

DOI: 10.12264/JFSC2024-0079

基于线粒体控制区的苗岭山区斑鳅遗传结构及其多样性研究

李珊¹, 陈敦学², 马秀慧², 安苗²

1. 贵州农业职业学院, 贵州 贵阳 551400;

2. 贵州大学动物科学学院, 贵州 贵阳 550000

摘要: 为探讨苗岭作为地理屏障对斑鳅(*Siniperca scherzeri*)遗传结构及其多样性的影响, 本研究运用 mtDNA D-Loop 测序技术, 检测其两侧柳江、沅江和乌江 3 水系 7 个野生斑鳅种群的遗传多样性, 并分析其遗传变异及种群动态。结果显示, 365 条序列共有 57 个多态位点和 56 个单倍型, 高频 hap3 是 3 水系共享的祖先单倍型, 苗岭斑鳅可划分为南北 2 个不同地理种群, 南部柳江种群遗传变异程度低, 遗传多样性匮乏, 北部沅江和乌江的种群变异程度高, 拥有丰富的遗传多样性, 2 个地理群体间存在显著的遗传分化和基因交流障碍。研究表明, 南部斑鳅属封闭的小群体, 因近交衰退效应, 始终保持祖先的原始种群结构; 北部种群规模庞大, 生境理想, 进化潜力大。推测苗岭斑鳅在中更新世冰期种群扩张后, 因苗岭阻隔和生境差异, 沿不同方向发展进化, 塑造出南北两个遗传分化明显的地理种群。柳江种群面临生存危机, 可视为 1 个独立的 ESU 单元, 沅江上游适宜建立斑鳅种质资源保护区。本研究从分子水平揭示了地理屏障对苗岭山区野生斑鳅种群遗传结构及其多样性的影响, 丰富了我国斑鳅遗传背景资料, 可为斑鳅种质保护和挖掘利用提供理论依据。

关键词: 斑鳅; 线粒体控制区; 遗传多样性; 遗传分化; 种群动态; 苗岭山区

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)07-0839-15

苗岭山脉位于中国贵州省中部, 是一条重要的山脉。东起黔东南苗族侗族自治州雷山县境内的雷公山, 向西延伸至六盘水市六枝特区境内的老王山, 其地理位置大致为北纬 25°42'~26°38', 东经 105°95'~108°40', 总长度约为 300 km。古苗岭东段起源于早更新世, 全新世完全形成^[1], 是贵州境内长江水系与珠江水系的自然分水岭, 山脉北坡的河流主要流入长江, 而南坡的河流则主要流入珠江。苗岭山脉拥有丰富的生物多样性和独特的生态环境, 是多种野生动植物的栖息地, 包括斑鳅、中国大鲵(*Andrias davidianus*)、尾斑瘰螈(*Paramesotriton caudopunctatus*)、虎尾藓属(*Hedwigia*)、气藓属(*Aerobryum*)等多种动植物^[2-4]。面对日益严峻的环境问题, 保护苗岭山脉的生态

环境和生物多样性至关重要。

斑鳅(*Siniperca scherzeri*)是鳅属(*Siniperca*)中源于中新世最先分化出来的物种^[5-7], 因体表遍布大黑斑或古铜钱状斑而得名, 广布于越南、中国和朝鲜半岛, 横跨古北区和东洋区的广大水域^[8-9], 是东亚特有的名贵鱼类, 也是鱼类遗传结构及多样性研究的良好素材。中国在斑鳅的物种分类、系统发育、种群遗传结构及其多样性等方面取得了卓越的成果^[5-6, 8-14], 揭示斑鳅物种具有丰富的遗传多样性, 同时地理隔离的种群间存在显著的遗传差异^[10-14]。苗岭山区斑鳅资源分布广泛, 覆盖长江流域的赤水河-綦江水系、乌江水系和沅江水系, 珠江流域的柳江水系和红水河水系^[15-19], 因无人工养殖干扰, 种质资源保存完好, 但其遗

收稿日期: 2024-03-31; 修订日期: 2024-05-24.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660741); 贵州省科技计划项目[(2017)5788].

作者简介: 李珊(1991-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为鱼类种质资源的鉴定与评价. E-mail: 1095578560@qq.com

通信作者: 安苗, 副教授, 研究方向为鱼类种质资源的鉴定与评价. E-mail: gzuam@163.com

传背景研究严重滞后。

本研究以苗岭北部武陵山西侧的乌江, 东侧的沅水上游松桃河、锦江、濞阳河和清水江, 南部柳江上游的都柳江和支流龙江上源樟江等 7 条河流野生斑鳅为对象, 运用进化速率快的 mtDNA D-Loop 测序技术检测其遗传多样性及其分化, 探讨各河流水系种群的遗传变异和种群动态, 从分子水平揭示苗岭山区野生斑鳅的种质特性、遗传多样性及分布格局, 丰富两江上游野生斑鳅种群的遗传背景资料, 以期为物种的保护和优良种质资源挖掘利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

野生斑鳅采自思南、松桃、铜仁、青溪、下司、剑河、锦屏、三都、从江和荔波 10 个站点。涉及柳江、沅江、乌江 3 个水系, 采样站点、样本量和河流水系等详细情况见图 1 和表 1。活鱼样

品现场测定体长和体重, 取背部肌肉 3~5 g 于无水乙醇试管中, 放入-80 ℃冰箱中保存。活鱼取样后编号浸泡于 5%甲醛溶液中用于形态学研究。

1.2 DNA 提取及检测

采用 DNA 提取试剂盒(北京天根生物技术有限公司)提取肌肉中的总 DNA, 按操作说明书步骤操作。

将提取的 DNA 样品充分混匀后, 吸取 1.0 μL DNA 样品置于微量紫外分光光度计上, 观察其 260/280 nm 和 260/230 nm 处的比值并检测浓度和 OD 值。取 5 μL DNA 样品与 3 μL 上样缓冲液(1.5 μL 6×loading buffer)充分混匀后进行 1.0%琼脂糖凝胶电泳(电压: 110 V, 时间: 20~30 min), 利用凝胶成像系统检测其完整性。将提取的 DNA 置于-20 ℃保存, 备用。

1.3 PCR 扩增与测序

参考 Lee 等^[20]的引物设计, 上游引物为: 5'-ATTCCACCTCTAACTCCCAAAGCTAG-3', 下

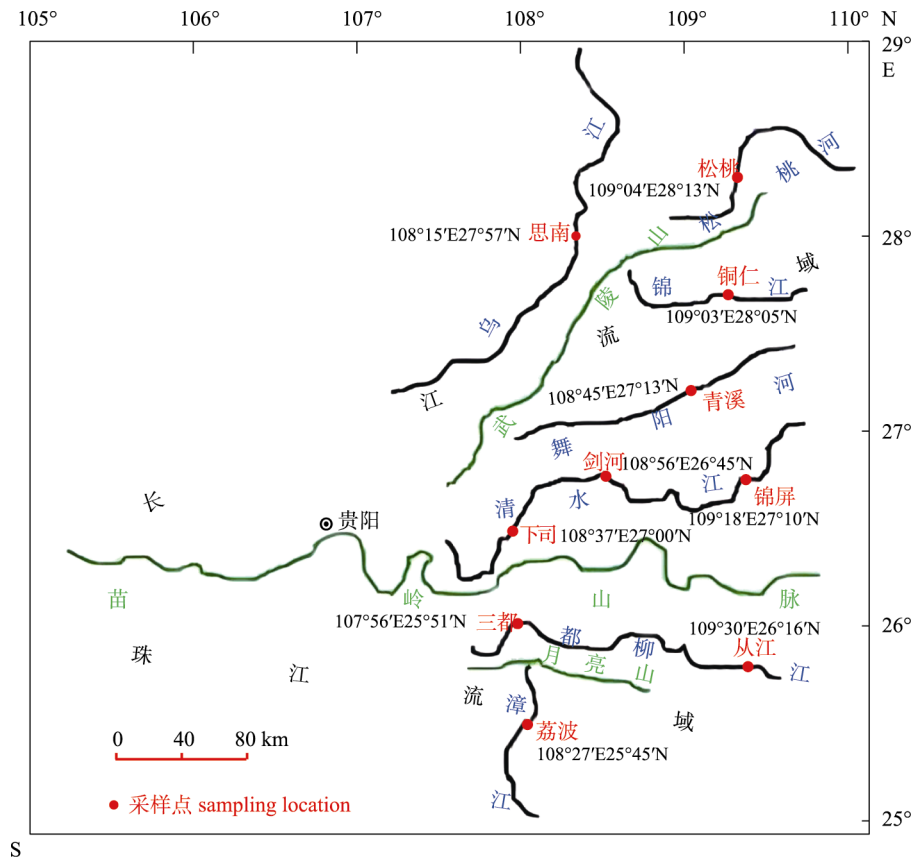


图 1 斑鳅种群的采样点
Fig. 1 Sampling locations of *Siniperca scherzeri* populations

表 1 斑鳊种群采样地、尾数、体长和体重

Tab. 1 Sampling locations, numbers, standard length and body weight of *Siniperca scherzeri* populations

水系 river systems	河流 river	采样点 sample locations	样本数 number of samples	体长/cm body length		体重/g body weight	
				范围 range	均值±标准差 $\bar{x} \pm SD$	范围 range	均值±标准差 $\bar{x} \pm SD$
LJS	ZJ	LB	31	7.91~24.30	14.30±3.41	10.90~135.72	62.44±33.07
		DLJ	33	9.52~22.71	15.64±3.70	16.38~253.51	89.86±65.30
		SD	31	11.60~26.10	16.74±3.72	27.30~370.40	99.33±79.55
YJS	QS	JP	35	15.55~29.51	21.78±3.60	69.24~486.63	215.97±93.37
		JH	40	10.21~20.35	14.97±2.63	19.50~250.02	74.24±47.99
		XS	30	10.30~21.31	15.70±3.31	19.50~178.60	80.61±43.45
	WY	QX	43	6.75~23.68	16.38±4.08	6.35~307.79	95.06±58.20
		JJ	57	13.01~25.32	17.09±2.96	43.10~281.10	110.11±56.90
		ST	34	12.71~26.20	17.52±2.95	12.71~26.20	117.03±68.57
WJS	WJ	SN	31	7.20~28.50	17.88±4.78	10.98~472.63	128.24±100.28

注: LJS: 柳江水系; YJS: 沅江水系; WJS: 乌江水系; ZJ: 漳江; DLJ: 都柳江; QS: 清水江; WY: 舞阳河; JJ: 锦江; ST: 松桃河; WJ: 乌江; SN: 思南; ST: 松桃; TR: 铜仁; QX: 镇远青溪; XS: 下司; JH: 剑河; JP: 锦屏; SD: 三都; CJ: 从江; LB: 荔波。

Note: LJS: Liujiang system, YJS: Yuanjiang system, WJS: Wujiang system; ZJ: Zhangjiang River, DLJ: Duliujiang River, QS: Qingshuijiang River, WY: Wuyang River, JJ: Jinjiang River, ST: Songtao River, WJ: Wujiang River; SN: Sinan, ST: Songtao, TR: Tongren, QX: Zhenyuanqingxi, XS: Xiasi, JH: Jianhe, JP: Jinping, SD: Sandu, CJ: Congjiang, LB: Libo.

游为: 5'-CGTCGGATCCCATCTTCAGTGTTATG-CTT-3'。由上海生物工程股份有限公司合成。

PCR 反应体系为 25 μL: 模板 DNA, 2 μL; 1×Taq PCR Master Mix, 15 μL; 上、下游引物分别为 1 μL; 剩余体积用双蒸水补齐。PCR 扩增条件: 94 ℃预变性 3 min, 94 ℃变性 40 s, 58.6 ℃退火 40 s, 72 ℃延伸 50 s, 35 个循环, 终 72 ℃延伸 7 min, 4 ℃保存。PCR 扩增产物用 1.2%的琼脂糖凝胶检测, 将目的条带清晰、单一明亮的样品送至生工生物工程(上海)股份有限公司双向测序。

1.4 数据处理

利用 DNASTar 4.50.3 软件包中的 SeqMan 做上下游拼接, 手动校正并去掉两端引物及部分序列。参考斑鳊序列(accession number: AP014527 和 EU659701)比对, 保留 845 bp 长度。

采用 DnaSP 5.10 软件计算种群的多态位点数(P)、单倍型数(H)、单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π), 定义的单倍型利用 Network 5.0.0.3 软件以中介邻接网络算法(median-joining networks, MJ)按照比例绘制网络图。运用 Mega 6.06 计算 Kimura 2-parameter 遗传距离(D), 以邻接法构建的系统进化树置信程度保留大于或等于 50%。

运用 Arlequin 3.5 进行种群分子遗传变异分析(analysis of molecular variance, AMOVA)和种群间遗传分化指数(F_{st})计算。计算基因流(N_m)公式如下:

$$N_m \approx (1-F_{st})/(4F_{st})$$

利用 Arlequin 3.5 计算 Tajimas D 和 F_{st} 值, 判断种群动态。

通过计算 Tau (τ 值)得到种群扩张时间 T [21], 计算公式如下:

$$u=\mu k$$
$$\tau=2ut$$
$$T=\tau \times \text{代时}$$

式中, 斑鳊的代时数取 3; k 为基因序列长度; μ 为鱼类 mtDNA D-Loop 基因的变异速率, 按每百万年 3.6%计[22]。

2 结果与分析

2.1 斑鳊的 D-Loop 区序列变异及单倍型分布

7 个种群的 365 条控制区序列共检测出 57 个多态位点(单一多态位点 7 个, 简约信息位点 50 个), 无碱基的缺失/插入, 碱基的转换/颠换比值为 7.44。定义 56 个单倍型(GenBank 收录号: MK424055~MK424110), 各种群的单倍型数量及其分布情况见表 2。

表 2 7 个斑鳊种群单倍型分布情况
Tab. 2 Distribution of haplotypes in the seven populations of *Siniperca scherzeri*

单倍型 haplotype	LJS		YJS				WJS	频率/% frequency	单倍型 haplotype	LJS		YJS				WJS	频率/% frequency
	ZJ	DLJ	QS	WY	JJ	ST	WJ			ZJ	DLJ	QS	WY	JJ	ST	WJ	
Hap1			22	3	2	9	4	10.96	Hap29						2		0.55
Hap2			3		1	2		1.64	Hap30					1			0.27
Hap3	31	63	1	2	8		3	29.59	Hap31					1	1	1	0.82
Hap4			2		1	4	1	2.19	Hap32							1	0.27
Hap5			7					1.92	Hap33			1				1	0.55
Hap6			2					0.55	Hap34						1		0.27
Hap7			17	3	7		2	7.95	Hap35							1	0.27
Hap8				16	1	3		5.48	Hap36						3		0.82
Hap9			4			2		1.64	Hap37					3			0.82
Hap10			4			1		1.37	Hap38						1		0.27
Hap11			3		1			1.10	Hap39					8		1	2.47
Hap12			1	1				0.55	Hap40			2					0.55
Hap13				3			1	1.10	Hap41			3	3			1	1.92
Hap14		1						0.27	Hap42			1	1				0.55
Hap15				1				0.27	Hap43						2	1	0.82
Hap16			6		5		1	3.29	Hap44			1					0.27
Hap17				1				0.27	Hap45							1	0.27
Hap18			1	4			1	1.64	Hap46							1	0.27
Hap19				5	1		2	2.19	Hap47							1	0.27
Hap20			3		2			1.37	Hap48					2			0.55
Hap21							2	0.55	Hap49			1					0.27
Hap22			4					1.10	Hap50					2			0.55
Hap23			1					0.27	Hap51					3			0.82
Hap24			4		1		1	1.64	Hap52					1			0.27
Hap25			6					1.64	Hap53					2			0.55
Hap26			3		1		1	1.37	Hap54					1			0.27
Hap27			1			3	2	1.64	Hap55			1					0.27
Hap28					1			0.27	Hap56					1			0.27
河流合计 total of rivers	1	2	27	12	24	13	22	100.00	河流合计 total of rivers	1	2	27	12	24	13	22	100.00
水系合计 total of river systems	2		49				22		水系合计 total of river systems	2		49				22	

注: LJS: 柳江水系, YJS: 沅江水系, WJS: 乌江水系; ZJ: 漳江, DLJ: 都柳江, QS: 清水江, WY: 舞阳河, JJ: 锦江, ST: 松桃河, WJ: 乌江.
Note: LJS: Liujiang system, YJS: Yuanjiang system, WJS: Wujiang system, ZJ: Zhangjiang River, DLJ: Duliuijiang River, QS: Qingshuijiang River, WY: Wuyang River, JJ: Jinjiang River, ST: Songtao River, WJ: Wujiang River.

单倍型数最多是 QSJ (27)、JJ (24)和 WJ (22), 其次是 WY (12)和 STH (13), DLJ 和 ZJ 2 个种群最少。YJS 拥有的单倍型数(49)远高于 WJS (22)和 LJS (2)。Hap3 是唯一在三水系跨界分布的高频单倍型(29.59%), 也是 LJS 主体单倍型(94/95), 拥有个体数(94)远高于 YJS (11)和 WJS (3); Hap1 为第二高频率(10.96%)的单倍型, 分布于 YJS 和 WJS 的

5 个种群中; 第三位的 hap7 与 hap1 共同组成 QS 的优势单倍型; 第四位的 hap8 是 WY 优势单倍型; 剩余 3 个种群的单倍型分布分散, 主体单倍型不明显。LJS 只有 1 个共享的高频单倍型和 1 个私有的低频单倍型; YJS 的 4 个种群间有 20 个单倍型交叉分布, 有 29 个私有单倍型; WJS 与 YJS 有 16 个单倍型共享, 私有单倍型 6 个。

2.2 斑鳅单倍型的系统发育树和简约网络图

以花鲈(*Lateolabrax japonicus*) HM447587、鳅科 (*Sinipercidae*) 少鳞鳅属 (*Coreoperca*) 和 鳅属

(*Siniperca*) 8 种鱼(GenBank 号见图 2)为外群, 与 本研究的 56 个单倍型比对并保留 866 sites, 构建 NJ 系统树(图 2)。

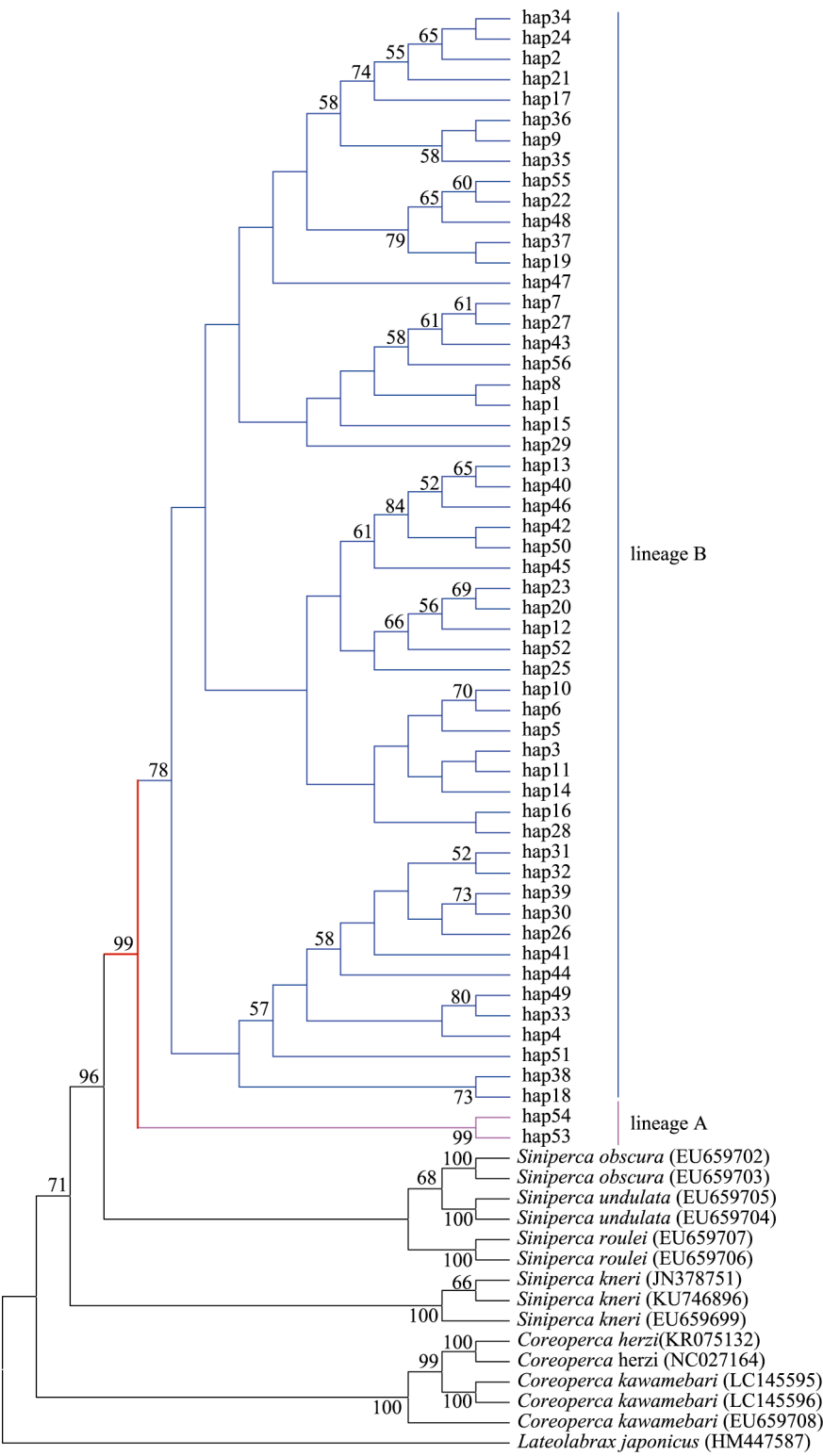


图 2 斑鳅单倍型的 NJ 系统发育树(SBL=93.5)
Fig. 2 Neighbor joining tree based on the haplotypes of *Siniperca kneri* (SBL=93.5)

图 2 的 NJ 系统聚类显示, 鳊科鱼类分为少鳞鳊属(*Coreoperca*)和鳊属(*Siniperca*) 2 个独立的类群, 这表示在系统进化上, 这两个属之间的遗传差异相对较大, 因此它们被分为不同的类群。进一步地, 斑鳊的所有单倍型在鳊属中又单独聚为一支(红色), 这表示斑鳊在鳊属中具有独特的遗传特征, 与鳊属中的其他物种相比, 其遗传差异较为明显。除锦江的 hap53 和 hap54 以支持度聚

为谱系 A (紫色分支, Lineage A)外, 其余 54 个单倍型聚在一起(蓝色分支, Lineage B)。这表示 hap53 和 hap54 两个单倍型在遗传上与其他的单倍型有较大的差异, 因此它们被单独分为一个谱系; 而其他 54 个单倍型大致尚可分为 4 个支系, 但支持度低于 95, 结合神经网络图确认其遗传差异。

利用软件 Network 5.0.1.0 按照单倍型频率绘制出的神经网络图见图 3。

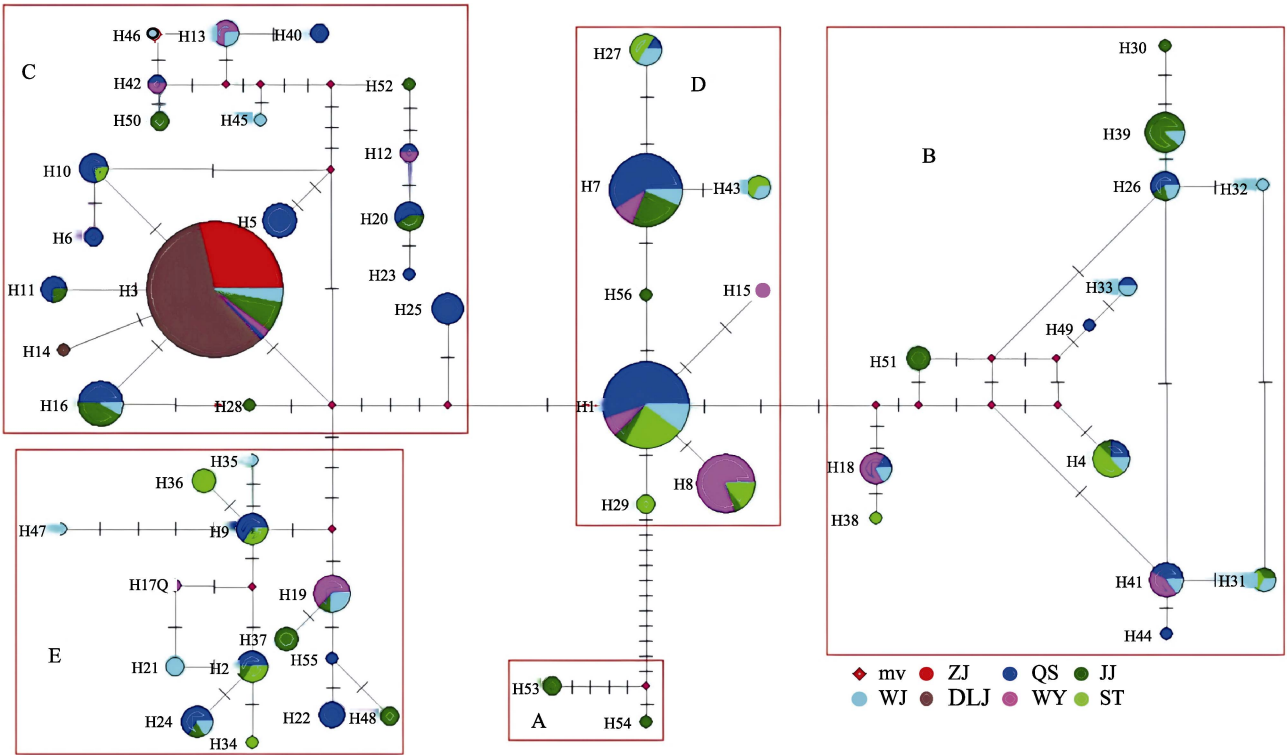


图 3 基于 Network 软件的斑鳊单倍型简约网络图

每一个圆圈代表 1 个单倍型, 圆圈大小代表单倍型的频率, 红色的方圈节点(mv, 单倍型间假定的突变步骤)代表理论分析出的、取样中未发现或已灭绝的单倍型; 圈间的每一连线代表一次突变, 每一种颜色代表 1 个种群, 每个圆圈中单倍型颜色组成比例由其所代表的各个种群个体数比例决定. ZJ: 漳江, QS: 清水江, JJ: 锦江, WJ: 乌江, DLJ: 都柳江, WY: 舞阳河, ST: 松桃河.

Fig. 3 Median-joining networks of haplotypes from *Siniperca scherzeri* by NETWORK program

Each circle represents a haplotype, and its size is proportional to its total frequency. The red circle node (mv, assumed mutation steps) represent haplotypes which were drawn from theoretical analysis, not found during the sampling or the missing intermediate haplotypes. Every line between the circles represents one mutation, and each color represents one population. The proportion of every haplotype color composition in each circle is determined by the proportion of individuals in each population it represents. ZJ: Zhangjiang River, QS: Qingshuijiang River, JJ: Jinjiang River, WJ: Wujiang River, DLJ: Duliuijiang River, WY: Wuyang River, ST: Songtao River.

图 3 中的神经网络图被分为 5 个区域(A、B、C、D、E)。A 区由 hap53 和 hap54 构成, 对应图 2 中的 Lineage A, 意味着在系统进化上, Lineage A 与由 hap53 和 hap54 定义的 A 区有密切关系。此外, A 区与其他 4 个区的突变步骤较长, 意味着

A 区在进化上与其他区域有明显的差异; B、C、D、E 4 个区域对应图 2 中 Lineage B 的 4 个分枝, 表示 Lineage B 可能是一个更为复杂、多样化的进化线系, 分为 4 个不同的分枝。在苗岭北部的 YJS 和 WJS 的 5 个种群中, 单倍型在 B、C、D 和 E

这 4 个区呈现交叉分布, 没有固定的规律, 表明这些种群的单倍型分布较为广泛和复杂, 没有明显的地理分布格局。在苗岭南部的 LJS 的 ZJ 和 DLJ 两个种群中, 单倍型局限在 C 区, 表示这两个种群的单倍型分布相对集中, 与其他区域的单倍型差异较大。此外, 只有 DLJ 衍生出了 1 个私有单倍型 hap14, 这意味着这个单倍型是 DLJ 种群特有的, 与其他种群没有共享。这可能是由于 DLJ 种群在进化过程中经历了一些独特的遗传事件, 导致其单倍型具有独特性。苗岭北部的种群单倍型分布广泛且混乱, 而南部的种群单倍型分布相对集中且具有特异性。

2.3 斑鳅的遗传多样性

3 水系 7 条河流斑鳅种群的多态位点数(P)、单倍型数(H)、单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)统计于表 3 中。

表 3 斑鳅种群的遗传多样性指数
Tab. 3 Gene diversity indexes of *Siniperca scherzeri* populations

种群 population	样品数 number of samples	H	P	h	π
ZJ	31	1	0	0.000±0.000	0.00000±0.00000
DLJ	64	2	1	0.031±0.030	0.00004±0.00004
QS	105	27	39	0.916±0.015	0.00781±0.00041
WY	43	12	29	0.835±0.046	0.00692±0.00073
JJ	57	24	44	0.939±0.015	0.01036±0.00073
ST	34	13	28	0.902±0.033	0.00651±0.00068
WJ	31	22	37	0.972±0.016	0.00961±0.00062
Total	365	56	57	0.887±0.013	0.00746±0.00025
LJS	95	2	1	0.021±0.021	0.00002±0.00002
YJS	239	49	54	0.947±0.007	0.00832±0.00031
WJS	31	22	37	0.972±0.016	0.00961±0.00062

注: ZJ: 漳江, DLJ: 都柳江, QS: 清水江, WY: 舞阳河, JJ: 锦江, ST: 松桃河, WJ: 乌江, LJS: 柳江水系, YJS: 沅江水系, WJS: 乌江水系; H : 单倍型数, P : 多态位点数, h : 单倍型多样性, π : 核苷酸多样性。

Note: ZJ: Zhangjiang River, DLJ: Duliuijiang River, QS: Qingshuijiang River, WY: Wuyang River, JJ: Jinjiang River, ST: Songtao River, WJ: Wujiang River; LJS: Liujiang system, YJS: Yuanjiang system, WJS: Wujiang system; H : haplotypes, P : number of polymorphic sites, h : haplotype diversity, π : nucleotide diversity.

表 3 显示, 苗岭斑鳅整个种群的单倍型多样性为 $h=0.887$, 核苷酸多样性为 $\pi=0.00746$, 而北面长江流域 5 个种群的遗传多样性指数远高于南

面珠江流域 2 个种群。

7 个种群中, WJ 有最高的单倍型多样性($h=0.972$), 而 JJ 有最高的核苷酸多样性($\pi=0.01036$), ZJ 和 DLJ 的遗传多样性最低。3 水系中, 以 WJS 遗传多样性最丰富, 其次是 YJS, LJS 的遗传多样性最低。

2.4 斑鳅种群的遗传变异及其分化

3 水系 7 条河流的斑鳅种群内和种群间遗传距离见表 4。

种群内, 以 JJ 和 WJ 遗传距离最大, 其遗传变异程度也最大, 其次是 QS、WY 和 ST, DLJ 和 ZJ 2 个种群的遗传距离值接近 0, 种群内个体间趋于同质化, 几乎无变异。

种群间, 以 JJ 与 QS、WY、ST 和 WJ 间距离相差较大(0.0093~0.0101), 其亲缘关系也最远, ZJ 和 DLJ 间差值最低(接近 0), 亲缘关系最近, 其余种群间的遗传差异程度相当。水系间, 以 LJS 和 YJS 间关系最近, YJS 和 WJS 关系最远。

把 7 个种群分成 3 组(groups): 第 1 组含 ZJ 和 DLJ 2 个种群, 第 2 组含 QS、WY、JJ 和 ST 这 4 个种群, 第 3 组为 WJ 种群, 分别代表柳江水系、沅江水系和乌江水系, 运用 Arlequin 3.5 进行 AMOVA 分析, 结果见表 5。

AMOVA 结果显示, 水系间的变异占总变异的 26.13%, 水系内种群间为 3.17%, 种群内个体间为 70.70%。如果按河流分 7 组, 种群间占 27.66% ($F_{st}=0.2766$, $P\text{-value}=0.0000$), 种群内占 72.34%。上述结果说明水系间和种群内个体间占有较高变异水平, 其中种群内部遗传变异成分最高, 揭示苗岭斑鳅种群遗传变异主要来自种群内部分化和水系间的地理隔离。

各河流和水系的斑鳅种群间遗传分化指数(F_{st})和基因流(N_m)见表 6。

依据 F_{st}/N_m 值大小分级解释^[23-24], 表 6 中苗岭南部 ZJ-DLJ 间无遗传分化, 而它们与北部 5 个种群间存在高度的遗传分化和严重的基因交流阻隔, 种群间核苷酸歧义度(nucleotide ambiguity, D_{xy})分别为 0.00674~0.00809 和 0.00676~0.00811, 对应分化时间为 18.7 万~22.5 万年和 18.8 万~22.5 万年, 发生在中更新世晚期。长江流域的 5 个种

表 4 斑鳊种群的遗传距离
Tab. 4 Genetic distance among the populations of *Siniperca scherzeri*

种群 population	ZJ	DLJ	QS	WY	JJ	ST	WJ
ZJ	0.0000±0.0000						
DLJ	0.0000±0.0000	0.0000±0.0000					
QS	0.0068±0.0018	0.0068±0.0018	0.0079±0.0015				
WY	0.0074±0.0022	0.0074±0.0015	0.0077±0.0015	0.0070±0.0016			
JJ	0.0078±0.0018	0.0079±0.0018	0.0095±0.0017	0.0094±0.0017	0.0106±0.0019		
ST	0.0080±0.0024	0.0080±0.0024	0.0075±0.0015	0.0070±0.0014	0.0093±0.0017	0.0066±0.0014	
WJ	0.0082±0.0020	0.0082±0.0020	0.0089±0.0016	0.0086±0.0017	0.0101±0.0018	0.0084±0.0016	0.0098±0.0019
	LJS	YJS	WJS				
LJS	0.0000±0.0000						
YJS	0.0073±0.0019	0.0084±0.0015					
WJS	0.0082±0.0020	0.0091±0.0016	0.0098±0.0019				

注：对角线为种群内遗传距离，左下角为种群间的遗传距离。ZJ: 漳江, DLJ: 都柳江, QS: 清水江, WY: 舞阳河, JJ: 锦江, ST: 松桃河; WJ: 乌江; LJS: 柳江水系, YJS: 沅江水系, WJS: 乌江水系。
Note: Diagonal of table showed intra-population distances, the down-left showed inter-population distances. ZJ: Zhangjiang River, DLJ: Duliuijiang River, QS: Qingshuijiang River, WY: Wuyang River, JJ: Jinjiang River, ST: Songtao River, WJ: Wujiang River; LJS: Liujiang system, YJS: Yuanjiang system, WJS: Wujiang system.

表 5 斑鳊种群的分子方差分析
Tab. 5 AMOVA analysis of whole *Siniperca scherzeris* populations

遗传差异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	遗传变异组成 variance components	占总变异的百分比/% percentage of variation	群体分化指数 fixation indices
组间 among groups	2	188.846	0.95476	26.13	F_{ct} : 0.2613
组内种群间 among populations within groups	4	34.462	0.11575	3.17	F_{sc} : 0.0429**
种群内个体间 within populations	358	924.687	2.58292	70.70	F_{st} : 0.2930**
total	364	1147.995	3.65343		

注: **, $P<0.0001$ (极显著性差异); *, $P<0.005$ (显著性差异).
Note: **, $P<0.0001$ (Extremely significant differences); *, $P<0.005$ (Significant differences).

表 6 斑鳊种群间的遗传分化系数和基因流
Tab. 6 F_{st} values and N_m values between the populations of *Siniperca scherzeri*

种群 population	ZJ	DLJ	QS	WY	JJ	ST	WJ
ZJ		-20.0913	0.5515	0.2636	0.6849	0.1855	0.3650
DLJ	-0.0126		0.4334	0.1795	0.4804	0.1216	0.2318
QS	0.3119***	0.3658***		7.6865	7.5625	7.0599	23.1145
WY	0.4868***	0.5821***	0.0315***		3.9801	7.2575	7.6865
JJ	0.2674***	0.3423***	0.0320***	0.0591***		3.1680	-89.5357
ST	0.5741***	0.6728***	0.0342***	0.0333*	0.0731***		9.8306
WJ	0.4065***	0.5189***	0.0107	0.0315*	-0.0028	0.0248*	
	LJS	YJS	WJS				
LJS		0.4888	0.1694				
YJS	0.3384***		-357.3929				
WJS	0.5916***	-0.0007					

注：左下角为 F_{st} , 左上角为 N_m ; *** $P<0.001$, ** $P<0.01$, * $P<0.05$ (F_{st} and P values significance level). ZJ: 漳江, DLJ: 都柳江, QS: 清水江, WY: 舞阳河, JJ: 锦江, ST: 松桃河, WJ: 乌江; LJS: 柳江水系, YJS: 沅江水系, WJS: 乌江水系。
Note: The down-left diagonal showed F_{st} , and the above one showed N_m . *** $P<0.001$, ** $P<0.01$, * $P<0.05$ (F_{st} and P values significance level). ZJ: Zhangjiang River, DLJ: Duliuijiang River, QS: Qingshuijiang River, WY: Wuyang River, JJ: Jinjiang River, ST: Songtao River, WJ: Wujiang River; LJS: Liujiang system, YJS: Yuanjiang system, WJS: Wujiang system.

群间, 除 JJ-WY 和 JJ-ST 间有轻度分化外, 其余种群间不存在遗传分化和基因隔离。3 水系间, YJS-WJS 间的斑鳊基因交流畅通, 无分化, 而它们与 LJS 斑鳊之间无基因交流, 存在高度的遗传分化, LJS-YJS 的 $D_{xy}=0.0073$, LJS-WJS 的 $D_{xy}=0.0081$, 对应分化时间是 20.3 万年和 22.5 万年, 分化时间与上述大体一致。

2.5 斑鳊的种群动态

Arlequin 3.5 计算各种群的 D_T 和 Fu's F_s 值, 结果见表 7。

7 个种群中, 因 ZJ 无突变位点, 无法判断其种群动态, 只有 DLJ 和 WJ 的 F_s 呈显著的负值, 突破中性突变平衡, 且碱基岐点分布图呈单峰分布(图 4), 表明有种群扩张可能^[25-27]。LJS、YJS、WJS 和苗岭斑鳊整体也存在种群扩张。LJS 较少的变异位点, 极低的单倍型多样性和核苷酸多样性, 信息量少, 种群扩张不予采纳。YJS 中 4 个种群单独分析未见扩张史, 而合为整体却发生扩张事件, 可能是中间单倍型过多缺失造成各种

群在单独中性检验时不显著^[28]。

表 7 斑鳊种群的中性检验

Tab. 7 Neutrality test of *Siniperca scherzeri* populations

种群 population	D_T	Fu's F_s
ZJ	0.0000 ($P=1.000$)	0.0000 (n.a.)
DLJ	-1.0770 ($P=0.124$)	-1.8431 ($P=0.024$)*
QS	-0.3592 ($P=0.412$)	-3.8092 ($P=0.172$)
WY	-0.4330 ($P=0.372$)	0.7937 ($P=0.665$)
JJ	-0.2763 ($P=0.453$)	-3.0248 ($P=0.189$)
ST	-0.6897 ($P=0.272$)	-0.8217 ($P=0.372$)
WJ	-0.4500 ($P=0.360$)	-7.5869 ($P=0.004$)**
LJS	-1.0336 ($P=0.118$)	-2.1755 ($P=0.020$)*
YJS	-0.6256 ($P=0.284$)	-14.5239 ($P=0.009$)**
WJS	-0.4500 ($P=0.373$)	-7.5869 ($P=0.010$)*
Total	-0.8113 ($P=0.200$)	-19.8819 ($P=0.001$ ***)

注: *** $P<0.001$, ** $P<0.01$, * $P<0.05$. ZJ: 漳江, DLJ: 都柳江, QS: 清水江, WY: 舞阳河, JJ: 锦江, ST: 松桃河, WJ: 乌江; LJS: 柳江水系, YJS: 沅江水系, WJS: 乌江水系.
Note: *** $P<0.001$, ** $P<0.01$, * $P<0.05$. ZJ: Zhangjiang River, DLJ: Duliujiang River, QS: Qingshuijiang River, WY: Wuyang River, JJ: Jinjiang River, ST: Songtao River, WJ: Wujiang River; LJS: Liujiang system, YJS: Yuanjiang system, WJS: Wujiang system.

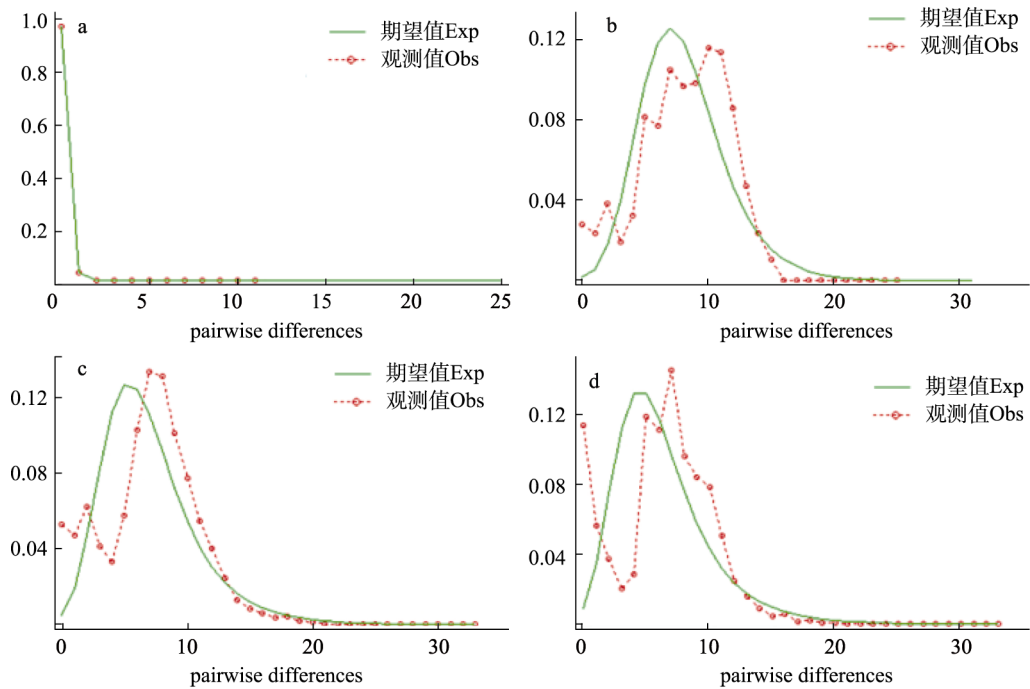


图 4 斑鳊种群核苷酸不配对分析

a. 柳江种群核苷酸不配对分析. b. 思南种群核苷酸不配对分析. c. 沅江水系上游种群核苷酸不配对分析. d. 斑鳊全部个体核苷酸不配对分析.

Fig. 4 Mismatch-distribution analysis of *Siniperca scherzeri* populations

a. Mismatch-distribution analysis of Liujiang River. b. Mismatch-distribution analysis of Sinan River. c. Mismatch-distribution analysis of the upper reaches of Yuanjiang system, d. Mismatch-distribution analysis of the whole *Siniperca scherzeris*.

通过计算, WJS 的种群扩张时间为 37.7 万年, YJS 的种群扩张时间为 32.4 万年, 整个斑鳊种群扩张时间为 40.0 万年, 发生在中更新世早中期。

3 讨论

3.1 苗岭山区斑鳊种群遗传的多样性和差异性

本研究采样点为 10 个, 样本数 365 尾, 涉及 3 水系 7 条河流, 覆盖苗岭东段两侧的长江流域和珠江流域, 是贵州斑鳊资源最富集的区域, 样品代表性强, 加之贵州无斑鳊养殖利用情况, 其结果可以反映该区野生斑鳊遗传背景真实情况。

单倍型多样性指数(h)和核苷酸多样性指数(π)是衡量一个物种遗传多样性的重要指标^[29]。在本研究中, 苗岭斑鳊种群 mtDNA D-Loop 的 $h=0.88680>0.5$ 和 $\pi=0.00750>0.005$, 呈现丰富的遗传多样性^[30], 但其两侧的种群却明显不同。南面柳江水系 2 个种群的 $h=0.00000$ 和 $0.03130<0.5$, $\pi=0.0000$ 和 $0.00004<0.005$, 其遗传多样性贫乏, 在柳江融水段, 对斑鳊^[10]、三江段的鳊^[31]、都柳江段斑鳊和粗唇鲃^[32-33]也有同样报道, 提示该地区的鱼类遗传多样性相对匮乏。都柳江的渔业资源出现过度捕捞利用现象^[19,32-34], 樟江为柳江左岸龙江上游河源段, 地处中国西南地区喀斯特岩溶发育的峰丛洼地地貌腹地荔波县, 生态环境脆弱^[35]。遗传多样性是物种在生活环境中长期适应的结果, 因过度捕捞、栖息环境改变、选择等可导致其多样性下降^[36]。综合来看, 两条河流区域地质稳定性差, 水体流量较小, 环境条件相对闭塞和恶劣, 加之过度捕捞, 使种群规模变小。从两个种群单一的单倍型组成及简单的神经网络单倍型分布图, 低遗传分化和多样性指数, 可推测都柳江和樟江种群属于古老的祖先群体, 处于瓶颈效应或奠基者效应期。因缺少与其他种群的基因交流, 在狭小范围和有限种群规模下, 遭遇近交衰退效应^[30], 使大量遗传变异丢失, 只留下少量特定基因型, 种群内个体间均质化严重, 遗传多样性极低。一般情况下, 物种多样性水平越高, 适应新的生存环境和抵御灾害的能力也越强; 反之就越弱^[37]。目前, 柳江水系两个种群遗传多样性匮乏, 种群规模小, 资源状况堪忧, 如果遭遇环

境突变或人为过度利用将威胁种群的生存。

北面武陵山区乌江水系和沅江水系的 5 个种群则为高单倍型多样性($h=0.8350\sim0.9720$)和高核苷酸多样性($\pi=0.0065\sim0.0104$), 呈现丰富的遗传多样性。乌江位于苗岭北面武陵山西侧, 系苗岭第一大河, 长江上游南岸最大支流, 流域面积 87920 km², 全长 1037 km, 流域内支流众多, 水系发达, 水量充沛, 属典型山区性河流, 思南以下至重庆涪陵的下游河流落差减小, 峡谷与宽谷相间^[38]。沅江位于武陵山东侧广大区域, 系长江中游洞庭湖重要支流, 地处贵州高原向湘西低山丘陵过渡地带, 流域面积 89163 km², 全长 1022 km。干流上游的清水江为苗岭第二大河, 松桃河、锦江和濠阳河是其左岸西水、辰水、濠水等支流组成部分, 沅江水系纵横交错, 生境多样, 水流相对较为平缓, 不乏缓流的渊、潭, 气候温暖湿润, 是苗岭河网密度最大的区域^[38]。该区域河流生境多样, 环境良好, 与支流交融贯通, 渔业资源丰富, 为斑鳊种群发展与进化提供良好的条件。5 个种群拥有丰富的单倍型数、多态位点数和较大的遗传变异, 表现出高单倍型多样性和高核苷酸多样性, 遗传进化潜力大, 说明其种群规模较为庞大^[30], 积累了较高的遗传变异, 遗传多样性十分丰富。

3.2 苗岭山区斑鳊种群的遗传变异及遗传分化

长江和珠江的鱼类基因单倍型跨水系分布情况, 在黄颡鱼、草鱼和大眼华鳊中均有报道^[39-41]。周文漪^[14]和本研究也同样发现斑鳊单倍型存在跨水系分布。前人解释为两种原因: 一是第四纪两江互为连通; 二是人为因素迁入引起的^[42]。关于苗岭两侧共享的单倍型(hap3)来源, 本研究支持前一种说法。原因有 3 个: 首先, 只有 1 个单一的母系祖先单倍型鱼进入柳江的可能性极低, 况且沅江和乌江该单倍型频率极低(11/365, 3/365)。其次是分布和采样, 柳江与历史上灵渠连通的湘江和漓江相隔较远, 与乌江就更远。采样上, 都柳江样品来自上游三都和下游从江, 全部收自渔民的野生活鱼, 樟江样品于 2015 年和 2017 年两次采自当地渔民。最后, 从 hap3 频率(29.59%)、系统发育图和神经网络图, 都支持 hap3 应属古老的母系

祖先起源类群。

苗岭两侧的斑鳅种群, 因共享相同的母系起源, 它们之间的遗传距离极小, 仅为 0.0000~0.0101, 这使得它们仍被视为同一物种下的不同地理种群^[43-44]。目前地理阻隔尚未导致显著的物种分化, AMOVA 分析结果显示, 种群间仅存在 3.17% 的遗传变异。因此, 在斑鳅种群间, 缺乏明显的地理结构和谱系发育关系。有研究者推测, 鳅类的祖先可能起源于中国南方地区^[7], 而斑鳅作为鳅属中最早分化出来的种类^[6], 意味着苗岭山区极有可能是斑鳅的发源地之一。在早更新世时期, 湘黔与黔桂两大低山-丘陵区域曾经相连形成一个整体^[1], 斑鳅可能曾在这片相连的区域内共同生活。但随后因地质构造的变化和水系的隔离, 它们在不同河流水系中的进化速度出现差异, 尽管如此, 它们的母系祖先单倍型仍然得以保留至今。

虽然各河流或水系的种群间遗传变异不大, 仍处于种群内变动范围, 但 F_{st} 和 N_m 在种群间的遗传结构表现却极大不同。

首先是柳江两个种群间的 F_{st} 和 N_m 都小于 0, 表明二者无遗传分化。都柳江和樟江为柳江上游和支流上源, 虽然地理邻近, 但由于生境差异和环境隔离, 其鱼类区系明显不同^[1]。樟江为南亚亚区的云贵高原东部鱼类区系组成^[45], 而都柳江属南东亚亚区华南小区^[19]。两条河流存在鱼类区系差异和水系阻隔, 但斑鳅种群间的 F_{st} 和 N_m 这 2 个参数结果支持它们同属一个随机交流的群体。然而细致比较其单一的单倍型组成、极低的多态位点数和遗传多样性指数, 以及与西江干流斑鳅高的单倍型多样性差别^[13-14], 推测可能是同一个祖先的 2 个古老的种群因地理隔离和近交衰退效应, 处于突变-漂变平衡作用中, 导致大量的遗传变异丢失而无法积累, 始终保持祖先特定基因型和原始的遗传结构, 进而无法引发遗传分化。

其次是苗岭北侧武陵山区 5 个种群, 除 JJ-WY 和 JJ-ST 间的 $0.05 < F_{st} < 0.15$ 和 $1 < N_m < 4$, 种群间基因流已不足以抵消遗传漂变, 存在轻度分化外, 其余种群间无分化($F_{st} < 0.05$, $N_m > 4$), 属 1 个有效群体。武陵山区位于湘、黔、川、鄂 4 省交界处, 是连接洞庭湖盆地和贵州高原的过渡区。

武陵山脉为长江上游支流乌江和清江与中游支流澧水和沅水的动物地理区界线^[38], 4 条水系处于长江上、中游的结合区。Cao 等^[13]结果表明清江恩施和沅江麻阳两个斑鳅种群间无分化。本研究运用进化速率更快的 mtDNA D-Loop 同样检测到本区 WJS 与 YJS 间无分化。乌江虽然最终注入长江上游, 但中下游流向出现重大转折, 中游的干流及支流与沅江水系的濠阳河和锦江之间有武陵山脉相隔, 地理位置十分邻近。代应贵等^[17,46]在对石阡河和梵净山邻近河流鱼类资源调查时发现, 该区域鱼类存在分布上基因交流和跨水系分布情况。本研究从分子水平证实两水系斑鳅种群间地理隔离没有阻碍其基因交流, 推测两水系历史上存在连通交融, 但也不能排除因斑鳅群体数量庞大、流动性强, 通过长江干流进行自由基因交流的可能。

最后是苗岭两侧斑鳅种群间存在显著的遗传分化和基因交流障碍。苗岭北部两个水系, 由于水体大, 生境多样, 河流融会贯通, 环境条件良好, 为斑鳅种群遗传变异提供了充足条件, 变异速度更快, 祖先单倍型(hap3)减少, 产生更多新单倍型, 积累了丰富的遗传变异, 加剧了与苗岭南部斑鳅间分化。两侧河流或水系的种群间对应分化时间为 18.7 万~22.5 万年, 发生在中更新世晚期(0.206~0.276 Ma), 晚于苗岭形成的早更新世^[47]。另外, 分子方差也揭示, 苗岭斑鳅的遗传变异除种群内部分化外, 水系间的地理隔离也很重要。

上述结果表明, 历史上苗岭两侧的斑鳅最初很可能是同属于一个群体的。然而, 随着时间的推移, 苗岭的形成成为斑鳅形成了天然的地理屏障。这种地理隔离以及生境的变迁对苗岭两侧斑鳅种群的遗传结构产生了深远影响, 最终导致了以苗岭为界, 南北两个遗传分化明显的地理种群的形成。

3.3 苗岭山区斑鳅的种群动态

苗岭 7 个斑鳅种群中, 因樟江和都柳江突变位点极少, 无法判断其种群动态, 只有沅江水系、乌江水系的斑鳅存在种群扩张。扩张时间分别为 32.4 万、37.7 万, 整个斑鳅种群扩张时间为 40.0 万年, 发生在中更新世早中期。

柳江水系、沅江水系和乌江水系现今是相互隔离的水体,却有着相同的单倍型(hap3),这一事实有力证明了这 3 个水系曾经存在着紧密的联系。鳊属作为我国江河重要的鱼类,拥有悠久的历史,属于老第三纪鱼类^[48]。据研究,斑鳊大约在中新世中期从鳊属中率先分化出来^[6]。上新世时期,中国东部的现代鱼类区系已初步形成,而斑鳊很可能是其中的关键成员。如今,斑鳊广泛分布于越南、中国和朝鲜等地,这暗示着在历史上它曾经历过大规模的扩张和迁徙。新第三纪后期,全球气温骤降,中国北部地区变得干燥寒冷,导致包括斑鳊在内的淡水鱼类退缩至我国东南部的一些局部水体中,从而得以保存^[49]。自第四纪以来,多次间冰期的交替对鱼类的演化、扩散和分布格局产生了深远的影响^[50-51]。同时,由于青藏高原的大幅抬升,苗岭地区的地势也自东向西逐渐隆升,在早更新世晚期形成了南北向和东西向的两个三级阶梯地面的雏形,使得湘黔与黔桂两个低山-丘陵区连接成为一个整体^[1]。中更新世中晚期的间冰期,气候湿热,降雨丰沛,地表地下径流大,森林植被繁茂,为鱼类向外扩散创造极佳条件,推测斑鳊向南扩散进入苗岭山区河流水系。随后苗岭地势继续抬升,东南部湘黔和黔桂两个低山-丘陵独立,中部缓慢隆升,伴随地势掀斜隆升和河流溯源侵蚀作用加强,苗岭形成独立单元。自此,苗岭两侧各河流水系斑鳊种群因地理阻隔和生境差异,沿不同的方向发展进化,并造就如今这种以苗岭为界南北分化种群内变异的遗传结构。

3.4 苗岭山区斑鳊的保护

据文献报道,苗岭山区鳊类有 9 种[鳊(*S. chuatsi*)、大眼鳊(*S. kneri*)、斑鳊(*S. scherzeri*)、波纹鳊(*S. undulata*)、暗鳊(*S. obscura*)、麻鳊(*S. fortis*)、长身鳊(*S. roulei*)、中国少鳞鳊(*Coreoperca whiteheadi*)和漓江少鳞鳊(*Coreoperca loona*)]。其中,斑鳊广泛分布于区内赤水河,乌江,沅江上游的清水江、锦江、松桃河和濠阳河以及西江的红水河、樟江(也称打狗河)和都柳江,以清水江和都柳江的资源最为丰富^[19,44],但过度捕捞、水利工程和环境污染对其威胁较大。长此以往,势必

会影响其种质质量和生存。

物种抵御不良环境的能力及其遗传进化潜力不仅依靠种群内遗传变异的大小,也依赖于遗传变异的种群结构^[52]。通过对种群遗传多样性及其遗传变异的研究,并阐明其遗传结构,揭示物种遗传多样性现状及形成机制,可为资源管理中遗传多样性保护提供理论依据。制定物种保护策略与保护计划的关键是确定需要优先保护的类群或谱系,进化显著单位(evolutionarily significant unit, ESUs)是国际上认可的生物保护中的基本单元^[53],如果一个种群与种内其他谱系长久没有基因交流,可将其视为一个 ESUs^[54]。

苗岭斑鳊种群整体遗传多样性丰富,但两侧地理种群间存在基因交流阻隔和显著遗传分化,加之南部柳江水系两个种群保留祖先的遗传结构,遗传多样性贫乏,面临生存危机,可视为 1 个 ESU 单元加以界定,北部乌江水系和沅江水系 5 个斑鳊种群属于一个有效群体。考虑斑鳊物种遗传多样性现状,以及沅江水系斑鳊丰富的多态位点数、单倍型数和遗传多样性,建议渔业部门在沅江上游设立斑鳊种质资源保护区。

参考文献:

- [1] Zhou Q Y, Chen P Y. Lithofacies change and palaeogeographical evolution during late Cenozoic in Guizhou and its vicinity[J]. *Guizhou Geology*, 1993, 10(3): 201-207. [周启永, 陈佩英. 贵州及邻区晚新生代岩相古地理演化[J]. *贵州地质*, 1993, 10(3): 201-207.]
- [2] Dai Y G, Chen Y F. Fish fauna and its ecological types of Qingshui River in Guizhou Province, Southwest China[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(5): 682-687. [代应贵, 陈毅峰. 清水江鱼类区系及生态类型[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(5): 682-687.]
- [3] Yuan Z Y, Zhou W W, Chen X, et al. Spatiotemporal diversification of the true frogs (genus *Rana*): A historical framework for a widely studied group of model organisms[J]. *Systematic Biology*, 2016, 65(5): 824-842.
- [4] Zhou S Q. Study on species diversity of bryophytes on the south slope of Miaoling, Guizhou[D]. Guiyang: Guizhou University, 2015. [周书芹. 贵州苗岭南坡苔藓植物物种多样性研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2015.]
- [5] Li C H, Orti G, Zhao J L. The phylogenetic placement of sinipercid fishes ("Perciformes") revealed by 11 nuclear

- loci[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 56(3): 1096-1104.
- [6] Song S L, Zhao J L, Li C H. Species delimitation and phylogenetic reconstruction of the sinipercids (Perciformes: Sinipercidae) based on target enrichment of thousands of nuclear coding sequences[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2017, 111: 44-55.
- [7] Song S L. Species delimitation, phylogenetics and biogeography of the sinipercids and population genetic and evolution history of the genus, *Coreoperca*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017. [宋书莉. 鳅类的物种界定、系统发育和生物地理以及少鳞鳅属群体遗传现状和演化过程的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.]
- [8] Zhou C W, Yang Q, Cai D L. On the classification and distribution of the Sinipercinae fishes (Family Serranidae)[J]. *Zoological Research*, 1988, 9(2): 113-125. [周才武, 杨青, 蔡德霖. 鳅亚科 Sinipercinae 鱼类的分类整理和地理分布[J]. *动物学研究*, 1988, 9(2): 113-125.]
- [9] Li S Z. Geographical distribution of the Sinipercine fishes[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1991, 26(4): 40-44. [李思忠. 鳅亚科鱼类地理分布的研究[J]. *动物学杂志*, 1991, 26(4): 40-44.]
- [10] Wang W W, Zhao J L, Li S F. Genetic variation of the mitochondrial DNA control region among 5 populations of *Siniperca scherzeri* steindachner in China[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2006, 15(4): 398-402. [王伟伟, 赵金良, 李思发. 我国斑鳅不同种群 mtDNA 控制区序列的遗传变异[J]. *上海水产大学学报*, 2006, 15(4): 398-402.]
- [11] Wang W W, Zhao J L, Li S F. Genetic variation of the mitochondrial DNA Cyt *b* among six populations of *Siniperca scherzeri* in China[J]. *Zoological Research*, 2006, 27(6): 589-593. [王伟伟, 赵金良, 李思发. 我国斑鳅六个种群 mtDNA Cyt *b* 序列的遗传变异[J]. *动物学研究*, 2006, 27(6): 589-593.]
- [12] Wang W W, Zhao J L, Li S F, et al. Genetic variation of *Siniperca scherzeri* steindachner from different geographical populations by AFLP analysis[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(2): 304-309. [王伟伟, 赵金良, 李思发, 等. 斑鳅不同地理种群遗传变异的 AFLP 分析[J]. *水生生物学报*, 2009, 33(2): 304-309.]
- [13] Cao L, Liang X F, Du Y Q, et al. Genetic population structure in *Siniperca scherzeri* (Perciformes: Siniperca) in China inferred from mitochondrial DNA sequences and microsatellite loci[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 51: 160-170.
- [14] Zhou W Y. MtDNA Cytb diversity of *Siniperca scherzeri* from seven water systems[D]. Guangzhou: Jinan University, 2014. [周文漪. 基于线粒体细胞色素 *b* 的 7 水系斑鳅遗传多样性分析[D]. 广州: 暨南大学, 2014.]
- [15] Wu L, Zhao Z F, Zheng J Z, et al. Fishes of Guizhou[M]. Guiyang: Guizhou Peoples Publishing House, 1989. [伍律, 赵执桴, 郑建州, 等. 贵州鱼类志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989.]
- [16] Chen J X, Tang W Q, Zhang C G, et al. Fish resources and fishery in Wuling Mountain[M]//Song D X. *Animal Resources and Evaluation in Wulingshan Area, Southwest China*. Beijing: Science Press, 1994: 84-98. [陈景星, 唐文乔, 张春光, 等. 武陵山地区水系鱼类资源及渔业现状[M]//宋大祥. *西南武陵山地区动物资源和评价*. 北京: 科学出版社, 1994: 84-98.]
- [17] Dai Y G, Li M. Fish resources around Fanjing Mountain, Guizhou[J]. *Biodiversity Science*, 2006, 14(1): 55-64. [代应贵, 李敏. 梵净山及邻近地区鱼类资源的现状[J]. *生物多样性*, 2006, 14(1): 55-64.]
- [18] Liu Y, Hou X F, Zhou J. Fish species composition in Shibing of Guizhou, Southwest China, a candidate World Heritage Site[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2013, 32(7): 1850-1856. [刘赞, 侯秀发, 周江. 世界自然遗产预选地施秉鱼类物种组成[J]. *生态学杂志*, 2013, 32(7): 1850-1856.]
- [19] Dai Y G. Fish fauna and zoogeographical division in the Duliu River, Guizhou, China[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(6): 871-879. [代应贵. 贵州都柳江的鱼类区系及动物地理区划[J]. *水产学报*, 2011, 35(6): 871-879.]
- [20] Lee W J, Conroy J, Howell W H, et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 41(1): 54-66.
- [21] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [22] Donaldson K A, Wilson R R J. Amphi-panamic geminates of snook (Percoidae: Centropomidae) provide a calibration of the divergence rate in the mitochondrial DNA control region of fishes[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1999, 13(1): 208-213.
- [23] Wright S. The interpretation of population structure by *f*-statistics with special regard to systems of mating[J]. *Evolution*, 1965, 19(3): 395-420.
- [24] Slatkin M. Gene flow in natural populations[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1985, 16: 393-430.
- [25] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. *Genetics*, 1989, 123(3): 585-595.
- [26] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. *Genetics*, 1997, 147(2): 915-925.

- [27] Excoffier L. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model[J]. *Molecular Ecology*, 2004, 13(4): 853-864.
- [28] Yang J Q, Hu X L, Tang W Q. Genetic structure and population history of *Coilia nasus* in Yangtze River and its south adjacent waters[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, 17(5): 513-519. [杨金权, 胡雪莲, 唐文乔. 长江及其南部邻近水域刀鲚的种群遗传结构及种群历史[J]. *上海水产大学学报*, 2008, 17(5): 513-519.]
- [29] Vrijenhoek R C. Genetic diversity and fitness in small populations[J]. *Conservation Genetics*, 1994, 68: 37-53.
- [30] 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(5): 415-426.
- [31] Si C L. Study on genetic diversity of *Siniperca chuatsi* sensu lato in the Pearl River[D]. Guangzhou: Jinan University, 2012. [司从利. 珠江水系鳊鱼的遗传多样性研究[D]. 广州: 暨南大学, 2012.]
- [32] Liu W, Dai Y G, Yuan Z X, et al. Genetic diversity of Cyt b gene in populations of two commercial siluriformes fishes in Duliujiang River[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(10): 1766-1771. [刘伟, 代应贵, 袁振兴, 等. 都柳江鲢形目两种经济鱼类种群 Cyt b 基因的遗传多样性分析[J]. *南方农业学报*, 2016, 47(10): 1766-1771.]
- [33] Liu W, Dai Y G, Yuan Z X, et al. Composition and genetic diversity of mitochondrial DNA Cyt b gene and D-loop sequences in the population of *Leiocassis crassilabris* from the Duliu River[J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, 46(3): 10-15, 51. [刘伟, 代应贵, 袁振兴, 等. 都柳江粗唇种群线粒体 DNA Cyt b 基因和 D-loop 序列组成及遗传多样性[J]. *淡水渔业*, 2016, 46(3): 10-15, 51.]
- [34] Guizhou Provincial Local Chronicle Compilation Committee. Guizhou Provincial Records, Geography Section[M]. Guiyang: Guizhou Peoples Publishing House, 1988. [贵州省地方志编纂委员会. 贵州省志·地理志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1988.]
- [35] Compilation Group of Agricultural Comprehensive Regionalization of Libo County. Agricultural Comprehensive Regionalization of Libo County[M]. Guiyang: Guizhou Peoples Publishing House, 1989. [《荔波县综合农业区划》编写组. 荔波县综合农业区划[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989.]
- [36] Ginson R, Walter R P, Mandrak N E, et al. Hierarchical analysis of genetic structure in the habitat-specialist Eastern Sand Darter (*Ammocrypta pellucida*)[J]. *Ecology and Evolution*, 2015, 5(3): 695-708.
- [37] Huenneke L F. Ecological implications of genetic variation in plant populations[M]//Falk D A, Holsinger K E. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York: Oxford University Press, 1991: 31-44.
- [38] Tang W Q, Chen Y Y, Wu H L. Fish species diversity of Wuling Mountains region and its zoogeographic analyses[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2001, 10(1): 6-15. [唐文桥, 陈宜瑜, 伍汉霖. 武陵山区鱼类物种多样性及其动物地理学分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2001, 10(1): 6-15.]
- [39] Ku X Y, Zhou C J, He S P. Validity of *Pseudobagrus sinensis* and mitochondrial DNA diversity of *Pseudobagrus fulvidraco* populations in China[J]. *Biodiversity Science*, 2010, 18(3): 262-274. [库喜英, 周传江, 何舜平. 中国黄颡鱼的线粒体 DNA 多样性及其分子系统学[J]. *生物多样性*, 2010, 18(3): 262-274.]
- [40] Zhu Y. Genetic diversity of *Ctenopharyngodon idellus* populations from three major watersheds based on mitochondrial cytochrome b[D]. Guangzhou: Jinan University, 2012. [朱叶. 基于线粒体细胞色素 b 的 3 江水系草鱼群体遗传多样性分析[D]. 广州: 暨南大学, 2012.]
- [41] Zhao L J. Genetic diversity and phylogeographical pattern of *Sinibrama macrops*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012. [赵良杰. 大眼华鳊遗传多样性和亲缘地理学研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.]
- [42] Liu H Z. A preliminary analysis to biogeographical process of the eastern Asian freshwater fishes[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 1998, 23(Suppl): 49-55. [刘焕章. 东亚淡水鱼类生物地理学过程的初步研究[J]. *动物分类学报*, 1998, 23(增刊): 49-55.]
- [43] Shaklee J B, Tamaru C S, Waples R S. Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoresis analysis of proteins[J]. *Pacific Science*, 1982, 36(2): 141-157.
- [44] Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*[M]. New York: Columbia University Press, 1987: 448-512.
- [45] Wang D Z, Li D J, Chen Y Y. The Ichthyofauna and its geography of the South-East Guizhou[J]. *Journal of Zunyi Medical University*, 1989, 12(3): 1-8. [王大忠, 李德俊, 陈宜瑜. 黔东南地区鱼类区系及其地理学分析[J]. *遵义医学院学报*, 1989, 12(3): 1-8.]
- [46] Dai Y G, Li M, Wang X H. Study on the species diversity of fish in the Shiqian River[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2005, 33(2): 57-58. [代应贵, 李敏, 王晓辉. 石阡河鱼类物种多样性研究[J]. *贵州农业科学*, 2005, 33(2): 57-58.]
- [47] Ji R A. Evolution of quaternary natural environment in Guizhou[J]. *Geology of Guizhou*, 1992, 9(1): 59-62. [吉汝安. 贵州第四纪自然环境的演变[J]. *贵州地质*, 1992, 9(1): 59-62.]
- [48] Chen Y Y, Cao W X, Zheng C Y. Ichthyofauna of the Zhujiang River with a discussion on zoogeographical divisions for freshwater fishes[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1986, 10(3): 228-236. [陈宜瑜, 曹文宣, 郑慈英. 珠

- 江的鱼类区系及其动物地理区划的讨论[J]. 水生生物学报, 1986, 10(3): 228-236.]
- [49] Chen Y Y. Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes II [M]. Beijing: Science Press, 1998: 10-16. [陈宜瑜. 中国动物志(硬骨鱼纲·鲤形目·中卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 10-16.]
- [50] Avise J C, Walker D, Johns G C. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography[J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences, 1998, 265(1407): 1707-1712.
- [51] Hewitt G M. The genetic legacy of the Quaternary Ice Ages [J]. Nature, 2000, 405(6789): 907-913.
- [52] Grant P R, Grant B R. Hybridization of bird species[J]. Science, 1992, 256(5054): 193-197.
- [53] Moritz C. Defining 'evolutionarily significant units' for conservation[J]. Trends in Ecology and Evolution, 1994, 9(10): 373-375.
- [54] Fraser D J, Bernatchez L. Adaptive evolutionary conservation: Towards a unified concept for defining conservation units[J]. Molecular Ecology, 2001, 10(12): 2741-2752.

Genetic population structure and diversity of *Siniperca scherzeri* (Perciformes: Sinipercidae) in Miaoling Mountain based on the mtDNA control region

LI Shan¹, CHEN Dunxue², MA Xiuhui², AN Miao²

1. Guizhou Vocational College of Agriculture, Guiyang 551400, China;

2. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550000, China

Abstract: To study the effect of Miaoling Mountain as a geographical barrier on the genetic structure and diversity of *Siniperca scherzeri*, the genetic diversity of seven wild *S. scherzeri* populations sampled from the Liujiang, Yuanjiang, and Wujiang River systems on both sides of Miaoling Mountain was examined by sequencing the mitochondrial DNA D-loop and analyzing their genetic variation and population dynamics. The results showed that out of 365 sequences of *S. scherzeri*, 57 polymorphic loci and 56 haplotypes were identified. The high-frequency haplotype hap3 was an ancestral haplotype shared by the three river systems. *S. scherzeri* in the Miaoling Mountain area can be divided into the northern (Yuanjiang and Wujiang Rivers) and the southern (Liujiang River) geographical populations. The southern region exhibited low genetic variability and a lack of genetic diversity, while the northern region displayed a high degree of variation and abundant genetic diversity. Significant genetic differentiation and barriers to genetic communication existed between the two geographical populations. Populations of *S. scherzeri* in Miaoling Mountain experienced demographic expansion in the early and middle of the Medio-Pleistocene period. The findings of this study indicated that the southern region had a small, closed population, and the original population structure of the ancestors was maintained due to an inbreeding depression effect, whereas the northern region had a large population with an ideal habitat; therefore, it had great potential for genetic evolution. It is inferred that after the population expansion of *Siniperca chuatsi* in the Middle Pleistocene interglacial period, it developed and evolved along different directions due to the barrier of Miaoling Mountain and differences in habitat, thus shaping the formation of two geographic populations with obvious genetic differentiation between the northern and southern regions. The southern population faces a survival crisis, as it can be seen as an evolutionarily significant unit. It is suitable for establishing a germplasm resource reserve of *S. scherzeri* in the upper Yuanjiang River system. The effects of the geographical barrier on the genetic structure and diversity of wild *S. scherzeri* populations in the Miaoling Mountain area were revealed at the molecular level, enriching the genetic background data of *S. scherzeri* in China and providing a theoretical basis for germplasm conservation and exploitation of *S. scherzeri*.

Key words: *Siniperca scherzeri*; mitochondrial control region; genetic diversity; genetic differentiation; population dynamics; Miaoling Mountain

Corresponding author: AN Miao. E-mail: gzuam@163.com