

# 基于线粒体 Cyt *b* 序列对新疆额尔齐斯河 贝加尔雅罗鱼遗传结构的分析

杨天燕<sup>①②</sup> 孟玮<sup>①\*</sup> 海萨<sup>①</sup> 牛建功<sup>①</sup> 周琼<sup>③</sup>

① 新疆维吾尔自治区水产科学研究所 乌鲁木齐 830000; ② 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所 青岛 266003;

③ 华中农业大学水产学院 武汉 430070

**摘要:** 采用线粒体 Cyt *b* 基因序列对额尔齐斯河流域的青河 (QH, 18 尾)、哈巴河 (HBH, 21 尾)、185 团 (185T, 18 尾) 和乌伦古湖 (WLG, 20 尾) 4 个贝加尔雅罗鱼 (*Leuciscus leuciscus baicalensis*) 群体进行了遗传结构的比较分析。在片段长度为 1 109 bp 的同源序列上, 77 尾个体共检测到 54 种单倍型, 其中共享单倍型 7 个, 总单倍型多样性指数 ( $H_d$ )、总核苷酸多样性指数 ( $\pi$ ) 和平均核苷酸差异数 ( $K$ ) 分别为 0.981 9、0.008 21 和 9.091, 且 185 团群体单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数最高、青河群体最低。4 个群体间遗传距离在 0.006 ~ 0.011 之间, 基于 Kimura 2-parameter 法构建的单倍型邻接关系树分为 3 支, 群体间遗传关系和地理分布没有明显的相关性。AMOVA 分析显示额尔齐斯河流域贝加尔雅罗鱼遗传差异极显著 ( $P < 0.01$ )。青河和乌伦古湖群体基因流 ( $N_m$ ) 远高于其他群体间, 推测乌伦古河或许是二者进行基因交流的渠道。尽管单倍型核苷酸不配对分布呈双峰, 但偏差平方和 ( $Q$ ) 与粗糙指数 ( $r$ ) 均不显著 ( $P > 0.05$ ), 且 Tajima's  $D$  和 Fu's  $F_s$  检验也均显著偏离中性, 结合群体呈现高单倍型多样性和低核苷酸多样性的特点, 推测贝加尔雅罗鱼经历了群体扩张事件。参考已校正的鲤科鱼类 Cyt *b* 基因 0.76%/Ma 的进化速率, 估算群体扩张的时间大约在 1.97 Ma 前的更新世中晚期, 推测该时期阿尔泰山地区发生的冰川作用和频繁的古地震造成的地理隔离和融合可能是贝加尔雅罗鱼发生群体扩张的重要原因。

**关键词:** 贝加尔雅罗鱼; 线粒体 Cyt *b* 基因; 遗传结构; 种群扩张

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2017) 02-304-10

## Population Genetic Structure of Siberian Dace (*Leuciscus leuciscus baicalensis*) in Irtysh River China Based on the Cyt *b* Gene Sequences

YANG Tian-Yan<sup>①②</sup> MENG Wei<sup>①\*</sup> HAI Sa<sup>①</sup> NIU Jian-Gong<sup>①</sup> ZHOU Qiong<sup>③</sup>

① Xinjiang Fisheries Research Institute, Urumqi 830000; ② Ocean University of China Institute of Evolution & Marine Biodiversity,

**基金项目** 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (No. 2012211B57), 国家科技基础性工作专项 (No. 2012FY112700), 国家水产种质资源平台项目 (No. 2016DKA30470);

\* 通讯作者, E-mail: mengwei1982@hotmail.com;

**第一作者介绍** 杨天燕, 女, 高级工程师; 研究方向: 鱼类种群遗传学研究; E-mail: hellojelly1130@163.com.

收稿日期: 2016-01-20, 修回日期: 2016-08-03 DOI: 10.13859/j.cjz.201702014

Qingdao 266003; ③ Fisheries College of Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract:** The genetic structures of four Siberian Dace (*Leuciscus leuciscus baicalensis*) populations (Qinghe QH, Haba River HBH, 185 Regiment 185T and Ulungur Lake WLG, Fig. 1) from Irtysh River were analyzed by mtDNA Cyt *b* gene marker. A total of 1 109 bp sequences were obtained and 54 haplotypes were found among 77 individuals including 7 shared haplotypes. Total haplotype diversity ( $H_d$ ), total nucleotide diversity ( $\pi$ ) and average nucleotide difference ( $K$ ) were 0.981 9, 0.008 21 and 9.091 (Table 1), respectively. The haplotype and nucleotide diversity of 185T were the highest, whereas those of QH were the lowest. The genetic distance among four populations ranged from 0.006 to 0.011. Neighborhood-joining (NJ) phylogenetic tree of all haplotypes based on Kimura 2- parameter method was divided to three branches (Fig. 2). There was no significant correlation between genetic relationship and geographical distance. AMOVA analysis showed differences among Siberian Dace populations were extremely significant ( $P < 0.01$ , Table 3). The gene flow ( $N_m$ ) between QH and WLG was much higher than other populations, indicating Ulungur River was the genetic communication channel between them (Table 2). Although nucleotide mismatch distribution was bimodal, both sum of squared deviation ( $Q$ ) and raggedness index ( $r$ ) were not significant ( $P > 0.05$ , Fig. 3). Meanwhile, Tajima's  $D$  and Fu's  $F_s$  neutral test gave positive values, in combination with high haplotype diversity and low nucleotide diversity, authors still considered Siberian Dace experienced population expansion. Applying 0.76% divergence rate of Cyt *b* gene sequence in Cyprinid fish, the divergence of Siberian Dace occurred about 1.97 Ma years ago during the middle-late Pleistocene. It was supposed that geographical isolation and fusion caused by glaciation and frequent paleo-earthquake in Altai region were the important reasons for population expansion.

**Key words:** Siberian Dace, *Leuciscus leuciscus baicalensis*; Cyt *b* gene; Genetic structure; Population expansion

贝加尔雅罗鱼 (*Leuciscus leuciscus baicalensis*) 隶属鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 雅罗鱼属, 俗称小白鱼或小白条, 在鄂毕河至科雷马河水系的西伯利亚地区较为常见, 我国主要分布于新疆北部额尔齐斯河及乌伦古河水系 (任慕莲等 2002, 郭焱等 2012), 是该地区重要土著经济鱼类之一, 曾在乌伦古湖和吉力湖渔业产量中占主要地位, 近年来随着水资源开发利用力度加大, 水域生态环境的改变和人为因素的影响, 渔业资源逐年下降, 且渔获物个体趋小型化 (郭焱等 2003a, 李尽梅 2006)。

目前关于贝加尔雅罗鱼的研究主要集中于养殖试验 (刘晓辰等 2015, 林旭元等 2016)、生理生化 (Mazur et al. 2008)、寄生虫学

(Dugarov1 et al. 2011) 和繁殖生物学 (郭焱等 2003b, 霍堂斌等 2008) 领域, 遗传学领域仅见染色体核型分析 (张丽萍 1997)、同工酶研究 (Zhigileva et al. 2010)、线粒体 DNA 全序列测定 (Hu et al. 2014) 及分子系统发育研究 (胡文革等 2004, 2005, 窦新杰等 2014, 王枫 2014)。Cyt *b* 基因相较于线粒体其他基因而言, 进化速度适中且便于通用引物扩增和测序, 适合种群水平差异的检测和系统发育研究 (郭新红等 2004, 潘宝平等 2005), 已成为探讨种群遗传分化和系统发生常用分子标记之一。本研究基于线粒体 Cyt *b* 基因片段, 分析新疆额尔齐斯河流域贝加尔雅罗鱼 4 个地理种群的遗传结构和差异, 以期为其资源的开发和保护利用提供基础依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

研究用贝加尔雅罗鱼于2014年4月采自新疆额尔齐斯河流域的青河(QH, 18尾)、哈巴河(HBH, 21尾)、185团(185T, 18尾)和乌伦古湖(WLG, 20尾), 采样地点见图1。现场剪取新鲜尾鳍组织用无水乙醇浸泡固定, 带回实验室后置于-20℃冰箱保存。

### 1.2 总DNA提取及PCR扩增

将鳍条充分漂洗、晾干并剪碎, 采用标准酚-氯仿法提取基因组DNA (Maniatis et al. 1982)。Cyt *b* 扩增引物为 L14724(5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGT TG -3') 和 H15915 (5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC -3') (Xiao et al. 2001)。

PCR反应总体积50 μl, 其中10 × buffer 5.0 μl, Mg<sup>2+</sup>终浓度为2.0 mmol/L, dNTP (2.5 mmol/L) 4 μl, Taq DNA聚合酶2 U, 引物(10 μmol/L)各2 μl, 模板DNA 2 μl (1 μg),

加灭菌水至终体积50 μl。反应条件为: 95℃预变性5 min, 然后是35个循环, 每个循环包括94℃变性45 s, 57℃退火45 s, 72℃延伸1 min, 最后72℃再延伸10 min。PCR扩增产物于1%琼脂糖凝胶电泳检测, 挑选条带清晰的PCR产物送上海生工生物工程股份有限公司进行纯化回收及测序。

### 1.3 数据处理

采用DNASTAR Lasergene7.1.0软件包中的SeqMan对同源序列进行比对、编辑和校准; Dnasp 5.10.1 (Rozas 2009)软件计算变异位点、单倍型数、单倍型多样性指数、平均核苷酸差异数和核苷酸多样性指数; Mega 6.0 (Tamura et al. 2013)软件基于Kimura双因子参数模型构建邻接(neighborhood joining)系统进化树, 1000次重抽样检验系统树中节点的自引导值; Arlequin3.11 (Excoffier et al. 2010)软件对群体内与群体间进行分子方差分析 (analysis of molecular variance, AMOVA), 计算遗传分化

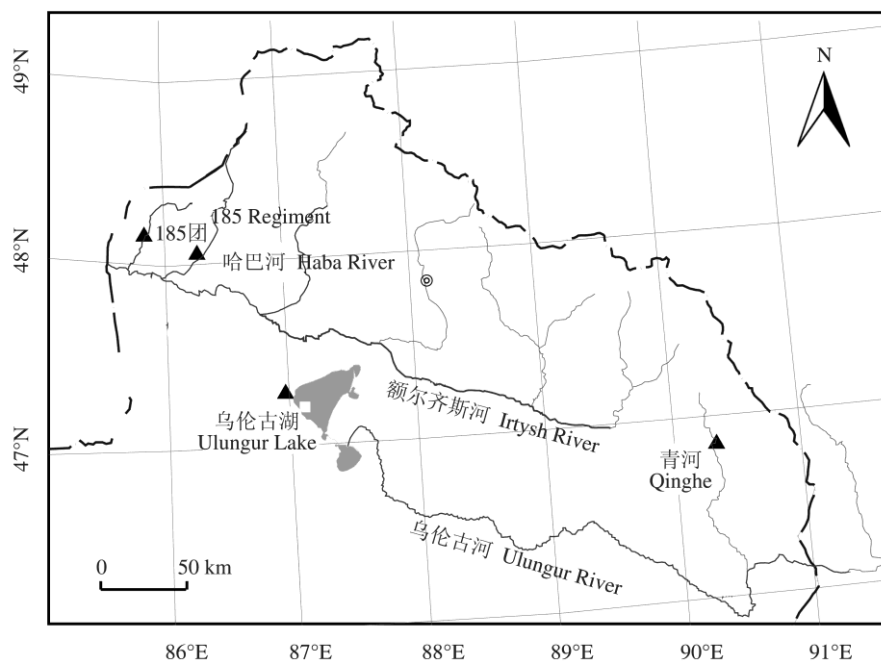


图1 采样地点

Fig. 1 The sampling sites of Siberian Dace

指数 ( $F_{st}$ ) 并评估遗传变异组成, 采用中性检验的方法计算 Tajima's  $D$  和 Fu's  $F_s$  值并进行核苷酸不配对 (mismatch distribution) 分析; 对于二倍体生物而言, 根据公式  $F_{st} = 1 / (1 + 4N_m)$  计算贝加尔雅罗鱼基因流  $N_m$  (Hamrick 1987); 根据分子钟 (molecular clock) 假说, 采用公式  $t = \tau / 2u$  推算各群体发生扩张时间, 其中  $\tau$  为扩张时间参数,  $u$  为进化速率,  $u = \mu k$ ,  $\mu$  为每个核苷酸位点的突变速率,  $k$  为分析序列的核苷酸数目,  $t$  表示自扩张以来经历的代数, 扩张时间  $T = t \times$  代时, 代时表示生殖周期。

## 2 结果

### 2.1 Cyt b 基因序列分析

对贝加尔雅罗鱼 4 个群体 77 尾个体 Cyt b 基因序列进行比对后得到长度为 1 109 bp 的同源序列, 未出现碱基的插入和缺失。T、C、A、G 四种碱基平均含量分别为 28.3%、29.5%、24.6% 和 17.6%, 其中, C 碱基含量最高, G 碱基含量最低, A + T 含量 (52.9%) 略大于 G + C 含量 (47.1%)。4 个群体共检测到 84 个变异位点, 其中单一变异位点 31 个, 简约信息位点 53 个, 分别占总变异位点的 37% 和 63%。77 尾个体定义了 54 种单倍型 (其中共享单倍型 7 个), 总单倍型多样性指数 ( $H_d$ ) 为 0.981 9, 总核苷酸多样性指数 ( $\pi$ ) 为 0.008 21, 平均核

苷酸差异数 ( $K$ ) 为 9.091。不同群体的遗传多样性参数见表 1, 4 个群体单倍型多样性指数由大到小依次为 185 团、乌伦古湖、哈巴河、青河, 核苷酸多样性指数由大到小依次为 185 团、哈巴河、乌伦古湖、青河。

### 2.2 群体遗传结构和聚类分析

贝加尔雅罗鱼群体遗传距离和遗传分化指数见表 2, 185 团和乌伦古湖群体遗传距离最大 (0.011), 青河和乌伦古湖群体遗传距离最小 (0.006)。不同群体间的遗传分化指数介于 -0.072 83 ~ 0.592 53 之间, 185 团与哈巴河群体间以及青河与乌伦古湖群体间遗传差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 其余群体间遗传差异均极显著 ( $P < 0.01$ )。基于  $F_{st}$  值计算基因流  $N_m$  绝对值在 0.172 ~ 15.653 之间, 其中乌伦古湖与青河群体间基因流最大, 而乌伦古湖与哈巴河群体间基因流最小。

采用 Arlequin 软件中分子方差分析法 (AMOVA), 设定两种模式对 4 个群体遗传变异来源和结构进行统计与估算 (表 3): 一是将贝加尔雅罗鱼作为 1 个组群, 验证各群体间是否具有显著遗传分化; 二是按照地理分布和流域性质划分为 2 个组群, 验证组群间是否存在显著的遗传差异。结果表明, 无论群体间还是组群间, 贝加尔雅罗鱼遗传差异均极显著 ( $P < 0.01$ ), 且这种变异主要来源于群体内。

表 1 贝加尔雅罗鱼 4 个群体遗传多样性参数

Table 1 Parameter summary of haplotypes and genetic diversity of four Siberian Dace populations

| 群体<br>Population           | 样品数<br>Number of samples | 单倍型数<br>Number of haplotypes | 多态位点数<br>Number of polymorphic sites | 平均核苷酸差异数 ( $K$ )<br>Average nucleotide difference | 单倍型多样性 ( $H_d$ )<br>Haplotype diversity | 核苷酸多样性 ( $\pi$ )<br>Nucleotide diversity |
|----------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---|---|--|
| 185 团 185T<br>185 Regiment | 18                       | 16                           | 39                                   | 43.707 544 ± 19.893 627                           | 0.986 9 ± 0.022 9                       | 0.039 412 ± 0.020 060                    |
| 乌伦古湖 WLG<br>Ulungur Lake   | 20                       | 16                           | 35                                   | 16.269 455 ± 7.569 519                            | 0.973 7 ± 0.025 0                       | 0.014 670 ± 0.007 623                    |
| 哈巴河 HBH<br>Haba River      | 21                       | 18                           | 33                                   | 17.270 811 ± 7.998 654                            | 0.971 4 ± 0.030 0                       | 0.015 573 ± 0.008 051                    |
| 青河 QH<br>Qinghe            | 18                       | 11                           | 28                                   | 14.661 242 ± 6.887 164                            | 0.888 9 ± 0.064 0                       | 0.013 220 ± 0.006 945                    |

表 2 贝加尔雅罗鱼群体 K2P 遗传距离 (对角线上)、遗传分化指数  $F_{st}$  (对角线下) 和基因流  $N_m$  (括号内)

Table 2 Average Kimura 2- parameter distance (above diagonal), genetic differentiation coefficient  $F_{st}$  (below diagonal) and gene flow  $N_m$  (in parentheses) among Siberian Dace populations

| 群体 Population           | 185T                 | WLG               | HBH              | QH    |
|-------------------------|----------------------|-------------------|------------------|-------|
| 185 团 185 Regiment 185T |                      | 0.011             | 0.007            | 0.010 |
| 乌伦古湖 Ulungur Lake WLG   | 0.442 92 (0.314)     |                   | 0.010            | 0.006 |
| 哈巴河 Haba River HBH      | - 0.072 83 (- 0.368) | 0.592 53 (0.172)  |                  | 0.009 |
| 青河 Qinghe QH            | 0.331 59 (0.504)     | 0.015 72 (15.653) | 0.532 56 (0.219) |       |

表 3 贝加尔雅罗鱼群体线粒体 Cyt *b* 基因的 AMOVA 分析

Table 3 AMOVA analysis of Siberian Dace populations based on mtDNA Cyt *b* gene

| 变异来源<br>Source of variation               | 自由度 <i>df</i><br>Degrees of freedom | 平方和<br>Sum of squares | 方差组分<br>Variance components | 方差比例 (%)<br>Percentage of variation |
|---|-------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 一个组群 One group                            |                                     |                       |                             |                                     |
| 群体间 Among populations                     | 3                                   | 91.171                | 1.399 88 Va                 | 28.67                               |
| 群体内 Within populations                    | 73                                  | 254.297               | 3.483 52 Vb                 | 71.33                               |
| 总体 Total                                  | 76                                  | 345.468               | 4.883 39                    |                                     |
| 固定指数 Fixation index                       |                                     |                       | 0.286 66                    |                                     |
| 两个组群 Two groups                           |                                     |                       |                             |                                     |
| 组群间 Among groups                          | 1                                   | 412.077               | 10.635 86Va                 | 49.55                               |
| 组群内群体间<br>Among populations within groups | 2                                   | 5.477                 | - 0.445 24Vb                | - 2.07                              |
| 群体内 Within populations                    | 73                                  | 822.869               | 11.272 18Vc                 | 52.52                               |
| 总体 Total                                  | 76                                  | 1 240.424             | 21.462 80                   |                                     |
| 固定指数 Fixation index                       |                                     |                       | 0.474 80                    |                                     |

Va 表示组群间方差、Vb 表示组群内群体间方差、Vc 表示群体内方差。

Va means variance among groups; Vb means variance among populations within groups; Vc means variance within populations.

基于 Kimura 双参数法对 4 个贝加尔雅罗鱼群体 54 个单倍型进行聚类分析, 获得邻接系统发育树 (图 2)。聚类树分为 3 支, 一支主要由下游的哈巴河和 185 团群体组成, 另一支由青河和乌伦古湖群体组成, 少数青河和 185 团个体组成了剩余一支。

### 2.3 群体历史动态研究

采用 Tajima's *D* 和 Fu's *F<sub>s</sub>* 检验来验证中性假说是否成立, 在 1 000 次模拟抽样的情况下, Tajima's *D* 值为 - 1.661 03 ( $P < 0.05$ ), Fu's *F<sub>s</sub>* 值则为一个绝对值较大的负值 - 24.651 26 ( $P <$

0.05), 且统计检验显著偏离中性。对所有单倍型进行核苷酸不配对分析 (图 3), 结果呈双峰分布, 但偏差平方和 (sum of squared deviation,  $Q = 0.006 1$ ,  $P > 0.05$ ) 和粗糙指数 (raggedness index,  $r = 0.007 8$ ,  $P > 0.05$ ) 均不显著。

根据 Arlequin 软件, 采用广义非线性最小方差法估算出  $\tau$  值为 11.093 75 (95% 置信区间 7.269 53 ~ 13.320 31)。参考已校正的鲤科鱼类 Cyt *b* 基因 0.76%/Ma 的进化速率 (Zardoya et al. 1999), 代时为 3 (郭焱等 2003b), 推算出贝加尔雅罗鱼群体扩张时间大约在 1.97 Ma 前的

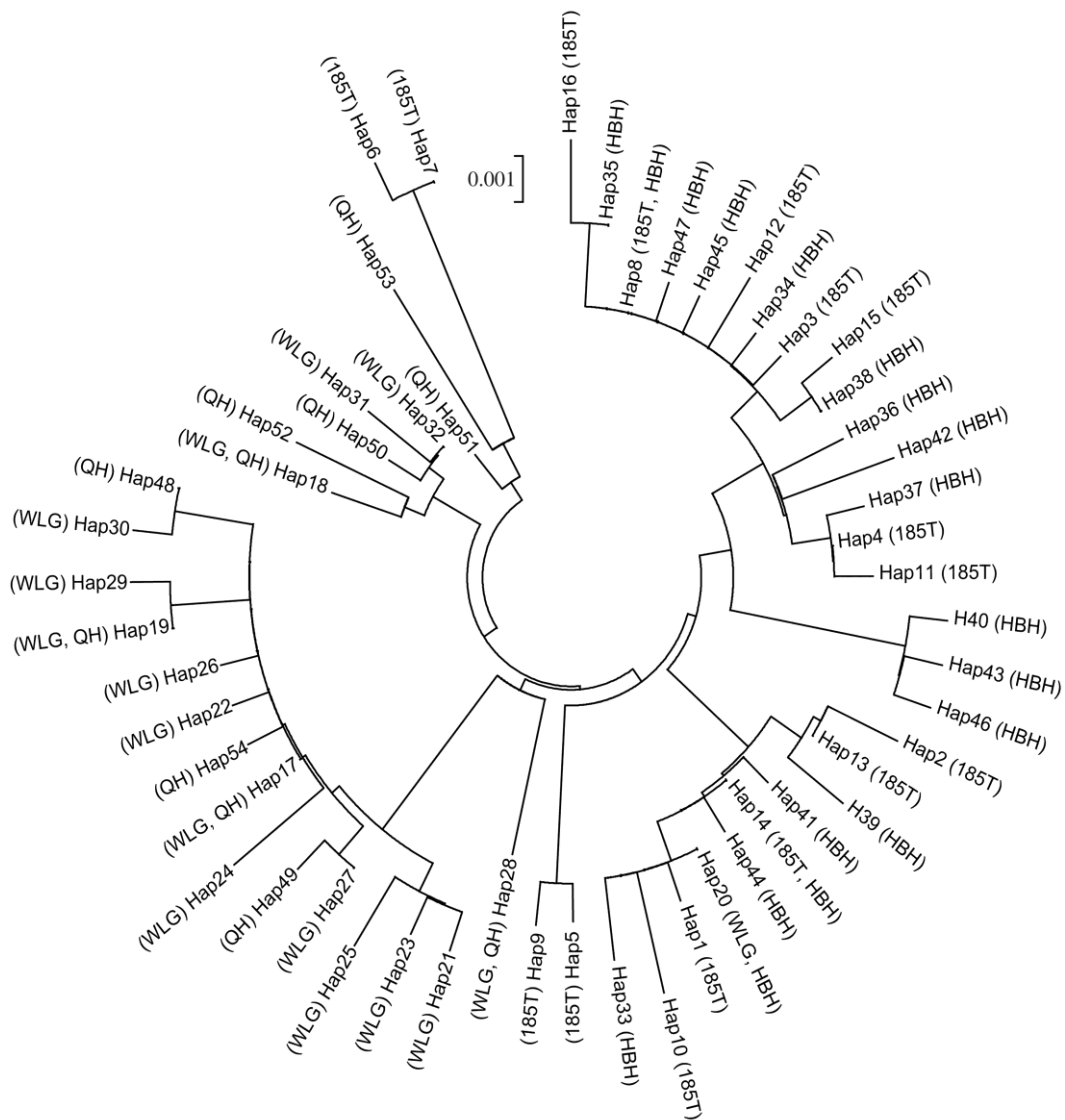


图 2 基于 Kimura 双参数法构建的单倍型邻接系统发育树

Fig. 2 Neighbor-joining phylogenetic tree of all haplotypes based on Kimura 2- parameter method

Hap. 单倍型；括号内字母为该单倍型所属群体的简称：185T. 185 团；WLG. 乌伦古湖；HBH. 哈巴河；QH. 青河。标尺表示每个位点的替代率。

Hap. Haplotype; The letters in parentheses represent abbreviation of different populations: 185T. 185 Regiment; WLG. Ulungur Lake; HBH. Haba River; QH. Qinghe. The image ruler means substitution per site.

更新世中晚期。

### 3 讨论

#### 3.1 群体遗传结构

Avice (1994) 认为同种的个体间遗传差异

一般为 0.1% ~ 5%。Shaklee 等 (1982) 在蛋白质水平上将遗传距离 0.9、0.3 和 0.05 分别作为鱼类在属、种和种群三级水平上的划分阈值。本研究中贝加尔雅罗鱼群体间遗传距离为 0.006 ~ 0.011，高于胡思帆 (2014) 基于线粒体

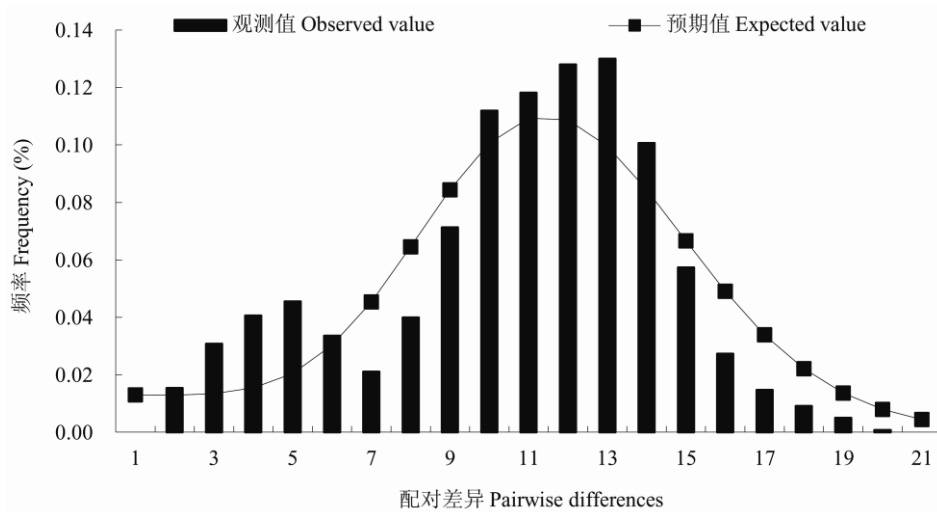


图3 贝加尔雅罗鱼单倍型核苷酸不配对分布图

Fig. 3 Nucleotide mismatch distribution of Siberian Dace haplotypes

图中的预期值指群体扩张模型下的预期分布。

The expected value in the graph refers to expected distribution under the sudden expansion model.

控制区计算的群体间遗传距离 0.000 ~ 0.004，这一方面与研究选取的目的基因及其片段长度有关，另一方面与后者采样点分布范围集中在额尔齐斯河下游（185 团、哈巴河、别列则克河、布尔津河口）导致遗传差异甚微也有直接关系。参照 Avise (1994) 和 Shaklee 等 (1982) 的划分标准，本研究中贝加尔雅罗鱼群体间的遗传距离远低于临界值 0.05，这种差异仍属于种群内不同个体间差异，未达到种或亚种的分化程度。从地理距离远近和遗传距离大小来看，乌伦古湖与 185 团、哈巴河相距较近，但遗传距离却较大。历史上，乌伦古湖与额尔齐斯河河床相距极近但未沟通（严钦尚等 1962），直到 1987 年的“引额济海”工程的开工，才凿通了额尔齐斯河与乌伦古湖之间的分水岭（夏庆一 1989），由于遗传结构的变化需要一个漫长的过程，推测地理隔离可能是造成乌伦古湖群体与 185 团、哈巴河群体产生遗传分化的主要驱动力。

从贝加尔雅罗鱼单倍型邻接系统树可以看出，地理距离较近的哈巴河和 185 团群体与相距较远的青河和乌伦古湖群体分别构成两大独

立的支系，显示群体间遗传关系和地理分布没有明显的相关性。前者可能与相隔较近、栖息环境相似有关，而后者则与乌伦古河的联通有关。

### 3.2 遗传多样性与基因流

单倍型多样性和核苷酸多样性是衡量遗传多样性的两个重要参数 (Vrijenhoek 1994)。由于核苷酸变异较单倍型变异积累的时间更加漫长，通常而言，一个较小的有效种群经过近期快速增长，其单倍型多样性会非常丰富，但没有足够的时间使核苷酸产生变异 (Grant et al. 1998)。本研究中 4 个贝加尔雅罗鱼群体均呈现高单倍型多样性 ( $H_d \geq 0.5$ ) 和低核苷酸多样性 ( $\pi < 0.5\%$ ) 的特征，和胡思帆 (2014) 对额尔齐斯河下游流域 4 个群体贝加尔雅罗鱼 D-Loop 基因序列分析的结果一致，推测该物种曾经历过“瓶颈效应” (bottleneck effect)，后又受到“创立者效应” (founder effect) 的影响，群体得到迅速扩张所导致 (Grant et al. 1998)。额尔齐斯河发源于新疆北部的阿尔泰山南坡，流经富蕴、福海、阿勒泰、布尔津、哈巴河等 5 个县市，进入哈萨克斯坦的斋桑泊(任

慕莲等 2002)。从地理位置来看, 4 个群体的单倍型多样性变化呈现出从上游到下游递增的趋势。分析原因, 可能是各支流携带不同单倍型的个体顺流而下, 经汇集后在下游 185 团积累而成。

遗传多样性指数  $F_{st}$  值是评价群体间遗传分化尺度的指标。 $F_{st}$  值大于 0.25 表明群体间发生了高度分化, 0.15 ~ 0.25 为中度分化, 0.05 ~ 0.15 为低度分化, 而小于 0.05 则表明没有分化 (Wright 1978)。本研究中, 无论将研究对象作为 1 个还是 2 个组群对待, 总的  $F_{st}$  值均大于 0.25, 表明额尔齐斯河流域贝加尔雅罗鱼已发生高度遗传分化。需要指出的是, 185 团和哈巴河群体间  $F_{st}$  值为负值 (-0.072 83), 暗示彼此间没有出现遗传分化。Slatkin (1987) 曾指出, 在连续分布的群体中, 群体遗传分化与空间地理距离呈正向关系, 或群体分化与基因迁移数呈负向关系。也就是说群体间地理距离越近, 基因交流的机会越大, 遗传分化程度越小。从该理论角度出发, 推测可能由于它们的地理分布接近, 基因存在频繁交流有关。

基因流是影响群体内部和群体之间遗传变异程度的重要因素, 自然居群的遗传分化被认为是依赖于基因流和选择作用间平衡关系的动力学过程 (向井辉美 1984)。当  $N_m < 1$  时, 群体间会发生遗传分化; 当  $N_m$  介于 1 ~ 4 之间时, 群体间存在基因交流, 基因流可以发挥其均质化作用, 防止遗传漂变引起的各群体间的分化; 当  $N_m > 4$  时, 群体间的基因交流更充分, 群体是一个随机单位 (Wright 1931, Hamrick 1987)。对整体而言, 采用间接法计算出贝加尔雅罗鱼总的基因流  $N_m$  小于 1, 反映出这些种群间基因交流匮乏, 有限的基因流是促使群体发生遗传分化的主要原因 (Wright 1951)。从群体来看, 乌伦古湖和青河群体间  $N_m$  值为 15.653, 大于 4, 其余群体间  $N_m$  值均小于 1。由此可见, 不同地理群体的贝加尔雅罗鱼基因交流存在一定差异, 其中乌伦古湖和青河群体基因流动较其他群体而言更加密切。有研究认为,  $N_m$  大于 1 可

能是地理距离很近或群体间存在某种渠道可以进行基因交流 (曲若竹等 2004)。从地理分布上来看, 显然第二种原因能更好地解释这一现象。乌伦古河 4 大支流——大青格里河、小青格里河、查干河和布尔根河在青河县境内汇聚, 最终注入福海县境内乌伦古湖 (李疆等 1981)。乌伦古河作为连接乌伦古湖与青河各支流的重要通道, 使得分布于乌伦古湖和青河的贝加尔雅罗鱼获得更加充分的交流, 同时也从一个侧面解释了这两个群体间地理距离较远但遗传距离却最小的原因。

### 3.3 群体历史动态与种群扩张

当 Tajima's  $D$  显著大于 0 时, 可用于推断瓶颈效应和平衡选择; 当 Tajima's  $D$  显著小于 0 时, 可用于推断群体规模放大和定向选择 (Tajima 1989)。本文中对所有单倍型的中性检验, Tajima's  $D$  值和 Fu's  $F_s$  值均为负, 且差异极显著 ( $P < 0.01$ )。提示遗传结构偏离中性假说, 支持贝加尔雅罗鱼群体受到自然选择作用, 历史上发生过群体扩张事件。

群体在过去经历扩张或持续增长, 其核苷酸不配对分布曲线会呈现单峰分布, Tajima's  $D$  中性检验显著偏离中性突变; 而群体大小保持稳定时, 核苷酸不配对分布曲线则呈现多峰分布, Tajima's  $D$  值检验不显著 (Tajima 1989)。本研究中, 尽管核苷酸不配对分布呈双峰, 但拟合优度检验 (test of goodness-of-fit) 得到的偏差平方和及粗糙指数均不显著 ( $P > 0.05$ ), 表明没有显著偏离群体扩张模式下的预期分布。一般而言, 在膨胀过的种群中粗糙指数的数值较小, 而在没有膨胀的平衡种群中粗糙指数的数值则较大 (Harpending 1994)。相对于其他淡水鱼类而言 (Costedoat et al. 2005, Luhariya et al. 2014, Yu et al. 2014, Bruno et al. 2015), 本研究得到一个较小的粗糙指数值, 推测额尔齐斯河贝加尔雅罗鱼仍然经历了群体扩张事件。

脊椎动物 Cyt *b* 基因可以作为分子钟推测物种扩张的时间, 根据序列间的分歧速率推算



出额尔齐斯河贝加尔雅罗鱼发生群体扩张时间大约在 1.97 Ma 前的更新世中晚期。大量资料表明, 多数鱼类尤其是海水鱼类发生群体扩张时间在更新世, 即第四纪冰期这一地质史上距今最大的一次冰期。阿尔泰山地区早中更新世冰川广布, 晚更新世与全新世以后雪线有所上升, 有研究表明第四纪该地区经历了 3~4 次冰川作用(崔之久等 1992)。冰期(glacial epoch)与间冰期(interglacial epoch)的交替, 高幅度、高频次降水及冰川融水导致河流阶地堆积与新河流的形成(常宏等 2005)。此外, 渐新世阿尔泰地区的构造活动开始加强, 第四纪时期进一步加强, 更新世晚期频繁的古地震更使得额尔齐斯河断裂带发生破裂(柏美祥 1996)。一系列强烈的地质变化和环境的改变, 产生的地理隔离和融合造成了物种的迁移和栖息地变化, 或许是最终导致贝加尔雅罗鱼种群扩张的重要原因。

## 参 考 文 献

- Avisé J C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. New York: Chapman and Hall.
- Bruno M, Casciotta J R, Almirón A E, et al. 2015. Quaternary refugia and secondary contact in the southern boundary of the Brazilian subregion: comparative phylogeography of freshwater fish. *Vertebrate Zoology*, 65(1): 45–55.
- Costedoat C, Pech N, Salducci M D, et al. 2005. Evolution of mosaic hybrid zone between invasive and endemic species of Cyprinidae through space and time. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(2): 135–155.
- Dugarov I Z N, Batueva M D, Pronina S V. 2011. Hyperparasitism by *Myxobilatus paragasterostei* Zaika, 1963 (Myxozoa: Myxosporidia) in *Phyllodistomum folium* (Olfers, 1926) (Trematoda: Gorgoderidae), a parasite of the Siberian dace *Leuciscus leuciscus baicalensis*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 31(1): 31–35.
- 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.
- Grant W, Bowen B. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5): 415–426.
- Hamrick J L. 1987. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations // Urbanska K. *Differentiation in Higher Plants*. New York: Academic Press, 53–67.
- Harpending H C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66(4): 591–600.
- Hu S F, Niu J G, Xie P, et al. 2014. The complete mitochondrial genome of *Leuciscus leuciscus baicalensis* (Cypriniformes: Cyprinidae). *Mitochondrial DNA*, 26(5): 751–752.
- Luhariya R K, Lal K K, Singh R K, et al. 2014. Genealogy and phylogeography of Cyprinid fish *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) inferred from ATPase 6 and 8 mitochondrial DNA gene analysis. *Current Zoology*, 60(4): 460–471.
- Maniatis T, Fritsch E F, Sambrook J. 1982. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Mazur O E, Pronin N M, Garmayeva S G. 2008. Heavy metal content and response of the blood system of Siberian dace *Leuciscus leuciscus baicalensis* (Cypriniformes, Cyprinidae) under anthropogenic impact. *Journal of Ichthyology*, 48(6): 469–475.
- Rozas J. 2009. DNA Sequence Polymorphism Analysis using DnaSP. *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis, Methods in Molecular Biology*. New Jersey: Humana Press, 337–350.
- Shaklee J B, Tamaru C S, Waples R S. 1982. Speciation and evolution of marine fishes studies by electrophoresis analysis of proteins. *Pacific Science*, 36(2): 141–157.
- Slatkin M. 1987. Gene flow and geographic structure of natural population. *Science*, 236(4803): 787–792.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.
- 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.
- Vrijenhoek R C. 1994. Genetic diversity and fitness in small

- populations. *Conservation Genetics*, 68(1): 37–53.
- Wright S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16(2): 97–159.
- Wright S. 1951. The genetical structure of population. *Annals of Eugenics*, 15(4): 323–354.
- Wright S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations*. Chicago: University of Chicago Press.
- Xiao W, Zhang Y, Liu H. 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.
- Yu D, Chen M, Tang Q Y, et al. 2014. Geological events and Pliocene climate fluctuations explain phylogeographical pattern of the cold water fish *Rhynchocypris oxycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in China. *BMC Evolutionary Biology*, 14(1): 225–237.
- Zardoya R, Doadrio I. 1999. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European Cyprinids. *Molecular Evolution*, 49(2): 227–237.
- Zhigileva O N, Ozhirel'ev V V, Brol' I S, et al. 2010. Populational structure of three fish species (Cypriniformes: Cyprinidae) living in rivers of the Ob-Irtysh basin, by the data of isoenzyme analysis. *Journal of Ichthyology*, 50(9): 778–787.
- 柏美祥. 1996. 额尔齐斯活动断裂带. *新疆地质*, 14(2): 127–134.
- 常宏, 安芷生, 强小科, 等. 2005. 河流阶地的形成及其对构造与气候的意义. *海洋地质动态*, 21(2): 8–11.
- 崔之久, 易朝路, 严竟浮. 1992. 新疆阿尔泰山哈纳斯河流域及其邻域第四纪冰川作用. *冰川冻土*, 14(4): 342–351.
- 窦新杰, 常玉梅, 唐然, 等. 2014. 几种雅罗鱼亚科鱼类基于 mtDNA 序列的亲缘关系. *江苏农业学报*, 30(4): 826–832.
- 郭新红, 刘少军, 刘巧, 等. 2004. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展. *遗传学报*, 31(9): 983–1000.
- 郭焱, 张人铭, 李红. 2003a. 额尔齐斯河土著鱼类资源衰退原因与保护措施. *干旱区研究*, 20(2): 152–155.
- 郭焱, 吐尔逊, 蔡林钢, 等. 2003b. 赛里木湖贝加尔雅罗鱼 *Leuciscus leuciscus baicalensis* 生长研究. *新疆大学学报: 自然科学版*, 20(3): 272–276.
- 郭焱, 张人铭, 蔡林钢, 等. 2012. *新疆鱼类志*. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社.
- 胡思帆. 2014. 新疆额尔齐斯河贝加尔雅罗鱼线粒体基因组分析和遗传多样性研究. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文.
- 胡文革, 段子渊, 王金富, 等. 2004. 新疆 3 种雅罗鱼线粒体 DNA 控制区的列的差异与系统进化. *遗传学报*, 31(9): 970–975.
- 胡文革, 段子渊, 王金富, 等. 2005. 新疆 3 种雅罗鱼线粒体 DNA 细胞色素 b 序列的差异与系统进化. *动物学杂志*, 40(3): 6–11.
- 霍堂斌, 马波, 唐富江, 等. 2008. 新疆 3 种雅罗鱼生长模型的比较研究. *水产学杂志*, 21(2): 8–14.
- 李尽梅. 2006. 我国额尔齐斯河流域鱼类资源衰退的原因与对策. *中国水产*, (9): 76–78.
- 李疆, 加帕尔, 卡德尔. 1981. 乌伦古河径流及布伦托海湖水位多年变化的初步分析. *干旱区地理*, 4(1): 10–18.
- 林旭元, 唐方秋. 2016. 三种常用渔药对贝加尔雅罗鱼夏花鱼苗的急性毒性实验. *科学养鱼*, 32(6): 56–58.
- 刘晓辰, 卓然江, 殷建国, 等. 2015. 新疆阿勒泰地区贝加尔雅罗鱼池塘养殖试验. *科学养鱼*, 31(4): 35.
- 潘宝平, 卜文俊. 2005. 线粒体基因组的遗传与进化研究进展. *生物学通报*, 40(8): 1–3.
- 曲若竹, 侯林, 吕红丽, 等. 2004. 群体遗传结构中的基因流. *遗传*, 26(3): 377–382.
- 任慕莲, 郭焱, 张人铭, 等. 2002. 中国额尔齐斯河鱼类资源及渔业. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社.
- 王枫. 2014. 高体雅罗鱼线粒体基因组全序列测定及雅罗鱼亚科鱼类系统发育分析. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文.
- 夏庆一. 1989. “引额济海”成效卓著. *干旱环境监测*, 3(2): 11.
- 向井辉美. 1984. *群体遗传学*. 长春: 吉林科学技术出版社.
- 严钦尚, 夏训诚. 1962. 新疆额尔齐斯河与乌伦古河流域地貌发育. *地理学报*, 28(4): 257–272.
- 张丽萍. 1997. 贝加尔雅罗鱼核型比较. *干旱区研究*, 14(1): 80–83.