

长江上游干流及赤水河蛇鮈遗传多样性与种群历史分析

李小兵^{①②} 唐琼英^① 俞丹^① 刘焕章^{①*}

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: 通过分析 76 尾来自长江上游干流宜宾 (14 尾)、合江 (30 尾) 及支流赤水河 (32 尾) 蛇鮈 (*Saurogobio dabryi*) 种群的线粒体细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因序列, 研究蛇鮈 3 个地理种群的遗传多样性及种群历史。用于分析的 Cyt *b* 序列长 1 097 bp, 含变异位点 28 个, 其中简约信息位点 18 个。76 尾个体共检测到 26 个单倍型, 整体呈现较高的单倍型多样性 ($H_d = 0.872$) 和较低的核苷酸多样性 ($P_i = 0.004 0$)。三个种群共享较多的单倍型。基于单倍型构建的系统发育树及 NETWORK 网络关系图显示: 所有来自长江上游干流和赤水河的单倍型不能按照地理分布各自聚类, 而是相互混杂聚在一起; 网络关系图呈星状分布, 未检测到原始单倍型和进化中心。此外, 基于单倍型频率分析得到的三个种群间的遗传分化指数 F_{ST} 值较低 (分别为 -0.0293、0.0280 和 0.0258)。分子方差分析 (AMOVA) 显示, 整体上长江上游干流及赤水河蛇鮈种群变异主要来源于种群内, 种群内的变异占总变异的 80.00%, 表明长江上游干流及赤水河蛇鮈种群属于同一种群, 蛇鮈各地理种群间基因交流频繁。中性检验、错配分析及 BSP (Bayesian skyline plot) 分析显示, 整体上长江干流及赤水河蛇鮈种群在距今 0 ~ 0.025 Ma (百万年) 期间发生过种群扩张现象。

关键词: 长江上游; 赤水河; 蛇鮈; 线粒体细胞色素 *b* 基因; 遗传多样性

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 05-833-11

Genetic Diversity and Population History of Longnose Gudgeon (*Saurogobio dabryi*) in the Upper Yangtze River and Chishui River Based on Cytochrome *b* Gene Sequences

LI Xiao-Bing^{①②} TANG Qiong-Ying^① YU Dan^① LIU Huan-Zhang^{①*}

① The Key Laboratory of Aquatic Biodiversity and Conservation, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

② University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The Yangtze River is the longest river in Asia and the third-longest in the world with more than

基金项目 国家自然科学基金项目 (31272306), 中国长江三峡集团公司项目 (No. 0799533), 长江上游珍稀特有鱼类及保护区项目 (No. 0714097);

* 通讯作者, E-mail: hzliu@ihb.ac.cn;

第一作者介绍 李小兵, 男, 硕士研究生; 研究方向: 鱼类系统发育与进化生物学及鱼类生态学; E-mail: chnlixiaobing@gmail.com。

收稿日期: 2016-01-28, 修回日期: 2016-04-27 DOI: 10.13859/j.cjz.201605013

400 fish species existed. Chishui River is a major tributary of the upper Yangtze River and plays a vital role in the fish resources protection of the Yangtze River. Currently, evolutionary process of Longnose Gudgeon (*Saurogobio dabryi*), a fish species widely distributed in Asia, is not known. In this paper, 76 Longnose Gudgeon individuals collected from the upper Yangtze River (marked as Yibin population and Hejiang population respectively) and its tributary Chishui River (marked as Chishui population) were studied by using mitochondrial DNA cytochrome *b* gene sequences to analyze its genetic diversity and population history. The main results are: 1) The analyzed cytochrome *b* gene sequences were 1 097 base pairs in length, with 28 variable sites containing 18 parsimony informative sites. Besides, 26 haplotypes were identified from 76 individuals (Table 1), which showed relatively high haplotype diversity ($H_d = 0.872$) and low nucleotide diversity ($P_1 = 0.004 0$) respectively (Table 2); 2) Three populations shared several common haplotypes. Phylogenetic trees based on haplotype dataset by using NJ, ML and BI methods showed that all haplotypes from the upper Yangtze River and Chishui River were not clustered separately according to the geographical distribution. Instead, they mixed with each other (Fig. 2). Network diagram was also constructed, indicating that all haplotypes had a star-shaped distribution, and original haplotype and evolutionary center could not be detected (Fig. 3). 3) based on obtained haplotype frequencies, genetic differentiation index (F_{ST}) values among three populations maintained at low levels ($-0.029 3, 0.028 0$ and $0.025 8$, respectively) and analysis of molecular variance (AMOVA) showed that overall population divergent variation of Longnose Gudgeon in the upper Yangtze River was mainly from within populations (80.00%) (Table 3), indicating that Yibin population, Hejiang population, and Chishui River population belong to the same population with frequent gene flow; 4) Neutral test, mismatch analysis (Fig. 4) and BSP (Bayesian skyline plot) analysis (Fig. 5) showed that overall *S. dabryi* population from the upper Yangtze River and Chishui River experienced expansion during 0 to 0.025 Ma BP (before present).

Key words: Yangtze River; Chishui River; Longnose Gudgeon, *Saurogobio dabryi*; Cytochrome *b*, Cyt *b*; Genetic diversity

长江是我国第一、世界第三大河流，跨越我国大陆地势的三大阶梯，地貌类型多样，气候差异显著，形成了各种各样区域性环境，孕育了丰富多样的水生生物 (Ren et al. 2016)。其中鱼类约 400 余种，种类之丰富位居全国各水系之首 (曹文宣 2011)。长江上游地跨我国地形的第一、第二级阶梯，是世界屋脊-青藏高原的重要组成部分，长 4 504 km，占长江全长的 70.4%，控制流域面积约 100 万 km²，是我国生物多样性最丰富的地区之一，也是全球生物多样性热点地区之一 (熊飞等 2014, Liu et al. 2016)。

赤水河是长江上游右岸一级支流，发源于乌蒙山北麓的云南省镇雄县赤水源镇，流经滇、

黔、川三省共 13 个县市，在四川省合江县汇入长江，全长 437 km，天然落差 1 473.96 m，流域面积 19 007 km²。作为长江上游为数不多的仍然保持自然流态的河流之一，赤水河流域内自然生态良好、具有较高的生物多样性 (Liu et al. 2014)。蛇鮈 (*Saurogobio dabryi*) 是赤水河鱼类群落结构的重要组成部分，在赤水河历年渔获物中占有较高比例 (Wu et al. 2011)。

蛇鮈隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes) 鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 鮈亚科 (Gobioninae) 蛇鮈属，为东亚特有种。广泛分布于中国、俄罗斯、朝鲜半岛及越南北部。中国境内除西北少数地区外，几乎遍布全国各主要水系，属底栖性鱼类 (陈宜瑜 1998)。由

于长江上游水电梯级开发及其他人类活动的影响，土著鱼类的生存和保护已受到了严重威胁 (Liu et al. 2016)。目前较多的报道集中在对长江上游鱼类生物学特性、渔业资源评估及保护对策等方面 (曹文宣 2011, 熊飞等 2014)，尚未见长江上游蛇鮈种群遗传多样性、种群结构和保护方面的研究。

鱼类线粒体 DNA (mt DNA) 具有进化速率快、严格的母系遗传等特点 (Dáz-Jaimes et al. 2016)。其中，细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因由于进化速度适中，且容易通过通用引物对其进行扩增，已被广泛应用于从种内到种间的遗传差异分析 (Liao et al. 2016, Maia et al. 2016)。本文通过对长江上游干流及支流赤水河蛇鮈种群进行 Cyt *b* 基因序列测定，分析蛇鮈种群的遗传多样性、种群结构等，初步探讨其亲缘地理演化过程，以期为长江鱼类资源的保护提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用样本于 2010 ~ 2015 年采集于

长江上游 4 个样点 (图 1)，共计 76 尾。根据地理分布，将其划分为 3 个地理种群。宜宾样点为长江上游干流宜宾种群，合江样点为长江上游干流合江种群，其余赤水镇和赤水市样点为长江支流赤水河种群 (表 1)。采集标本均用 95% 酒精固定，保存于中国科学院水生生物研究所淡水鱼类博物馆。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取、PCR 扩增及测序

基因组 DNA 的提取采用高盐抽提法。基因序列片段通过 PCR 扩增所得。扩增所用引物为 L14724 和 H15915 (Xiao et al. 2001)。PCR 反应的总体积为 60 μ l，用大约 50 ng 的基因组 DNA 作为模板，反应体系包括：10 \times Buffer 6 μ l，dNTPs 0.75 μ l (10 mmol/L)，引物各 1.5 μ l (10 μ mol/L)，*Taq* DNA 聚合酶 1.5 U，加灭菌双蒸水至 60 μ l。PCR 反应条件为：94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min；94 $^{\circ}$ C 变性 45 s，52 ~ 58 $^{\circ}$ C 退火 45 s，72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min，共 35 个循环；最后在 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min。将获得的 PCR 产物送上海生工生物工程股份有限公司完成测序。

1.2.2 数据分析 为确保序列准确性，对获得

表 1 长江上游干流及赤水河蛇鮈采样点地理信息、样本数量及单倍型信息

Table 1 Sample locations, sample size and haplotype information of Longnose Gudgeon in the upper Yangtze River and Chishui River

样点 Sampling location	样本数量 Sample size	所属种群 Population	单倍型分布 Haplotype	单倍型数 Haplotype size
四川省宜宾市 (YB) Yibin City, Sichuan Province	14	干流宜宾种群 Yangtze River Yibing population	Hap3, 6, 7, 8, 9, 11, 21, 24, 25, 26	10
四川省合江县 (HJ) Hejiang County, Sichuan Province	30	干流合江种群 Yangtze River Hejiang population	Hap1, 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23	18
贵州省赤水市 (CSS) Chishui County, Guizhou Province	12	支流赤水河种群 Tributary Chishui River population	Hap1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	8
四川省叙永县赤水镇 (CSZ) Chishui Town, Xuyong County, Sichuan Province	20		Hap1	1
合计 Overall	76			37



图 1 长江流域主要水系及蛇鮈的样点分布图

Fig. 1 Drainage systems in Yangtze River basin and sampling locations of Longnose Gudgeon

▲代表采样点的位置: YB. 四川省宜宾市; HJ. 四川省合江县; CSS. 贵州省赤水市; CSZ. 四川省叙永县赤水镇。

▲ indicates sampling locations: YB. Yibin City, Sichuan Province; HJ. Hejiang County, Sichuan Province; CSS. Chishui County, Guizhou Province; CSZ. Chishui Town, Xuyong County, Sichuan Province.

的序列, 通过 DNA star 软件中的 Seqman 软件包进行手动拼接。用 Clustalx 2.1 软件进行序列比对 (Thompson et al. 1997, Larkin et al. 2007)。为避免序列中存在测序误读等错误, 采用 MEGA 6.0 将其翻译成相应的氨基酸序列进行校正 (Tamura et al. 2013)。使用 PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002) 和 MEGA 6.0 对序列进行初步分析, 包括碱基组成及核苷酸同质性检验等。

采用 DnaSP v5.10.1 软件统计种群遗传多样性参数, 并获得单倍型序列数据组 (Librado 2009)。基于单倍型序列数据, 采用邻接法 (neighbor-joining method, NJ)、最大似然法 (maximum likelihood method, ML) 和贝叶斯法 (Bayesian inference method, BI) 构建分子系统发育树。通过软件 MrMTgui (Nuin 2008)、Modeltest 3.7 (Posada et al. 1998) 和 PAUP* 4.0b10 选择最适合的碱基替代模型, 对数据的拟合度通过赤池信息量准则 AIC (Akaike information criterion) 来检测。邻接法分析在 PAUP* 4.0b10 软件中进行, 系统树的分支置信度采用自引导法进行 1 000 次重复检测。贝叶

斯法分析用 MrBayes 3.2.5 软件 (Ronquist et al. 2003), 以后验概率 (posterior probability) 来表示各分支的可信性。贝叶斯法中, 以随机树 (random) 为起始树, 替代模型参数 $N_{st} = 6$, 马尔科夫链的蒙特卡洛方法 (Markov chain Monte Carlo process) 设置为 4 条链同时运行 6×10^6 代, 3 条热链 1 条冷链。每 100 代对系统树进行抽样, 最终得到 60 001 棵系统发育树, 舍弃前面的 6 000 棵树。最大似然法分析用 PhyML 3.0 软件 (Guindon et al. 2010), 替代模型自定义为 GTR + I + G, 替代数 (number of substitution rate categories) 设置为 6, 100 次自引导法来检验各分支的置信度。利用 Network V5.0 软件中的中接法 (median-join) 构建单倍型的网络关系图, 分析单倍型之间的进化关系 (Bandelt et al. 1999)。

在 DnaSP v5.10.1 中对所有蛇鮈 Cyt *b* 序列依据地理位置进行分组, 再使用 Arlequin3.5 软件 (Excoffier et al. 2010) 进行分子方差分析 (AMOVA)、计算遗传分化指数 F_{ST} 、错配分布值及 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 值。使用 BEAST

v1.8.2 软件进行种群动态的 Bayesian skyline plot (BSP) 分析 (Drummond 2007)。迄今为止, 未见蛇鮈属鱼类的化石记录及相关地质事件报道, 故采用鲤科鱼类常用的进化速率每百万年 1%。碱基替换模型选择 GTR 模型, Number of Gamma Categories 为 4, 选择 Coalescent Bayesian Skyline 模型作为点图模型, 马尔科夫链 (MCMC) 的长度为 100 000 000。最后在 Tracer v 1.5 软件 (Rambaut et al. 2007) 的 Bayesian Skyline Reconstruction 中构图, 各项参数的 effective sample size (ESS) 最好大于 200。

2 结果

2.1 Cyt *b* 基因的序列变异分析

对 76 尾蛇鮈线粒体 Cyt *b* 基因序列进行分析, 删除首尾测序不准确的部分片段, 将序列的起始位置设置在密码子的第一位。最后用于分析的序列长度为 1 097 bp, 变异位点 28 个 (占序列总长度的 2.55%), 其中包含 18 个简约信息位点。序列中无碱基的缺失或插入, 所有个体平均碱基组成: A = 26.34%, T = 28.53%, C = 29.92%, G = 15.21%。A + T 的含量 (54.87%) 高于 G + C 的含量 (45.13%)。碱基组成存在强烈的偏倚 (bias), G 的含量尤其在密码子第三位的含量较低 (仅 6.8%)。所有 Cyt *b* 基因序列的转换和颠换均未达饱和, 转换数明显大于颠换数, 平均 T_i / T_v 值为 7.26。

2.2 单倍型系统发育关系及进化网络分析

长江上游干流及赤水河 76 尾蛇鮈个体共检测到 26 个单倍型。采用邻接法 (NJ)、贝叶斯法 (BI) 和最大似然法 (ML) 构建蛇鮈单倍型之间的系统发育关系。以似鮈 (*Pseudogobio vaillanti*) 为外类群 (GenBank 登录号: AY882923.1), 三种分析方法得到的系统发育树的拓扑结构基本一致, 此处仅保留 NJ 树的拓扑结构, 并分别添加 NJ / ML / BI 树的支持率。所有来自长江上游干流和赤水河的单倍型不能分别按照地理分布各自聚类, 而是相互混杂聚在一起, 单倍型间许多属于多分歧分支,

进化关系不明显 (图 2)。单倍型进化网络关系图显示, 整体上, 单倍型间的网络进化关系呈星状分布, 单倍型间彼此相连、相差一步或多步的突变距离, 不存在原始单倍型和进化中心。部分单倍型之间通过缺失的中间单倍型相互连接 (图 3)。

2.3 不同地理种群的遗传多样性、遗传分化及分子方差分析

长江上游干流及赤水河蛇鮈鱼类的整体单倍型多样性 (H_d) 和核苷酸多样性 (P_i) 分别为 0.872 和 0.004 0。各样点单倍型的分布情况及遗传多样性参数见表 1 和表 2。在识别的 26 个单倍型中, 长江上游干流的宜宾种群和合江种群间共享较多单倍型, 而宜宾种群和赤水河种群间的共享单倍型则较少 (表 1、图 3)。长江上游干流及赤水河蛇鮈三个种群间的遗传分化指数 F_{ST} 值均较低, 宜宾种群与合江和赤水河种群间分别为 -0.029 3 和 0.028 0, 合江与赤水河种群间为 0.025 8, 且差异均不显著 ($P > 0.05$)。此外, 对长江上游干流及赤水河蛇鮈三个种群进行 AMOVA 分析, 总体上, 遗传变异主要来自于种群内的遗传差异 (种群内的变异百分比占 80.00%), 种群间的遗传变异相对较小 (20.00%) (表 3)。

2.4 长江上游干流及赤水河蛇鮈的种群动态分析

基于上述遗传分化等结果, 长江上游干流的宜宾种群、合江种群及支流赤水河种群间亲缘关系密切, 不存在遗传分化, 故将其视为同一种群进行种群动态分析。Tajima's D 、Fu's F_s 中性检验及错配分布分析 (mismatch distribution) 表明, 整体上长江上游干流及赤水河蛇鮈种群的 Tajima's D 值为负值, 但差异不显著, 而 Fu's F_s 值达极显著负值 (表 2)。歧点分布法作图显示, 整体上长江上游干流及赤水河蛇鮈种群的错配分布图偏单峰型, 偏差平方和 (sum of square deviations, S_{sd}) 和粗糙指数 (harpending's raggedness index, H_{ri}) 的统计检验不显著 ($P > 0.05$) (图 4)。BSP 分析进

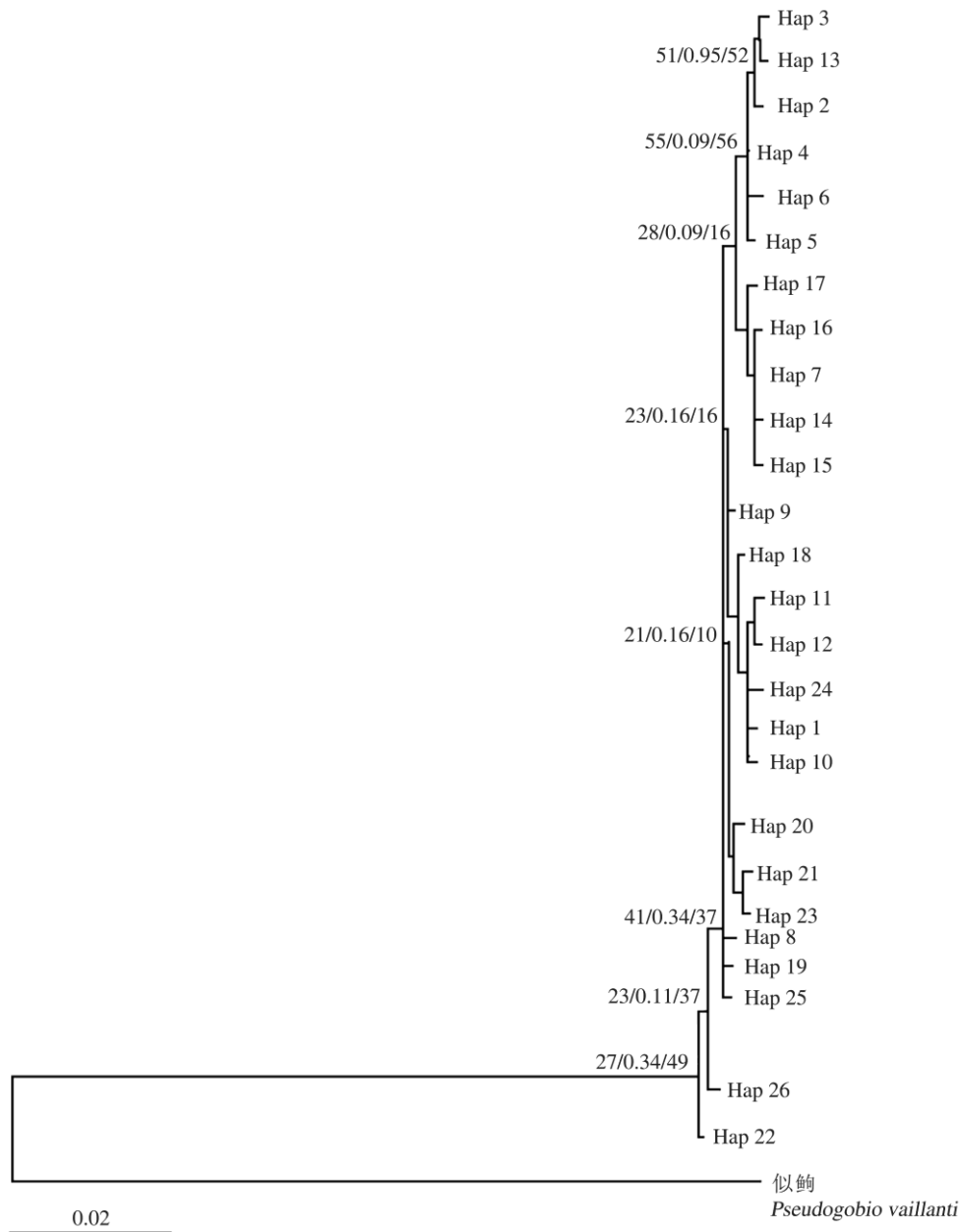


图 2 基于线粒体 *Cyt b* 基因单倍型构建的长江上游干流及赤水河蛇鲃不同地理种群的邻接法、贝叶斯法和最大似然法树

Fig. 2 Neighbor-joining (NJ) / Bayesian inferences (BI) / maximum likelihood (ML) tree of Longnose Gudgeon populations based on *Cyt b* gene in the upper Yangtze River and Chishui River

节点处的数值代表 NJ / BI / ML 分析获得的支持率，枝长代表分歧度。“Hap”表示单倍型，其后的序号为单倍型的编号。

Values at the node represent support values in NJ / BI / ML analysis respectively. The length of branch indicates the percentage of divergence.

“Hap” denotes Haplotype, subsequent number means haplotype code.

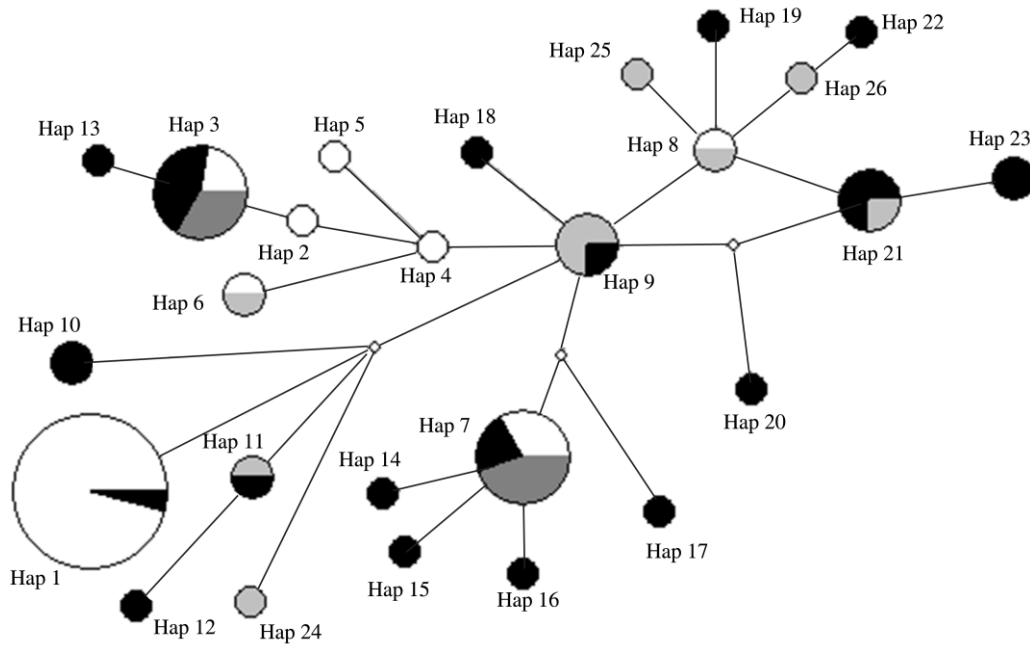


图 3 基于线粒体 *Cyt b* 基因的长江上游干流及赤水河蛇鮈不同地理种群的单倍型网络图

Fig. 3 The haplotype network of Longnose Gudgeon populations based on *Cyt b* gene in the upper Yangtze River and Chishui River

“Hap”表示单倍型，其后的序号为单倍型的序号；圆圈中灰色部分、黑色部分和白色部分分别表示干流宜宾种群、干流合江种群和支流赤水河种群所拥有的单倍型；圆圈的大小表示单倍型包含的个体数多少；中间小白点代表缺失的单倍型。

“Hap” denotes Haplotype, subsequent numbers mean haplotype number; Gray, black and white portions in the circle represent Yangtze River Yibin population, Yangtze River Hejiang population, and tributary Chishui River population respectively; Small white dot represents lacked haplotype.

表 2 长江上游干流及赤水河蛇鮈不同地理种群的遗传多样性统计参数

Table 2 Genetic diversity parameters of Longnose Gudgeon in different populations from the upper Yangtze River and Chishui River

种群 Population	具有多态性的核苷酸 位点数 Number of polymorphic sites (N_p)	单倍型多样性 Haplotype diversity (h)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (P_i)	平均核苷酸变异数 Average number of nucleotide differences (K)	Tajima's D 值 Tajima's D value	Fu's F_s 值 Fu's F_s value
宜宾 Yibin City	16	0.945	0.003 9	4.286	- 0.608 0	- 3.087
合江 Hejiang County	23	0.949	0.004 2	4.644	- 0.707 2	- 7.339
赤水河 Chishui River	12	0.484	0.002 5	2.741	- 0.287 4	- 1.338
整体结果 Overall	28	0.872	0.004 0	4.363	- 0.737 7	- 9.720**

** 表示差异极显著 $P < 0.01$ 。“***” indicates significant difference, $P < 0.01$.

表 3 基于线粒体 Cyt *b* 基因对长江上游干流及赤水河蛇鮈的分子方差分析Table 3 AMOVA analysis based on Cyt *b* for Longnose Gudgeon among three populations in the upper Yangtze River and Chishui River

变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of squares	变异组分 Variance components	变异百分数(%) Percentage of variation
种群间 Among populations	2	26.365	0.469 91	20.00
种群内 Within populations	73	137.253	1.880 18	80.00
总计 Total	75	163.618	2.350 09	

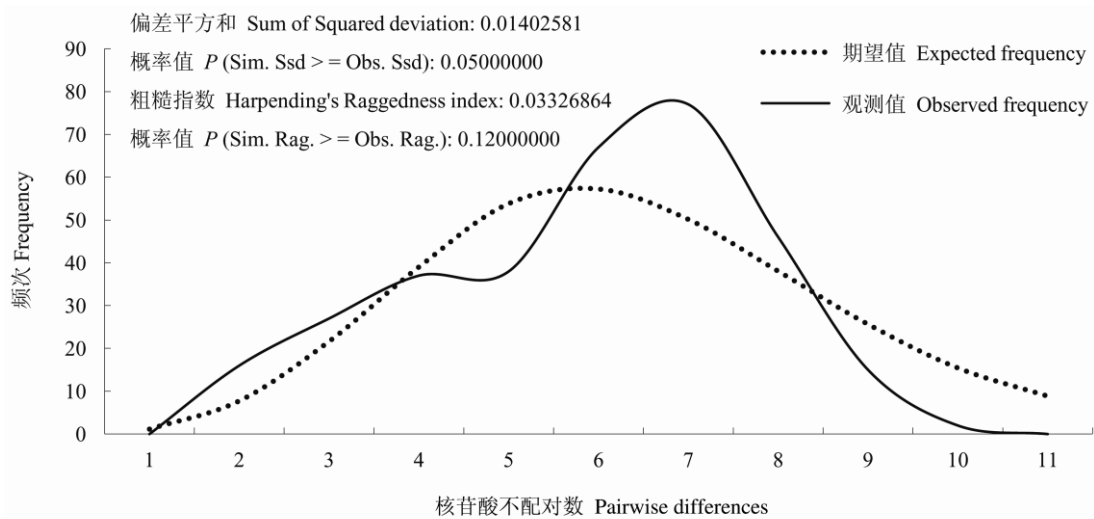


图 4 长江上游干流及赤水河蛇鮈种群歧点分布检测

Fig. 4 The observed and expected pairwise-difference distributions of Longnose Gudgeon populations in the upper Yangtze River and Chishui River

一步表明,整体上长江上游干流及赤水河蛇鮈种群在距今 0 ~ 0.025 Ma (百万年) 期间存在种群扩张现象 (图 5)。

3 讨论

3.1 长江上游干流及赤水河不同地理种群的遗传分化与变异

由于长期地理隔离,同一物种的不同地理种群可能会产生遗传分化(Duncan et al. 2016)。Wright 等(1965)认为,若种群 F_{ST} 值在 0 ~ 0.05 之间,说明不存在分化; F_{ST} 值在 0.05 ~ 0.15 之间,为中度分化; F_{ST} 值在 0.15 ~ 0.25 之间,则为高度分化。据此标准,本研究长江上游干

流的宜宾种群和合江种群间、宜宾种群与赤水河种群间以及合江种群与赤水河种群间 F_{ST} 值均小于 0.05, 即其间均不存在遗传分化。另据单倍型分布情况、单倍型系统发育树、单倍型网络图及种群 AMOVA 分析,长江上游干流及赤水河蛇鮈种群间具有较多的共享单倍型,种群间亲缘关系较近,遗传变异主要来自种群内部,也表明种群间未发生遗传分化。此外,已有研究表明,蛇鮈一般在激流环境中产灰白色漂流性卵或漂浮性卵,随后鱼卵或鱼苗随水流进行扩散(陈宜瑜 1998)。本课题组通过在赤水河赤水市江段进行蛇鮈的生物学调查,并对鱼类早期资源采用分子生物学方法进行鉴定,

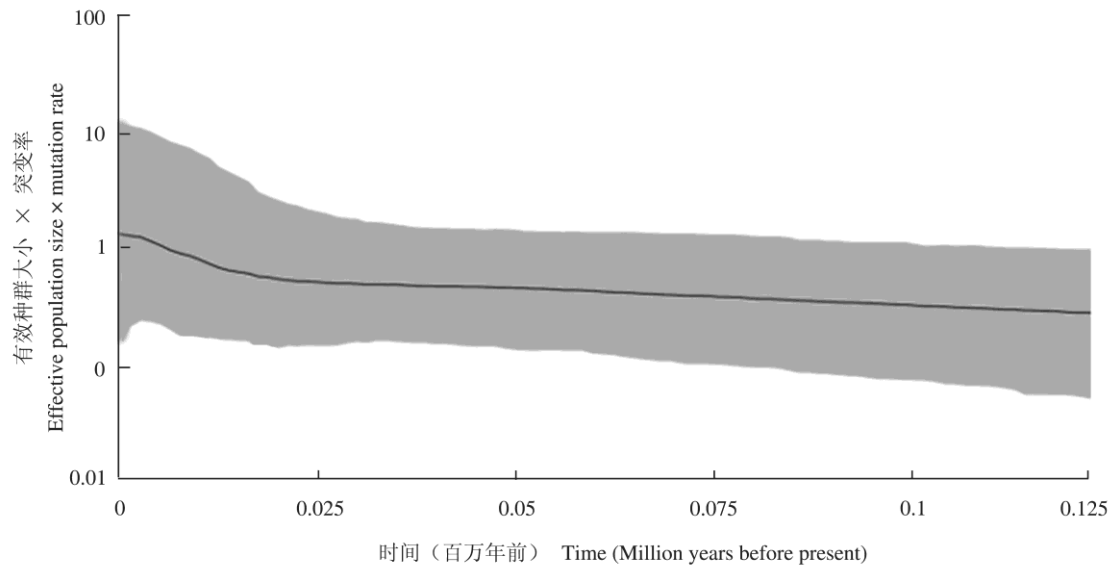


图 5 长江上游干流及赤水河蛇鮈种群动态随时间变化的 BSP 图

Fig. 5 Bayesian skyline plots (BSP) for population dynamics with the change of time of Longnose Gudgeon in the upper Yangtze River and Chishui River

黑色线表示中值，阴影部分为 95% 的置信区间 (HPD)。

The black line indicates the median; the shadow part shows the 95% highest probability density (HPD).

在赤水河江段中并未检测到有蛇鮈产卵繁殖 (中国科学院水生生物研究所, 未发表数据)。结合本课题组在长江丰都江段的鱼类早期资源调查结果, 我们推测, 在赤水河生活的蛇鮈产卵场很可能位于长江干流, 成熟亲鱼在干流产卵繁殖后, 再进入赤水河索饵育肥 (数据待发表), 这也支持长江上游干流及赤水河不同地理种群的蛇鮈应属同一种群。

另外, 本研究中, 在赤水河赤水镇江段采集到的 20 尾蛇鮈样本仅共享 1 个单倍型。赤水镇位于四川省泸州市叙永县, 属赤水河上游偏源头的位置, 此江段水流湍急, 河面较窄。我们认为, 该江段的激流环境可能对鱼类具有强烈的选择作用, 能到达该江段的蛇鮈数量较少, 从而导致生活在该江段的蛇鮈遗传多样性极低。我们希望在将来的研究中, 对具有该单倍型的蛇鮈进行深入研究, 以探讨具有该单倍型的鱼类是否更适应于激流环境。

3.2 长江上游干流及赤水河蛇鮈的种群历史

在种群动态分析中, Tajima's D 和 Fu's F_s 值是两种比较常用的通过中性检验研究种群在历史上是否发生过扩张的参数。Tajima's D 值和 Fu's F_s 值接近零时表明种群处于稳定状态, 负的 D 值和 F_s 值以及差异显著的 P 值被认为种群在历史上有扩张迹象 (Liao et al. 2016)。但相对而言, Fu's F_s 检验对种群扩张更加敏感, 种群的扩张会使得 F_s 得到更大的负值。此外, Tajima's D 检验更倾向于检测古老的突变和揭示古老种群发生扩张的历史。而 Fu's F_s 检验则对近期种群扩张的检测更为敏感 (Fu 1997)。在本结果中, Tajima's D 值为不显著负值 ($P > 0.05$), 而 Fu's F_s 值则为差异极显著负值 ($P < 0.01$), 暗示长江上游干流及赤水河蛇鮈种群可能在近期发生过种群扩张。在错配分析中, 发生过扩张的种群, 错配分布图一般呈单峰图 (Cristiano et al. 2016)。此外, 偏差平方和 (S_{sd}) 及粗糙指数 (H_{ri}) 的统计检验不显著 ($P > 0.05$) 时, 表明不能拒绝群体扩张的假说, 即符合原

来群体扩张假说 (Excoffier 2004)。在本研究结果中, 整体长江上游干流及赤水河蛇鮈种群错配分布图偏单峰型, 偏差平方和以及粗糙指数的统计检验不显著 ($P > 0.05$), 表明种群历史上发生过扩张。

BSP (Bayesian skyline plots) 分析是一种通过构建有效种群数量随时间变化的动态差异, 进而直观观察 BSP 动态图来推测种群是否发生变化的分析方法 (Naidoo et al. 2016)。本研究中, 整体上长江上游干流及赤水河蛇鮈种群在距今 0 ~ 0.025 Ma (百万年) 期间存在种群扩张现象, 进一步验证了长江上游干流及赤水河蛇鮈种群历史变化情况。值得一提的是, 无论对整体长江上游干流及赤水河蛇鮈种群, 还是分别对长江上游干流种群及赤水河种群而言, 均呈现较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性, 可能由于在某段时间内蛇鮈有效种群数量的减少所致 (Nei et al. 1975)。

致谢 感谢中国科学院水生生物研究所鱼类生态学与资源保护学科组刘飞博士、但胜国老师及张富斌等同学在采样方面给予的帮助。贵州省赤水市畜牧水产局的娄必云、黎良等同志在采样方面提供诸多便利, 一并致以谢忱!

参 考 文 献

- Bandelt H J, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37–48.
- Cristiano M P, Cardoso D C, Fernandes-Salomão T M, et al. 2016. Integrating paleodistribution models and phylogeography in the Grass-Cutting Ant *Acromyrmex striatus* (Hymenoptera: Formicidae) in Southern Lowlands of South America. *PLoS One*, 11(1): e0146734.
- Dáz-Jaimes P, Bayona-Vásquez N J, Adams D H, et al. 2016. Complete mitochondrial DNA genome of bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*, and phylogenetic relationships among main superorders of modern elasmobranchs. *Meta Gene*, 7: 48–55.
- Drummond A J, Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1): 214.
- Duncan C, Worth J, Jordan G, et al. 2016. Genetic differentiation in spite of high gene flow in the dominant rainforest tree of southeastern Australia, *Nothofagus cunninghamii*. *Heredity*, 116(1): 99–106.
- Excoffier L. 2004. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model. *Molecular Ecology*, 13(4): 853–864.
- Excoffier L, Lischer H E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- Fu Y X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2): 915–925.
- Guindon S, Dufayard J F, Lefort V, et al. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3): 307–321.
- Larkin M A, Blackshields G, Brown N, et al. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948.
- Liao J C, Jing D D, Luo G J, et al. 2016. Comparative phylogeography of *Meriones meridianus*, *Dipus sagitta*, and *Allactaga sibirica*: Potential indicators of the impact of the Qinghai-Tibetan Plateau uplift. *Mammalian Biology: Zeitschrift für Säugetierkunde*, 81(1): 31–39.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Liu F, Cao W X, Wang J W. 2014. Length-weight relationships of 77 fish species from the Chishui River, China. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(1): 254–256.
- Liu S, Xie G, Wang L, et al. 2016. Different roles of environmental variables and spatial factors in structuring stream benthic diatom and macroinvertebrate in Yangtze River Delta, China. *Ecological Indicators*, 61(2): 602–611.
- Maia J P, Harris D J, Carranza S. 2016. Reconstruction of the evolutionary history of Haemosporida (Apicomplexa) based on the *cyt b* gene with characterization of *Haemocystidium* in

- geckos (Squamata: Gekkota) from Oman. *Parasitology International*, 65(1): 5–11.
- Naidoo T, Schoeman M C, Goodman S M, et al. 2016. Discordance between mitochondrial and nuclear genetic structure in the bat *Chaerephon pumilus* (Chiroptera: Molossidae) from southern Africa. *Mammalian Biology: Zeitschrift für Säugetierkunde*, 81(2): 115–122.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29(1): 1–10.
- Nuin P. 2008. MrMTgui: cross-platform interface for ModelTest and MrModeltest. [CP/OL]. [2012-5-10]. <http://www.genedrift.org/mtgui.php>.
- Posada D, Crandall K A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817–818.
- Rambaut A, Drummond A J. 2007. Tracer v1.4. [CP/OL]. [2016-1-19]. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ren P, He H, Song Y, et al. 2016. The spatial pattern of larval fish assemblages in the lower reach of the Yangtze River: potential influences of river-lake connectivity and tidal intrusion. *Hydrobiologia*, 766(1): 365–379.
- Ronquist F, Huelsenbeck J P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Swofford D L. 2002. PAUP*: Phylogenetic Analysis using Parsimony (* and other methods), version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24): 4876–4882.
- Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3): 395–420.
- Wu J, Wang J, He Y, et al. 2011. Fish assemblage structure in the Chishui River, a protected tributary of the Yangtze River. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 65(400): 170–181.
- Xiao W H, Zhang Y P, Liu H Z. 2001. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in east Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18(2): 163–173.
- 曹文宣. 2011. 长江鱼类资源的现状与保护对策. *江西水产科技*, (2): 1–4.
- 陈宜瑜. 1998. 中国动物志: 硬骨鱼纲 鲤形目 (中卷). 北京: 科学出版社, 381–383.
- 熊飞, 刘红艳, 段辛斌, 等. 2014. 长江上游江津和宜宾江段圆口铜鱼资源量估算. *动物学杂志*, 49(6): 852–859.