

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17177

河南境内四水系宽鳍鱮野生群体的遗传多样性

刘慧芬, 张超, 王静, 顾钱洪, 周传江, 孟晓林, 张建新, 宋东莹, 李学军,
孔祥会, 聂国兴

河南师范大学 水产学院, 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南 新乡 453007

摘要: 为准确掌握河南野生宽鳍鱮(*Zacco platypus*)群体遗传结构, 本研究利用线粒体 CO I 基因检测了海河、黄河、淮河和长江水系宽鳍鱮群体的遗传多样性和种群分化情况。110 个样品共检测出 40 个单倍型, 平均单倍型多样性为 0.92077, 平均核苷酸多样性为 0.02439。AMOVA 分析显示, 大多数遗传变异存在于宽鳍鱮群体间(60.59%), 群体内的遗传变异为 37.67%。系统发育树结果表明, 长江水系宽鳍鱮群体遗传分化较大, 一部分群体单独聚为一支, 另外一部分群体与海河、黄河、淮河水系宽鳍鱮聚在一起, 没有显示出明显的南北分化格局。种群历史动态结果推测宽鳍鱮群体经历过瓶颈效应, 且该过程可能与第四纪中更新世气候波动有关。建议对河南境内的宽鳍鱮种群, 特别是遗传多样性低的种群(海河水系)进行保护。

关键词: 宽鳍鱮; CO I; 遗传多样性; 群体遗传结构

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)02-0269-09

宽鳍鱮(*Zacco platypus*)隶属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鱼丹亚科(Danioninae)、鱮属, 是东亚鲤科鱼类中较原始的种类。宽鳍鱮在我国南北均有广泛的地理分布, 根据化石记录其原始祖先出现于早第三纪, 在漫长的进化过程中是否存在种下分化尚有一定的争议。2006 年, Perdices 等^[1]使用线粒体细胞色素 b(Cyt b)基因对长江中上游水系的宽鳍鱮进行研究, 认为长江水系的宽鳍鱮分化成 4 个 DNA 谱系, 不同的谱系可能对应不同的物种。Berrebi 等^[2]对长江和珠江水系的宽鳍鱮研究结果显示 4 个进化谱系与水系分布不一致。Perdices 等^[3]又对生境重叠的宽鳍鱮和马口鱼(*Opsariichthys bidens*)进行了系统发育研究, 推测二者为并系类群, 起源于共同祖先。邢迎春^[4]对黑龙江、鸭绿江、海河、淮河、长江和珠江水系的宽鳍鱮进行了系统发育研究, 认为宽鳍

鱮以秦岭为界, 可分为南北两大支系。梁晓旭等^[5]对广东境内 9 条水系的宽鳍鱮进行研究, 认为广东地区宽鳍鱮群体可分为两个明显分化的单倍型类群。比较而言, 秦岭-淮河分界线以北地区宽鳍鱮的研究较少, 特别是分布于过渡地带的种群。

河南省位于我国的中东部, 地处黄河下游平原, 是中国地势第二阶梯向第三阶梯的过渡地带, 横跨海河、黄河、淮河、长江四大水系。我国划分暖温带和亚热带的地理分界线秦岭淮河一线, 正好穿过境内的伏牛山和淮河干流, 许多自然要素在这里处于转变地带, 过渡性明显^[6-7]。河南省复杂的地理结构以及气候环境对该地区的物种遗传多样性和种群遗传结构都会有影响。因此, 开展河南地区宽鳍鱮的遗传多样性研究具有重要意义。

目前关于宽鳍鱮遗传多样性的分析多采用线

收稿日期: 2017-07-22; 修订日期: 2017-08-27.

基金项目: 河南省科技攻关重点项目(142102110057, 162102310443, 162102110147, 172102310751); 河南省高校科技创新团队支持计划(14IRTSTHN013); 河南省创新型科技团队支持计划(CXTD2016043).

作者简介: 刘慧芬(1985-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为鱼类繁殖生理学和分子生态学. E-mail: huifen_liu@126.com

通信作者: 聂国兴, 教授. E-mail: niegx@htu.cn

粒体 DNA 标记,主要集中在 *Cyt b* 和 *D-loop* 序列^[1, 3-5],但至今尚未有基于线粒体 CO I 基因(细胞色素 C 氧化酶亚基 I)分析宽鳍鱮遗传背景的研究报道。CO I 基因作为线粒体 DNA 上较为保守的序列,被认为是研究群体遗传多样性非常有效的工具。本研究选取了线粒体 CO I 基因对河南境内海河、黄河、淮河和长江水系的野生宽鳍鱮群体进行了遗传分化研究,分析不同水系之间宽鳍鱮群体的遗传多样性和系统发育关系,并探讨了宽鳍鱮遗传分化与地理分布格局之间的关系,旨在为我国宽鳍鱮野生种质资源保护和合理利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料采集与处理

2015 年 5 月至 2016 年 10 月,河南省鱼类资源调查团队在河南省海河水系(新乡市辉县齐王寨太子湖,新乡市辉县黑鹿河水库)、黄河水系(焦作博爱县杨庄河,焦作沁阳市邵庄沁河,济源市渠首村沁河)、淮河水系(汝阳县斜纹河,洛阳嵩县

木植街北汝河,信阳新县小港河)及长江水系(嵩县白鹤镇草里坪村白河,嵩县白河乡马路魁村白河,卢氏县朱阳关镇涧北沟入老灌河)等 4 个不同水系采集到 110 尾宽鳍鱮,样品具体采集地点和数量见表 1。剪取部分肌肉组织保存在 95%酒精中,用于总 DNA 提取。

1.2 DNA 提取

基因组 DNA 的提取采用酚-氯仿法,具体步骤如下:取 100 mg 左右肌肉组织,加入 495 μ L 裂解缓冲液(1 mol/L Tris-HCl 25 μ L, 0.5 mol/L EDTA 50 μ L, NaCl 5mol/L), 5 μ L 蛋白酶 K(浓度为 20 mg/mL), 55℃恒温水浴锅消化 2~3 h。加入等体积的饱和酚,缓慢转动 15 min, 12000 r/min 离心 10 min。吸取上清液,加入等体积的氯仿-异戊醇混合液(24 : 1), 缓慢转动 10 min 后, 12000 r/min 离心 10 min。吸取上清液,加入 800 μ L 提前预冷的无水乙醇(-20℃)沉淀 DNA, 70%乙醇洗涤一次,干燥,加入适量 ddH₂O 溶解。用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, Nanadrop 2000 (Thermo 公司)检测 DNA 浓度, -20℃冰箱保存备用。

表 1 宽鳍鱮样品信息
Tab. 1 Sample information of *Zacco platypus* populations

水系 basin	种群 population	采集地点 sampling location	样本数 number
海河水系 Haihe River basin	TZH	新乡市辉县齐王寨太子湖	8
	HLH	新乡市辉县拍石头乡黑鹿河水库	6
黄河水系 Yellow River basin	BA	焦作博爱县杨庄河	9
	QY	焦作沁阳市邵庄沁河	8
	JY	济源市渠首村沁河	11
淮河水系 Huaihe River basin	RY	汝阳县斜纹河	16
	LY	洛阳嵩县木植街乡北汝河	14
	XX	信阳新县小港河	15
长江水系 Yangtze River basin	CL	嵩县白鹤镇草里坪村白河	7
	BH	嵩县白河乡马路魁村白河	9
	ZY	卢氏县朱阳关镇涧北沟入老灌河	7

1.3 PCR 扩增和测序

用于扩增线粒体 CO I 序列的引物来自 Ivanova 等^[8],具体序列见表 2。PCR 反应总体积 25 μ L,其中包括 Buffer 2.5 μ L, Mg²⁺ 2.5 μ L, dNTP 1 μ L, DNA 1 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L, Taq 酶 0.25 μ L, 用 ddH₂O 补足 25 μ L。反应程序: 94℃预变性 4 min, 然后进行 30 个循环, 每个循环包括 94℃变性 30 s,

表 2 实验中所用引物序列信息
Tab. 2 Information of primers used in the study

引物 primer	序列(5'-3') sequence (5'-3')
FishF2_t1	CGACTAATCATAAAGATATCGGCAC
VF2_t1	CAACCAACCACAAAGACATTGGCAC
FishR2_t1	ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA
FR1d_t1	ACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA

52℃退火 35 s, 72℃延伸 1 min, 最后 72℃延伸 10 min, 4℃保存。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳检测, 凝胶成像系统观察拍照后, 送至上海生工生物工程有限公司进行测序。

1.4 数据分析

测序完成后, DNA 序列用 CLUSTALX 1.81 软件^[9]进行比对; 用 DnaSP 5.0 软件^[10]统计核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)、单倍型多样性(haplotype diversity, H_d)和群体遗传分化系数(F_{ST})。用 ARLEQUIN 3.1 软件^[11]进行 Tajima's D 检验、Fu's FS 检验、分子变异分析(AMOVA)及错配分布(mismatch distribution)分析; 用 MEGA 4.0 软件^[12]计算各群体之间的遗传距离, 并按照邻接法(neighbor joining method, NJ)构建系统发育树, 系统树各节点支持率采用 Bootstrap 1000 次重复检验置信度; 用 NETWORK 5.0 软件构建单倍型网络图; 用 Beast v1.7 软件^[13]进行 Extended Bayesian Skyline Plot (EBSP)分析, 估算种群历史动态变化, 分子钟模型选用 strict clock, 最后在

Tracer v1.5^[14]中检验结果有效性。

2 结果与分析

2.1 4 个不同水系宽鳍鱮的线粒体 CO I 序列差异和遗传多样性分析

对采自河南地区 4 个不同水系的野生宽鳍鱮进行 PCR 扩增, 获得线粒体 CO I 序列, 去除两端引物后, 得到的目的片段长度为 652bp。经比对分析发现宽鳍鱮各群体碱基含量差别不大, A、T、C、G 平均含量分别为 24.6%、29.9%、27.0%、18.5%, A+T 含量(54.5%)高于 C+G 含量(45.5%)。110 尾宽鳍鱮样品共检测到 40 个单倍型, 群体间共有单倍型 6 个, 其中 Hap12(TZH、HLH、BA 和 QY)和 Hap11(TZH、QY 和 JY)为海河与黄河水系共享; Hap1(XX、LY、BH)、Hap2(XX、BH、CL)为淮河与长江水系共享; Hap21(LY、RY)和 Hap29(BH、CL)分属于淮河和长江水系。各群体单倍型多样性范围在 0.33333~0.97222 之间, 核苷酸多样性范围在 0.00053~0.04816 之间(表 3)。总体来讲, 海河

表 3 河南境内四水系宽鳍鱮群体遗传多样性信息
Tab. 3 Genetic diversity of *Zacco platypus* populations from four river systems in Henan Province

水系 basin	群体 population	单倍型数 haplotype number	单倍型 haplotype	H_d	π	Tajima's D	Fu's FS
海河水系 Haihe River basin	TZH	2	Hap11, Hap12	0.53571	0.00085	1.16650	0.86637
	HLH	2	Hap12, Hap13	0.33333	0.00053	-0.93302	-0.00275
黄河水系 Yellow River basin			Hap12, Hap14, Hap15,			-0.13379	0.07677
	BA	8	Hap16, Hap17, Hap18, Hap19, Ha20	0.97222	0.02712		
	QY	2	Hap11, Hap12	0.53571	0.00085	1.16650	0.86637
	JY	3	Hap11, Hap23, Hap24	0.34545	0.00086	-1.83188*	1.05377
淮河水系 Huaihe River basin			Hap21, Hap25, Hap26, Hap27, Hap28	0.45000	0.00079	-2.00318*	-1.76957*
	RY	5					
	LY	3	Hap1, Hap21, Hap22	0.38462	0.00064	-0.95919	-0.85452
			Hap1, Hap2, Hap3, Hap4,			-1.18314	0.17309
	XX	10	Hap5, Hap6, Hap7, Hap8, Hap9, Ha10	0.92381	0.01604		
长江水系 Yangtze River basin			Hap1, Hap2, Hap9, Hap30, Hap31, Hap32,	0.88889	0.04816	-1.89110*	4.70597
	BH	6					
	CL	5	Hap2, Hap29, Hap33, Hap34, Hap35	0.90476	0.00513	-0.62991	-0.55232
			Hap36, Hap37, Hap38, Hap39, Hap40	0.90476	0.00257	0.51788	0.67836
	ZY	5					
总体平均数	total avg	40		0.92077	0.02439	-0.61039	0.47650

注: H_d 为单倍型多样性, π 为核苷酸多样性, Tajima's D 为 Tajima's D 值检验, Fu's FS 为 Fu's FS 检验。*表示 Tajima's D 和 Fu's FS 检验是著偏离中性检验模型。
Note: H_d , haplotype diversity; π , nucleotide diversity; Tajima's D, Tajima's D test; Fu's FS, Fu's FS test. * represents the Tajima's D and Fu's FS tests significantly deviate from the standard neutral model.

水系的 HLH 群体无论单倍型多样性还是核苷酸多样性均最低,而来自长江水系的两个群体(CL、ZY)、淮河水系的 XX 群体以及黄河水系的 BA 群体显示出较高的遗传多样性。

2.2 4 个不同水系宽鳍鱮群体的遗传变异

通过 ARLEQUIN 3.1 软件计算宽鳍鱮群体间遗传分化系数(F_{ST}),两两群体间 F_{ST} 值在-0.023~0.970(表 4)。其中 ZY 群体与其他群体间的 F_{ST} 值在 0.762~0.970 之间,均有显著性差异($P<0.05$),说明 ZY 与其他各群体间存在较大分化。MEGA

软件计算各群体遗传距离在 0.001~0.149 之间,海河水系与黄河水系群体间遗传距离变动幅度较小(0.001~0.019),亲缘关系较近;而长江水系中的 ZY 群体与其他群体的遗传距离较大(0.122~0.149),与 F_{ST} 分析结果一致。

河南境内四水系间宽鳍鱮群体的 AMOVA 分析结果显示(表 5), 60.59%的遗传变异来自群体间, 37.67%的遗传分化来自群体内,说明宽鳍鱮群体间的遗传差异主要是由不同水系的群体间遗传差异产生的。

表 4 河南境内四水系宽鳍鱮群体间遗传分化系数(F_{ST} , 对角线下方)和遗传距离(D, 对角线上方)
Tab. 4 Pairwise F_{ST} (below diagonal) and genetic distance (above diagonal) among *Zacco platypus* populations from four river systems in Henan Province

群体 population	海河水系 Haihe River basin		黄河水系 Yellow River basin			淮河水系 Huaihe River basin			长江水系 Yangtze River basin		
	TZH	HLH	BA	QY	JY	RY	LY	XX	CL	BH	ZY
TZH		0.001	0.019	0.001	0.001	0.003	0.002	0.012	0.005	0.030	0.123
HLH	0.185		0.019	0.001	0.002	0.004	0.002	0.011	0.006	0.031	0.122
BA	0.223*	0.176		0.019	0.020	0.022	0.021	0.024	0.024	0.049	0.141
QY	-0.143	0.185	0.223*		0.001	0.003	0.002	0.012	0.005	0.030	0.123
JY	0.199	0.455*	0.300*	0.199		0.002	0.003	0.013	0.006	0.031	0.123
RY	0.637*	0.727*	0.430*	0.637*	0.493*			0.012	0.004	0.030	0.125
LY	0.692*	0.723*	0.376*	0.692*	0.671*	0.524*		0.010	0.004	0.029	0.125
XX	0.181*	0.138	0.073	0.181	0.272*	0.260*	0.140		0.013	0.039	0.132
CL	0.459*	0.480*	0.262*	0.459*	0.453*	0.400*	0.447*	0.120		0.030	0.123
BH	0.068*	0.035*	0.148	0.068*	0.121	0.134	0.106	0.094	-0.023		0.149
ZY	0.957*	0.952*	0.845*	0.957*	0.958*	0.967*	0.970*	0.881*	0.935*	0.762*	

注: *表示差异显著($P<0.05$).
Note: * represents significant difference ($P<0.05$).

表 5 河南境内四水系宽鳍鱮群体 AMOVA 分析
Tab. 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) among *Zacco platypus* populations from four river systems in Henan Province

变异来源 source of variation	离差平方和 sum of squares	变异组分 variance components	变异百分数/% percentage of variation	固定系数 fixation indices (P value)
分组间 among groups	168.18	0.15	1.74	0.02(0.13)
分组内群体间 among populations within groups	387.87	5.18	60.59	0.62(0.00)
群体内 within populations	318.82	3.22	37.67	0.62(0.00)
合计 total	874.86	8.55		

2.3 宽鳍鱮群体的系统发育关系

以长吻鲿(*Raiamas guttatus*)为外群,采用 NJ 法构建系统发育树分析不同水系宽鳍鱮种群之间的系统发育关系(图 1)。结果显示,长江水系的 ZY 群体单独成一支,而海河水系、黄河水系、淮河

水系以及长江水系中的 BH、CL 群体聚为另外一个分支,各群体部分有交叉现象,但基本上进化支的分布和地理位置相对应,呈明显的地理格局分布。

单倍型网络图显示,40 个单倍型按所处地理

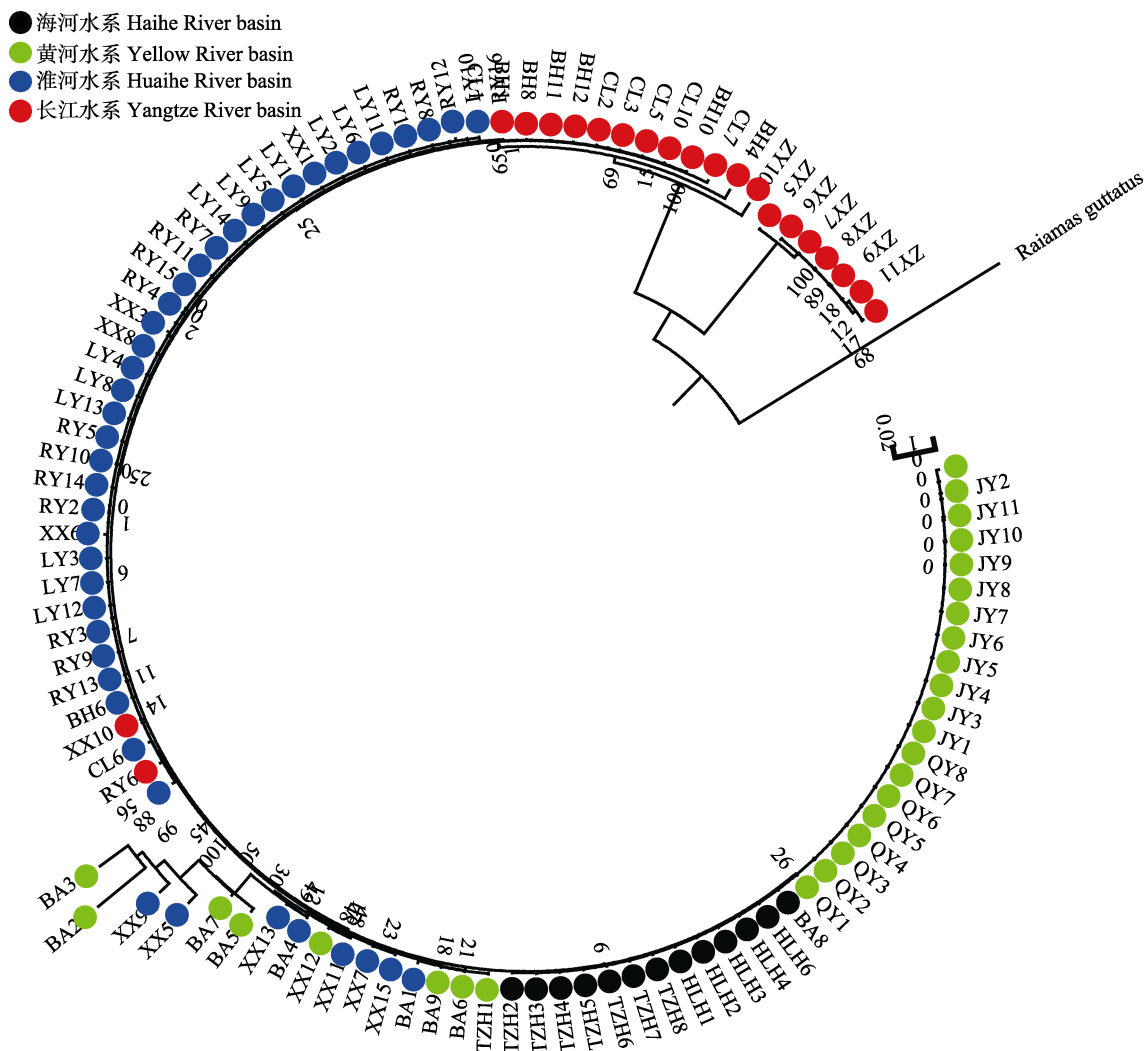


图 1 基于线粒体 CO I 基因构建河南地区宽鳍鲮 NJ 树
节点数值为 NJ 分析的 Bootstrap 支持率, 不同颜色代表不同水系。
Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree based on mitochondrial CO I gene of *Zacco platypus* populations in Henan region
Bootstrap values were indicated above branches, and different colours represented different sample populations.

位置基本演化为两个谱系, 一个由海河、黄河、淮河水系以及部分长江水系群体组成, 另一个以长江水系种群为主, 单倍型间出现明显的地理区域聚类, 网络图进一步支持了系统发育树的分析结果(图 2)。

2.4 河南地区宽鳍鲮的种群历史动态分析

利用中性检验、错配分布和 EBSP 分析三种方法研究河南地区不同水系宽鳍鲮的种群历史动态过程。中性检测结果表明, 河南地区宽鳍鲮总体水平上 Tajima's D 检验为负值(Tajima's D = -0.61039), Fu's FS 检验为正值(0.47650), 但是差异均不显著($P>0.05$)(表 4)。错配分布结果显示宽鳍鲮的错配分布曲线呈多峰型, 因此推断河南地

区宽鳍鲮种群总体上保持相对稳定的状态。为了进一步估算种群历史动态, 用 Beast v1.7 软件进行 EBSP 分析, 结果显示宽鳍鲮种群在 36~8 Ma 之间保持稳定, 8 Ma 以后种群数量出现下降的趋势, 到 0.7 Ma 种群出现下降, 之后种群数量又开始回升(图 3)。

3 讨论

3.1 河南省宽鳍鲮的遗传多样性

线粒体 CO I 作为一种分子标记, 在鱼类分子系统学中已经成为应用最为广泛的基因之一^[15]。本研究通过对河南境内海河、黄河、淮河和长江 4 个水系宽鳍鲮的 CO I 基因进行了 PCR 扩增, 检

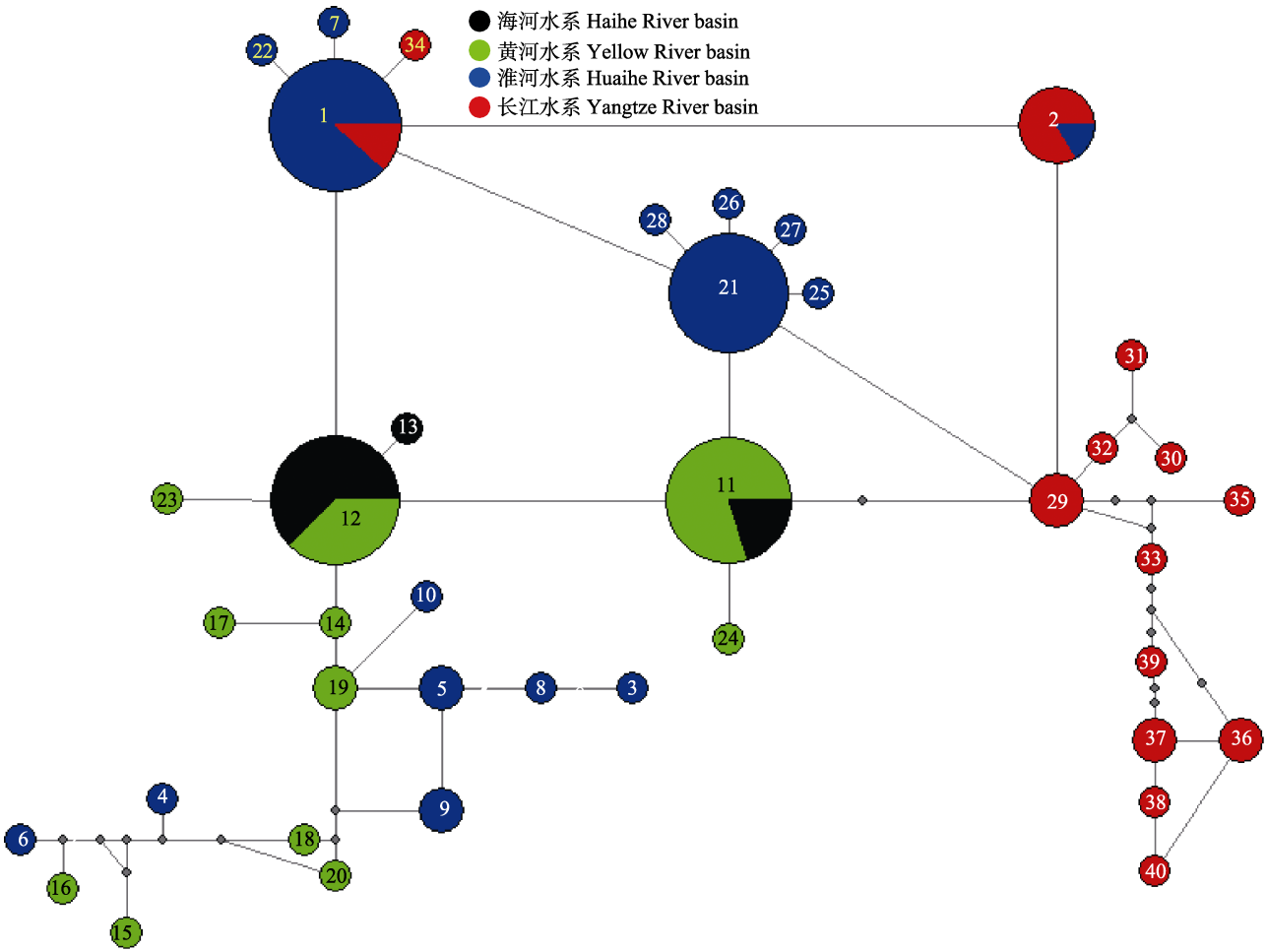


图 2 Network 计算线粒体 CO I 基因单倍型网络图
不同颜色代表不同水系，圆形面积代表单倍型频次。

Fig. 2 Haplotype network of the mitochondrial CO I gene as calculated by Network
Different colours represent different sample populations, and the size of each circle indicates the frequency of the haplotype.

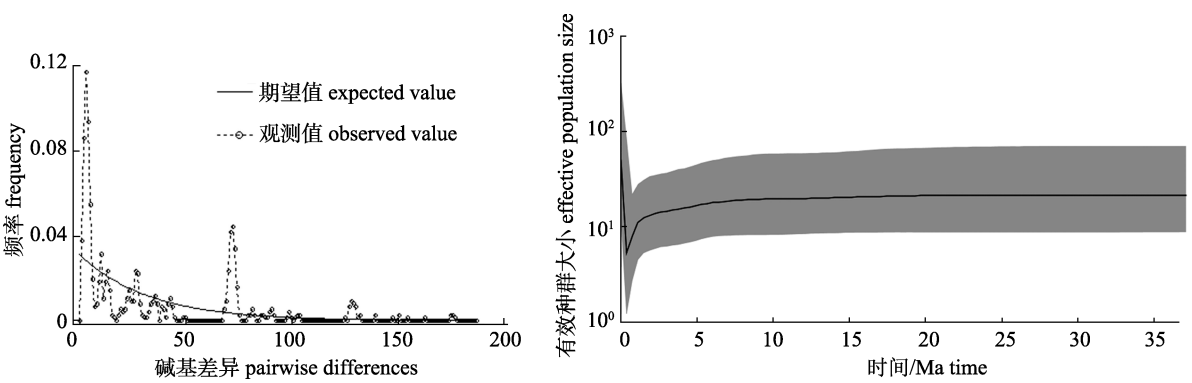


图 3 河南地区宽鳍鱮种群历史动态分析
宽鳍鱮错配分布图中，实线表示期望值，虚线表示观测值；
宽鳍鱮种群的 EBS 分析中，黑色线条表示平均值。

Fig. 3 Historical demography of *Zacco platypus* populations in Henan region
In the mismatch distribution of *Zacco platypus* populations, solid line represents the expected value and the dashed line represents the observed value. In the EBS analysis of *Zacco platypus* populations, black line means the median value.

测不同群体间的序列差异, 结果显示宽鳍鲮各群体线粒体 COI 序列的碱基含量差别不大, 碱基组成中 AT 含量高于 GC 含量, 该结果与鱼类线粒体基因碱基组成中普遍存在的反 G 偏倚现象一致。

宽鳍鲮 110 尾个体共检测到 40 个单倍型, 海河水系和黄河水系有 1 个共享单倍型, 淮河水系和长江水系有 2 个共享单倍型; 遗传多样性分析结果显示, 11 个群体的宽鳍鲮 H_d 和 π 平均值分别为 0.92077 和 0.02439, 相较于广东地区宽鳍鲮的遗传多样性水平 ($H_d=0.908$, $\pi=0.01961$)^[5] 相差不大。通常认为 H_d 和 π 是衡量群体遗传多样性和遗传分化的重要指标, 与种群大小、年龄结构、近缘物种基因渐渗、群体的突变和选择有着密切的关系^[16]。本研究中, 海河水系的 HLH 群体单倍型多样性和核苷酸多样性均最低 ($H_d=0.33333$, $\pi=0.00053$), 而来自长江水系的两个群体 (CL、ZY)、淮河水系的 XX 群体以及黄河水系的 BA 群体显示出较高的遗传多样性。由此可见, 长江水系、淮河水系和黄河水系的宽鳍鲮群体遗传多样性高于海河群体, 这可能与宽鳍鲮的生境及种群大小有关系, 说明海河水系宽鳍鲮群体数量较少, 种质资源出现了衰退。这与孟祥通等^[17]对该地区鱼类资源调查的结果相吻合, 目前辉县鱼类多样性呈下降趋势, 资源量不断减少。

3.2 河南省宽鳍鲮群体的遗传分化

本文对四个水系的 11 个群体两两比较, 发现只有海河水系的 TZh 群体和黄河水系的 QY 群体及长江水系的 CL 和 BH 群体之间没有遗传分化, 其他群体之间都存在不同程度的分化, 尤其是长江水系 ZY 群体与其他地理群体间的 F_{ST} 值都大于 0.25, 说明 ZY 群体与其他地理群体间存在高度分化, 基因交流存在阻碍。邢迎春^[4]对黑龙江、鸭绿江、海河、淮河、长江和珠江水系的宽鳍鲮线粒体 DNA 进行系统发育研究, 认为宽鳍鲮可以分为两大支系: 淮河以北 (包括黑龙江、海河、淮河) 的北方支系和长江以南的南方支系 (长江和珠江)。而在本研究中, 长江水系宽鳍鲮 ZY 群体单独聚为一支, 另外一部分群体 (BH 和 CL) 与海河、黄河、淮河水系宽鳍鲮聚在一起, 系统发育树聚

类结果显示长江水系宽鳍鲮种群遗传分化较大, 存在过渡和交集。同样在单倍型网络分析中, 海河水系和黄河水系有 1 个共享单倍型, 淮河水系和长江水系有 2 个共享单倍型, 说明这些水系种群间存在一定程度的基因交流。该结果与邢迎春^[4]认为宽鳍鲮分为南北两大支系的结果有一定差别。河南地处中原, 根据历史资料记载, 河南地区曾经历过黄河改道、河流袭夺等地质事件, 黄河、淮河及长江等流域均发生过不同程度的洪水泛滥, 中华人民共和国成立后引黄济卫等一系列水系工程改造, 沟通了水系连接^[18-20]。因此, 我们推测河南区域内宽鳍鲮种群发生接触是很有可能, 出现差异的原因可能与群体的地理分布有关。

3.3 河南省宽鳍鲮的种群历史动态

在长期的进化历程中, 物种演化除了受突变、自然选择、基因流和遗传漂变等遗传因素影响外, 古地质事件和气候波动等环境因素也会对种群的遗传分化造成一定的影响^[21-23]。从河南地区宽鳍鲮的群体历史动态来看, 宽鳍鲮在 36 Ma~8 Ma 之间种群数量保持稳定, 直到 8 Ma 左右种群开始下降, 在 0.7 Ma 种群达到最低点, 之后又在相对较短的时间内恢复到之前相当的水平, 说明宽鳍鲮群体历史上发生过瓶颈效应。0.7 Ma 前后, 昆仑-黄河运动造成高原剧烈隆起, 同时全球气候也开始了“中更新世革命”, 温度显著下降^[24]。基于此, 我们推测宽鳍鲮群体瓶颈效应的出现应该与第四纪中更新世气候波动有关, 这一期间温度的降低, 可能导致了宽鳍鲮种群数量的急剧下降。

综上所述, 河南地区宽鳍鲮群体遗传多样性现状不容乐观, 部分地区遗传多样性水平较低, 说明宽鳍鲮生存适应能力已被削弱, 并且群体出现了一定的分化风险, 因此需要重视宽鳍鲮的保护工作。但是近年来人类过度捕捞、环境污染、水坝工程建设以及旅游业的发展, 对宽鳍鲮的生存环境造成了很大影响。尤其是作为野杂鱼类, 人们不太重视宽鳍鲮的保护, 导致宽鳍鲮的野生资源急剧下降。因此, 我们建议从控制捕捞数量、保护栖息地生境以及水污染控制等几方面着手保护宽鳍鲮种群。

参考文献:

- [1] Perdices A, Cunha C, Coelho M M. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei, Cyprinidae) populations on the upper and middle Chang Jiang (= Yangtze) drainage inferred from cytochrome *b* sequences[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2004, 31(1): 192-203.
- [2] Berrebi P, Boissin E, Fang F, et al. Intron polymorphism (EPIC-PCR) reveals phylogeographic structure of *Zacco platypus* in China: a possible target for aquaculture development[J]. Heredity, 2005, 94(6): 589-598.
- [3] Perdices A, Coelho M M. Comparative phylogeography of *Zacco platypus* and *Opsariichthys bidens* (Teleostei, Cyprinidae) in China based on cytochrome *b* sequences[J]. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 2006, 44(4): 330-338.
- [4] Xing Y C. Study on molecular systematics, speciation and biological characteristics of *Zacco Platypus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in China[D]. Wuhan: Central China Normal University, 2007. [邢迎春. 中国宽鳍鱮 *Zacco Platypus* (Cypriniformes: Cyprinidae)分子系统学、物种分化及其生物学特性的研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2007.]
- [5] Liang X X, Qing N, Yang K L, et al. Population genetic variation and phylogeography of *Zacco platypus* in Guangdong region[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(4): 806-814. [梁晓旭, 庆宁, 杨柯林, 等. 广东地区宽鳍鱮种群遗传变异和亲缘地理[J]. 水生生物学报, 2010, 34(4): 806-814.]
- [6] Shen X H. Water resource protection plan of Henan Province[D]. Nanjing: Hehai University, 2005. [沈兴厚. 河南省水资源保护规划[D]. 南京: 河海大学, 2005.]
- [7] Su K H, Yan J P, Li J S. Difference analysis on climate change in Huaihe valley in Henan Province[J]. Chinese Journal of Agrometeorology, 2010, 31(3): 333-337. [苏坤慧, 延军平, 李建山. 河南省境内以淮河为界的南北气候变化差异分析[J]. 中国农业气象, 2010, 31(3): 333-337.]
- [8] Ivanova N V, Zemlak T S, Hanner R H, et al. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding[J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(4): 544-548.
- [9] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [10] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [11] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47-50.
- [12] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [13] Heled J, Drummond A J. Bayesian inference of species trees from multilocus data[J]. Molecular Biology and Evolution, 2010, 27(3): 570-580.
- [14] Rambaut A, Drummond A J. Tracer v1. 5[Z]. 2007. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- [15] Krishnamurthy P K, Francis R A. A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation[J]. Biodiversity and Conservation, 2012, 21(8): 1901-1919.
- [16] Goodall-Copestake W P, Tarling G A, Murphy E J. On the comparison of population-level estimates of haplotype and nucleotide diversity: a case study using the gene *cox1* in animals[J]. Heredity, 2012, 109(1): 50-56.
- [17] Meng X T, Wang Y D, Cao Y L, et al. Current status of fishery resources in Huixian of Xinxiang City[J]. Henan Fisheries, 2016(4): 29-32. [孟祥通, 王义东, 曹玉莲, 等. 新乡市辉县鱼类资源调查[J]. 河南水产, 2016(4): 29-32.]
- [18] Chen Z Q. The deposition, breach and diversion in the lower Yellow River and their relationships with human activities during the historical period[J]. Progress in Geography, 2011, 20(1): 44-50. [陈志清. 历史时期黄河下游的淤积, 决口改道及其与人类活动的关系[J]. 地理科学进展, 2011, 20(1): 44-50.]
- [19] Niu Z X, Sun Z M. The relationship between the main river systems in the northern area of Henan Province and the influence by man's transformation[J]. Henan Sciences, 1985, 3(2): 106-115. [钮仲勋, 孙仲明. 历史时期豫北地区主要水系之间的关系及人类改造利用的影响[J]. 河南科学, 1985, 3(2): 106-115.]
- [20] Zhang Y Y, Li Z L, Liu X J. Evolution of interconnected river and lake networks in the Huai River Basin over the last millennium[J]. South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology, 2016, 14(4): 77-83. [张永勇, 李宗礼, 刘晓洁. 近千年淮河流域河湖水系连通演变特征[J]. 南水北调与水利科技, 2016, 14(4): 77-83.]
- [21] Flanagan S P, Rose E, Jones A G. Population genomics reveals multiple drivers of population differentiation in a sex-role-reversed pipefish[J]. Molecular Ecology, 2016, 25(20): 5043-5072.
- [22] Günther T, Coop G. Robust identification of local adaptation from allele frequencies[J]. Genetics, 2013, 195(1): 205-220.
- [23] Yu D, Chen M, Tang Q, et al. Geological events and Pliocene climate fluctuations explain the phylogeographical pattern of the cold water fish *Rhynchocypris oxycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in China[J]. BMC Evolutionary Biology, 2014, 14: 225.
- [24] Cui Z J, Chen Y X, Zhang W, et al. Research history, glacial

chronology and origins of quaternary glaciations in China[J].
Quaternary Sciences, 2011, 31(5): 749-764. [崔之久, 陈艺

鑫, 张威, 等. 中国第四纪冰期历史、特征及成因探讨[J].
第四纪研究, 2011, 31(5): 749-764.]

Genetic diversity of wild *Zacco platypus* populations among four river systems in Henan Province analyzed by mitochondrial CO I gene

LIU Huifen, ZHANG Chao, WANG Jing, GU Qianhong, ZHOU Chuanjiang, MENG Xiaolin, ZHANG Jianxin, SONG Dongying, LI Xuejun, KONG Xianghui, NIE Guoxing

College of Fisheries, Henan Normal University, Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Xinxiang 453007, China

Abstract: To correctly determine the genetic structure of wild *Zacco platypus* populations from Haihe, Yellow, Huaihe, and Yangtze River basins in Henan Province, we analyzed the population genetic diversity and differentiation of the species using mitochondrial CO I gene. A total of 110 individuals were sequenced, which have defined 40 distinct haplotypes. The average haplotype diversity and nucleotide diversity were 0.92077 and 0.02439, respectively. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that most of the genetic variation existing among populations (60.59%), and the remaining 37.67% of genetic variation was attributed to differentiation within populations. The assignment of populations based on Neighbor-Joining (NJ) method revealed that *Z. platypus* populations from Yangtze River divided into two distinct mitochondrial DNA lineages, one clustered from the ZY population and the other clustered individuals from Haihe River, Yellow River and Huaihe River. This phylogenetic pattern is not consistent with the previous reported North and South Clades. Demographical history analysis indicated that *Z. platypus* populations had undergone a bottleneck which coincided with the middle Pleistocene and suffered from climate changes. Considering the genetic and phylogeographic results obtained in this study, appropriate measures are proposed to conserve *Z. platypus* population, especially for those with low genetic diversity in Haihe River basin.

Key words: *Zacco platypus*; CO I; genetic diversity; population genetic structure

Corresponding author: NIE Guoxing. E-mail: niegx@htu.cn