

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15382

基于线粒体控制区序列的塔里木裂腹鱼遗传多样性及种群分化分析

海萨·艾也力汗, 郭焱, 孟玮, 杨天燕, 阿达可白克·可尔江

新疆维吾尔自治区 水产科学研究所, 新疆 乌鲁木齐 830000

摘要: 为了解塔里木裂腹鱼(*Schizothorax biddulphi*)种群遗传多样性和遗传结构, 本研究分析了库玛拉克河(KMLK)、木扎提河(MZT)、塔什库尔干河(TSKEG)、喀拉喀什河(KLKS)、玉龙喀什河(YLKS)、克孜勒苏河(KZLS)、车尔臣河(CEC)7个群体共143个线粒体控制区序列变异个体, 获得了39个单倍型。其中, CEC群体与其他群体间遗传分化显著, 无共享单倍性。群体间遗传差异的分子变异分析表明, 在所有群体中大多数的变异来源于群体间; 而排除CEC群体后, 大多数变异则来源于群体内(81.01%)。群体间的遗传变异小(16.68%)。塔里木裂腹鱼不同群体间的基因流(N_m)为0.0464~18.2786, CEC与其余群体间的基因流均小于1。贝叶斯法(BI)构建BI树和单倍型网络图结构一致, 塔里木裂腹鱼形成了2个分支。2个分支的最近共同祖先约在2.7 Ma前。单倍型间的歧点分布具有明确的双峰, 表明2.7 Ma前罗布泊的干枯或盐化事件使2个分支间产生了地理隔离, 后因塔里木盆地冷湿气候的影响罗布泊水面恢复, 现今的分布是先前分化居群的二次联系。种群结构分析结果均支持塔里木裂腹鱼已分化出2个明显分化的地理种群的观点, 即塔里木河(TLM)种群和CEC种群。TLM种群具有较高的单倍型多态性(0.939 ± 0.008)和核苷酸多态性(0.0125 ± 0.0017), 而CEC种群的单倍型多态性高(H)(0.903 ± 0.025), 核苷酸多态性低(P_i)(0.0051 ± 0.0012)。建议对以上2个种群分开管理, TLM种群为优先保护单元。

关键词: 塔里木裂腹鱼; 控制区; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)04-0944-11

塔里木裂腹鱼(*Schizothorax biddulphi*)隶属鲤形目、鲤科、裂腹鱼亚科、裂腹鱼属(*Schizothorax*), 地方名为尖嘴鱼^[1]。根据现有的研究资料记载, 该物种分布范围仅限于塔里木河流域。原是塔里木河、博斯腾湖等水域的主要经济鱼类^[2]。由于人类活动的加剧、自然环境的变迁等原因, 塔里木裂腹鱼种群资源日益减少。20世纪70年代前, 塔里木裂腹鱼的年捕捞量占博斯腾湖渔获物的80%^[2]。20世纪80年代起从该湖渔获物中基本消失, 至90年代已近绝迹^[2]。目前, 塔里木裂腹鱼已被《中国濒危动物红皮书》^[3]收录, 濒危等级为濒危。国内外鱼类学者开展了塔里木裂腹鱼基础生物学^[4]、人工繁殖^[5]以及驯养相关的研究工作。

塔里木裂腹鱼保护工作虽然取得了一些成绩,

但仍然面临着诸多问题和困难, 保护形势依然严峻。栖息环境保护与水资源开发利用的矛盾十分突出, 栖息环境日渐萎缩的情况还在扩大。塔里木河水系是塔里木裂腹鱼唯一的天然种质宝库, 干流长约1321 km, 是中国最长的内流河。历史上9大水系汇入塔里木河流域, 因农田灌溉面积的不断扩大、水资源过度开发, 现仅有4条源流补给塔里木河^[6]。更为严重的是人类活动加剧、自然环境的变迁及拦河建坝等原因造成塔里木河部分支流出现断流, 使塔里木裂腹鱼部分生境丧失或产生隔离的斑块生境, 面临逐步丧失遗传多样性、失去适应环境变化的能力, 这可能会导致塔里木裂腹鱼的灭绝。

在栖息地片段化、种群隔离的情况下, 保护好塔里木裂腹鱼的遗传多样性, 提高其生存能力,

收稿日期: 2015-10-08; 修订日期: 2015-12-02.

基金项目: 新疆少数民族科技人才特殊培养计划科研项目(201323131).

作者简介: 海萨·艾也力汗(1972-), 男, 高级工程师, 研究方向为水产动物种质资源. E-mail: hbahjan@126.com

是塔里木裂腹鱼保护工作中迫切需要解决的问题。孟玮等^[7]利用线粒体DNA控制区基因第一高变区456 bp序列探讨了塔里木裂腹鱼5个群体的遗传结构,认为群体间遗传分化显著,单倍性间关系较近。阎雪岚等^[8]利用细胞色素b基因序列探讨了塔里木裂腹鱼克孜勒苏河群体的遗传多样性,认为该河流域塔里木裂腹鱼处于很低的遗传多样性水平,物种维持力较弱。本研究测定了塔里木裂腹鱼7个群体共143个个体的线粒体DNA控制区序列,结合分布区域河流、湖泊的演化特征和现状,探讨其遗传多样性和遗传结构,以期提出更有效的保护建议。

1 材料和方法

1.1 实验材料

2010年4月至2014年9月从库玛拉克河(KMLK)、木扎提河(MZT)、塔什库尔干河(TSKEG)、喀拉喀什河(KLKS)、玉龙喀什河(YLKS)、克孜勒苏河(KZLS)、车尔臣河(CEC)(图1)采集了塔里木裂腹鱼7个群体共143个个体的鳍条组织样本(表1),浸泡于95%乙醇,20℃保存。

1.2 DNA提取及PCR扩增

采用传统的苯酚-氯仿抽提法提取总DNA。GenBank下载塔里木裂腹鱼线粒体DNA全序列(登录号JQ844133),利用Primer Premier 5.0设计扩增控制区序列的引物TLM-L: 5'-GTCTTGT AATCCGGAGATCGGAG-3'和TLM-H: 5'-GTTA GAGCTGATAATAAGGTCG G-3'。PCR反应体系含5 μL 10×PCR Buffer, 4 μL dNTP Mixture (2.5 mmol/L), 1 μL 模板DNA (20 ng/μL), 1 μL 上下游引物(10 mmol/L), 0.5 μL Taq酶(2.5 U/μL), 无菌双蒸水补至50 μL。扩增反应在Mastercycler® gradient梯度PCR仪上完成,反应条件为95℃变性4 min; 94℃预变性40 s; 57℃退火40 s; 72℃延伸45 s, 35个循环; 72℃延伸8 min, 4℃保温。PCR产物取5 μL经琼脂糖凝胶电泳检测后送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.3 数据分析

系统发育分析中的外群花斑裸鲤(*Gymnocypris*

eckloni) (GenBank: JQ004279),青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*) (GenBank: AB239595),小头高原鱼(*Herzensteinia microcephalus*) (GenBank: FJ601173),黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*) (GenBank: JN990920),第聂鮈(*Barbus barbus*) (GenBank: AB238965),南鮈(*Barbus meridionalis*) (GenBank: AJ388417)等序列来自GenBank。

利用Continuing Express软件拼接序列、进行人工校对,利用BioEdit 7.01软件对所有序列进行比对。DnaSP 5.10^[9]软件确定单倍型数量、单倍型多态性(haplotype diversity, *h*)及核苷酸多态性(nucleotide diversity, *π*)。MrBayes v3.1.1^[10]软件采用贝叶斯法(Bayesian inference, BI)构建BI树。构建系统发育树之前,用jModelTest2.1.3^[11]对联合数据进行模型筛选。根据分析结果,设置代替模型为2(*n_{st}*=2)、位点间变异模型为invgamma(rates=invgamma),进行10⁶代蒙特卡罗模拟(Markov chain Monte Carlo; MCMC)、4条链同时运行3条热链1条冷链(*n_{gen}*=4),节点的可信性以后验概率(posterior probability, PP)来表示。Network4.6软件^[12]构建单倍型间的网络图和错配分布图。Arlequin3.1^[13]软件统计获得群体间的遗传分化系数(*F*-statistics, *F_{st}*)及其检验显著性(重复次数1000)。用公式*N_m*=[(1/*F_{st}*)-1]/2计算近代基因流^[14]。用AMOVA方法(analysis of molecular variance)估测群体结构及遗传变异的地理分布时,采用两个等级,一是根据分布水系发源不同将塔里木裂腹鱼划分为3个族群,分别是帕米尔高原组群(喀什噶尔河、叶尔羌河及和田河),南天山组群(阿克苏河、渭干河)及昆仑山组群(车尔臣河);二是根据分化指数排除车尔臣河群体后保留前两个族群。利用BEAST v1.7.5^[15]推算最近共同祖先时间,核苷酸代替模型为HKY,分支模型选用Yule speciation process, Prior Distribution设为CTMC Rate Reference, Relaxed Clock为Uncorrelated LognorM年。资料显示,1.1~0.7 Ma发生的“昆仑-黄河运动”,使分布于沱沱河的小头高原鱼和分布于黄河水上游的黄河裸裂尻鱼发生隔离^[16~17]。由于新疆裂腹鱼

类化石记录缺乏, 我们利用以上 2 个近缘物种的分歧时间作为标定点。使 MCMC 运行 1.8×10^7 代, TRACER v1.6 软件估算有效取样大小(effective

sample sizes, ESS)是否大于 200, Tree Annotator 构建系统发育树, 利用 FigTree v1.3 查看分支分化时间。

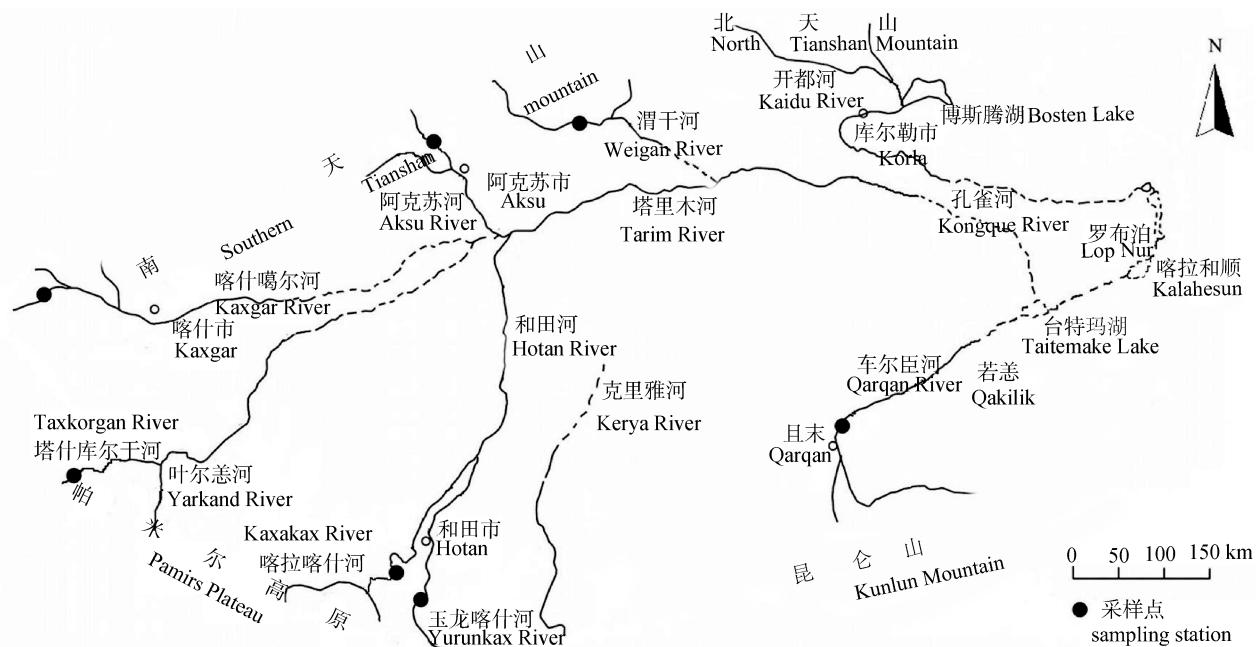


图 1 采样地点图

Fig. 1 Map of the sampling locations

2 种群结构分析结果

2.1 遗传多样性

通过双向测序共获得 7 个群体的 143 个个体控制区序列, 一致序列长度为 883 bp, 共发现 62 个变异位点, 并由此定义了 39 个单倍型。其中 Hap-2、Hap-3 是分布最广的优势单倍型, 前者是 KMLK、KLKS、MZT、TSKEG 群体共享单倍型, 后者是 KMLK、KZLS、MZT 和 TSKEG 群体共享。CEC 群体与其他群体无共享的单倍型。总体的核苷酸多态性(P_i)高于不同群体的核苷酸多态性(P_i), 这可能是 CEC 群体与其他群体间的遗传差异太大所致。排除 CEC 群体, 其余 6 个群体的平均单倍型多态性(H)为 0.939 ± 0.008 , 平均核苷酸多态性(P_i)为 0.0125 ± 0.0017 , 平均核苷酸差异指数(K)为 10.954。在不同群体中 TSKEG 群体的单倍型多态性最高(H), 核苷酸多态性(P_i)最高值出现在 YLKS 群体(0.0181)。所有群体中 KZLS 群

体的单倍型多态性(H)、核苷酸多态性(P_i)、平均核苷酸差异指数(K)最低(表 1)。

2.2 群体间的遗传分化及基因流

群体间两两成对的 F_{st} 值显著性检验结果显示, CEC、KZLS、MZT 群体与其他群体间的 F_{st} 均为极显著($P < 0.01$), 表明这些种群间存在一定程度的遗传分化(表 2)。而 TSKEG、KMLK、YLKS、KLKS 群体间为不显著, 遗传分化不明显。而 KLKS 及 YLKS 之间的分化指数出现了负值。塔里木裂腹鱼不同群体间的基因流在 0.0464~18.2786, CEC 与其余群体间的基因流均小于 1(表 2)。群体间遗传差异的分子方差分析(AMOVA)表明, 所有群体中组群间的变异占 62.94%, 组群内群体间的变异仅为 7.03%, 群体内的变异占 30.03%。根据分化指数(F_{st})和基因流(N_m)计算结果, 排除 CEC 群体, 将阿克苏河和渭干河归为一个组群, 而将和田河、叶尔羌河及喀什噶尔河归为一个组群, 再次进行 AMOVA 分析, 结果表明主要的变异

表 1 塔里木裂腹鱼 7 个群体的采样点信息和遗传变异参数统计
Tab. 1 Sampling locations information and genetic variation parameters of 7 *Schizothorax biddulphi* populations

群体 group name	采样点 location	所属水系 river	采样量 sample size	纬度 latitude	经度 longitude	单倍型数 number of haplotypes, N_{Hap}	核苷酸多态性 nucleotide diversity, H_{P_i}	平均核苷酸差异指数 average number of nucleotide difference, K
库玛拉克河 Kumalake River	多浪渠首 Dolan head works	阿克苏河 Aksu River	21	41°24'N	80°10'E	7	0.838±0.044	0.0170±0.0021
车尔臣河 Qarqan River	车尔臣河 Qarqan River	车尔臣河 Qarqan River	31	38°21'N	85°21'E	10	0.903±0.025	0.0051±0.0012
喀拉喀什河 Karakax River	波波娜 Bobona	和田河 Hotan River	21	36°88'N	79°58'E	6	0.776±0.070	0.0175±0.0022
克孜勒苏河 Kezelse River	康苏 Kangsu	喀什噶尔河 Kaxgar River	21	39°66'N	75°02'E	4	0.586±0.079	0.0020±0.0008
木扎提河 Muzat River	大桥乡 Daqiaoxiang	渭干河 Weigan River	20	41°63'N	81°57'E	7	0.711±0.089	0.0063±0.0021
塔什库尔干河 Taxkorgan River	下板地水库 Xiabandi reservoir	叶尔羌河 Yarkand River	19	37°83'N	75°45'E	12	0.947±0.030	0.0088±0.0022
玉龙喀什河 Yurunkax River	同克孜洛克 Tongkezilouke	和田河 Hotan River	10	36°80'N	79°92'E	4	0.711±0.117	0.0181±0.0027
总体 all sample			39	0.958±0.005	0.0236±0.0016	20.523		

表 2 塔里木裂腹鱼群体间的分化指数 F_{st} (对角线下)和基因流 N_m (对角线上)
 Tab. 2 Genetic differentiation index F_{st} (below diagonal) and gene flow N_m (above diagonal) among
Schizothorax biddulphi populations

群体 group	库玛拉克河 Kumalake River	车尔臣河 Qarqan River	喀拉喀什河 Karakax River	克孜勒苏河 Kezelesu River	木扎提河 Muzat River	塔什库尔干河 Taxkorgan River	玉龙喀什河 Yurunkax River
库玛拉克河 Kumalake River		0.1621	18.2786	1.2301	2.4024	7.4675	14.0635
车尔臣河 Qarqan River	0.7552*		0.1652	0.0464	0.0713	0.0850	0.0932
喀拉喀什河 Karakax River	0.0266	0.7517*		1.0370	1.8151	5.5747	17.6818
克孜勒苏河 Kezelesu River	0.2890*	0.9151*	0.3253*		0.4180	2.8611	0.6002
木扎提河 Muzat River	0.1723	0.8752*	0.2160*	0.5447*		1.6144	1.3206
塔什库尔干河 Taxkorgan River	0.0628	0.8546*	0.0823	0.1488*	0.2365*		7.5703
玉龙喀什河 Yurunkax River	0.0343	0.8430*	-0.0280	0.4545*	0.2746*	0.0620	

注: *表示显著性水平 $P < 0.01$.

Note: * means significance level $P < 0.01$.

来源于群体内(81.01%), 群体间的遗传变异仅为 16.68%, 有很小的变异来自于组群间(2.31%)(表 3)。

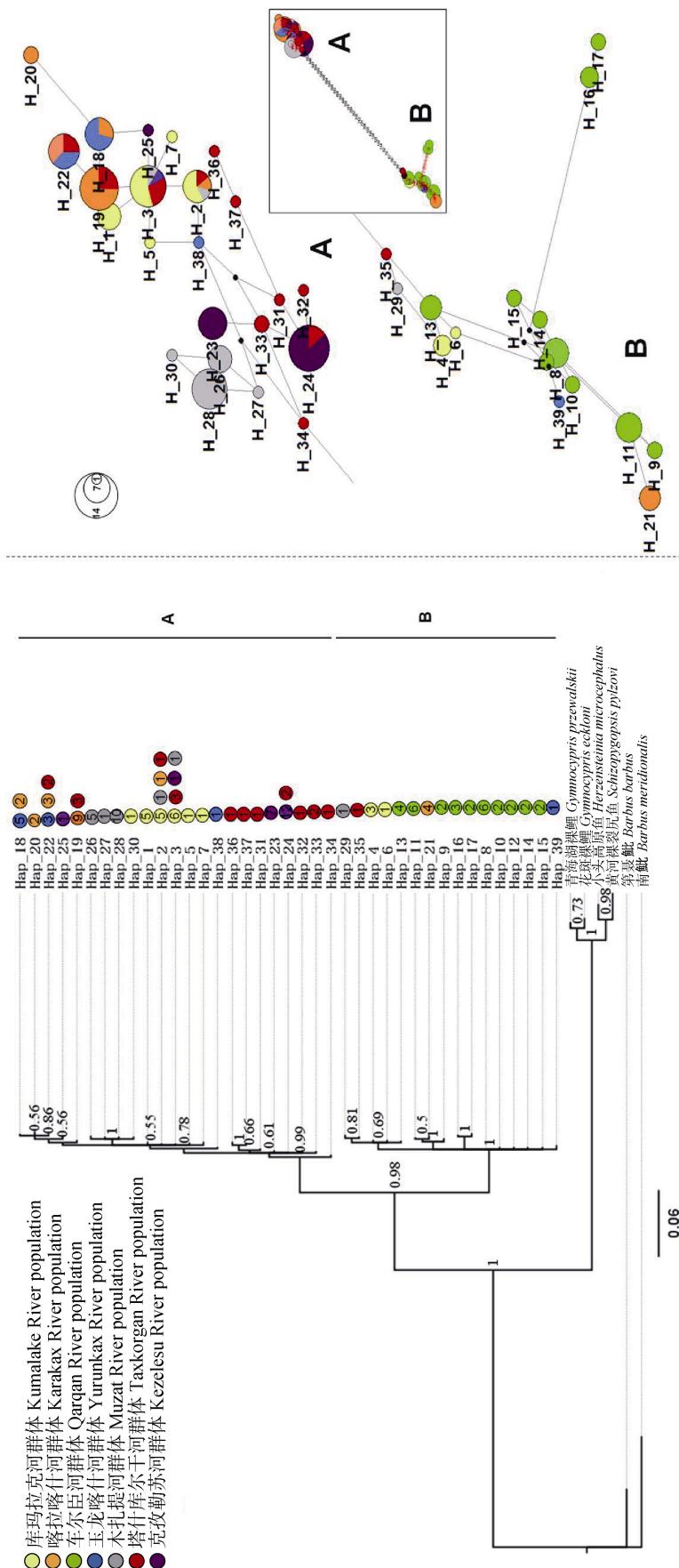
2.3 单倍型间的进化关系

基于 39 个单倍型构建的 BI 树(图 2 左)显示, 塔里木裂腹鱼的系统发育树形成了 2 个分支, 分支 A 主要由 KMLK、YLKS、KLKS、KZLS、TSKEG 及 MZT 单倍型组成, 而分支 B 除了 MZT、TSKEG、YLKS、KLKS 各有 1 个单倍型和 KMLK

有 2 个单倍型外, 其余均为 CEC 单倍型。单倍型网络图(图 2 右)结构与 BI 树完全一致, 支系 A 和 B 间有 36 步的突变次数。所有控制区单倍型的错配分布具有明确的双峰, 表明塔里木裂腹鱼具有 2 个明显单倍型群组(图 3)。BEAST 软件分析结果显示, 支系 A 和 B 间最近共同祖先约在 2.62 Ma 前(图 4)。我们初步认为塔里木裂腹鱼已分化出 2 个明显分化的地理种群。

表 3 塔里木裂腹鱼 7 个群体遗传差异的 AMOVA 分析
 Tab. 3 AMOVA among the 7 populations of *Schizothorax biddulphi*

变异来源 source of variation	自由度 df	方差总和 sum of squares	变异组分 variance component	变异百分比 percentage of variation	固定指数 fixation index	P
所有群体 all populations						
组群间 among groups	2	917.390	9.5928	62.94	$F_{CT}=0.6294$	0.0772
组群内群体间 among populations	4	96.009	1.0707	7.03	$F_{SC}=0.1896$	0.0000
群体内 within population	136	622.433	4.5767	30.03	$F_{st}=0.6997$	0.0000
总计 total	142	1635.832	15.2402			
排除车尔臣河群体 except for Qarqan River population						
组群间 among groups	1	33.390	0.1448	2.31	$F_{CT}=0.0231$	0.2649
组群内群体间 among populations	4	96.009	1.0436	16.68	$F_{SC}=0.1708$	0.0000
群体内 within population	106	537.207	5.0680	81.01	$F_{st}=0.1900$	0.0000
总计 total	111	666.607	6.2564			



虚线左: 基于控制区基因单倍型构建的 BI 树, 树节点处为后验概率, 圆圈内数字为该单倍型出现次数, 虚线右: 单倍型的进化网络图, 黑圈表示缺失单倍型。

Fig. 2 BI phylogenetic tree and Network relationships of haplotypes
Left of dashed line: BI phylogenetic tree based on control region data; values above nodes are posterior probabilities, and figures in the circle represent the number of times that the haplotype occurs. Right of dashed line: Network relationships of haplotypes. The black circle represents a haplotype which is a necessary intermediate but is not found in the sampled population.

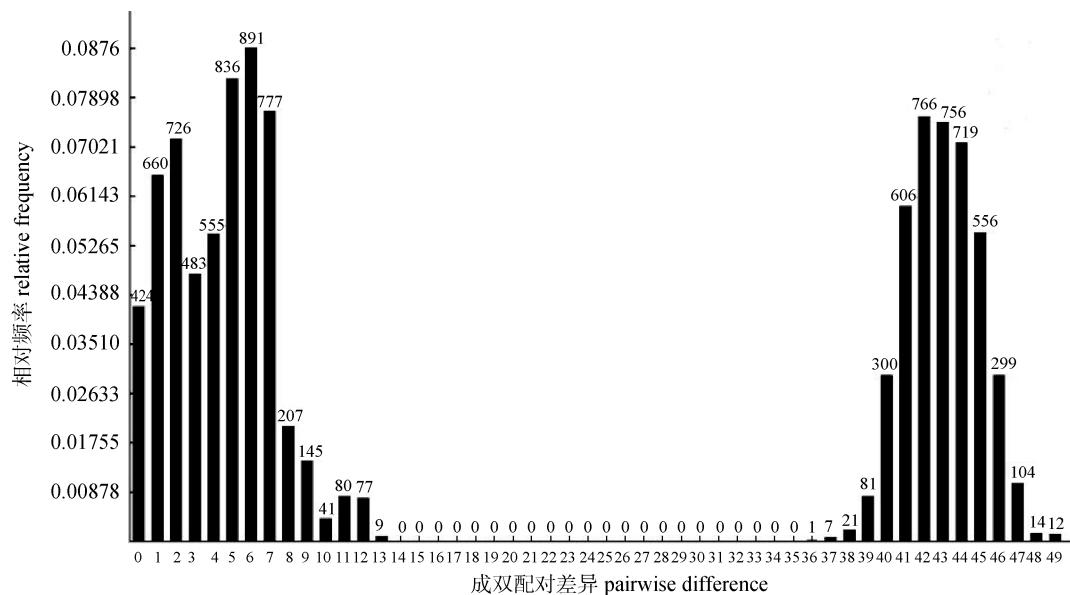


图 3 塔里木裂腹鱼 D-loop 区序列单倍型错配分布图

Fig. 3 Mismatch distribution of D-loop haplotypes

3 讨论

3.1 塔里木裂腹鱼种群分化分析

研究发现, CEC 群体与其他群体间无共享的单倍型; 群体间的 F_{st} 值较高, 差异极显著; 单倍型的系统发育树和网络图结构一致, 两个群体各自形成独立的分支。据此, 我们认为塔里木裂腹鱼已形成明显分化的 2 个地理种群。历史上, 塔里木河干流与孔雀河合流从北面流入罗布泊。CEC 从南面流入罗布泊。而现今的塔里木河与 CEC 交汇于台特玛湖, 再经喀拉和顺从南面流入罗布泊是魏晋后塔里木河多次改道的结果^[18]。根据分布水域演化历史, 我们初步划分为塔里木河种群和车尔臣河种群。种群分化的主要原因可能是与历史时期罗布泊的咸化、萎缩干枯事件相关。因魏晋前塔里木河干流和 CEC 尾闾交汇于罗布泊, 罗布泊的演化直接影响塔里木河流域和 CEC 鱼类的基因交流。已有的研究结果显示, 约 5 Ma 前的上中新世罗布泊开始出现^[19], 因 2.7 Ma 中国西北部干旱区干燥度急剧增加^[20-21], 上新世末期罗布泊一度干涸消失^[22], 随后的 2.7~1.5 Ma 西北部干旱区干燥度逐渐减少^[21], 由于气候温凉湿润, 1.5 Ma 前罗布泊扩大到 $2 \times 10^4 \text{ km}^2$ 以上^[22]。本文

分析结果显示, 塔里木裂腹鱼 2 个种群的最近共同祖先约在 2.62 Ma 前, 与以上塔里木盆地古气候和罗布泊演化历史的研究结果相符。因此 CEC 群体与其他群体间的遗传分化可能是 2.7 Ma 前罗布泊干枯或盐化事件导致的地理隔离所引起的。塔里木河流域中的少数单倍型与 CEC 群体聚在一起, 对此我们有以下可能的解释: 当所有单倍型的错配分布具有明确的双峰分布时, 可推断出先前分化居群的二次联系和遗传融合^[23-24]。2.7 Ma 前罗布泊的干枯或盐化事件使 CEC 群体与其他群体间产生了地理隔离, 后因塔里木盆地冷湿气候的影响罗布泊水面恢复, 群体间的地理隔离消除, 2 个种群相互扩散。而塔里木河种群中未发现 CEC 种群可能是 CEC 群体样本数少的原因。

塔里木河种群中 KZKS、MZT、TSKEG 群体与其他群体间存在一定程度的遗传分化。据资料显示, 由于人类活动与气候变化等影响, 20 世纪 40 年代以前喀什噶尔河、渭干河源流与塔里木河干流失去了地表水力联系^[25]。叶尔羌河在小海子水库 1959 年建成后, 大部分水量引入水库, 大洪水时才有少量水汇入塔里木河干流^[25]。目前塔里木河干流主要水源的 73% 来自于阿克苏河^[26]、25% 由和田河供给^[27]。塔里木河种群不同群体间

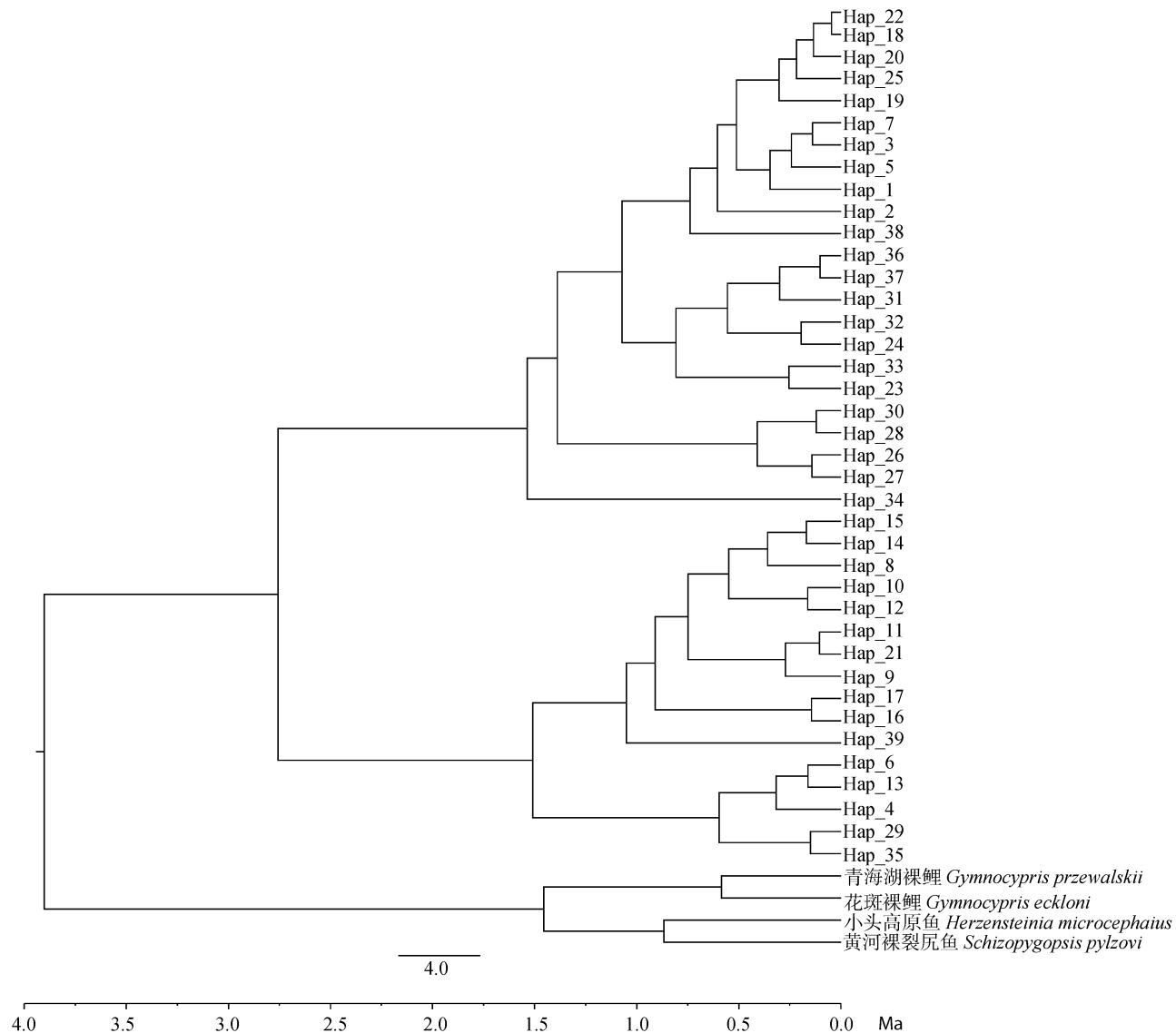


图4 BEAST分析得出的塔里木裂腹鱼单倍型间的分化时间框架

Fig. 4 Divergence timescale of *Schizothorax biddulphi* haplotype derived from BEAST

的遗传分化与水系隔离的限制是相适应的，而分化指数的大小与水系间形成地理隔离时间的长短基本吻合。这与赵亮等^[28]的观点相符，对水生生物来说不同水系之间存在明显的地理障碍，所以通常在流域之间存在明显的种群遗传分化，即鱼类的遗传分化格局往往与其分布的水系格局相吻合。

3.2 塔里木裂腹鱼遗传多样性

塔里木河种群的平均单倍型多态性为 0.939 ± 0.008 ，核苷酸多态性为 0.0125 ± 0.0017 。相比细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)^[29]、软刺裸裂尻鱼亚种

(*Schizopygopsis chengi baoxingensis*)^[30]、祁连裸鲤(*Gymnocypris chilianensis*)^[31]，遗传多样性更显丰富。与同属的齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)^[32]、尼泊尔 Karnali River 中的 *Schizothorax progastus*^[33]、四川裂腹鱼(*Schizothorax kozlovi*)^[34]的相当。首先，这可能与塔里木裂腹鱼现存种群大小有关。阿达可白克·可尔江等^[35]对渭干河流域—克孜尔水库的调查结果显示，塔里木裂腹鱼是克孜尔水库鱼类的优势种类之一，据全年采集鱼类标本统计，其数量在该水域鱼类数量中占 8.34%，在土著鱼类总数量与总生物量中分别占 35.7% 与 42.2%。我

们在 KZLS、TSKEG 采集样本时同样发现, 塔里木裂腹鱼为渔获物中的优势种。塔里木裂腹鱼在 20 世纪 70 年代前, 占博斯腾湖总捕捞量的 80%, 是塔里木河水系裂腹鱼类中种群数量最大的种类之一。虽然近 40 年来博斯腾湖、塔里木河干流种群数量逐渐减少甚至濒临灭绝, 但在主要支流及支流上游水库中仍然是土著鱼类中的优势种类之一。其次, 塔里木裂腹鱼的洄游习性可能增加了不同地理种群间的基因交流, 从而丰富了塔里木河上游支流群体间的遗传多样性。Hartl 等^[36]、张丽艳等^[37]认为, 基因流大于 4 ($N_m > 4$), 则表明种群间是一随机交配的种群。YLKS、TSKEG、KMLK、KLKS 群体间的基因流大于 4 (5.5747~18.2786)。而 CEC 群体具有高单倍型多态性和低核苷酸多态性。CEC 位于塔里木盆地东南边缘, 喀喇昆仑山、昆仑山主要河流中年径流量最小的河流^[18], 并只有在尾闾湖与塔里木盆地其他水系的地表水力联系。一般认为, 边缘种由于分布范围有限, 迁入个体较少, 遗传漂变水平高, 因此遗传多样性水平较低^[38~39]。

综上所述, 塔里木河不同群体间发生了一定程度的遗传分化。近期在塔里木河支流上新建的大坝(喀拉喀什河乌拉瓦提水利枢纽、塔什库尔干河下坂地水利枢纽、库玛拉克河大石峡水利枢纽等)进一步加快了栖息环境斑块化。同时大坝兴建所带来的生态环境的变化可能会影响到塔里木裂腹鱼原有栖息环境、产卵场和繁殖条件, 从而导致群体数量的波动。同时, 车尔臣河种群和塔里木河种群间已发生了极显著的遗传分化。但确定进化显著单元 (evolutionarily significant units, ESU)要满足基于线粒体 DNA 的谱系关系互为单系, 并且核 DNA 位点等位基因频率存在显著的差异^[40]。今后应跟踪调查塔里木裂腹鱼种群数量和年龄组成的变化, 人为地加强塔里木河种群不同地理群体间的基因交流。在确定进化显著单元或在评估这种遗传分化对繁殖健康度的影响之前, CEC 种群与塔里木河种群应分开管理, 在资金有限的条件下优先保护塔里木河种群。

参考文献:

- [1] Guo Y, Zhang R M, Cai L G. Fishes of Xinjiang[M]. Urumqi: Xinjiang Science & Technology Publishing House, 2012. [郭焱, 张人铭, 蔡林钢. 新疆鱼类志[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2012.]
- [2] Guo Y, Zhang R M, Cai L G. Fish Resources of Boston Lake[M]. Urumqi: Xinjiang Science & Technology Publishing House, 2005. [郭焱, 张人铭, 蔡林钢. 博斯腾湖鱼类资源[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2005.]
- [3] Yue P Q, Chen Y Y. China Red Data Book of Endangered Animals: Fishes[M]. Beijing: Science Press, 1998. [乐佩琦, 陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书: 鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 1998.]
- [4] Ma Y W, Zhang R M, Tursen, et al. Preliminary study on the biologica of *Schizothorax biddulphi* Gunter in Aksu River[J]. Journal of Hydroecology, 2009, 2(2): 148~153. [马燕武, 张人铭, 吐尔逊, 等. 阿克苏河塔里木裂腹鱼生物学初步研究[J]. 水生态学杂志, 2009, 2(2): 148~153.]
- [5] Xie C G, Zhang R M, Ma Y W, et al. Preliminary study on artificial propagation of *Schizothorax biddulphi* Günther[J]. Arid Zone Research, 2010, 27(5): 734~737. [谢春刚, 张人铭, 马燕武, 等. 塔里木裂腹鱼人工繁殖技术初步研究[J]. 干旱区研究, 2010, 27(5): 734~737.]
- [6] Wang S D, Wang Y G, Wang J, et al. Change of climate and hydrology in the Tarim River basin during past 40 years and their impact[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2003, 25(3): 315~320. [王顺德, 王彦国, 王进, 等. 塔里木河流域近 40 a 来气候、水文变化及其影响[J]. 冰川冻土, 2003, 25(3): 315~320.]
- [7] Meng W, Guo Y, Haisa, et al. Genetic structure and diversity of *Schizothorax biddulphi* populations[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(5): 851~857. [孟玮, 郭焱, 海萨, 等. 塔里木裂腹鱼群体遗传结构及遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2012, 36(5): 851~857.]
- [8] Yan X L, Yang J Q, Tang W Q, et al. Genetic diversity of two Cyprinid fishes: *Schizothorax biddulphi* and *Diptychus maculatus* in Kezilesu River, Xinjiang Uygur autonomous region based on Cyt b gene sequences variation[J]. Chinese Journal of Zoology, 2009, 44(5): 8~13. [阎雪岚, 杨金权, 唐文乔, 等. 基于线粒体 Cyt b 基因序列变异的克孜河塔里木裂腹鱼和斑重唇鱼遗传多样性[J]. 动物学杂志, 2009, 44(5): 8~13.]
- [9] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Meseguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. Bioinformatics, 2003, 19(18): 2496~2497.
- [10] Ronquist F, Huelsenbeck J. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models[J]. Bioinformatics, 2003,

- 19(12): 1572–1574.
- [11] Posada D. jModel Test: phylogenetic model averaging[J]. *Mol Biol Evol*, 2008, 25: 1253–1256.
- [12] Bandelt H J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. *Mol Biol Evol*, 1999, 16(1): 37–48.
- [13] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis[J]. *Evol Bioinform*, 2005(1): 47–50.
- [14] Hudson R R, Slatkint M, Maddison W P. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data[J]. *Genetics*, 1992, 132: 583–589.
- [15] Drummond A J, Suchard M A, Xie D, et al. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7[J]. *Mol Biol Evol*, 2012, 29: 1969–1973.
- [16] Cui Z J, Wu Y Q, Liu G N. On Kunlun-Yellew River tectonic movement[J]. *Science in China (Series D)*, 1998, 28(1): 53–69. [崔之久, 伍永秋, 刘耕年. 关于“昆仑-黄河运动”[J]. *中国科学:D辑*, 1998, 28(1): 53–69.]
- [17] He D K, Chen Y F. Molecular phylogeny and biogeography of the highly specialized grade schizothoracine fishes (Teleostei: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences[J]. *Chin Sci Bull*, 2007, 52(6): 777–788.
- [18] Pan Z L, Xu H L, Zhang P, et al. The Qarqan River in Xinjiang and its water resources utilization[J]. *Arid Zone Research*, 2014, 31(1): 20–26. [攀自立, 徐海量, 张鹏, 等. 新疆车尔臣河及其水资源利用研究[J]. *干旱区研究*, 2014, 31(1): 20–26.]
- [19] Luo C, Peng Z C, Yang D, et al. Research on the Environmental Evolution of Lop-Nur in Xinjiang, China[J]. *Chinese Journal of Nature*, 2006, 28(1): 37–41. [罗超, 彭子成, 杨东, 等. 新疆罗布泊地区的环境演化[J]. *自然杂志*, 2006, 28(1): 37–41.]
- [20] Sun Y B, Liu Q S. Preliminary comparison of eolian depositions in the north Pacific and the Chinese Loess Plateau during the Late Pliocene-Early Pleistocene[J]. *Quaternary Sciences*, 2007, 27(2): 263–269. [孙有斌, 刘青松. 晚上新世—早更新世北太平洋和黄土高原的风尘沉积记录的初步对比[J]. *第四纪研究*, 2007, 27(2): 263–269.]
- [21] Chang Q F, Chang H. The environmental magnetism study of core Ls2 in Lop Nur, Tarim since 7.1Ma[J]. *Quaternary Sciences*, 2013, 33(5): 876–888. [常秋芳, 常宏. 罗布泊 Ls2 孔近 7.1Ma 以来沉积物的环境磁学研究[J]. *第四纪研究*, 2013, 33(5): 876–888.]
- [22] Yuan G Y, Yuan L. An approach to the environmental changes in Lop-Nur history[J]. *Acta Geographica Sinica*, 1998, 53(Suppl): 83–89. [袁国映, 袁磊. 罗布泊历史环境讨论[J]. *地理学报*, 1998, 53(增刊): 83–89.]
- [23] Avise J C. *Phylogeography: The History and Formation of Species*[M]. Massachussets: Harvard University Press, Cambridge, 2000.
- [24] Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A. *Introduction to Conservation Genetics*[M]. Beijing: Science Press, 2005. [法兰克汉 R, 巴卢 J D, 布里斯科 D A. *保育遗传学导论*[M]. 黄宏文, 康明, 译. 北京: 科学出版社, 2005.]
- [25] Wang S D, Chen H W, Zhang X W, et al. Effects of climate change and human activities on hydrological factors in the Tarim River basin[J]. *Arid Zone Research*, 2006, 23(2): 195–202. [王顺德, 陈宏伟, 张雄文, 等. 气候变化和人类活动在塔里木河流域水文要素中的反映[J]. *干旱区研究*, 2006, 23(2): 195–202.]
- [26] Zang X F, Shu Q, Zhang W W, et al. Analysis on runoff variation characteristics of Aksu river in the past 50 years[J]. *Yellow River*, 2012, 34(11): 43–47. [张贤芳, 舒强, 张唯唯, 等. 新疆阿克苏河近 50a 径流变化特征分析[J]. *人民黄河*, 2012, 34(11): 43–47.]
- [27] Huang L M, Shen B. Analysis on runoff evolution and cause of Hotan River flowing into the Tarim River[J]. *Journal of Water Resources & Water Engineering*, 2012, 23(4): 26–32. [黄领梅, 沈冰. 和田河汇入塔里木河径流演变及成因分析[J]. *水资源与水工程学报*, 2012, 23(4): 26–32.]
- [28] Zhao L, Zhang J, Liu Z J, et al. Population genetic structure and demographic history of *Neosalanx jordani* based on cytochrome *b* sequences[J]. *Biodiversity Science*, 2010, 18(3): 251–261. [赵亮, 张洁, 刘志瑾, 等. 乔氏新银鱼基于细胞色素 *b* 序列的种群遗传结构和种群历史[J]. *生物多样性*, 2010, 18(3): 251–261.]
- [29] Xia Y Z, Sheng Y, Chen Y Y. DNA sequence variation in the mitochondrial control region of lenok(*Brachymystax lenik*) populations in China[J]. *Biodiversity Science*, 2006, 14(1): 48–54. [夏颖哲, 盛岩, 陈宜瑜. 利用线粒体 DNA 控制区序列分析细鳞鲑种群的遗传结构[J]. *生物多样性*, 2006, 14(1): 48–54.]
- [30] Liu Q, Wang S, Zhang X Y, et al. Limited genetic diversity of an endemic subspecies *Schizopygopsis chengi baoxingensis* as inferred from the mitochondrial DNA control region[J]. *Hydrobiologia*, 2009, 632: 371–376.
- [31] Zhao K, Duan Z Y, Peng Z G, et al. Phylogeography of the endemic *Gymnocypris chilianensis* (Cyprinidae): Sequential westward colonization followed by allopatric evolution in response to cyclical Pleistocene glaciations on the Tibetan plateau[J]. *Mol Phylogenetic Evol*, 2011, 59(2): 303–310.
- [32] Song Z B, Song J, Yue B S. Population genetic diversity of *Prenant's schizothoracin*, *Schizothorax prenanti*, inferred

- from the mitochondrial DNA control region[J]. Environ Biol Fishes, 2008, 81(3): 247–252.
- [33] Dimmick W W, Edds D R. Evolutionary genetics of the endemic Schizorathicine (Cypriniformes: Cyprinidae) fishes of Lake Rara, Nepal[J]. Biochem Syst Ecol, 2002, 30: 919–929.
- [34] Chen Y X. The genetic characterization and population genetic diversity of *Schizothorax kozlovi* (Nikolsky)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2013. [陈永祥. 四川裂腹鱼(*Schizothorax kozlovi* Nikolsky)种质特征及其遗传多样性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013]
- [35] Adahbek K, Xia X L, Guo Y, et al. Fisheries Ecology and Development Research of Xinjiang Weigan River Basin-Kizil Reservoir[M]. Urumqi: Xinjiang Science & Technology Publishing House, 2012. [阿达可白克·克尔江, 夏新利, 郭焱, 等. 新疆渭干河流域—克孜尔水库渔业生态与
- 发展研究[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2012.]
- [36] Hartl D L, Clark A G. Principle of Population Genetics[M]. 2nd ed. Sunderland: Sinauer Press, 1989.
- [37] Zang L Y, Su Y Q, Wang H J, et al. Population genetic structure of *Pneumatophorus japonicus* in the Taiwan strait[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(23): 7097–7103. [张丽艳, 苏永全, 王航俊, 等. 台湾海峡鮀鱼种群遗传结构[J]. 生态学报, 2011, 31(23): 7097–7103.]
- [38] Soule M. The epistasis cycle: a theory of marginal populations[J]. Annu Rev Ecol Syst, 1973, 4: 165–187.
- [39] Hoffmann A A, Blows M W. Species borders: ecological and evolutionary perspectives[J]. Trends Ecol Evol, 1994, 9: 223–227.
- [40] Moritz C. Defining “evolutionary significant units” for conservation[J]. Trends Ecol Evol, 1994(9): 373–375.

Genetic diversity and population differentiation of *Schizothorax biddulphi* based on mtDNA control region sequences

HAYSA Ayelhan, GUO Yan, MENG Wei, YANG Tianyan, ADAHBEK Karjan

Xinjiang Fishery Research Institute, Urumqi 830000, China

Abstract: *Schizothorax biddulphi* is an endemic fish in Xinjiang but the population is decreasing because of human activities and natural environmental changes. To understand the population genetic diversity and structure of *S. biddulphi*, 143 specimens from seven populations in the Kumalake, Muzat, Taxkorgan, Karakax, Yurunkax, Kezilesu, and Qarqan Rivers were collected, the mitochondrial DNA control region was sequenced, and 39 haplotypes were detected. The Qarqan River population did not share haplotypes with any other population, and the FST tests were highly significant between the Qarqan and other populations. Analysis of molecular variance showed that most of the variation was apportioned among the populations, whereas the variation within populations was 81.01%, except that of the Qarqan population. Gene flow among populations varied from 0.0464 to 18.2786 and was <1 between the Qarqan and other populations. A phylogenetic tree constructed using the Bayes method was consistent with the haplotype network, and the tree was divided into two clades. The most recent common ancestor of the two branches was 2.7 Ma. A mismatch analysis showed a bimodal distribution, indicating geographic isolation between the two branches generated by aridification and salinization of Lop Nor at 2.7 Ma, and Lop Nor subsequently recovered because of the cold and wet climate of the Tarim Basin. Secondary contact resulted in the present-day distribution pattern. The results of a population structural analysis suggested the presence of two distinct geographic populations, such as the Tarim River and Qarqan River populations. The former had high haplotype diversity (0.939 ± 0.008) and nucleotide diversity (0.0125 ± 0.0017), whereas the latter had higher haplotype diversity (0.903 ± 0.025) and lower nucleotide diversity (0.0051 ± 0.0012). These results suggest that different management strategies should be adopted for these two groups, and that the Tarim River population should be protected as a priority.

Key words: *Schizothorax biddulphi*; control region; genetic diversity; genetic structure