间基因流和遗传漂变的程度,是反映群体进化历史的重要参数。Wright^[30]认为,若种群遗传分化系数 F_{ST} 值在 0~0.05,说明不存在分化; F_{ST} 值在 0.05~0.15,为中度

分化; F_{ST} 值在 0.15~0.25,则为高度分化。本研究中种群遗传分化分析结果显示 3 种裂腹鱼不同地理种群间全部存在着显著的遗传分化,遗传分化系数在 0.090 6~0.976 7。特别是祁连裸鲤除了东西大河种群与黄羊河种群存在中度分化外,其余种群两两间 F_{ST} 值均大于 0.8,这可能是由于地理隔离导致的物种形成的早期阶段。基于线粒体控制区基因分析的嘉陵裸裂尻鱼益哇乡和腊子口种群间同样存在极显著的遗传分化($F_{ST} = 0.449 3, P < 0.01$)^[10]。祁得林等^[12]对分布于柴达木水系及黄河水系的黄河裸裂尻鱼 5 个地理种群进行遗传结构分析,结果表明 5 个种群间均呈现出了显著的遗传分化($F_{ST} = 0.186 3 \sim 0.358 7, P < 0.05$)。本研究结果与上述结果一致,表明几种裂腹鱼类不同地理种群间存在着显著分化,说明这几种裂腹鱼扩散能力较弱,容易由于地理隔离而产生分化。

3.3 甘肃省 3 种裂腹鱼的遗传多样性与资源保护

遗传多样性是生物多样性的基础,也是物种长期生存和进化的前提,单倍型多样性和核苷酸多样性是衡量一个物种群体 DNA 变异程度的重要指标,遗传多样性越高,即遗传变异越丰富,则对环境的适应能力就越强,其生存竞争力就越强^[31]。本研究在 3 种裂腹鱼中共检测到 64 个单倍型,3 种裂腹鱼不同种群的单倍型多样性和核苷酸多样性,除黄河裸裂尻鱼黄河大夏河种群和黑河种群外,均低于一些裂腹鱼类的遗传多样性,例如怒江的怒江裂腹鱼的 Hd 和 Pi 分别为 0.965 和 0.002 40^[32];雅鲁藏布江中上游异齿裂腹鱼的 Hd 和 Pi 分别为 0.833~0.985 和 0.003 11~0.014 91^[33]。但高于采自青海省柴达木水系以及黄河水系的黄河裸裂尻鱼^[11]。

Grant 等^[34]对 Hd 和 Pi 值大小变化情况进行了分析,提出了 4 种模式。Pi < 0.5%, Hd < 0.5 时,说明种群近期发生了瓶颈效应或奠基者事件;Pi < 0.5%, Hd ≥ 0.5 时,说明种群发生瓶颈效应后又伴随着种群的快速增长及累积突变;Pi ≥ 0.5%, Hd < 0.5 时,说明地理种群的再分化引起的分歧;Pi ≥ 0.5%, Hd ≥ 0.5 时,说明大而稳定的种群有着长期进化历史,或者由于不同分化的谱系出现的二次交流。本研究结果显示,3 种裂腹鱼总体具有较高的单倍型多样性,符合鱼类种群数量大、分布广,且遗传多样性丰富的特点。总体核苷酸多样性表现为祁连裸鲤较高,而黄河裸裂尻鱼和嘉陵裸裂尻鱼较低,说明祁连裸鲤数量较为庞大而且比较稳定。由表 7 可知,2 种裸裂尻鱼出现这种单倍型多样性高而核

核苷酸多样性低的模式,可能是群体受到瓶颈效应后种群迅速扩张所导致的结果,因为核苷酸多样性的积累时间比单倍型多样性的积累时间要漫长的多,亦有可能是种群进化历史很短^[34-35]。

鱼类种群遗传多样性和遗传结构的研究结果能够为物种保护策略与渔业管理措施的制定提供科学理论依据^[36]。由于几种裂腹鱼核苷酸多样性都处于较低水平,并且不同地理种群间的遗传分化很大,反映出近期发生了频繁的隔离事件,在资源保护管理中应视为进化显著单元(evolutionary significant units)分别加以保护,以防遗传资源的丧失^[37]。

参 考 文 献

- [1] REED D H, FRANKHAM R. Correlation between fitness and genetic diversity[J]. *Conservation biology*, 2003, 17(1): 230-237.
- [2] SOLBRIG O T. From genes to ecosystems; a research agenda for biodiversity: report of a IUBS-SCOPE-UNESCO workshop [R]. Massachusetts: Cambridge, 1991: 1-124.
- [3] FÉRAL J P. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? [J]. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 2002, 268(2): 121-145.
- [4] 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: 347-352.
- [5] 代应贵, 肖海. 裂腹鱼类种质多样性研究综述[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(32): 38-46.
- [6] 王太, 张艳萍, 管丽红, 等. 甘肃省鱼类资源现状及 DNA 条形码在鱼类物种鉴定中的应用[J]. *生物多样性*, 2015, 23(3): 306-313.
- [7] 王香亭. 甘肃脊椎动物志[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1991: 98-112.
- [8] HE D K, CHEN Y F, CHEN Y Y, et al. Molecular phylogeny of the specialized schizothoracine fishes (Teleostei: Cyprinidae), with their implications for the uplift of the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Chinese science bulletin*, 2004, 49(1): 39-48.
- [9] 张艳萍, 杜岩岩, 姜忠玉, 等. 甘肃省几种裂腹鱼类系统发育关系探讨[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2013, 49(5): 91-102.
- [10] 王太, 杜岩岩, 杨濯羽, 等. 基于线粒体控制区的嘉陵裸裂尻鱼种群遗传结构分析[J]. *生态学报*, 2017, 37(22): 7741-7749.
- [11] 赵凯, 杨公社, 李俊兵, 等. 黄河裸裂尻鱼群体遗传结构和 Cyt b 序列变异[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(2): 129-133.
- [12] 祁得林, 晁燕, 郭松长, 等. 黄河裸裂尻鱼五种群 mtDNA 控制区的遗传结构[J]. *动物学报*, 2008, 54(6): 972-980.
- [13] AVISE J C. Molecular markers, natural history and evolution [M]. New York: Chapman & Hall, 1994: 141-397.
- [14] 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.
- [15] WLASIUK G, GARZA J C, LESSA E P. Genetic and geographic differentiation in the Rio Negro tuco-tuco (*Ctenomys rionegrensis*): inferring the roles of migration and drift from multiple genetic markers [J]. *Evolution*, 2003, 57(4): 913-926.
- [16] 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.
- [17] 李文静, 王环珊, 刘焕章, 等. 赤水河半鳊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.
- [18] ALJANABI S M, MARTINEZ I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques [J]. *Nucleic acids research*, 1997, 25(22): 4692-4693.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] GOUY M, GUINDON S, GASCUEL O. Seaview version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building [J]. *Molecular biology and evolution*, 2010, 27(2): 221-224.
- [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] ROZAS J, FERRER-MATA A, SÁNCHEZ-DELBARRIO J C, et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets [J]. *Molecular biology and evolution*, 2017, 34(12): 3299-3302.
- [24] RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. *Systematic biology*, 2012, 61(3): 539-542.
- [25] EXCOFFIER L, LISCHER H E. 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.
- [26] HE D K, CHEN Y F. Biogeography and molecular phylogeny of the genus *Schizothorax* (Teleostei: Cyprinidae) in China inferred from cytochrome *b* sequences [J]. *Journal of Biogeography*, 2006(33): 1448-1460.
- [27] HE D K, CHEN Y F. Molecular phylogeny and biogeography of the highly specialized grade schizothoracine fishes (Teleostei: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences [J]. *Chinese science bulletin*, 2007, 52(6): 777-788.
- [28] ZHANG L, TANG Q Y, LIU H Z. Phylogeny and speciation of the Eastern Asian cyprinid genus *Sarcocheilichthys* [J]. *Journal of fish biology*, 2008, 72(5): 1122-1137.
- [29] 刘思情, 唐琼英, 李小娟, 等. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因的黑

- 鳙鱼(*Sarcocheilichthys nigripinnis*)生物地理学过程分析[J]. 动物学研究, 2013, 34(5): 437-445.
- [30] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations: variability within and among populations V.4 [M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978: 237-240.
- [31] NEIGEL J E, AVISE J C. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation[J]. Genetics, 1993, 135(4): 1209-1220.
- [32] CHEN W T, DU K, HE S P. Genetic structure and historical demography of *Schizothorax nukiangensis* (Cyprinidae) in continuous habitat [J]. Ecology and evolution, 2015, 5(4): 984-995.
- [33] HE D K, CHEN, Y F. Phylogeography of *Schizothorax o'connori* (Cyprinidae: Schizothoracinae) in the Yarlung Tsangpo River, Tibet [J]. Hydrobiologia, 2009, 635(1): 251-262.
- [34] 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.
- [35] ARUNDELL K, DUNN A M, ALEXANDER J, et al. Enemy release and genetic founder effects in invasive killer shrimp populations of Great Britain [J]. Biological invasions, 2015, 17(5): 1439-1451.
- [36] LOESCHCKE V, TOMIUK J, JAIN S K. Conservation genetics (Vol. 68) [M]. Basel: Birkhäuser, 2013: 37-53.
- [37] MORITZ C. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation [J]. Trends in ecology and evolution, 1994, 9(10): 373-375.

Genetic diversity and population differentiation of three Schizothoracinae fishes in Gansu Province

LOU Jinming¹ ZHANG Zhi² WANG Tai³ GAO Jian¹

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. The Key Laboratory of Aquatic Biodiversity and Conservation, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

3. Gansu Key Laboratory of Cold Water Fishes Germplasm Resources and Genetic Breeding, Gansu Fishery Research Institute, Lanzhou 730030, China

Abstract In the present study, 294 Schizothoracinae specimens of *Schizopygopsis pylzovi*, *Gymnocypris chilianensis* and *Schizopygopsis kialingensis*, were collected from 8 sampling sites from the Yangtze River, the Yellow River and inland rivers in Gansu Province. Mitochondrial DNA Cyt *b* gene was used as molecular marker to perform the phylogenetic analyses, genetic diversity and population differentiation analysis of the 3 Schizothoracinae fishes. Phylogenetic analyses of all haplotypes based on NJ and BI methods revealed that *S. pylzovi* was clustered as a monophyletic group. However, *S. kialingensis* was clustered into a clad with *G. chilianensis*, suggesting that the two species are under early stage of speciation. Genetic diversity analysis showed that a total of 23 haplotypes were detected in the Cyt *b* gene of 70 *S. pylzovi*, with the haplotype diversity and nucleotide diversity being 0.917 and 0.003 10, respectively. A total of 28 haplotypes were detected in the Cyt *b* gene of 132 *G. chilianensis*, with the haplotype diversity and nucleotide diversity being 0.819 and 0.009 82, respectively. A total of 13 haplotypes were detected in the Cyt *b* gene of 92 *S. kialingensis*, with the haplotype diversity and nucleotide diversity being 0.706 and 0.002 33, respectively. No haplotypes were shared between either two different species, and significant population differentiation were detected among geographic populations, showing that geographic isolation has a significant impact on these Schizothoracinae fishes, and adaptive differentiation as well. Hence, different populations should be treated as different evolutionary significant units in conservation management.

Keywords Schizothoracinae; Cyt *b* gene; genetic diversity; population differentiation; Gansu Province

(责任编辑:边书京)