

基于线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因和控制区序列分析西藏雅鲁藏布江黄斑褶鲑种群遗传多样性

马清芝^{①②} 马波^{②*} 李雷^② 金星^② 林小婉^{①②} 金洪宇^{②③}

① 哈尔滨师范大学 哈尔滨 150025; ② 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 哈尔滨 150070;

③ 上海海洋大学 上海 201306

摘要: 采用线粒体 DNA (mtDNA) Cyt *b* 基因和 D-loop 控制区为分子标记, 对分布于西藏雅鲁藏布江大峡谷以上里龙段和以下墨脱段 2 个群体的黄斑褶鲑 (*Pseudecheneis sulcata*) 共 60 个样本进行遗传多样性研究。获得联合基因有效序列长度为 1 893 bp, 包括 Cyt *b* 基因 1 060 bp 和 D-loop 控制区 833 bp。结果显示, 里龙和墨脱 2 个群体的单倍型多样性值 (H_d) 均较高 (0.701 和 0.761), 核苷酸多样性值 (π) 均较低 (0.001 00 和 0.001 09); 高频率的单倍型 Hap1 和 Hap2 为 2 个群体所共享, 推测为祖先单倍型; 同时, 里龙和墨脱群体分别存在 5 个和 6 个特有单倍型, 且在 2 个群体中不共享; 分子方差分析 (AMOVA) 显示遗传变异主要来源于种群内部, 群体间呈中度遗传分化水平 ($F_{st} = 0.090 44$, $P < 0.05$); 中性检验 (Tajima's D 、Fu's F_s) 和核苷酸不配对 (SSD、 H_{it}) 分析结果揭示, 黄斑褶鲑种群曾经历过种群扩张现象。本研究推测, 黄斑褶鲑 2 个群体间的基因流动存在障碍, 雅鲁藏布大峡谷的海拔落差及水文情势等生态屏障可能是阻碍黄斑褶鲑迁徙和交流的主要原因。

关键词: 黄斑褶鲑; 线粒体 DNA; 细胞色素 *b* 基因; D-loop 控制区; 遗传多样性; 雅鲁藏布江

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2019) 05-701-10

Analysis of Genetic Diversity of *Pseudecheneis sulcata* Populations from the Yarlung Zangbo River in Tibet Based on Mitochondrial DNA Cytochrome *b* Gene and Control Region Sequence

MA Qing-Zhi^{①②} MA Bo^{②*} LI Lei^② JIN Xing^②
LIN Xiao-Wan^{①②} JIN Hong-Yu^{②③}

① Harbin Normal University, Harbin 150025; ② Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070; ③ Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

基金项目 公益性 (农业) 行业科研专项 (No. 201403012), 农业农村部财政专项 “西藏重点水域渔业资源与环境调查”;

* 通讯作者, E-mail: hsymabo@163.com;

第一作者简介 马清芝, 女, 硕士研究生; 研究方向: 鱼类生态学; E-mail: hsymabo@163.com。

收稿日期: 2019-04-18, 修回日期: 2019-08-12 DOI: 10.13859/j.cjz.201905011

Abstract: Using mitochondrial DNA (mtDNA) Cyt *b* gene and D-loop control region as molecular markers, genetic diversities of 60 *Pseudecheneis sulcata* samples from two populations in the upper Lilong section and the lower Motuo section of the Yarlung Zangbo River Grand Canyon were studied. The effective sequence length of the combination gene was 1 893 bp, including 1 060 bp Cyt *b* gene and 833 bp D-loop control region. The results showed that the haplotype diversity values (H_d) of both Lilong and Motuo populations were high (0.701 and 0.761), and the nucleotide diversity values (π) were low (0.001 00 and 0.001 09). A high frequency of Hap1 and Hap2 was observed in both populations, which were presumed to be ancestral haplotypes. Meanwhile, there were 5 and 6 unique haplotypes in Lilong and Motuo populations, respectively, and they were not shared between the two populations. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that the genetic variation mainly originated from within the population, with moderate genetic differentiation between populations ($F_{st} = 0.090 44$, $P < 0.05$). Neutral test (Tajima's D and Fu's F_s) and nucleotide mismatch analysis (SSD and H_{tr}) revealed that *Pseudecheneis sulcata* had experienced population expansion. This study indicated that there were barriers in gene flow between the two populations of *P. sulcata*. The ecological barriers such as altitude difference and hydrological situation of the Yarlung Zangbo Grand Canyon may be the main reasons for hindering the migration and communication in *P. sulcata*.

Key words: *Pseudecheneis sulcata*; Mitochondrial DNA; Cyt *b*; D-loop; Genetic diversity; Yarlung Zangbo River

雅鲁藏布江位于青藏高原地区, 是世界上海拔最高的大河之一, 自西向东横贯西藏南部, 在下游向南奔流, 特殊的地理和气候环境孕育出独特而丰富的鱼类资源 (武云飞等 1991a), 鱼类区系主要由鲤科 (Cyprinidae) 的裂腹鱼亚科 (Schizothoracinae)、条鳅科 (Nemacheilidae) 的高原鳅属 (Triplophysa) 和鲃科 (Sisoridae) 等鱼类组成 (张春光等 1995)。雅鲁藏布江从林芝米林县派镇开始到下游区域的河长 200 余 km 内海拔落差达 2 000 余 m (关志华 1999), 该区域也是闻名世界的雅鲁藏布大峡谷 (杨逸畴等 1995), 由于雅鲁藏布大峡谷上下游的海拔落差、水流速度、温度差异等自然环境明显影响着该区域的鱼类区系组成和地理分布 (武云飞 1985), 雅鲁藏布大峡谷内和大峡谷以上鱼类的区系组成存在明显差异, 两者间除裂腹鱼属外缺少共有属, 几乎没有共有种 (张春光等 1995)。

黄斑褶鲃 (*Pseudecheneis sulcata*) 隶属于鲃科褶鲃属, 主要分布于印度及我国的西藏 (武云飞 1985), 在西藏地区分布于雅鲁藏布江下

游的墨脱、察隅 (张春光等 1995, 周用武等 2007)。最近研究显示, 黄斑褶鲃在雅鲁藏布大峡谷以上的中游也有自然分布, 成为目前雅鲁藏布江中游和下游唯一一种都有分布的鱼类 (马波等 2018), 而分布于下游的墨脱纹胸鲃 (*Glyptothorax annandalei*)、扁头鲃 (*Pareuchiloglanis kamengensis*)、平唇鲃 (*P. hodgarti*)、藏鳅 (*Exostoma labiatum*) 等其他鲃科鱼类在雅鲁藏布大峡谷以上的中游水域没有分布 (张春光等 1995)。鲃科鱼类的口、胸、鳍等组织器官具有吸着器, 营底栖生活, 适应于激流环境, 不善游动而活动范围有限 (严娟等 2018)。峡谷内巨大的海拔落差及局部的剧烈坡降致使河床多急流险滩, 河水湍急 (杨逸畴 1982, 余国安等 2012), 可能特殊的地形水文屏障作用使鲃科鱼类在大峡谷内不能自由地迁移, 而黄斑褶鲃能够突破大峡谷阻碍得以到达中游水域, 表明其可能具有特殊的生活史或演化过程。

有相关研究表明, 峡谷及水文等独特环境对鱼类基因交流有一定的限制作用 (Costello et

al. 2003, 赵凯等 2005), 同一河流域的上下游地理隔离也可导致鱼类群体产生遗传分化 (He et al. 2009, 李文静等 2018); 由于自然阻隔、扩散分化的生态适应等原因, 鲃科鱼类的分化不仅体现在各大水系之间, 也体现在同一水系的支流或上下游之间 (Zhou et al. 2005, 刘绍平等 2010)。本研究选用线粒体 DNA 的 *Cyt b* 基因和 D-loop 控制区作为分子标记, 通过两种基因序列联合的方式研究雅鲁藏布大峡谷上下雅鲁藏布江水域黄斑褶鲃群体遗传多样性水平, 分析大峡谷对黄斑褶鲃群体遗传分化的影响, 为探讨雅鲁藏布江黄斑褶鲃的地理分布格局、演化过程及遗传资源保护管理等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

分别于 2018 年 4 月和 7 月, 在雅鲁藏布大峡谷以上的雅鲁藏布江西藏林芝米林县里龙段 (29°07' N, 93°49' E, 海拔 2 960 m) 和大峡谷以下的雅鲁藏布江墨脱段 (29°18' N, 95°16'

E, 海拔 668 m) (图 1), 使用定置刺网分别捕获到 30 尾黄斑褶鲃, 取鳍条或肌肉组织, 用 95% 无水乙醇固定后运回实验室, 于 -20 °C 冰箱中保存。

1.2 PCR 扩增与测序

取每个个体的鳍条或肌肉组织约 25 mg, 使用 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取总 DNA, 用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的质量, 于 4 °C 保存备用。扩增 *Cyt b* 基因序列的引物为 L14724 和 H15915 (Xiao et al. 2001), 扩增 D-loop 区域基因序列的引物为 D-loop-F 和 D-loop-R (Zeng et al. 2011), 引物均由上海生工生物工程有限公司合成。

PCR 反应体系均为 25 μ l, 其中包含 10 \times buffer 2.5 μ l, 25 mmol/L 的 $MgCl_2$ 1.5 μ l, 10 mmol/L 的 dNTPs 2.5 μ l, 上、下游的引物 (10 μ mol/L) 各 2 μ l, *Taq* 酶 2.0 U, 去离子灭菌超纯水补至总体积 25 μ l。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 4 min; 扩增过程 35 个循环, 94 °C 变性 55 s, 扩增 *Cyt b* 和 D-loop 基因的退火温度分别为 58 °C 和 50 °C, 退火时间分别为 30 s

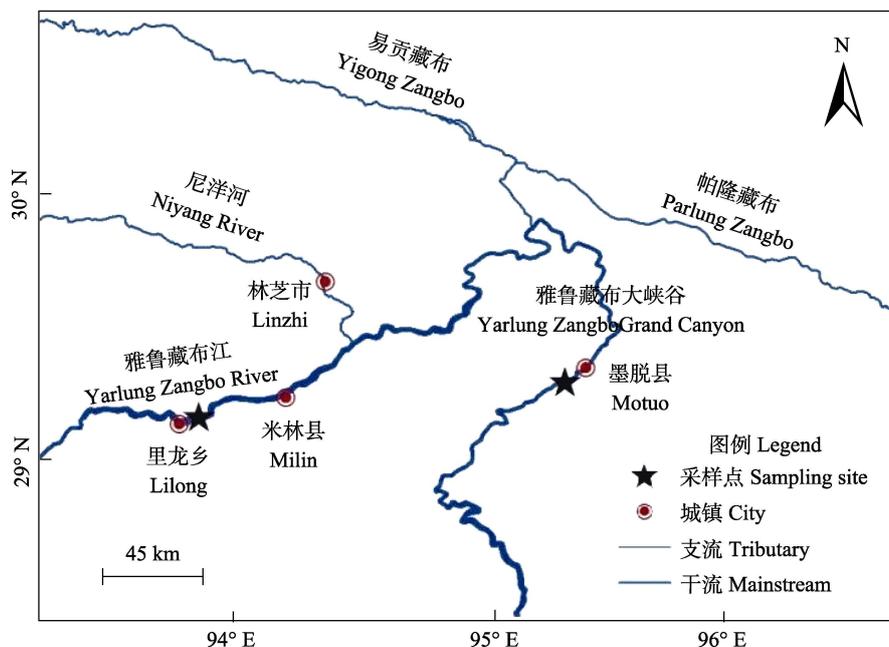


图 1 黄斑褶鲃采集样点

Fig. 1 Sampling location of *Pseudecheneis sulcata*

和 45 s, 72 °C 延伸 30 s; 最终 72 °C 延伸 5 min。取 4 μl PCR 扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 将带有目的条带的 PCR 产物送至上海生工生物工程有限公司进行双向测序, 测序所用引物与扩增引物相同。

1.3 数据分析

使用 Chromas 软件分别观察 Cyt *b* 和 D-loop 测序结果的峰图, 校对数据。利用 DNAMAN 对双向测序结果序列进行拼接。利用 ClusterX v 1.83 软件分别对两者拼接后的序列进行多重比较, 人工矫正对齐, 将对齐后的序列截取同等长度。对 Cyt *b* 和 D-loop 基因序列联合后进行分析, 利用 DNAsp 5.10 计算单倍型数 (*h*)、单倍型多样性 (H_d)、核苷酸多样性 (π) 等参数 (Librado et al. 2009)。利用 MEGA 6.0 软件 (Tamura et al. 2013) 计算群体内及群体间的遗传距离, 基于双参数替代模型 (Kimura-2-Parameter, K2P) 构建邻接 (neighbor-joining, NJ) 分子系统进化树, 经 1 000 次自展检验得到分支树节点的支持率, 其余参数均为软件默认值。基于 Medium-Jion 利用 Network 4.6 软件 (Bandelt et al. 1999) 构建单倍型网络图。利用 Arlequin 3.5 软件 (Excoffier et al. 2010) 计算两群体之间的遗传分化指数 F_{st} 值, 完成 AMOVA 分析 (Excoffier 1992) 和 Tajima's *D* (Tajima 1989)、Fu's F_s (Fu 1997) 中性检验, 通过 1 000 次的重复取样实现检验。在进行核苷酸不配对分析的基础上构建群体的核苷酸不配对分布图, 推断群体扩张发生的历史, 并用核苷酸多样性对 2 个群体的种群扩张时间进行估算。

2 结果与分析

2.1 碱基序列组成

序列经比对处理后, 获得黄斑褶鲃线粒体联合基因有效序列长度为 1 893 bp, 包括 Cyt *b* 基因 1 060 bp 和 D-loop 控制区 833 bp。A、T、G、C 四种碱基平均含量分别是 32.12%、30.25%、13.68%、23.95%, 碱基 G 的含量明显

低于其他 3 种碱基的含量, A + T (62.37%) 含量高于 G + C (37.63%) 含量。多态性变异位点 11 个, 简约信息位点 6 个 (表 1)。

表 1 黄斑褶鲃单倍型变异位点

Table 1 The variable sites of haplotypes of *Pseudecheneis sulcata*

单倍型 Haplotype	变异位点 Variable site										
	527	705	752	803	830	1044	1124	1329	1560	1667	1705
Hap1	T	C	G	A	T	C	A	T	C	A	G
Hap2	.	.	A	C	.	G	.
Hap3	.	T
Hap4	.	.	A	C	T	G	.
Hap5	A	.	C	.	G	.
Hap6	A
Hap7	T
Hap8	.	.	A	.	C	.	.	C	.	G	.
Hap9	G	.	A	C	.	G	.
Hap10	.	.	A	.	.	.	G	C	.	G	.
Hap11	.	.	A	C	.	.	.	C	T	G	.
Hap12	.	.	A	.	.	A	.	C	T	.	.
Hap13	.	.	A	.	.	A	.	C	T	.	.

“.” 表示所在位置碱基与参考序列相同。

“.” indicates the nucleotide in this position is identical to the one in the reference sequence.

2.2 单倍型分布及遗传多样性

2 个群体 60 个样本中, 联合序列共检测到 13 个单倍型 (Hap1 ~ Hap13) (表 2), 里龙群体包含 7 个单倍型 (Hap1 ~ Hap3 和 Hap6 ~ Hap9), 墨脱群体包含 8 个单倍型 (Hap1、Hap2、Hap4、Hap5 和 Hap10 ~ Hap13)。其中, 单倍型 Hap1 和 Hap2 为 2 个群体所共有, 检测到 Hap1 的样本数占总样本数的 40%, Hap2 的样本数占总样本数的 33.33%, 且均为里龙和墨脱 2 个群体中的优势单倍型。Hap3 和 Hap6 ~ Hap9 这 5 个单倍型为里龙群体所独有, Hap4、Hap5 和 Hap10 ~ Hap13 这 6 个单倍型为墨脱群体所独有, 均为群体中的稀有单倍型。2 个群体共有单倍型仅 2 个, 且拥有这两个单倍型的个体

数占绝对优势。两个群体总计特有单倍型达到 11 个, 远多于共有单倍型, 但拥有这些特有单倍型的个体数很少。

分析黄斑褶鲢 2 个群体的遗传多样性水平 (表 3), 单倍型多样性 (H_d)、核苷酸多样性 (π) 和平均核苷酸差异 (K) 参数在里龙群体中分别为 0.701、0.001 00 和 1.894, 在墨脱群体中分别为 0.761、0.001 09 和 2.055, 即里龙群体遗传多样性水平略低于墨脱群体。两者均呈现出高单倍型多样性 (> 0.5%)、低核苷酸多样性的趋势 (< 0.5%)。

2.3 群体间的遗传距离及分化

基于 K-2-P 模型分析黄斑褶鲢 2 个群体遗

传距离, 联合序列分析显示里龙和墨脱群体间的遗传距离为 0.001 1, 即 2 个群体之间的遗传距离较小, 亲缘关系较近。AMOVA 分析结果显示 (表 4), 群体内遗传变异水平占 90.96%, 群体间遗传变异占 9.04%, 群体内的变异占据主要作用, 群体间的遗传分化达到显著水平 ($F_{st} = 0.090 44$, $P < 0.05$)。

2.4 系统进化

以黑斑原鲢 (*Glyptosternum maculatum*, Cyt *b* 基因 GenBank: AF416891.1, D-loop 控制区 GenBank: AY297095.1) 作为外群, 基于 K-2-P 构建黄斑褶鲢单倍型的邻接系统进化树 (图 2), 里龙和墨脱 2 个群体的单倍型谱系分

表 2 黄斑褶鲢单倍型在 2 个群体中的分布

Table 2 The distribution of haplotypes in two populations of *Pseudecheneis sulcata*

单倍型 Haplotype name	个体数 Number of individuals (ind)			单倍型 Haplotype name	个体数 Number of individuals (ind)		
	里龙群体 Lilong populations	墨脱群体 Motuo populations	总体 Total		里龙群体 Lilong populations	墨脱群体 Motuo populations	总体 Total
Hap1	14	10	24	Hap8	1		1
Hap2	9	11	20	Hap9	1		1
Hap3	3		3	Hap10		1	1
Hap4		3	3	Hap11		1	1
Hap5		2	2	Hap12		1	1
Hap6	1		1	Hap13		1	1
Hap7	1		1				

表 3 黄斑褶鲢 2 个群体的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of two populations of *Pseudecheneis sulcata*

群体 Population	样本数 Number of sample	单倍型数 Number of haplotype (<i>h</i>)	多态性位点 Number of polymorphic sites (<i>S</i>)	单倍型多样性 Haplotype diversity (H_d)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)	平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences (<i>K</i>)
里龙 Lilong	30	7	8	0.701	0.001 00	1.894
墨脱 Motuo	30	8	7	0.761	0.001 09	2.055
总体 Total	60	13	11	0.733	0.001 09	2.069

表 4 黄斑褶鲢 2 个群体分子变异分析 (AMOVA)

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of two populations of *Pseudecheneis sulcata*

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	变异组分 Variance component	变异百分比 (%) Percentage of variation	固定指数 (F_{st}) Fixation index
群体间 Among populations	1	4.033	0.100 69	9.04	
群体内 Within populations	58	58.733	1.012 64	90.96	0.090 44*
总计 Total	59	62.767	1.113 33		

“*” 表示达到显著水平, $P < 0.05$ 。“**” indicates significant level at $P < 0.05$.

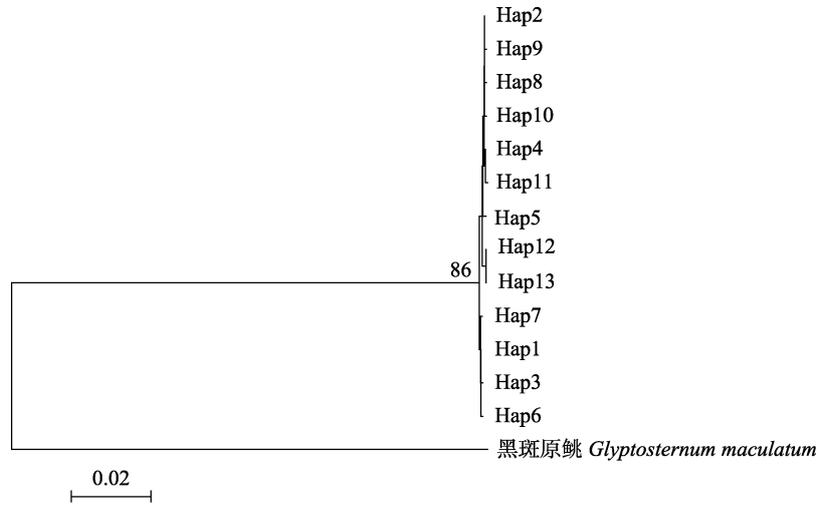


图 2 基于 *Cyt b* 基因和 D-loop 控制区 1 893 bp 联合序列构建的黄斑褶鲢的单倍型邻接系统树
Fig. 2 Neighbor-joining tree of haplotypes of *Pseudecheneis sulcata* based on the 1 893 bp combined sequences of *Cyt b* gene and D-loop control region

分支上的数字为 1 000 次重复抽样的自检值。图中标尺表示序列之间差异。

Numbers at the nodes indicate bootstrap values with 1 000 replicates. The scale in the figure indicates the difference between the sequence.

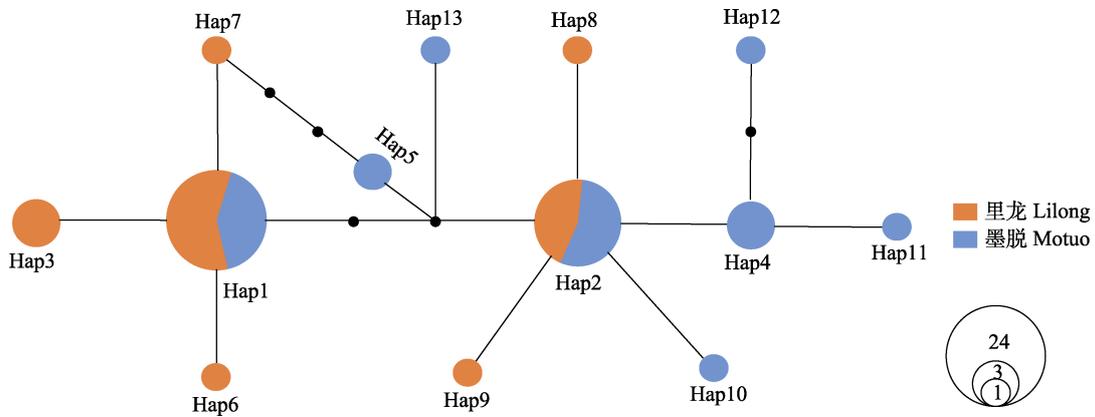


图 3 黄斑褶鲢的单倍型网络图

Fig. 3 The haplotypes network of *Pseudecheneis sulcata*

“Hap” 表示单倍型，其后的序号为单倍型的序号；圆圈中橙色部分和蓝色部分分别表示里龙种群和墨脱种群所拥有的单倍型；节点间的小黑点代表缺失的单倍型。圆圈面积与单倍型频率成正比。圆圈大小表示单倍型包含的个体数。

“Hap” indicates Haplotype, subsequent numbers mean haplotype number; orange and blue portions in the circle represent Lilong population and Motuo population respectively; Small black dot between nodes represents lacked haplotype. The circle size represents the number of individual haplotypes included.

支并不明显，且单倍型与地理群体之间并未形成明显的对应关系。利用 Network 4.6 软件构建单倍型网络图（图 3），亦显示单倍型与地理群

体之间未形成明显的对应关系。单倍型 Hap1 和 Hap2 位于网络结构的中央位置，其他单倍型则是通过单一突变或多种突变相连接而呈星

状分布。Hap1 和 Hap2 在群体中的分布频率明显高于其他单倍型, 且为 2 个群体所共有, 推测可能为黄斑褶鲑 2 个群体的祖先单倍型。

2.5 群体历史动态

依据核苷酸错配和中性检验分析黄斑褶鲑种群历史动态情况, Tajima's D 值为 -0.346 ($P > 0.05$), Fu's F_s 值为 -3.960 ($P < 0.05$), Fu's F_s 中性检验表明稳定的种群背离了中性进化模型, 接受种群曾发生扩张理论。不配对分布检验显示, Harpending's 指数和 SSD 的统计检验值均未偏离种群扩张模型 ($H_{ir} = 0.134$, $P > 0.05$; $SSD = 0.053$, $P > 0.05$), 同时观察核苷酸错配分布图显示观测值与期望值的曲线呈拟合状态(图 4), 表明不能拒绝群体扩张的假说, 即符合原来群体扩张的理论。

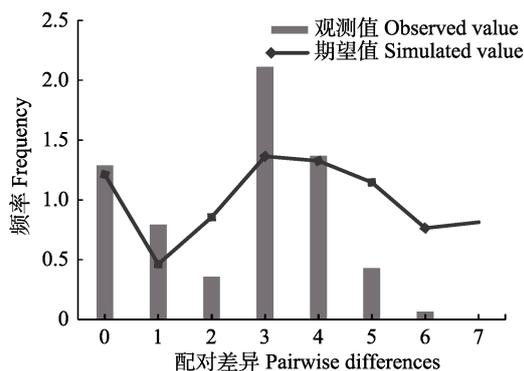


图 4 黄斑褶鲑 2 个群体核苷酸不配对分布图

Fig. 4 Mismatch distribution of two populations of *Pseudecheneis sulcata*

3 讨论

3.1 黄斑褶鲑的单倍型分布与遗传分化

雅鲁藏布江下游大峡谷内海拔落差、水流速度、温度差异等对鱼类分布可能产生显著的影响, 致使雅鲁藏布江中、下游鱼类的区系组成存在明显差异(武云飞 1985), 大峡谷的拐弯处也成为上下游鱼类区系分布的明显界限(张春光等 1995), 即大峡谷的特殊环境可能使包括鲑科在内的鱼类保持着复杂的地理分布格局。本研究调查显示, 雅鲁藏布江雅鲁藏布

大峡谷以上的林芝米林县派镇、里龙河段, 以及大峡谷以下的墨脱河段均可采集到黄斑褶鲑, 即黄斑褶鲑可能在历史演化过程中具特殊性而形成现今的分布格局, 而雅鲁藏布大峡谷的自然因素也可能会影响黄斑褶鲑不同群体间的扩散和交流。

线粒体 DNA 单倍型是反映物种群体遗传变化程度的重要指标之一(Neigel et al. 1993)。通过单倍型的关联分析可以追溯物种迁徙模式和进化历史(马晓慧等 2016, 王欣等 2016)。以祖先单倍型为基础衍生出来的新单倍型通常与之形成“星状”结构, 祖先单倍型一般位于“星状”结构的中心位置(Avise 2000), 并在群体中占较高的比例(Posada et al. 2001)。本研究单倍型 Hap1 和 Hap2 为 2 个群体所共享且分布频率最高, 在单倍型网络图中处于“星状”结构的中心位置, 推测为黄斑褶鲑群体祖先单倍型。但同时, 各自群体中还存有众多的特有单倍型(里龙群体共有 5 个, 墨脱群体共有 6 个), 远多于共享单倍型, 且均仅分布于本群体中, 即这些特有单倍型在雅鲁藏布江大峡谷上下江段 2 个群体中没有共享。此外, AMOVA 分析结果显示, 雅鲁藏布大峡谷上下 2 个群体存在中度遗传分化($F_{st} = 0.09044$, $P < 0.05$), 即单倍型的分布差异是群体间产生较为显著分化的主要原因。虽然雅鲁藏布大峡谷上下 2 个群体共享单倍型分布频率较高, 但还存有较多的特有单倍型, 若 2 个群体间的基因交流不存在障碍, 则这些特有单倍型也会得到交流共享, 但事实上未发现这些特有单倍型在 2 个群体中得到共享, 推测 2 个群体间的基因未得到有效交流, 即单倍型 Hap1 和 Hap2 也未在 2 个群体间得到交流, 而各自群体中的特有单倍型也仅存于本群体中。

3.2 黄斑褶鲑的群体历史动态

黄斑褶鲑 2 个群体单倍型多样性值均偏高 ($> 0.5\%$), 核苷酸多样性却明显偏低 ($< 0.5\%$), 说明受到瓶颈效应作用后种群发生扩张(Grant et al. 1998, 李文静等 2018), 而核

核苷酸错配分布的曲线拟合度也显示了黄斑褶鲢经历了种群扩张,即较低的核苷酸多样性、较高频率的共享单倍型以及错配分布的曲线拟合程度都说明黄斑褶鲢在近期曾经出现过种群历史扩张现象。发生扩张后不同程度的变异积累了单倍型的多态性,由于扩张的时间较短,核苷酸多样性的积累还不够(Bowen et al. 2001),仍保留着高频率的共享(祖先)单倍型(Hap1和Hap2),显示出黄斑褶鲢具有独特的历史演化过程。

鳅科鱼类的起源和演化与青藏高原的隆升有着密不可分的关系,青藏高原的3次隆升过程,导致了该类群物种的分化和生物地理分布格局的形成(曹文宣等 1981,武云飞等 1991b,何舜平等 2001,于美玲等 2012)。随着喜马拉雅山脉的强烈隆起,鳅科鱼类在高原边缘水域的特殊环境中得以演化发展(武云飞 1985),而雅鲁藏布江的鳅科鱼类主要分布于下游区域,可能是该类群的起源地之一。历史上雅鲁藏布大峡谷与大峡谷上游的河道在大峡谷形成之前分属不同的河流体系,大约在距今3万年前由于下游河流溯源侵蚀,袭夺了上游的古雅鲁藏布江水系,雅鲁藏布大峡谷才得以贯通,形成现今的雅鲁藏布江水系(陈建军等 2008,余国安等 2012)。参考鲤科鱼类 *Cyt b* 基因序列每百万年 0.76% 的进化速率(Zardoya et al. 1999),根据黄斑褶鲢 *Cyt b* 基因的核苷酸多样性分别计算出里龙群体和墨脱群体发生扩张的时间大致为 11.58 万年前和 9.47 万年前,这也与雅鲁藏布大峡谷的形成时期相吻合。

有研究表明,鳅科鱼类的生态习性与河流环境的关系最为紧密,峡谷型河流的上、下游水文情势形成的生态隔离是种群分化的重要原因(褚新洛 1979,刘绍平等 2010)。雅鲁藏布大峡谷内的雅鲁藏布江支流帕隆藏布江中异齿裂腹鱼(*Schizothorax o'connori*)群体与分布于大峡谷以上的群体产生显著的遗传分化,巨大的瀑布及水流落差形成的生态屏障应是阻碍基

因交流的重要原因(He et al. 2009),即大峡谷对鱼类的交流产生限制作用。黄斑褶鲢相比其他鳅科鱼类,胸鳍更为发达,腹部横褶面积更大(严娟等 2018),推测在雅鲁藏布大峡谷形成过程中,黄斑褶鲢也随之发生种群扩散,原分布于下游的祖先单倍型个体依靠较强的吸附和攀爬能力得以逐渐扩散至大峡谷以上区域,当大峡谷形成后,最终保留在大峡谷以上水域,并演化出特有单倍型。由于大峡谷内外巨大的海拔落差、瀑布激流等形成生态屏障(余国安等 2012,杨逸畴 1982),而黄斑褶鲢独特的迁移方式使其活动范围有限(严娟等 2018),也可能难以突破大峡谷水文情势的阻碍而使上下游的基因交流中断,继而形成现今的地理分布格局。另外,由于大峡谷上下游迥异的生态环境和气候条件,同一时期雅鲁藏布江下游的水温要明显高于中上游(魏希等 2015),墨脱群体的主要繁殖时间为3和4月,而里龙群体的主要繁殖时间为7月,即黄斑褶鲢2个群体的繁殖时期相隔较长且不同步,客观上形成一定的生殖隔离,对基因交流也产生障碍。本研究仅利用线粒体基因序列分子标记进行了相关研究,今后有必要采用其他分子标记(如微卫星标记 SSR、单核苷酸多态性标记 SNP)对黄斑褶鲢群体结构及其遗传多样性进行全面分析,进一步揭示大峡谷对其种群演化及分布格局的影响作用。

3.3 黄斑褶鲢资源的遗传保护管理

黄斑褶鲢在雅鲁藏布江仅分布于中下游(张春光等 1996,马波等 2018),分布区狭窄,种群数量少,由于过度利用和环境影响,雅鲁藏布江中游的黄斑褶鲢资源已出现衰退迹象。本研究显示,大峡谷上下2个群体可能存在生殖隔离,且各自群体中衍生出较多的特有单倍型,遗传多样性较低,因此在开展保护管理时应当考虑其不同群体自身的遗传特性,优先保护群体中特有单倍型,维持种群资源数量,避免产生遗传漂变而丧失遗传多样性。

参 考 文 献

- Avice J C. 2000. Phylogeography: the History and Formation of Species. Cambridge: Harvard University Press, 431–454.
- Bandelt H J, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37–48.
- Bowen B W, Bass A L, Rocha L A, et al. 2001. Phylogeography of the trumpETFishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. *Evolution*, 55(5): 1029–1039.
- Costello A B, Down T E, Pollard S M, et al. 2003. The influence of history and contemporary stream hydrology on the evolution of genetic diversity within species: an examination of microsatellite DNA variation in bull trout, *Salvelinus confluentus* (Pisces: Salmonidae). *Evolution*, 57(2): 328–344.
- Excoffier L. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2): 479–491.
- Excoffier L, Lischer H E L. 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. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2): 915–925.
- Grant W S, Bowen B W. 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.
- He D K, Chen Y F. 2009. Phylogeography of *Schizothorax o'connori* (Cyprinidae: Schizothoracinae) in the Yarlung Tsangpo River, Tibet. *Hydrobiologia*, 635(1): 251–262.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Neigel J E, Avise J C. 1993. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. *Genetics*, 135(4): 1209–1220.
- Posada D, Crandall K A. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(1): 37–45.
- 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.
- 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.
- Zardoya R, Doadrio I. 1999. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European Cyprinids. *Journal of Molecular Evolution*, 49(2): 227–237.
- Zeng Q, Wang Z, Peng Z. 2011. Mitochondrial genome of *Silurus asotus* (Teleostei: Siluriformes). *Mitochondrial DNA*, 22(5/6): 162–164.
- Zhou W, Zhou Y W. 2005. Phylogeny of the genus *Pseudecheneis* (Sisoridae) with an explanation of its distribution pattern. *Zoological Studies*, 44(3): 417–433.
- 曹文宣, 陈宜瑜, 武云飞, 等. 1981. 裂腹鱼类的起源和演化及其与青藏高原的隆起关系. 北京: 科学出版社, 118–130.
- 陈建军, 季建清, 龚俊峰, 等. 2008. 雅鲁藏布江大峡谷的形成. *地质通报*, 27(4): 491–499.
- 褚新洛. 1979. 鲤鲢鱼类的系统分类及演化谱系, 包括一新属和一新亚种的描述. *动物分类学报*, 4(1): 72–82.
- 关志华. 1999. 雅鲁藏布大峡谷水资源探秘. *中国水利*, 50(4): 41–43.
- 何舜平, 曹文宣, 陈宜瑜. 2001. 青藏高原的隆升与鲤鲢鱼类(鲃形目: 鲢科)的隔离分化. *中国科学: 生命科学*, 31(2): 185–192.
- 李文静, 王环珊, 刘焕章, 等. 2018. 赤水河半鲤的遗传多样性和种群历史动态分析. *水生生物学报*, 42(1): 106–113.
- 刘绍平, 王珂, 袁希平, 等. 2010. 怒江扎那纹胸鲢的遗传多样性和遗传分化. *遗传*, 32(3): 254–263.
- 马波, 纪锋, 李宝海, 等. 2018. 西藏雅鲁藏布江中游发现黄斑褶鲢. *动物学杂志*, 53(2): 314–316.
- 马晓慧, 李宁, 王大伟, 等. 2016. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因分析海南岛褐家鼠种群遗传多样性. *动物学杂志*, 51(5): 806–816.

- 王欣, 罗成峰, 陶清海, 等. 2016. 拉伯高脚鸡线粒体 DNA D-loop 序列变异与起源分化研究. *中国家禽*, 38(11): 14–18.
- 魏希, 邓云, 张陵蕾, 等. 2015. 雅鲁藏布江干流中游河段水温特性分析. *四川大学学报*, 47: (增刊 2): 17–23.
- 武云飞. 1985. 南迦巴瓦峰地区鱼类区系的初步分析. *中国科学院西北高原生物研究所. 高原生物学集刊*. 北京: 科学出版社, 61–70.
- 武云飞, 谭齐佳. 1991b. 青藏高原鱼类区系特征及其形成的地史原因分析. *动物学报*, 37(2): 135–152.
- 武云飞, 吴翠珍. 1991a. 青藏高原鱼类. 成都: 四川科学技术出版社, 86–100.
- 严娟, 李旭, 周伟, 等. 2018. 中国鲃科褶鲃属鱼类的分布、习性与资源保护. *广西师范大学学报*, 36(2): 111–117.
- 杨逸畴. 1982. 雅鲁藏布江大拐弯峡谷的地貌特征和成因. *地理研究*, 1(1): 40–48.
- 杨逸畴, 高登义, 李渤生. 1995. 世界最大峡谷的地理发现和研究进展——雅鲁藏布江大峡谷的考察和探险成果. *地球科学进展*, 15(3): 299–303.
- 于美玲, 何舜平. 2012. 鲃科鱼类系统发育关系分析及其分歧时间估算. *中国科学: 生命科学*, 42(4): 277–285.
- 余国安, 王兆印, 刘乐, 等. 2012. 新构造运动影响下的雅鲁藏布江水系发育和河流地貌特. *水科学进展*, 23(2): 163–169.
- 张春光, 蔡斌, 许寿清. 1995. 西藏鱼类及其资源. 北京: 中国农业出版社, 10–23.
- 张春光, 邢林. 1996. 西藏地区的鱼类及渔业区划. *自然资源学报*, 11(2): 157–163.
- 赵凯, 李俊兵, 杨公社, 等. 2005. 青海湖及其相邻水系特有裸鲤属鱼类的分子系统发育. *科学通报*, 50(13): 1348–1355.
- 周用武, 庞峻峰, 周伟, 等. 2007. 鲃科褶鲃属鱼类部分线粒体 DNA 序列分析与分子进化. *西南林学院学报*, 27(3): 45–51.