

doi: 10.7541/2014.89

# 长江流域鲮种群遗传多样性和遗传结构分析

范 启<sup>1,2</sup> 何舜平<sup>1</sup>

(1. 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; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 鱼类群体遗传学研究主要集中在经济鱼类或濒危物种, 然而一些经济价值较低的物种的遗传结构却甚少关注。因此, 研究选择了经济价值较低的鲮(*Hemiculter leucisculus*), 共计 323 尾个体分别来自 13 个长江流域及其附属湖泊的自然群体。通过扩增线粒体 DNA Cytb 基因序列片段(1100 bp), 以探讨鲮种群遗传结构和遗传多样性。遗传多样性分析呈现出高单倍型多样性和高核苷酸多样性的模式, 表明该种群在长江流域较为稳定。另外, 基于线粒体细胞色素 *b* 基因的系统发育分析, 显示鲮有 5 个线粒体谱系(谱系 A-F)组成。中性检验和核苷酸错配分布分析均显示谱系 A、B、E、F 曾经历过种群扩张, 并且呈现从上游向中游扩张的规律。谱系间较高且显著的遗传分化指数和显著的系统进化关系, 均表明谱系 A-F 之间存在明显的遗传分化, 暗示长江流域可能至少存在 4 个不同线粒体 DNA 水平上的种。鲮种群的遗传结构和多样性可能受到了长江流域特定格局的影响。

**关键词:** 鲮; 遗传结构; 细胞色素 *b* 基因; 遗传多样性; 长江流域

中图分类号: Q346<sup>+.5</sup> 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2014)04-0627-9

鲮 *Hemiculter leucisculus* (Basilewsky, 1855) 隶属于鲤形目鲮亚科鲮属, 是一种繁殖快、生活力强的小型鱼类。其形态特征是: 体扁而长, 头后背面平直, 腹部略外凸, 鳃 2 室。腹棱完全<sup>[1]</sup>。侧线在胸鳍上方急剧向下弯曲, 至臀鳍基底后方又弯折上行至尾柄正中。头尖, 口端位, 口裂向上倾斜。上、下颌几乎等长, 眼大、侧位、背鳍末根不分支鳍条是光滑硬刺, 其长度短于头长。体呈银白色, 北部为青灰色。鲮在静水、流水中都能生长、繁殖。目前, 对经济价值相对较低的鲮遗传多样性研究得比较少, 鲮的研究主要集中在分类学、生物学特性和营养学方面<sup>[2, 3]</sup>。本种在我国分布极广, 自南至北诸河流及湖泊均有, 也分布于越南、朝鲜、俄罗斯, 因此是作为群体遗传学研究的好材料。目前大部分针对鱼类的群体遗传学研究主要集中在经济鱼类或者濒危鱼类, 而对经济相对偏低的小型鱼类的研究常被忽视。但是, 这些鱼类同样也是鱼类生态系统的重要组成部分, 对其进行群体遗传结构的研究可以使我

们更为全面地了解鱼类生态系统的资源状况, 同样具有重要的意义。线粒体 DNA, 由于其严格的母性遗传以及在大部分动物中几乎不存在重组现象, 因此已经成为群体遗传学中运用比较普遍的分子标记。而关于鲮种群的遗传结构和多样性的研究几乎没有报道, 故本文通过采用线粒体 Cyt *b* 基因对长江中上游的鲮种群进行遗传分化的研究, 旨在揭示长江流域及中游一些湖泊这种特殊的地理格局对这种广泛分布的物种的遗传结构和物种分化产生的影响, 以期结合生物地理学探讨鲮在群体水平上对长江流域复杂生境的适应。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本鉴定与收集

本研究所用的鲮样本依据《中国动物志》(硬骨纲, 鲤形目)(中卷)<sup>[1]</sup>的检索系统进行标本鉴定。采用的 323 尾鲮分别来自 13 个采样地, 其中采自乐山市五通桥区(编号 WTQ)19 尾、四川合江(HJ)5 尾、四

收稿日期: 2013-05-08; 修订日期: 2013-12-01

基金项目: 重大基金项目(Y11321-1-101)资助

作者简介: 范启(1986—), 男, 湖北浠水人; 硕士研究生; 主要从事种群遗传研究。E-mail: fanqi0.618@163.com

通信作者: 何舜平, E-mail: clad@ihb.ac.cn

川泸州(LZ)37尾、重庆木洞(MD)28尾、宜昌秭归(ZG)35尾、岳阳洞庭湖(DT)29尾、湖北洪湖(HH)26尾、湖北嘉鱼县(JY)5尾、武汉金口(JK)10尾、武汉东湖(DH)30尾、鄂州梁子湖(LZH)41尾、湖北武穴(WX)31尾、江西鄱阳湖(PYH)的27尾。选取1尾翘嘴鲌(*Culter alburnus*)作为构建进化树的外类群。

## 1.2 DNA提取、扩增和测序

DNA提取的方法是,取其左侧偶鳍或者背侧肌肉,置于95%酒精中,保存于4℃冰箱中备用。采用标准的酚-氯仿法提取基因组DNA。Cyt *b* 基因扩增的通用引物序列: L14724 (5'-GACTTGAAAAA CCACCGTTG-3'), H15915 (5'-CTCCGATCTCCGGA TTACAAGAC-3')。PCR反应总体积为30 μL,其中含60 ng基因组DNA, 10 ×缓冲液3 μL, dNTP(各2.5 mmol/L)1.5 μL, 正反向引物(10 mmol/L)各1.5 μL, *Taq* 聚合酶1.5 U, 最后补足灭菌双蒸水至终体积。PCR反应条件为: 94℃预变性3min, 然后30个循环(包括94℃变性1min, 50℃退火1min, 72℃延伸1min), 最后在72℃延伸10min。PCR产物使用1%的琼脂糖凝胶电泳检测完整性。PCR产物经过纯化, 送商业测序公司测序, 测序引物与PCR引物相同。

## 1.3 数据统计与分析

在SeqMan II 程序中手工校正DNA序列, 序列的多重比对在Clustal W软件中进行。用MEGA4.0软件计算样品之间的遗传距离。

用MEGA5.0构建所有序列的和单倍型的邻接树(NJ)。选择翘嘴鲌(*Culter alburnus*)作为外类群。

单倍型之间的进化关系采用系统发育网络分析, 在network4.611软件中完成。用dnasp5.10.0.1软件统计群体单倍型多样性( $H_d$ )和核苷酸多样性( $\pi$ ); 并用ARLEQUIN3.0软件包中的AMOVA方法(Analysis of molecular variance)估计可能的群体遗传结构和遗传变异的地理分布。AMOVA根据单倍型的频率及单倍型序列之间的差异, 来检验不同等级水平(地理群体、组内不同地理群体之间、不同组间)的遗传结构在变异参数上是否存在显著差异。其中, 使组间差异( $F_{ct}$  值为衡量标准)达到最大的划分方式是群体遗传变异最为合理的分布格局。本研究将323个样本分别按地理分布、系统树识别的进化谱系划分为不同的组, 用于估计群体结构及遗传变异的地理分布。利用ARLEQUIN 3.0软件包中的蒙特测验(Mantel test)(1000置换)进行IBD (Isolation by distance), 估计地理距离矩阵与遗传分化矩阵的

相关系数, 地理距离可以大致通过取样点的经纬度坐标(表1)来测定。

联合使用Fu'Fs检验、Tajima'D中性检验和核苷酸不配对分布(Mismatch distribution)推断群体是否发生扩张的历史。一般地, 群体如果遵守严格分子钟模式, 则可以用T群体的扩张时间( $T = \tau/2u$ )进行估算,  $\tau$ 是根据广义非线性最小二乘法所估计的群体扩张参数;  $u$ 依据 $u = 2 \times \mu \times k$ 计算, 其中 $\mu$ 是基因序列每一世代的突变率,  $k$ 是分析序列的碱基数。

## 2 结果

### 2.1 遗传多样性

对来自长江流域及其周围湖泊的323尾个体的Cyt *b* 序列进行排序较对后, 得到长为1110 bp的细胞色素*b*序列片段。GenBank登录号为: KF020899-KF021222。

经过分析, 研究的所有序列中, A、T、C、G四种碱基平均含量分别为28.0%、28.2%、28.4%、15.4%, A+T的含量为56.2%, 明显高于G+C的含量43.8%。323条序列检测到175个单倍型, 变异位点244个, 约占全序列的21.98%, 其中单核苷酸变异位点56个, 简约信息位点有188个。这244个突变位点, 有18个为非同义突变, 226个为同义突变。突变方式检验结果显示, 转换位点(Ts)有35个, 颠换位点(Tv)2个, 平均转换和颠换比(Ts/Tv)为19.50。323条Cyt *b*序列定义了175个单倍型。

遗传多样性分析结果如表1所示, 所有样本平均单倍型多样性( $h$ )为0.9789±0.0041, 核苷酸多样性( $\pi$ )为0.03289±0.00224。在所有独立种群中, 嘉鱼群体单倍型多样性与核苷酸多样性均为最高(1.000±0.126、0.0618±0.0158), 合江群体则最低(0.400±0.237、0.0004±0.0002)。

### 2.2 群体遗传分化

13个群体Cyt *b*序列AMOVA分析结果显示, 群体间总遗传分化系数 $F_{st}=0.70370(P<0.01)$ , 在整个遗传变异中群体间占到70.37%。进一步对群体间两两比较分析显示, 群体间 $F_{st}$ 值为0.90356(武穴-秭归)至-0.01519(洪湖-东湖), 有58组 $F_{st}$ 值大于0.05。从遗传距离来看(表2), 秭归和梁子湖群体之间遗传距离最远为0.10336, 其次是秭归和合江群体之间, 遗传距离最近的是武穴和东湖群体之间, 遗传距离为仅为0.00595。各群体之间的遗传距离在0.10336—0.00595。

表 1 长江中蟹 13 个群体代码、样本量及遗传多样性  
Tab. 1 Codes, sample numbers and genetic diversity of 13 *Hemiculter leucisculus* populations in the Yangtze River

代号 Code	纬度 N	经度 E	样本量 Sample numbers	单倍型数目 Number of haplotypes Hap (p.)	单倍型多样性 Haplotype diversity $H_d$	核苷酸多样性 Nucleotide diversity $P_i$	多态位点数 Numbers of polymorphism loci
WTQ	N29.412535°	E114.35471°	19	9(4)	0.889±0.046	0.00714±0.00049	27
HJ	N28.813525°	E114.35465°	5	2(1)	0.400±0.237	0.00036±0.00021	1
LZ	N28.80843°	E114.35468°	37	20(17)	0.940±0.021	0.01343±0.00294	62
MD	N29.570359°	E114.35470°	28	17(10)	0.913±0.043	0.02261±0.00135	62
ZG	N30.25966°	E114.35473°	35	32(30)	0.993±0.009	0.01179±0.00472	151
DT	N30.549456°	E114.35463°	29	22(15)	0.958±0.028	0.00612±0.00052	41
HH	N29.779278°	E114.35474°	26	17(8)	0.951±0.027	0.00598±0.00037	31
JY	N30.082°	E114.35467°	5	5(3)	1.000±0.126	0.06180±0.01583	121
JK	N30.334796°	E114.35466°	10	9(4)	0.978±0.054	0.00715±0.00089	22
DH	N29.382175°	E114.35464°	30	25(11)	0.982±0.016	0.000629±0.00032	41
LZH	N30.087699°	E114.35469°	41	30(17)	0.961±0.022	0.00971±0.00158	62
WX	N29.840197°	E114.35472°	31	25(11)	0.974±0.020	0.00567±0.00066	44
PYH	N29.249467°	E116.192951°	27	19(14)	0.957±0.026	0.00873±0.00261	73
all			323	175	0.9789±0.0041	0.03289±0.00224	244

表 2 蟹 13 个群体的遗传距离(对角线下)和遗传分化指数( $F_{st}$ )(对角线上)

Tab. 2 Pairwise genetic distances (below diagonal) and fixation index (above diagonal) among 13 populations of *Hemiculter leucisculus* from the middle and upper Yangtze River drainage

群体 Popula- tion	WTQ	HJ	LZ	MD	ZG	DT	HH	JY	JK	DH	LZH	WX	PYH
WTQ	—	0.85852	0.6842	0.37507*	0.89101	0.12513	0.14669	0.63968	0.11511	0.15353	0.13227	0.20249	0.15846
HJ	0.04184	—	0.07665*	0.23936	0.89123	0.87083	0.8797	0.58151	0.88209	0.87432	0.80151	0.88101	0.8175
LZ	0.03634	0.00933	—	0.16199	0.86357	0.71419	0.71439	0.67481	0.6758	0.71418	0.68271	0.72065	0.66874
MD	0.0258	0.02041	0.02216	—	0.82148	0.42227	0.41746	0.50939	0.23936	0.41826	0.39346	0.4262	0.3523
ZG	0.10211	0.10324	0.10177	0.10228	—	0.90047	0.90016	0.393	0.88589	0.90068	0.88617	0.90356	0.88708
DT	0.00772	0.04321	0.03696	0.02577	0.10221	—	-0.01519*	0.70265	-0.01115*	-0.00267*	0.03679*	0.05177*	0.07382
HH	0.00773	0.04351	0.0372	0.02579	0.10242	0.00609	—	0.69281	0.00927*	-0.1409*	0.02014*	0.01958*	0.04721*
JY	0.06648	0.0809	0.0776	0.07391	0.04744	0.06594	0.06597	—	0.54808	0.70138	0.677	0.71563	0.652393
JK	0.00815	0.04382	0.0374	0.02631	0.10317	0.00668	0.00664	0.06655	—	0.01327*	0.03264*	0.09885	0.08996
DH	0.00787	0.04306	0.03683	0.02555	0.10198	0.00624	0.00601	0.06578	0.00674	—	0.01557*	0.00099*	0.02286*
LZH	0.00996	0.04348	0.03778	0.02678	0.10336	0.00845	0.00816	0.06737	0.00897	0.00818	—	0.02023*	0.02707*
WX	0.00805	0.04261	0.03657	0.02524	0.10162	0.00636	0.00599	0.06561	0.00708	0.00595	0.00799	—	-0.00172*
PYH	0.00961	0.04104	0.03564	0.02522	0.10177	0.00823	0.00785	0.06634	0.00896	0.00772	0.00968	0.0073	—

注: \*表示差异不显著

Note: \*means no significant difference

利用 Arlequin 计算蟹群体间的  $N_m$  值(表 3), 湖泊群体之间, 大多数群体之间  $N_m$  在 0—1, 表明各群体间分化程度较高。另外, 金口群体与湖泊群体  $N_m$  值也均在 0—1。但是东湖群体与梁子湖  $N_m$  大于

4, 存在较为频繁的基因交流。东湖与鄱阳湖群体之间  $N_m$  值在 1—4, 说明这两个群体分化不大<sup>[4]</sup>, 可能与东湖曾经与长江连通有关, 另外东湖与梁子湖距离不远, 存在基因交流。

为了进一步分析蟹内部的遗传结构, 本文根据这种湖泊与非湖泊、上下游以及 mtDNA 谱系划分群体(表 4), 进行 AMOVA 分析(表 5)。无论哪一种分组法,  $\theta_{ST}$  均大于 0.7, 其中按 mtDNA 谱系分组,  $\theta_{ST}$  高达 0.92258。通过距离隔离分析(IBM), 得到的相关系数( $r=0.26, P=0.016$ ), 显示遗传分化系数和受距离影响不是太大(表 6), 不是影响群体间遗传分化的主要因素。

以翘嘴鲌(*Culter alburnus*)为外类群, 采用 NJ

法构建了单倍型关系树(图 1), 显示了 175 个单倍型之间的相互关系。H3、H50、H72、H101、H98、H135、H146 为主要的单倍型, 具有较大的频率或处在网络中的辐射中心。多个单倍型通过短枝与之相连, 表明近期突变形成的单倍型。单倍型进化网络图(图 2)与单倍型系统树的拓扑结构大体相一致, 形成了 5 个明显的谱系。各类群都含有自己特有的单倍型。其中单倍型 H3、H45、H50、H40、H22、H45、H98、H135 被多个群体共享, 其中出现频率最高的

表 3 利用 Arlequin 软件计算的蟹 13 个地理群体间基因流  $N_m$  值  
Tab.3  $N_m$  values among 13 populations of *Hemiculter leucisculus* analyzed by Arlequin3.0

群体 Population	WTQ	HJ	LZ	MD	ZG	DT	HH	JY	JK	DH	LZH	WX	PYH
WTQ	—												
HJ	0.067	—											
LZ	0.074	-45.372	—										
MD	6.023	0.239	0.200	—									
ZG	0.072	37.174	-187.969	0.200	—								
DT	1.589	0.945	0.684	2.587	0.695	—							
HH	0.061	0.064	0.055	0.079	0.055	0.109	—						
JY	0.112	5.057	6.274	0.248	21.368	0.919	0.064	—					
JK	0.360	0.412	0.212	0.241	0.213	0.482	0.772	0.266	—				
DH	0.068	4.558	9.159	0.194	505.051	0.673	0.053	-290.697	0.199	—			
LZH	0.068	53.475	-33.400	0.200	-35.997	0.698	0.055	10.091	0.222	25.038	—		
WX	0.124	14.814	13.089	0.232	31.606	0.771	0.064	17.966	0.239	24.213	24.331	—	
PYH	0.082	3.843	3.496	0.231	2.757	0.833	0.061	2.655	0.282	1.969	2.909	3.280	—

表 4 六个谱系个体来源数目统计  
Tab.4 Statistics of the individuals according to the sources for the 6 lineages

谱系 Lineage	WTQ	HJ	LZ	MD	ZG	DT	HH	JY	JK	DH	LZH	WX	PYH
A	3		3	8	1	14	14	1	4	17	24	22	19
B	6		2	5		16	12	1	6	12	12	8	5
C	10											1	1
D											5		1
E		5	32	15									1
F					34			3					

表 5 蟹群体分子变异分析结果  
Tab.5 Analysis of molecular variance (AMOVA) for the *Hemiculter leucisculus* populations

分组 Groups	$\theta_{ST}$	$\theta_{CT}$	$\theta_{sc}$	组间% Among groups	种群内% Within populations	P
湖泊/非湖泊 Lake/Non-lake	0.72328	0.14672	0.67569	14.67	27.67	0.07527
上下游 Upstream/Downstream	0.74581	0.29695	0.63844	29.7	25.42	0.00587
线粒体 DNA 谱系 mtDNA lineage	0.92258	0.56818	0.92258	56.82	7.74	0.25220
群体 Population	0.70370	—	—	70.37	29.63	0.00000

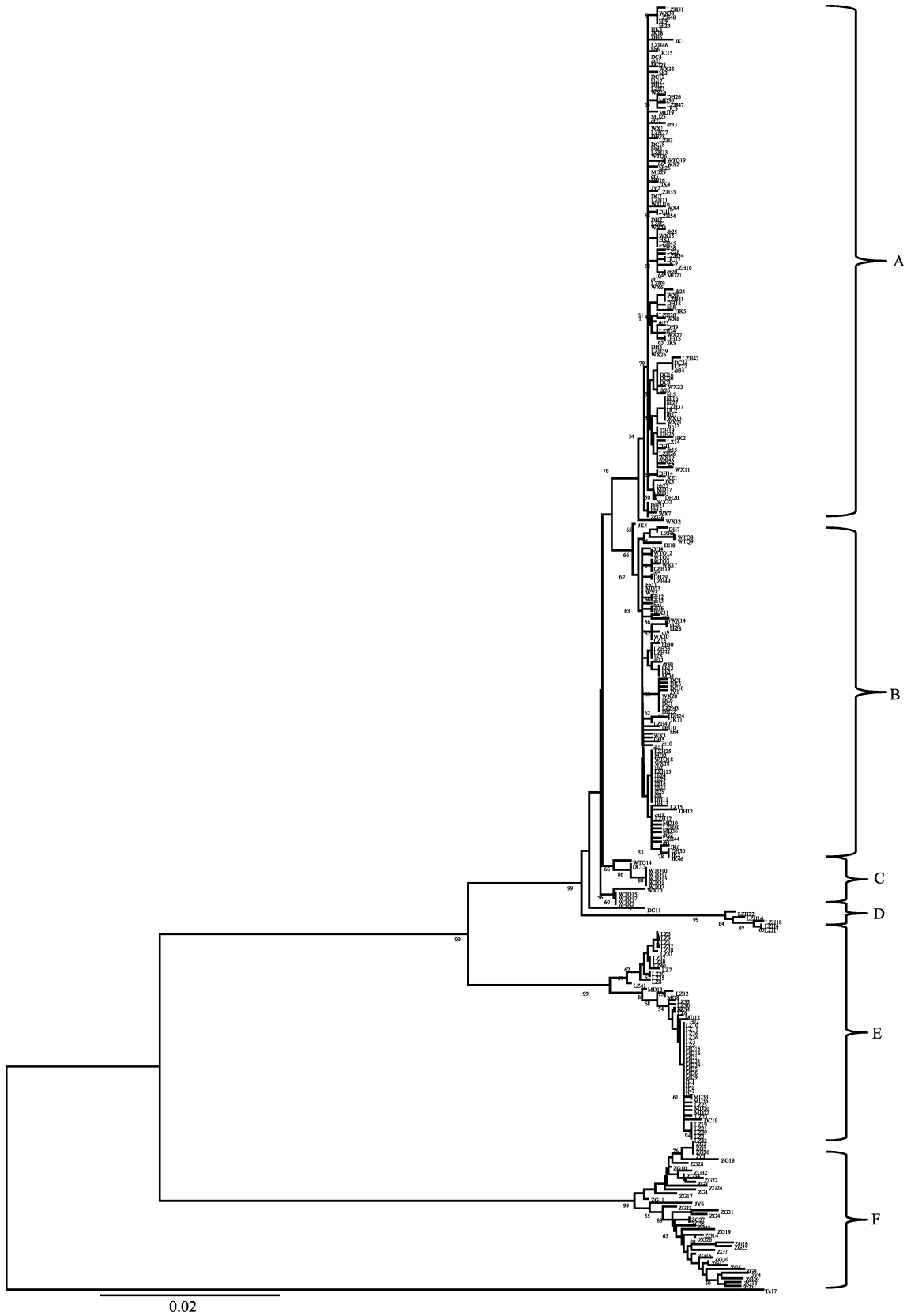


图 1 基于细胞色素 *b* 基因序列片段的邻接树

Fig. 1 Phylogenetic relationships of all individuals based on the NJ tree analysis of the Cyt *b* gene fragment  
枝上或下的数字只展示的是大于 50%支持率

Numbers above and below branches are NJ bootstraps values, only showing those higher than 50%

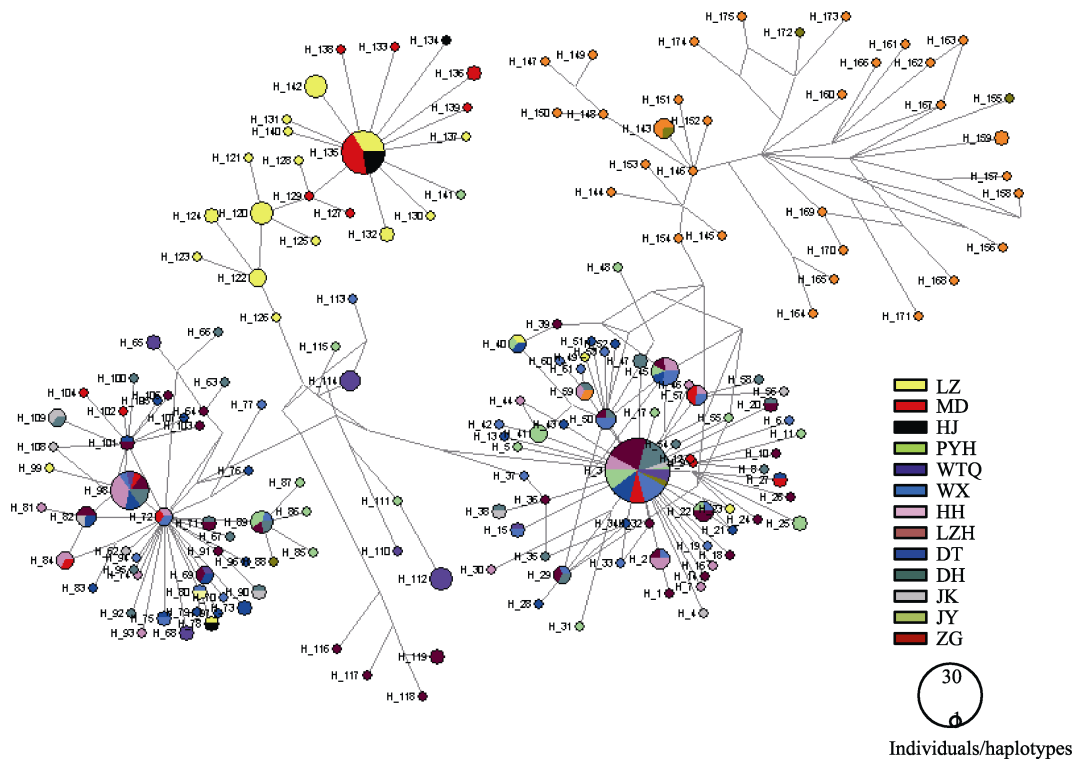


图2 鲮单倍型中值连接网络分析图

Fig. 2 The geographical distribution of 175 haplotypes of *Hemiculter leucisculus* analyzed by median-joining network using NETWORK 4.6 每个单倍型按地理分布用对应的颜色显示, 圆圈的大小表示单倍型的频率

Haplotypes are colored according to geographical localities. Circles represent individual haplotypes and the size of circle indicates relative frequency

表 6 六个谱系间的遗传距离(对角线上)和遗传分化指数( $F_{st}$ ) (对角线下)

Tab.6 6 pairwise genetic distances (below diagonal) and fixation index (above diagonal) among 6 lineages of *Hemiculter leucisculus* from the middle and upper Yangtze River drainage

谱系 Lineage	A	B	C	D	E	F
A	—	0.00735	0.00616	0.01848	0.03826	0.09940
B	0.74923	—	0.00491	0.01626	0.03971	0.10174
C	0.73019	0.61009	—	0.01537	0.03530	0.09807
D	0.88639	0.83042	0.70859	—	0.04123	0.10688
E	0.93240	0.91826	0.89084	0.89635	—	0.09870
F	0.96630	0.95691	0.93315	0.92938	0.94477	—

是单倍型(H3), 被 38 个体, 11 个群体共享。

### 2.3 种群扩张

用  $Fu'Fs$  法对所有样品进行中性检验, 结果未显示显著负值, 说明鲮群体历史上没有明显扩张。但是, 根据图 1 显示的 5 个谱系分别进行中性检验, 其中 4 个(A、B、E、F)的  $Fu'Fs$  出现显著负值。采用碱基错配分布分析, A、B、E、F 这 4 个谱系呈明显单峰。暗示这 4 个谱系的鲮群体在历史上发生过种群扩张<sup>[5]</sup>。以硬骨鱼类 *Cyt b* 突变速率 0.65%<sup>[6, 7]</sup>为

基准, 按鲮世代为 2 年, 计算出这 4 个谱系的群体扩张时间(图 3)。

## 3 讨论

### 3.1 鲮的遗传多样性比较分析

遗传多样性、生物多样性和生态系统多样性是多样性三个层次的概括, 其中遗传多样性是物种多样性和生态系统多样性的基础, 也是生物多样性的核心组成部分。遗传多样性是指物种内的遗传变异度, 是生物适应环境与进化的基石<sup>[8]</sup>。单倍型多样性指数( $h$ )、核苷酸多样性指数( $\pi$ )值是衡量一个物种群体多样性的两个非常重要的指标<sup>[9]</sup>。

鲮单倍型多样性比刀鲚、东南沿海的凤鲚小外, 比鳊鱼、青鱼、中国香鱼、铜鱼、圆口铜鱼<sup>[10]</sup>都要高, 但遗传多样性都要大于长江流域的铜鱼( $H_d=0.894$ ,  $P_i=0.0025$ )、草鱼( $H_d=0.704\pm 0.033$ ,  $P_i=0.00092\pm 0.00068$ )。鲮的所有群体的单倍型多样性均大于 0.5, 大多数群体的核苷酸多样性高( $P_i$ 值大于 0.5%)(表 1), 呈现高的单倍型多样性和高的核苷酸多样性的模式, 说明鲮种群数量较为庞大而且比较稳定<sup>[11]</sup>, 另外,

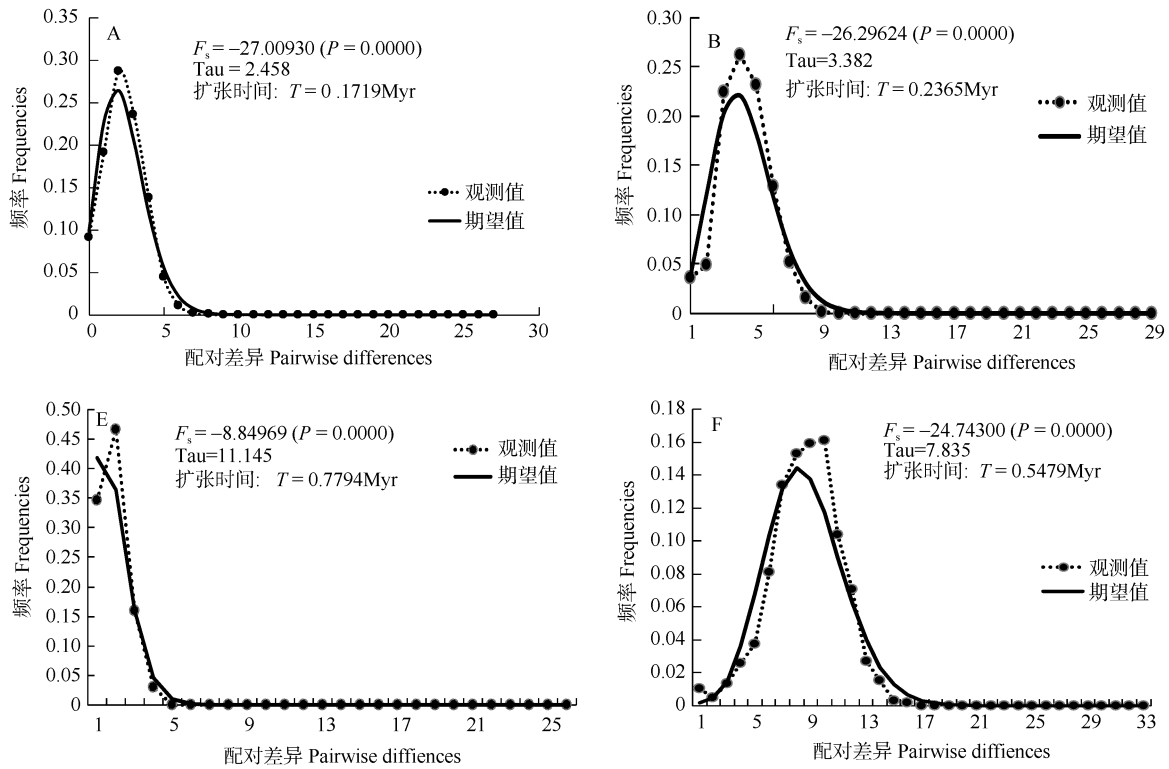


图 3 四个鳝谱系错配分布图呈现单峰及  $F_u'F_s$  检验结果、种群扩张时间实线显示的是期望值(虚线显示的是观测值)

Fig. 3 Mismatch distributions of *Hemiculter leucisculus* mtDNA lineages with unimodal distributions (A, B, E and F) (Solid lines show the simulated values and dash lines show the observed values)

它的经济价值远不如其他经济鱼类, 受到人为捕获的影响要小得多。虽然也受到污染等因素的影响, 但是仍保持高的单倍型多样性和核苷酸多样性, 而与处在同一水系里的其他经济鱼类不同。在中国淡水鱼类、洄游鱼类及海水鱼类中普遍是高的单倍型多样性和低的核苷酸多样性, 如湖泊中的翘嘴鲌、刀鲚和丹东香鱼等。在长江水系中, 遗传多样性较高的种类有鳊鱼<sup>[12]</sup>、大鳍鱮<sup>[13]</sup>、马口鱼等。出现这种单倍型多样性高, 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得多。而湖泊类群的平均值低于非湖泊类群的遗传多样性, 可能是由于奠基者效应, 湖泊的群体的祖先群体可能来自于长江里的群体, 同时湖泊营养物质较长江比较匮乏可能也有影响。特别值得注意的是, 五通桥群体单倍型值偏小, 可能是与乐山市的污染有关, 破坏了鱼类的产卵地, 使鳝的多样性降低。除了合江群体单倍型多样性小只有  $0.400 \pm 0.237$ , 当然这可能与合江的样本量较小有关。其余的群体, 五通桥群体最小也有  $0.889 \pm 0.046$ 。其中嘉鱼群体单倍型值为 1.000, 这个可能与

存在取样误差有关。

### 3.2 鳝种群历史与生物地理学推断

13 个种群 AMOVA 分析显示, 大多数上游群体间以及上游群体与中游群体间的分化系数均大于 0.25, 各群体之间缺乏明显的基因交流, 表明种群间的遗传分化很大<sup>[14]</sup>。仅大多数中游类群间遗传分化系数小于 0.05, 表明分化程度较低。上游群体的净遗传距离明显比中游群体的净遗传距离大。中游群体间净遗传距离小于 0.00899, 推测历史上存在长江中游的湖泊与长江的连通, 或者湖泊之间以前存在流通, 导致长江中游的群体间存在较高水平的基因交流, 从而显现单倍型比较丰富, 遗传距离较小的现象, 这也可能与全新世以来, 长江中下游频繁发洪水泛滥, 长江两岸湖沼发育, 导致种群之间的交流机会增多。

基于 NJ 树和单倍型网络, 可以将 323 个体分为 6 个大的谱系, 谱系 A、B、E、F 用  $F_u'F_s$  中性检验显著偏离中性突变, 被认为群体在历史上有扩张的迹象<sup>[15]</sup>。用 323 个个体按谱系分组, 分别对 A、B、C、D、E、F 作错配分布图(图 3), 除了谱系 C、D, 谱系 A、B、E、F 均呈单峰分布, 表明群体存在近期

扩张<sup>[10]</sup>。谱系 E 的扩张时间,大致和三峡形成贯通的时间吻合(70 万—100 万年前)<sup>[16, 17]</sup>,暗示合江泸州木洞群体扩张与三峡形成这一历史地理事件有关。谱系 A 的扩张时间,这一时期刚好处在第四纪冰期的庐山亚冰期(20 万—23 万年前)与大理亚冰期(1 万—11 万年前)之间的间冰期<sup>[16, 17]</sup>,间冰期相对于冰期而言,气候相对温暖,总体上,冰期间冰期温度相差约 12℃<sup>[18]</sup>。不仅有利于物种生存,也有助于物种从冰期的“避难所”向外扩散,为发展不同的种群储备;逐步建立起来的种群在随后的进化过程中逐渐产生不同的周单倍型,形成现今的遗传结构模式。谱系 B 扩张可能是导致群体单倍型多样度高而核苷酸多样度低的重要原因。另外,谱系 E 主要是包括泸州群体和木洞群体,谱系 F 主要是秭归群体,而谱系 A 主要是长江中游及毗邻湖泊群体,谱系 B 主要是中游群体和少量五通桥个体,主要由泸州及木洞群体组成的谱系 E 最先扩张,而后是秭归群体组成的谱系 F 扩张,然后是谱系 B,再就是谱系 A 扩张,呈现出由上游群体向中游扩散的规律。在单倍型网络图中,五通桥群体的单倍型也是处在网络的中心位置,但是祖先单倍型缺失。推测长江流域鲮的古老单倍型应该在长江上游附近,也支持可能从上游向中游扩张。

从图 1 的拓扑结构、群体间的和谱系间的遗传距离和遗传分化指数(表 2,6)来看,长江中上游鲮 mtDNA 谱系产生了明显的遗传结构分化,较高的  $F_{st}$  表明谱系间的遗传分化程度很高<sup>[19]</sup>。另外,根据一些关于中国鲤形目鱼类的研究,发现广布种可能不是一个单系类群<sup>[20]</sup>。整体的遗传距离达到 3.531%,暗示鲮可能存在物种分化,当前的物种数目很可能被低估,如长江流域的宽鳍鱮、马口鱼均存在隐存种<sup>[21, 22]</sup>。鲮的遗传结构和地理分隔值得更进一步地研究,可能还有更多的谱系更多物种存在。根据目前的研究可能存在 4 个不同的种。从图 3 来看,E 谱系主要是合江、泸州、木洞群体为代表,F 谱系主要是秭归群体为代表,谱系 A、B 谱系主要是长江中游群体,且互相掺杂,相似的遗传分隔与共同的历史因素有关,如河流形成。在长江中游,独特地理湖泊格局暗示,湖泊分布格局可能重塑(Reshape)种内的关系相近的群体遗传结构,并反映出不同的假想的时间框架。另外,长江中游和上游分化明显,也可能是与上中游的差异有关,因为长江上游和中

游曾经是两条独立的河流<sup>[23]</sup>。为了进一步证实以上观点,需要更多的样本量,另外增加采样点予以补充。另外,鲮群体食性和繁殖能力强,能很好地适应长江流域复杂生境,呈现复杂遗传多样性和结构,更多的详细机理还有待进一步地研究。

#### 参考文献:

- [1] Chen Y Y. Fauna Sinica: Osteichthyes (Cypriniformes III). 1st edition [M]. Beijing: Science Press. 1998, 163—171 [陈宜瑜. 中国动物志: 硬骨鱼纲. 第一版. 北京: 科学出版社. 1998, 163—171]
- [2] Cao Y P, Wen Z G. The biology of *Hemiculter leucisculus* in Baiyangdian Lake [J]. *Journal of Hebei University*, 1996, **16**: 27—33 [曹玉萍, 温振刚. 白洋淀白鲮的生物学研究. 河北大学学报, 1996, **16**: 27—30]
- [3] Zeng G Q, Lü Y P, Huang P P, et al. Analysis of flesh content and nutritional component in the muscle of *Hemiculter leucisculus* Basilewsky and *Sinibrama macrops* Gunther [J]. *Journal of Wenzhou University*, 2012, **33**: 1—7 [曾国权, 吕耀平, 黄佩佩, 等. 鲮条、大眼华鳊含肉率和肌肉营养成分分析. 温州大学学报, 2012, **33**: 1—7]
- [4] Wright S. The genetic structure of population structure [J]. *Annals of Eugenics*, 1951, 323—354
- [5] Barluenga M, Meyer A. Old fish in a young lake: stone loach (Pisces: *Barbatula barbatula*) populations in Lake Constance are genetically isolated by distance [J]. *Molecular Ecology*, 2005, **14**: 1229—1239
- [6] Avise J C, Walker D, Johns G C. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography [J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 1998, **265**: 1707—1712
- [7] Zardoya R, Doadrio I. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1999, **49**: 227—237
- [8] Avise J C, Hamrick J L. Conservation Genetics, Case Histories from Nature [M]. New York: Chapman and Hall. 1996, 160—189
- [9] Vrijihoek R C. Genetic Diversity and Fitness in Small Populations [J]. *Conservation Genetics*, 1994, **68**: 37—53
- [10] Yuan X P, Yan L, Xu S Y, et al. Genetic diversity of bronze gudgeon (*Coreius heterodon*) and largemouth bronze (*C. guichenoti*) in Yangtze River Basin [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, **15**: 377—385 [袁希平, 严莉, 徐树英, 等. 长江流域铜鱼和圆口铜鱼的遗传多样性. 中国水产科学, 2008, **15**: 377—385]
- [11] Grant W S, 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**: 415—426
- [12] Yu F Y. Study on genetic diversity of *Siniperca chuatsi/kneri* complex in the Yangtze River [D]. Jinan



- University Master's Degree Thesis. Guangzhou. 2011 [余帆. 长江鳊/大眼鳊复合种的遗传多样性研究. 暨南大学硕士学位论文. 广州. 2011]
- [13] Zhou L. Studies on genetic diversity and Structure of mtDNA control region of *Mystus macropterus* Bleeker [D]. Southwest University Master's Degree Thesis Chongqing. 2008 [周丽. 大鳍鳊(*Mystus macropterus* Bleeker)遗传多样性及其线粒体控制区结构的研究. 西南大学硕士学位论文. 重庆, 2008]
- [14] Wright S. Evolution and the Genetics of Populations: Variability Within and Among Natural Populations [M]. Chicago: University of Chicago Press. 1984, 590
- [15] Tajima F. DNA polymorphism in a subdivided population: the expected number of segregating sites in the two-subpopulation model [J]. *Genetics*, 1989, 229—240
- [16] Tang G Z, Tao M. Discussion on relationship between the middle pleistocene glaciation and formation of the Yangtze Gorges [J]. *Geology and Mineral Resources of South China*, 1997, 10—16 [唐贵智, 陶明. 论长江三峡形成与中更新世大姑冰期的关系. 华南地质与矿产, 1997, 10—16]
- [17] Xiang F, Zhu L D, Wang C S, et al. Character of Basaltic Gravels in Quaternary Sediments in Yichang Area and Its Relationship with Formation of Yangtze Three Gorges [J]. *Journal of Earth Sciences and Environment*, 2006, 28: 6—11 [向芳, 朱利东, 王成善, 等. 宜昌地区第四纪沉积物中玄武岩砾石特征及其与长江三峡贯通的关系. 地球科学与环境科学报, 2006, 28: 6—11]
- [18] Liu J L, Ni Y Y, Chu G Q. Main paleoclimatic events in the quaternary [J]. *Quaternary Science*, 2001, 21: 239—248 [刘嘉麟, 倪云燕, 储国强. 第四纪的主要气候事件. 第四纪研究, 2001, 21: 239—248]
- [19] Wright S. The Interpretation of Population-Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating [J]. *Evolution*, 1965, 19: 395—420
- [20] Su R F, Yang J X, Cui G H. The nominal invalidity of the cyprinid genus, *Parasinilabeo*, with descriptions of a new genus and species [J]. *Zoological Studies*, 2001, 40: 134—140
- [21] Perdices A, Cunha C, Coelho M M. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei, Cyprinidae) populations on the upper and middle Chang-Jiang (= Yangtze) drainage inferred from cytochrome b sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 31: 192—203
- [22] Perdices A, Cunha C, Coelho M M. Mitochondrial diversity of *Opsariichthys bidens* (Teleostei, Cyprinidae) in three Chinese drainages [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, 37: 920—927
- [23] Yang L, Mayden R L, He S P. Population genetic structure and geographical differentiation of the Chinese catfish *Hemibagrus macropterus* (Siluriformes, Bagridae): Evidence for altered drainage patterns [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2009, 51: 405—411

## THE PATTERN OF UPPER AND MIDDLE YANGTZE DRAINAGES SHAPES THE GENETIC STRUCTURE AND DIVERSITY OF *HEMICULTER LEUCISCULUS* REVEALED BY MITOCHONDRIAL DNA LOCUS

FAN Qi<sup>1,2</sup> and HE Shun-Ping<sup>1</sup>

(1. The Key Laboratory of Aquatic Biodiversity and Conservation of Chinese Academy of Science, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Fish population genetics have mainly focused on economic fish or endangered species, while the knowledge on genetic structure of the fish with low economic value is limited. In the present study, we collected a total of 323 sharpbelly (*Hemiculter leucisculus*) individuals from 13 populations in Yangtze River Basin and the affiliated lakes to evaluate their genetic diversity and population structure by amplifying the mitochondrial DNA Cyt *b* gene fragments (1100 bp). Genetic diversity analysis showed the pattern of high haplotype diversity and high nucleotide diversity, suggesting that the populations in the Yangtze River Basin were fairly stable. In addition, based on mitochondrial cytochrome *b* gene phylogenetic analysis, there were five mitochondrial lineages (lineage A-F). The neutral test of Fu's  $F_s$  and mismatch distributions with negative Tajima's *D* values indicated that the lineage A, B, E, and F underwent population expansion, and the expansion was from the upper section to the middle section of the Yangtze drainage.  $F_{st}$  and phylogenetic analysis and the significant divergence among lineages A-F implied that there are at least four different species on the level of mitochondrial DNA in the Yangtze River Basin. The population genetic structure and diversity of *Hemiculter leucisculus* may reflect the distribution pattern in Yangtze River Basin.

**Key words:** *Hemiculter leucisculus*; Genetic structure; Cyt *b*; Genetic diversity; Yangtze drainage