

DOI: 10.12264/JFSC2023-0248

武陵山西部及邻近地区宽鳍鱮群体遗传多样性和遗传结构

覃宁^{1,2}, 张利铖¹, 肖梦娜¹, 周旭¹, 张桂蓉¹, 马徐发¹, 魏开建¹

1. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 贵州省水产研究所, 贵州 贵阳 550025

摘要: 为评估武陵山西部和神农架林区宽鳍鱮(*Zacco platypus*)群体的种质遗传多样性, 采用线粒体 Cyt *b* 序列和微卫星 DNA (SSR) 标记对 7 个宽鳍鱮群体的遗传多样性和遗传结构进行了分析。结果显示, 7 个群体 185 个 Cyt *b* 序列中共检测出 144 个变异位点和 33 个单倍型, 群体间的单倍型多样性(Hd)为 0.000~0.887, 核苷酸多样性(π)为 0.000~0.275。Cyt *b* 单倍型的 NJ 系统树和中介网络图显示, 7 个群体聚为 3 个分支(江口 1/江口 2, 神农架, 习水/赤水/务川/南川)。分子方差分析(AMOVA)显示 7 个群体之间、3 个支系之间存在显著的遗传分化。基于 11 个微卫星 DNA 位点的分析表明, 宽鳍鱮 7 个群体的平均等位基因数(N_A)为 3.66, 平均 Shannon's 信息指数(I)为 0.689, 平均观测杂合度(H_o)为 0.315, 平均期望杂合度(H_e)为 0.354, 平均多态信息含量(PIC)为 0.409。群体之间的遗传分化指数(F_{ST})变化范围为 0.060~0.547, 各群体之间存在显著遗传分化($P<0.05$)。UPGMA 系统树和 PCoA 分析显示, 7 个宽鳍鱮群体聚为 4 支, STRUCTURE 聚类分析显示宽鳍鱮 7 个群体可划分为 4 个最佳遗传组群。AMOVA 分析表明, 宽鳍鱮 7 个群体之间、4 个遗传组群之间存在显著的遗传分化。结论认为, 武陵山西部及神农架林区的野生宽鳍鱮群体整体上具有较低的遗传多样性, 且存在显著的遗传分化, 应加强对河流生态和环境的保护, 确保宽鳍鱮野生种质资源的可持续利用。

关键词: 宽鳍鱮; Cyt *b* 序列; 微卫星 DNA; 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-(2024)03-0301-15

宽鳍鱮 (*Zacco platypus*) 隶属于鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科 (Cyprinidae)、鱮属, 是一种山区溪流急流性鱼类, 分布于中国、朝鲜、韩国、日本等东亚地区^[1], 在我国主要分布在南北各大水系的支流中^[1]。据报道, 其原始祖先最早出现在第三纪^[2], 在漫长的进化历史中是否存在种以下的分化存在较大争议。目前, 国内外学者已对我国宽鳍鱮一部分自然群体的遗传多样性等进行了研究。2010 年, 梁晓旭等^[3]认为广东境内 9 个水系宽鳍鱮种群可分为 2 个分支, 种群之间出现了分化, 但未达到物种级水平。邢迎春^[4]对我国黑龙江、鸭绿江、海河、淮河、长江、珠江等东部和北部大型河流中宽鳍鱮的系统地理学进行了初步研究, 显

示不同地区的宽鳍鱮发生了较大的遗传变异。Perdices 等^[5]研究了宽鳍鱮和马口鱼 (*Opsariichthys bidens*) 的系统发育, 认为宽鳍鱮和马口鱼起源于同一祖先。武陵山区是长江上游支流和中游支流的分水岭, 河流密布, 径流量大, 水资源丰富, 主要包括沅江、乌江、澧水、清江、西水等长江支流, 水生生物及鱼类资源丰富, 分布着胭脂鱼、大鲵、细痣疣螈等国家二级水生野生保护动物以及鳊、棘胸蛙、棘腹蛙等地方重点保护水生野生动物等。神农架整个山体为大巴山脉延伸由西向东倾斜而成, 是长江中部与汉水的分水岭, 其地理条件环境独特, 形成了深潭、隙缝、宽谷、峡谷、小沟溪流等多种小生境, 生态环境优良, 水质

收稿日期: 2023-10-26; 修订日期: 2024-01-09.

基金项目: 生态环境部生物多样性调查评估项目(2019HJ2096001006).

作者简介: 覃宁(1997-), 硕士, 研究实习员, 研究方向为水产养殖. E-mail: 1617565874@qq.com

通信作者: 魏开建, 博士, 教授, 研究方向为水产种质资源与遗传育种. E-mail: kjwei@mail.hzau.edu.cn

好, 鱼类等水生生物资源丰度高、储量大, 在生物多样性评估中具有重要地位。近年来, 由于过度捕捞、水工程建设和环境污染等人类活动的干扰, 武陵山区和神农架林区许多鱼类的自然资源量和生物多样性急剧下降, 野生宽鳍鱲的种质资源也面临着较大威胁。武陵山西部地区及邻近的神农架林区是我国生物多样性保护的热点地区之一, 而该地区宽鳍鱲的研究报道较少, 未见该地区宽鳍鱲群体遗传多样性的报道。

细胞色素 *b* 基因(Cyt *b*)来源于线粒体 DNA (mtDNA), 是一种用于研究鱼类系统发育^[6]和种群遗传结构的常用分子标记^[7-11]。微卫星 DNA 序列 (microsatellite DNA) 又称为简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR), 是一种在真核生物基因组中广泛存在且随机分布的 DNA 片段^[12], 微卫星分子标记在遗传图谱构建、遗传多样性评估和系统发育分析等方面得到广泛应用^[13-17]。目前, 未见宽鳍鱲微卫星标记的开发及其在群体遗传学

中应用的报道。本研究利用 mtDNA Cyt *b* 和 SSR 作为分子标记, 对武陵山西部山区和神农架林区宽鳍鱲 7 个不同地理群体进行了系统地理学及群体遗传学分析, 分析比较了宽鳍鱲不同群体的遗传多样性和系统发育关系, 探讨了群体遗传分化与地理分布格局之间的关系, 旨在探究宽鳍鱲群体遗传多样性和遗传结构, 为该区域宽鳍鱲自然资源的保护和管理提供基础数据和理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

2019 年 8 月至 2020 年 8 月在贵州省江口县、习水县、赤水市、务川县及重庆市南川区等武陵山西部县域河流采集 6 个宽鳍鱲群体样本, 2021 年 9 月在湖北省神农架林区南河采集 1 个宽鳍鱲群体样本, 共采集宽鳍鱲 185 尾(表 1)。剪取每一个体的尾鳍组织, 95%乙醇固定后带回实验室 -20 ℃保存备用。

表 1 宽鳍鱲群体样本采集信息
Tab. 1 Sample collection information of *Zacco platypus* populations

群体 population	代码 code	样本数 sample size	河流 river	采集地 sampling location	经度 longitude	纬度 latitude
江口 1 Jiangkou 1	JK1	30	小江河(锦江支流) Xiaojiang River (tributary of Jinjiang River)	江口县桃映镇 Taoying Town, Jiangkou County	109.01905	27.883612
江口 2 Jiangkou 2	JK2	24	锦江 Jinjiang River	江口县双江镇 Shuangjiang Town, Jiangkou County	108.84853	27.699332
习水 Xishui	XS	30	习水河(赤水河支流) Xishui River (tributary of Chishui River)	习水县长沙镇 Changsha Town, Xishui County	105.98733	28.696304
赤水 Chishui	CS	30	赤水河 Chishui River	赤水市七星桥 Qixing Bridge, Chishui City	105.71981	28.596512
务川 Wuchuan	WC	13	洪渡河(乌江支流) Hongdu River (tributary of Wujiang River)	务川县都濡镇 Duru Town, Wuchuan County	107.83709	28.896614
南川 Nanchuan	NC	29	鸭江(乌江支流) Yajiang River (tributary of Wujiang River)	南川区水江镇 Shuijiang Town, Nanchuan District	107.27062	29.256569
神农架 Shennongjia	SNJ	29	南河(汉江支流) Nanhe River (tributary of Hanjiang River)	神农架林区阳日镇 Yangri Town, Shennongjia Forestry District	110.49147	31.44112

1.2 总 DNA 提取及检测

采用醋酸铵法^[18]从鳍条组织提取总 DNA, DNA 样品经 1%琼脂糖凝胶电泳检测, 采用 NanoDrop2000 紫外分光光度计测定其纯度和浓

度, -20 ℃保存备用。

1.3 线粒体 DNA Cyt *b* 序列扩增与测序

以每个个体的 DNA 为模板, 采用 Cyt *b* 通用引物^[19](L14724: 5'-GACTTGAAAAACCAACCGTTG-

3', H15915: 5'-CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC-3')进行 Cyt *b* 基因序列的 PCR 扩增。PCR 反应体系总体积 20 μ L, 包含 DNA 模板(50 ng/ μ L) 1 μ L, 上下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, Mix-Taq DNA 聚合酶 10 μ L, ddH₂O 7 μ L。PCR 扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 15 $^{\circ}$ C 保温 5 min。PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后, 送交北京擎科生物科技有限公司(武汉)进行纯化及双向测序。

1.4 微卫星 DNA 的 PCR 扩增与基因分型

本实验室基于宽鳍鱲 RAD-seq 测序数据设计并筛选出 11 对四碱基重复多态性微卫星引物(未发表), 分别合成 FAM、TAMRA、HEX 荧光标记的引物, 对宽鳍鱲 7 个群体 185 尾个体进行微卫星 DNA 的 PCR 扩增。微卫星 PCR 反应体系与上述 Cyt *b* 扩增体系一致, PCR 扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火温度(T_a)反应 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后, 送至北京擎科生物科技有限公司(武汉)进行毛细管电泳和微卫星 DNA (SSR)分型。

1.5 数据分析

mtDNA Cyt *b* 序列测序完成后, 采用 CLUSTAL X 1.81^[20]对 Cyt *b* 序列进行比对, 用 DnaSP 5.1^[21]计算序列的碱基组成、单倍型数(h)、单倍型多样性(Hd)、核苷酸多样性(π)等遗传多样性指数。采用 MEGA 5.0 构建 Cyt *b* 单倍型的邻接(NJ)系统发育树, 经 1000 次重复抽样检测各分支的可靠性。采用 PopART 1.7^[22]构建 Cyt *b* 单倍型间的中介网络图。采用 Arlequin 3.5^[23]计算群体间的成对遗传分化指数(F_{ST})并进行分子方差分析(AMOVA), 评估群体间或组群间的遗传变异和分化。采用 DnaSP 5.1 进行错配分布分析, 使用 Arlequin 3.5 进行中性检验(Tajima's D 检验和 Fu's F_s 检验)并计算偏差平方和(SSD)和粗糙指数(r), 以评估宽鳍鱲群体历史动态^[24]。采用 BY-FDR 方法^[25]对多重假设检验进行校正。

采用 GenAlEx 6.5^[26]计算每个微卫星位点以及每个群体的等位基因数(N_A)、期望杂合度(H_E)、

观测杂合度(H_O)和 Shannon's 信息指数(I)等遗传多样性指数, 使用 Cervus 3.0.3^[27]计算多态信息含量(PIC)。基于微卫星等位基因频率, 通过 Poptree2^[28]计算 Nei's 遗传距离(D_A)并构建 UPGMA 系统树, 经自展重复 1000 次检测各分支可靠性。采用 Arlequin 3.5 计算群体间的成对遗传分化指数(F_{ST})并进行分子方差分析(AMOVA), 评估群体间或组群间的遗传变异和分化。采用 GenAlEx 6.5 进行主坐标分析(PCoA), 推测群体间可能存在的遗传结构。采用 STRUCTURE 2.3^[29]中的 MCMC 方法进行聚类分析, 设置参数 $K=1\sim7$, 进行 100000 次重复 MCMC 运算, 每个 K 值重复运行 15 次, 推断宽鳍鱲每个个体可能的遗传来源。采用 BY-FDR 方法对多重假设检验进行校正。

2 结果与分析

2.1 基于线粒体 Cyt *b* 序列的宽鳍鱲群体遗传分析

2.1.1 Cyt *b* 序列变异和群体遗传多样性

对宽鳍鱲 7 个群体 185 尾个体 Cyt *b* 基因序列进行比对分析, 获得 Cyt *b* 部分序列长度为 1141 bp, 无碱基插入或缺失。各群体的 Cyt *b* 碱基含量变化不大, A、T、C、G 碱基平均含量分别为 24.4%、30.0%、28.9%、16.7%, A+T 含量(54.4%)高于 C+G 含量(45.6%), 表现出明显的 AT 偏好。在所有 Cyt *b* 序列中检测到 144 个变异位点, 包含 135 个简约信息位点和 9 个单一突变位点。

在 185 尾个体的 Cyt *b* 序列中共检测到 33 个单倍型, 每个群体具有各自的特有单倍型, 务川群体只有 1 个特有单倍型(Hap17), 其余 6 个群体具有 3~10 个单倍型。江口 1 和江口 2 群体共享 2 个单倍型(Hap1 和 Hap3), 赤水和习水群体共享 2 个单倍型(Hap9 和 Hap10)。通过计算单倍型间的 Kimura 2-parameter 遗传距离, 33 个单倍型可分为 3 种类型: 类型一为江口 1/江口 2 (JK1/JK2)群体, 包括 Hap1~6、Hap18~20 共 9 个单倍型, 类型二为神农架(SNJ)群体, 包括 Hap26~33 共 8 个单倍型, 类型三为习水/赤水/务川/南川(XS/CS/WC/NC)群体, 包括 Hap7~17、Hap21~25 共 16 个单倍型。

Cyt *b* 序列分析表明, 宽鳍鱲 7 个群体整体上呈现较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性

($Hd=0.909$, $\pi=0.0377$)(表 2)。除 WC、NC 群体的单倍型多样性($Hd=0.000\sim0.197$)很低外, 其余 5 个群体呈现出中度至高度的单倍型多样性($Hd=0.453\sim0.887$)。

2.1.2 群体的遗传结构与分化 类型一宽鳍鱮(JK1/JK2 群体)中, 9 个单倍型间的 Kimura 2-parameter 遗传距离范围在 0.0008~0.0019 之间, 类型二宽鳍鱮(SNJ 群体)中, 8 个单倍型的遗传距离范围在 0.0004~0.0018 之间, 类型三宽鳍鱮(XS/CS/WC/NC 群体)中, 16 个单倍型的遗传距离范围为 0.0000~0.0010, 类型一与类型二、类型一与类型三宽鳍鱮单倍型之间的遗传距离范围分别为 0.0033~0.0035 和 0.0006~0.0033, 类型二与类型三宽鳍鱮单倍型之间的遗传距离范围为 0.0006~0.0035 (表 3), 宽鳍鱮群体之间存在遗传差异。

表 2 基于 Cyt *b* 序列的宽鳍鱮 7 个群体的遗传多样性指数

Tab. 2 Genetic diversity indices for seven populations of *Zacco platypus* based on Cyt *b* sequences

群体 population	<i>h</i>	<i>S</i>	Hd	π	<i>K</i>
JK1	6	16	0.543	0.2750	3.136
JK2	5	88	0.486	0.0215	24.496
XS	9	16	0.853	0.0039	4.467
CS	3	2	0.453	0.0004	0.471
WC	1	0	0.000	0.0000	0.000
NC	3	2	0.197	0.0002	0.202
SNJ	10	17	0.887	0.0045	5.172
整体 overall	33	144	0.909	0.0337	38.496

注: *h*, 单倍型数; *S*, 变异位点数; Hd, 单倍型多样性; π , 核苷酸多样性; *K*, 平均核苷酸差异数; JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。

Note: *h*, number of haplotypes; *S*, number of segregating sites; Hd, haplotype diversity; π , nucleotide diversity; *K*, average number of nucleotide differences; JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia.

表 3 宽鳍鱮 3 类 Cyt *b* 单倍型间 Kimura 2-parameter 遗传距离范围

Tab. 3 Range of Kimura 2-parameter genetic distance between three Cyt *b* haplotypes of *Zacco platypus*

类型 type	类型一 type 1	类型二 type 2	类型三 type 3
Type 1 JK1/JK2 (9 haplotypes)	0.0008~0.0019		
Type 2 SNJ (8 haplotypes)	0.0033~0.0035	0.0004~0.0018	
Type 3 XS/CS/WC/NC (16 haplotypes)	0.0006~0.0033	0.0006~0.0035	0.0000~0.0010

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。

Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia.

以马口鱼、长吻鱮(*Raiamas guttatus*)作为外类群, 构建宽鳍鱮 7 个群体 Cyt *b* 单倍型的 NJ 系统树(图 1)。宽鳍鱮 7 个群体 Cyt *b* 单倍型聚为明显的 3 个分支, 分支间的遗传距离小于 3%, 参照 DNA 条形码广泛采用的 3%阈值的物种识别标准^[30], 这 3 个分支代表相同的物种, 群体间存在着基因交流。其中第一支由 JK1、JK2 两个群体的特有单倍型组成; 第二支由 SNJ 群体的单倍型组成; 第三支主要由 XS、CS、WC、NC 4 个群体的单倍型组成, 该支又分为 3 个亚分支, 其中 2 个亚分支中含有 2~3 个群体的单倍型。系统发育分析表明, XS、CS、WC、NC 4 个群体的亲缘关系较近, JK1、JK2 两个群体与第二支和第三支的 5 个群体亲缘关系较远, 呈现出与水系流域相关的地理格局分布。

宽鳍鱮 7 个群体的 Cyt *b* 单倍型中介网络图呈现出与 NJ 系统树相似的群体单倍型结构, 包含 JK1/JK2、SNJ、XS/CS/WC/NC 3 个明显的支系(图 2)。

从表 4 可见, 宽鳍鱮 7 个群体之间的遗传分数指数(F_{ST})变化范围在 0.1200 (JK1/JK2)~0.9819 (JK1/NC)之间, 除江口 1 与江口 2 两个群体间的 F_{ST} 较小且无显著遗传分化外, 宽鳍鱮其余群体之间 F_{ST} 值都较大且存在显著遗传分化($P<0.05$)。

根据 Cyt *b* 单倍型系统树和中介网络图分析结果, 将宽鳍鱮 7 个群体按照一个组群(7 个群体)、两个组群(JK1/JK2 组群, XS/CS/WC/NC/SNJ 组群)、3 个组群(JK1/JK2 组群, SNJ 组群, XS/CS/WC/NC 组群)分别进行分子方差分析(AMOVA)(表 5)。基于一个组群的 AMOVA 表明, 遗

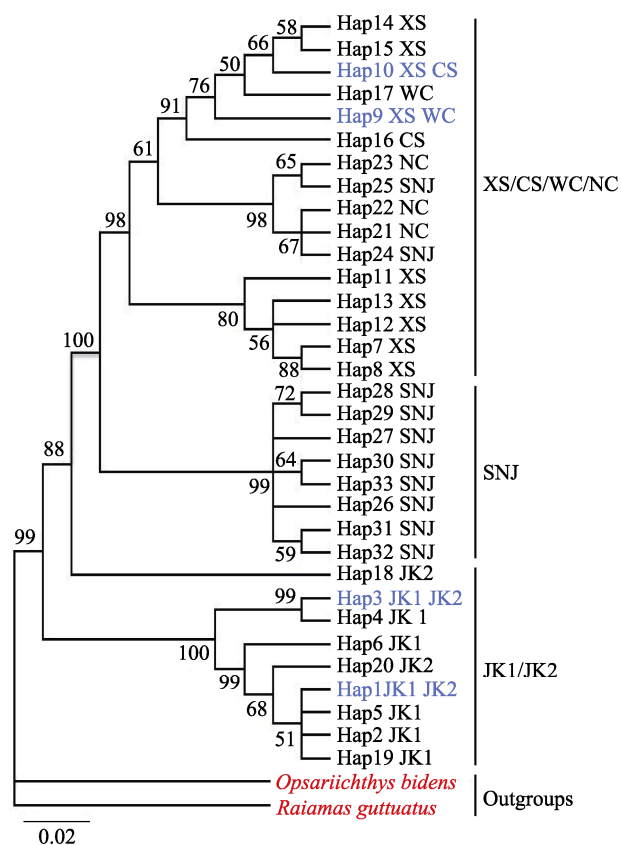


图1 宽鳍鳊7个群体 Cyt *b* 单倍型的 NJ 系统发育树 JK1, 江口1; JK2, 江口2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。分支上的数字表示自展支持率(>50%), 蓝色字体表示共享单倍型, 红色字体表示外类群。

Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree of Cyt *b* haplotypes from seven *Zacco platypus* populations

JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia; The numbers at the branches represent bootstrap support values >50% obtained in the NJ analyses, respectively. Blue fonts indicate shared haplotypes, red fonts indicate outgroups.

传变异主要来源于群体间(87.93%), 7个群体之间遗传分化极显著($F_{ST}=0.879$, $P<0.001$)。基于两个组群的 AMOVA 显示, 82.39%遗传变异来源于 JK1/JK2 组群与 XS/CS/WC/NC/SNJ 组群之间, 两个组群间存在显著遗传分化($F_{CT}=0.824$, $P<0.05$); 另外, 组群内群体之间($F_{SC}=0.628$, $P<0.001$)和群体内个体间($F_{ST}=0.934$, $P<0.001$)也存在显著遗传变异。基于3个组群的 AMOVA 表明, 86.54%的遗传变异来源于 JK1/JK2 组群、SNJ 组群、XS/CS/WC/NC 组群之间, 3个组群间存在显著遗传分化($F_{CT}=0.865$, $P<0.05$); 此外, 组群内群体之间($F_{SC}=0.382$, $P<0.001$)和群体内个体间($F_{ST}=$

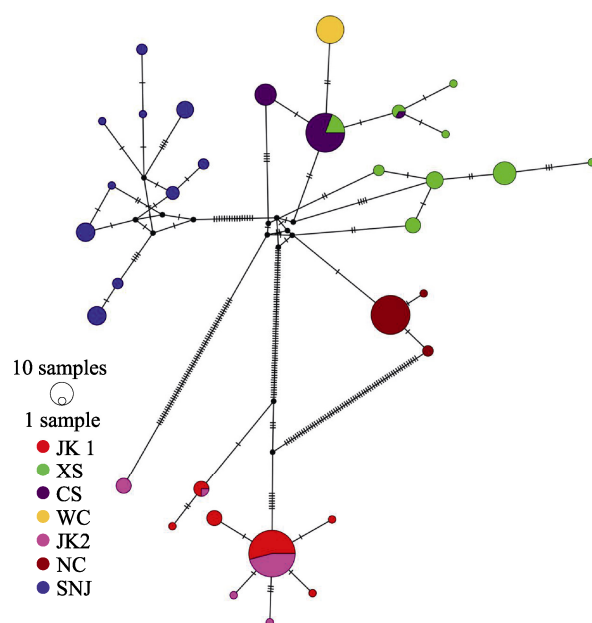


图2 宽鳍鳊7个群体 Cyt *b* 单倍型中介网络图

JK1, 江口1; JK2, 江口2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。每个彩色圆代表一种单倍型, 圆的大小表示该单倍型的个体数。不同颜色代表不同群体, 两个圆之间连线上的短横线表示从一个单倍型变为另一个单倍型需要经历的碱基替换个数。每个黑色圆点代表没有检测到的中间单倍型。

Fig. 2 Median-Joining network of Cyt *b* haplotypes from seven populations of *Zacco platypus*

JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia. Each colored circle represents a haplotype and its size denotes the number of observed individuals in that haplotype. Different colors represent different populations, and the short line on the connecting line between two circles shows base substitution amount which are needed to switch from one haplotype to another. Every black dot represents an intermediate haplotype not found.

0.917, $P<0.001$)也存在显著遗传变异。因此, 宽鳍鳊群体存在显著的遗传结构, 基于 Cyt *b* 序列遗传变异可以划分为 JK1/JK2 组群、SNJ 组群、XS/CS/WC/NC 组群3个显著分化的遗传谱系。

2.1.3 群体历史动态分析 基于 Cyt *b* 序列的错配分布拟合度检验显示(表6), 除 JK2 群体的 SSD、SNJ 群体的 SSD 和 r 显著($P<0.05$)外, 其他5个群体的 SSD 和 r 不显著, 表明这5个群体符合群体扩张模型。单个群体的错配分布形状为单峰分布, 7个群体整体为多峰分布。基于 Cyt *b* 序列的中性检验显示(表6), 7个群体的 Tajima's D 值均不显著, 仅有 NC 群体的 Fu's F_s 值为显著的负

表 4 基于 Cyt b 序列的宽鳍鱮 7 个群体间遗传分化指数 F_{ST}
Tab. 4 Pairwise F_{ST} among seven populations of *Zacco platypus* based on Cyt b sequences

群体 population	JK1	JK2	XS	CS	WC	NC	SNJ
江口 1 JK1	—						
江口 2 JK2	0.1200	—					
习水 XS	0.9599*	0.8234*	—				
赤水 CS	0.9803*	0.8426*	0.5613*	—			
务川 WC	0.9768*	0.7920*	0.6125*	0.8612*	—		
南川 NC	0.9819*	0.8436*	0.6816*	0.9381*	0.9805*	—	
神农架 SNJ	0.9608*	0.8339*	0.8275*	0.8931*	0.8741*	0.8908*	—

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架. *表示 FDR 校正后 F_{ST} 值显著($P<0.05$).
Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia. * indicates F_{ST} values are significant after FDR correction ($P<0.05$).

表 5 基于 Cyt b 序列的宽鳍鱮群体分子方差分析(AMOVA)
Tab. 5 Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of *Zacco platypus* populations based on Cyt b sequences

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	变异百分比/% percentage of variation	固定指数 fixation Index
一个组群(7 个群体) one group (7 populations)					
群体间 among populations	6	3067.63	19.40	87.93	$F_{ST}=0.879^{**}$
群体内 within populations	178	474.02	2.66	12.07	
两个组群(JK1/JK2 组群, XS/CS/WC/NC/SNJ 组群) two groups (JK1/JK2 group, XS/CS/WC/NC/SNJ group)					
组群间 between groups	1	3199.85	39.88	82.39	$F_{CT}=0.824^*$
组群内群体间 among populations within groups	5	710.34	5.35	11.05	$F_{SC}=0.628^{**}$
群体内 within populations	178	565.01	3.17	6.56	$F_{ST}=0.934^{**}$
三个组群(JK1/JK2 组群, SNJ 组群, XS/CS/WC/NC 组群) three groups (JK1/JK2 group, SNJ group, XS/CS/WC/NC group)					
组群间 among groups	2	3699.11	33.03	86.54	$F_{CT}=0.865^*$
组群内群体间 among populations within groups	4	211.08	1.96	5.14	$F_{SC}=0.382^{**}$
群体内 within populations	178	565.01	3.17	8.32	$F_{ST}=0.917^{**}$

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架; FDR 校正后显著的值以星号表示(* $P<0.05$, ** $P<0.01$).
Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia. Significant values are indicated by asterisks after FDR correction (* $P<0.05$, ** $P<0.01$).

表 6 基于 Cyt b 序列的宽鳍鱮 7 个群体间的错配分布和中性检验结果
Tab. 6 Results of neutrality test and mismatch distribution for seven populations of *Zacco platypus* based on Cyt b sequence

群体 population	错配分布拟合度检验 goodness-of-fit test for mismatch distribution		错配分布形状 mismatch distribution shape	中性检验 neutrality test	
	SSD	r		D	F_s
JK1	0.037	0.125	unimodal	-0.759	1.920
JK2	0.309*	0.339	unimodal	0.156	19.294
XS	0.027	0.042	unimodal	0.360	0.733
CS	0.018	0.186	unimodal	-0.136	-0.053
WC	0.000	0.000	—	0.000	0.000
NC	0.002	0.408	unimodal	-1.249	-1.628*
SNJ	0.031*	0.071*	unimodal	0.671	0.458
整体 Overall	0.060	0.167	multimodal	-0.137	2.961*

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架. *表示检验结果显著($P<0.05$); multimodal 表示错配分布形状为多峰分布; unimodal 表示错配分布为单峰分布.
Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia; * indicates a significant result ($P<0.05$); unimodal indicates the shape of mismatch distribution is unimodal; multimodal indicates the shape of mismatch distribution is multimodal.

值, 暗示 NC 群体可能经历过群体扩张。基于 Cyt *b* 序列的错配分布图显示, XS/CS/WC/NC 组群、SNJ 组群、JK1/JK2 组群的错配分布均为多峰分

布, 将 7 个群体合为一个组群后的错配分布也为多峰分布(图 3), 表明这 3 个遗传谱系及 7 个群体整体上均没有经历过近期的群体扩张。

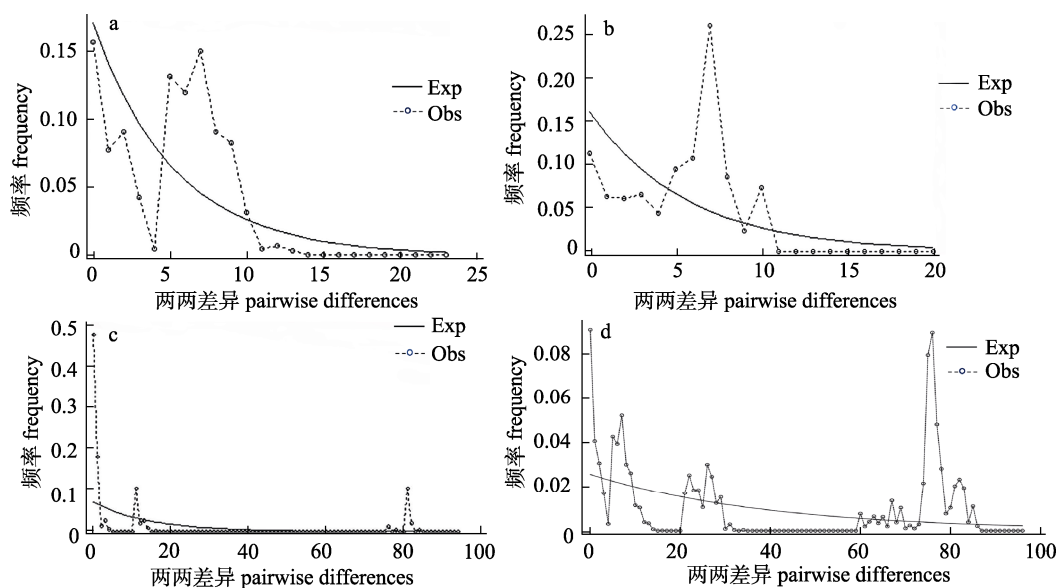


图 3 基于 Cyt *b* 序列的宽鳍鱲群体的错配分布

a. 务川、赤水、习水和南川谱系. b. 神农架谱系. c. 江口 1、江口 2 谱系. d. 武陵山西部山区和神农架林区谱系.

虚线代表观测分布, 实线代表恒定群体模型下的理论期望分布.

Fig. 3 Mismatch distributions of *Zacco platypus* populations based on Cyt *b* sequences

a. The Wuchuan, Chishui, Xishui and Nanchuan pedigree. b. The Shennongjia pedigree. c. The Jiangkou1 and Jiangkou2 pedigree. d. Pedigree of the western Wuling mountain and the Shennongjia Forestry District. Dashed line indicates observed distribution; solid line indicates theoretical expected distribution under a constant population size model.

2.2 基于微卫星 DNA 的宽鳍鱲群体遗传分析

2.2.1 群体的遗传多样性 基于筛选出的 11 个微卫星 DNA 位点的引物对宽鳍鱲 7 个群体 185 尾个体进行 PCR 扩增和基因分型, 各微卫星位点的平均等位基因数(N_A)、平均有效等位基因数(N_E)、Shannon's 信息指数(I)、观测杂合度(H_O)、期望杂合度(H_E)、多态信息含量(PIC)等遗传多样性指数的变化范围分别为 1.43~9.29、1.20~4.66、0.171~1.740、0.104~0.682、0.111~0.762 和 0.071~0.620, 大多数位点的多态性较好(表 7)。对宽鳍鱲 7 个群体的遗传多样性分析显示, 所有群体的平均等位基因数(N_A)为 3.66, 平均有效等位基因数(N_E)为 2.07, 平均 Shannon's 信息指数(I)为 0.689, 平均观测杂合度(H_O)为 0.315, 平均期望杂合度(H_E)为 0.354, 平均多态信息含量(PIC)为 0.409 (表 8)。其中, JK1、JK2 两个群体的 N_A 、 N_E 、 I 、 H_O 和 H_E 值相对较高, 其遗传多样性高于其他群

体; WC、NC、SNJ 3 个群体的 PIC 值相对较高, 其等位基因多态性高于其他群体。

2.2.2 群体的遗传结构与分化 宽鳍鱲 7 个群体之间遗传分化指数(F_{ST})的变化范围为 0.060 (JK1/JK2)~0.547 (XS/WC), 各群体之间均存在显著的遗传分化($P < 0.05$)(表 9)。

基于微卫星等位基因频率计算 Nei's 遗传距离(D_A)所构建的 UPGMA 系统树(图 4a)显示, 7 个宽鳍鱲群体聚为两大分支: JK1/JK2 两个群体先聚为第一支; 其余 5 个群体聚为第二支, 其中, WC/NC 两个群体聚为一个亚分支, XS/CS/SNJ 3 个群体聚为另一个亚分支但支持率较低(<50%); 共 3 个分支。基于 7 个群体个体间和群体间遗传距离的主坐标分析(PCoA)结果显示, 坐标轴 1 可以将 7 个群体划分为 JK1/JK2 组群、XS/CS/SNJ 组群、WC/NC 组群 3 个组群, 坐标轴 2 又将 XS 群体单独划分一个组群(图 4b 和图 4c), 因此,

表 7 宽鳍鱮 11 个四核苷酸重复微卫星位点的特征

Tab. 7 Characteristics of 14 tetranucleotide microsatellite loci isolated from <i>Zacco platypus</i>									
位点 locus	重复单元 repeat motif	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	$T_a/^{\circ}\text{C}$	N_A	N_E	I	H_O	H_E	PIC
<i>Zpla01</i>	(CACT) ₅	F: TATTTGCTCTCCTCCACCC R: ATTGTCGTCTGGGTTTAGCG	58	3.29	1.93	0.748	0.468	0.438	0.071
<i>Zpla02</i>	(GACT) ₅	F: CCGACCCATTCTAGACCCG R: GAGGAGCTGCCGATTATCG	58	1.86	1.51	0.356	0.176	0.211	0.449
<i>Zpla03</i>	(AAAG) ₅	F: CGGCTGCCAGTTTACTAACC R: GCCAAACACGCTTTACTCCG	58	2.29	1.38	0.356	0.160	0.195	0.132
<i>Zpla04</i>	(TAAA) ₅	F: CATGCGAGGGATATGCAAGC R: GCATGTGTCACTGCTGAAGC	58	1.43	1.20	0.171	0.142	0.111	0.071
<i>Zpla05</i>	(AAAT) ₆	F: CTTGGGGGCTGAAGAGATGG R: TTCCTTCTTGACAGCACCGG	58	3.00	1.40	0.459	0.177	0.244	0.226
<i>Zpla06</i>	(AAAC) ₆	F: CATGCACAACCTGAGTCGTCTG R: GCAATTTCTCACTTGCGGG	58	2.14	1.36	0.335	0.104	0.191	0.132
<i>Zpla09</i>	(TTTG) ₅	F: GCTGTGATTACCTTGCAGC R: TGATTGGCTGAGTGGCTTCC	58	4.43	2.69	0.805	0.137	0.370	0.428
<i>Zpla11</i>	(TCCA) ₇	F: TTCCTTCCGTGCATCCATCC R: CTGAAACTGCAGGGTTGTGC	58	3.86	2.57	0.963	0.682	0.545	0.292
<i>Zpla12</i>	(TTTG) ₅	F: GCTGTGATTACCTTGCAGC R: TGATTGGCTGAGTGGCTTCC	58	3.14	1.54	0.567	0.342	0.316	0.531
<i>Zpla13</i>	(TCAA) ₇	F: TCTGGAACAAACACTTGCC R: TGAGTTTGTGGCAGACAGC	58	5.57	2.52	1.083	0.469	0.516	0.468
<i>Zpla14</i>	(TCCA) ₇	F: TTCCTTCCGTGCATCCATCC R: CTGAAACTGCAGGGTTGTGC	58	9.29	4.66	1.740	0.607	0.762	0.620
平均 mean				3.66	2.07	0.689	0.315	0.354	0.244

注: T_a , 退火温度; N_A , 等位基因数; H_E , 期望杂合度; H_O , 观测杂合度; I , Shannon's 信息指数; PIC, 多态信息含量。
Note: T_a , annealing temperature; N_A , number of alleles; H_E , expected heterozygosity; H_O , observed heterozygosity; I , Shannon's information index; PIC, polymorphic information content.

表 8 基于 11 个微卫星位点的宽鳍鱮 7 个
群体遗传多样性指数

Tab. 8 Genetic diversity indices for seven populations of <i>Zacco platypus</i> based on 11 microsatellite loci						
群体 population	N_A	N_E	I	H_O	H_E	PIC
JK1	4.64	2.73	0.953	0.409	0.479	0.436
JK2	4.36	2.62	0.994	0.398	0.518	0.212
XS	4.36	2.08	0.719	0.142	0.352	0.033
CS	2.91	1.65	0.514	0.288	0.275	0.093
WC	2.64	1.59	0.521	0.378	0.290	0.550
NC	2.91	1.86	0.568	0.354	0.312	0.844
SNJ	3.82	1.96	0.556	0.235	0.254	0.700
平均值 mean	3.66	2.07	0.689	0.315	0.354	0.409

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架; N_A , 等位基因数; N_E , 有效等位基因数; I , Shannon's 信息指数; H_O , 观测杂合度; H_E , 期望杂合度; PIC, 多态信息含量。
Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia; N_A , number of alleles; N_E , number of effective alleles; I , Shannon's information index; H_O , observed heterozygosity; H_E , expected heterozygosity; PIC, polymorphic information content.

表 9 基于 11 个微卫星位点的宽鳍鱮 7 个
群体间的遗传分化指数 F_{ST}

Tab. 9 Pairwise F_{ST} between seven populations of <i>Zacco platypus</i> based on 11 microsatellite loci							
群体 population	JK1	JK2	XS	CS	WC	NC	SNJ
JK1	—						
JK2	0.060*	—					
XS	0.453*	0.391*	—				
CS	0.469*	0.355*	0.440*	—			
WC	0.521*	0.457*	0.547*	0.368*	—		
NC	0.524*	0.476*	0.504*	0.515*	0.430*	—	
SNJ	0.447*	0.332*	0.493*	0.339*	0.529*	0.533*	—

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架. *表示两群体间存在显著遗传差异 ($P<0.05$).
Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia. * represents significant genetic differences between two populations ($P<0.05$).

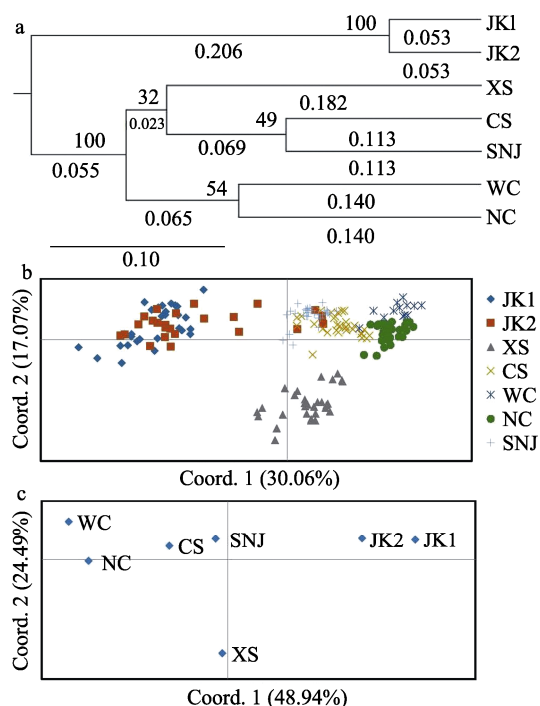


图4 基于11个微卫星位点的宽鳍鱮7个群体间的遗传关系

- a. 基于群体间 Nei's 遗传距离 (D_A) 的 UPGMA 聚类树。分支上的数字表示自展支持率, 分支下的数字表示支长。
b. 基于个体间遗传距离的 PCoA 分析。c. 基于群体间遗传距离的 PCoA 分析。JK1, 江口1; JK2, 江口2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。

Fig. 4 Genetic relationship among seven populations of *Zacco platypus* based on 11 microsatellite loci

- a. UPGMA tree based on Nei's genetic distance (D_A). Numbers above the branches represent bootstrap support values, while values below the branches indicate the branch lengths.
b. Principal coordinate analysis (PCoA) based on pairwise genetic distances between individuals. c. PCoA based on pairwise genetic distances between populations. JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia.

PCoA 将7个群体划分为 JK1/JK2 组群、XS 组群、CS/SNJ 组群、WC/NC 组群共4个组群, 与 UPGMA 聚类结果相近。

根据上述分析结果, 将宽鳍鱮7个群体按照一个组群(7个群体)、两个组群(JK1/JK2 组群, XS/CS/WC/NC/SNJ 组群)、3个组群(JK1/JK2 组群, XS/CS/SNJ 组群, WC/NC 组群)、4个组群(JK1/JK2 组群, XS 组群, CS/SNJ 组群, WC/NC 组群)分别进行分子方差分析(AMOVA)(表10)。基于一个组群的 AMOVA 显示, 45.91%的遗传变异来源于群体间, 整体上7个群体之间遗传分化极显

著($F_{ST}=0.459$, $P<0.001$)。基于两个组群的 AMOVA 结果显示, 17.84%的遗传变异源于两个组群间($F_{CT}=0.178$, $P<0.05$), 31.74%的遗传变异源于组群内群体间($F_{SC}=0.386$, $P<0.001$), 50.42%的遗传变异源于群体内个体间($F_{ST}=0.496$, $P<0.001$), 因此, JK1/JK2 组群、XS/CS/WC/NC/SNJ 组群两个组群之间存在显著遗传分化($P<0.05$), 组群内群体之间存在显著遗传分化($P<0.01$)。与此相似, 基于3个组群或4个组群的 AMOVA 显示, 源于组群间的遗传变异逐渐增大(分别为21.53%和28.42%)、遗传分化增加(F_{CT} 分别为0.215和0.284, $P<0.01$), 3个或4个组群之间、组群内群体之间都存在极显著遗传分化($P<0.01$)(表9)。

采用 STRUCTURE 进行聚类分析表明, 宽鳍鱮7个群体的最佳遗传分组数为 $K=4$ (图5a)。分别构建 $K=3, 4, 5$ 的 STRUCTURE 聚类图(图5b)。 $K=3$ 时, JK1/JK2 两个群体为一个遗传谱系, WC/NC 群体大部分个体以及 XS 群体少部分个体组成一个遗传谱系, CS/SNJ 群体以及 XS 群体大部分个体组成一个遗传谱系。 $K=4$ 时, JK1/JK2 两个群体、XS 群体、CS/SNJ 两个群体、WC/NC 两个群体分别组成4个遗传谱系。 $K=5$ 时, 宽鳍鱮群体划分为 JK1/JK2、XS、CS/WC、NC、SNJ 等5个遗传谱系。遗传谱系之间存在不同程度的基因交流。

3 讨论

3.1 宽鳍鱮群体的遗传多样性

在生物进化过程中, 遗传多样性是生物生存和发展的重要基础。如果一个物种或种群具有较高遗传多样性, 则该物种或种群的遗传变异就越丰富, 其适应环境的能力更强, 在长期进化过程中种群数量和生存空间也越大^[31]。研究表明, 物种遗传变异的大小与其进化的速度成正比^[32], 因此, 开展遗传多样性研究可以揭示物种或种群的遗传变异现状, 了解一个物种或种群的进化历史, 为评估其进化潜力和未来发展提供重要信息^[31]。

本研究基于 mtDNA Cyt b 序列对宽鳍鱮7个群体的遗传多样性进行了评估, 结果表明宽鳍鱮7个群体整体上呈现较高的单倍型多样性($Hd=0.909$)和较低的核苷酸多样性($\pi=0.0337$), 但不同

表 10 基于 11 个微卫星位点的宽鳍鱮群体分子方差分析(AMOVA)

Tab. 10 Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of *Zacco platypus* populations based on 11 microsatellite loci

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	变异百分比/% percentage of variation	固定指数 fixation index
一个组群(7 个群体) one group (7 populations)					
群体间 among populations	6	556.972	1.73	45.91	$F_{ST}=0.459^{**}$
群体内 Within population	363	740.725	2.04	54.09	—
两个组群(JK1/JK2 组群, XS/CS/WC/NC/SNJ 组群) two groups (JK1/JK2 group, XS/CS/WC/NC/SNJ group)					
组群间 between groups	1	178.906	0.71	17.84	$F_{CT}=0.178^{*}$
组群内群体间 among populations within groups	5	335.859	1.26	31.74	$F_{SC}=0.386^{**}$
群体内 within population	363	723.808	1.99	50.42	$F_{ST}=0.496^{**}$
三个组群(JK1/JK2 组群, XS/CS/SNJ 组群, WC/NC 组群) three groups (JK1/JK2 group, XS/CS/SNJ group, WC/NC group)					
组群间 among groups	2	301.004	0.82	21.53	$F_{CT}=0.215^{**}$
组群内群体间 among populations within groups	4	213.760	0.99	26.03	$F_{SC}=0.332^{**}$
群体内 within population	363	723.808	1.99	52.44	$F_{ST}=0.476^{**}$
四个组群(JK1/JK2 组群, CS/SNJ 组群, XS 组群, WC/NC 组群) four groups (JK1/JK2 group, CS/SNJ group, XS group, WC/NC group)					
组群间 among groups	3	407.980	1.06	28.42	$F_{CT}=0.284^{**}$
组群内群体间 among populations within groups	3	106.785	0.68	18.20	$F_{SC}=0.254^{**}$
群体内 within population	363	723.808	1.99	53.37	$F_{ST}=0.466^{**}$

注: JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。FDR 校正后显著的值以星号表示(* $P<0.05$, ** $P<0.01$)。

Note: JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia. Significant values are indicated by asterisks after FDR correction (* $P<0.05$, ** $P<0.01$).

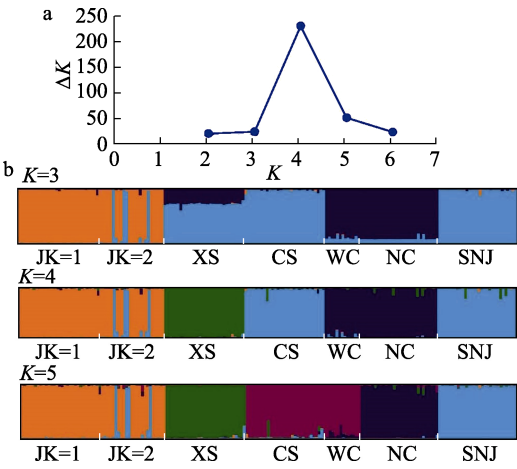


图 5 基于 11 个微卫星位点的宽鳍鱮 7 个群体
Structure 聚类分析

a. STRUCTURE 2.3 分析中最佳 K 值推断。b. STRUCTURE 聚类图($K=3, 4, 5$)。每种颜色代表一个遗传组群。JK1, 江口 1; JK2, 江口 2; XS, 习水; CS, 赤水; WC, 务川; NC, 南川; SNJ, 神农架。

Fig. 5 Structure cluster analyses of seven populations of *Zacco platypus* based on 11 microsatellite loci

a. Inference of best K in STRUCTURE 2.3. b. Histogram of the assignment test using STRUCTURE 2.3 ($K=3, 4, 5$). Each color corresponds to a genetic cluster; JK1, Jiangkou1; JK2, Jiangkou2; XS, Xishui; CS, Chishui; WC, Wuchuan; NC, Nanchuan; SNJ, Shennongjia.

群体的遗传多样性大小差异较大, 其中务川、南川群体的遗传多样性很低($Hd=0.000\sim0.197$), 江口 1、江口 2、赤水群体的遗传多样性中等($Hd=0.453\sim0.543$), 仅习水、神农架群体的遗传多样性较高($Hd=0.853\sim0.887$)。在前人对宽鳍鱮的研究中, 海河宽鳍鱮群体遗传多样性较低($Hd=0.33333$, $\pi=0.00053$)^[2], 广东 9 条河流宽鳍鱮群体的整体遗传多样性较高($Hd=0.908$, $\pi=0.01961$)^[3], 而长江水系宽鳍鱮遗传多样性不高($Hd=0.7531$, $\pi=0.0032$)^[33], 这表明不同水系或流域中宽鳍鱮群体的遗传多样性存在较大差异。本研究中习水、神农架两个宽鳍鱮群体的遗传多样性水平与广东 9 条河流宽鳍鱮群体的遗传多样性相近^[3], 略高于长江水系宽鳍鱮遗传多样性^[33]。Grant 等^[34]基于群体 mtDNA 单倍型多样性(Hd)和核苷酸多样性(π)的相关研究结果, 以 $Hd=0.5$ 和 $\pi=0.005$ 为阈值, 将群体大致划分为 4 类群体历史事件模式。按此分类标准, 本研究中务川、南川和赤水 3 个群体的遗传多样性表现为模式 I ($Hd<0.5$ 且 $\pi<0.005$), 3 个群体的单倍型少、遗传多样性低, 推测群体可能经历过瓶

颈效应或奠基者效应; 习水、神农架两个群体的遗传多样性表现为模式 II ($H_d > 0.5$ 且 $\pi < 0.005$), 两个群体 H_d 较高, 而 π 较低, 推测群体经历过瓶颈效应, 有可能发生群体扩张; 江口 2 群体的遗传多样性表现为模式 III ($H_d < 0.5$ 且 $\pi > 0.005$), 群体单倍型多样性较低, 推测群体可能由隔离产生的高度分化的单倍型构成, 且隔离样本量较小, 随后再次连接在一起; 江口 1 群体的遗传多样性表现为模式 IV ($H_d > 0.5$ 且 $\pi > 0.005$), 推测群体可能规模大并且在历史上较稳定^[34]。

在微卫星 DNA (SSR) 分析中, 通常采用等位基因数(N_A)、杂合度(H_O 和 H_E)等评估群体的遗传多样性。其中, SSR 的等位基因数(N_A)反映了物种在其生活区域的变异程度, 是研究遗传变异度的基础^[35]。彭敏燕^[36]基于 SSR 标记评估了翘嘴鲌 3 个群体的遗传多样性, 3 个群体具有较多的等位基因数(N_A 分别为 119, 120 和 132), 表明其遗传多样性水平较高。在本研究中, 宽鳍鱲 7 个群体在 11 个 SSR 位点的平均等位基因数较小($N_A = 3.66$), 每个群体的等位基因数 N_A 在 29~51 之间(平均 40.29), N_A 数量偏低, 反映 7 个宽鳍鱲群体的遗传多样性较低。杂合度(H_O 和 H_E)即基因多样性, 不仅能反映群体在多个位点的遗传变异, 而且其检测可以不受样本数的影响, 因此, 杂合度是评价群体遗传变异水平的合适参数^[37]。方荣^[38]利用 SNP 标记分析了翘嘴鲌不同群体遗传多态性, 其群体杂合度为 0.193~0.395, 表明遗传多样性水平较低。本研究中, 宽鳍鱲 7 个群体的观测杂合度(H_O)为 0.142~0.409, H_O 平均值为 0.315, 杂合度水平较低, 表明宽鳍鱲 7 个群体的遗传多样性较低。与前述 Cyt *b* 序列估算的宽鳍鱲 7 个群体单倍型多样性(H_d)大小次序相比较, SSR 标记估算的 7 个群体观测杂合度(H_O)大小次序与之并不完全一致, 其中, 习水、神农架群体的遗传多样性反而最低($H_O = 0.142, 0.235$), 而江口 1、江口 2 群体的遗传多样性则高于其他群体($H_O = 0.409, 0.398$), 务川、南川群体的遗传多样性也并非最低。基于 mtDNA 序列与 SSR 标记的宽鳍鱲群体遗传多样性大小的差异与两种标记的遗传进化特征有关, mtDNA 序列在进化上较保守, 而核基因组的 SSR 变异较

快。总体上, 武陵山西部及神农架林区河流中 7 个宽鳍鱲群体的遗传多样性较低, 这可能与宽鳍鱲的生境及种群资源受到人类活动的影响有关。近年来, 由于环境污染、水利工程建设、过度捕捞等人类活动的干扰, 武陵山区及神农架林区河流生境遭到不同程度的破坏, 鱼类多样性下降、资源量不断减少^[32], 笔者在调查采样时发现不同水系宽鳍鱲的种群数量急剧下降, 因而其自然资源和遗传多样性受到了明显影响。

3.2 宽鳍鱲群体的遗传结构

通过对群体遗传结构变异的分析, 可以评估群体对环境变化的适应性和生存进化潜力, 遗传分化指数(F_{ST})是评价群体遗传分化状况的重要指标。本研究中, mtDNA Cyt *b* 序列分析表明, 宽鳍鱲 7 个群体间的成对 F_{ST} 值都较大(0.1200~0.9819), 除 JK1 与 JK2 两个群体间无显著分化外, 其余各群体之间遗传分化显著($P < 0.05$), 说明宽鳍鱲群体间存在广泛的遗传分化。Cyt *b* 序列单倍型系统发育分析和中介网络图将宽鳍鱲 7 个群体聚为 JK1/JK2、SNJ、XS/CS/WC/NC 3 个组群, 群体间的遗传关系与它们的地理分布基本一致, 因此, 宽鳍鱲 7 个群体存在明显的遗传结构。基于 Cyt *b* 基因序列单倍型之间的遗传距离, 7 个宽鳍鱲群体 3 个分支的遗传差异均小于 3%, 参考 DNA 条形码的标准, 7 个宽鳍鱲群体 3 个分支之间的遗传差异未达到物种的水平, 推测 7 个宽鳍鱲群体不存在隐存种或亚种。AMOVA 分析显示, 无论是将宽鳍鱲群体分为一个组群、两个组群或 3 个组群, 宽鳍鱲的遗传变异主要来源于群体间或组群间(变异占比分别高达 87.93%、82.39%和 86.54%), 因此, 宽鳍鱲 7 个群体间、3 个组群间都存在显著的遗传分化($P < 0.01$ 或 0.05)。

基于 SSR 标记的分析表明, 宽鳍鱲 7 个群体之间成对遗传分化指数 F_{ST} (0.060~0.547) 小于前述基于 Cyt *b* 序列的群体间 F_{ST} 值, 但 7 个群体之间都存在显著遗传分化($P < 0.05$)。依据 Wright^[39]的划分标准, 除江口 1 和江口 2 两个群体为中度分化外, 其余群体之间皆达到高度分化水平($F_{ST} > 0.25$)。这可能与群体分布于不同水系有关。宽鳍鱲群体间 Nei's 遗传距离的 UPGMA 系统树将

7 个群体聚为江口 1/江口 2 (JK1/JK2)、务川/南川(WC/NC)、习水/赤水/神农架(XS/CS/SNJ) 3 个分支,与 Cyt *b* 序列聚类结果略有不同,群体间的遗传关系与其地理分布基本一致。在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)群体的遗传结构研究中,基于群体间遗传距离的 UPGMA 系统树显示来自相同水系的地理群体聚为一个组群^[40],证明遗传距离与群体的地理分布相一致。在本研究中,主坐标分析(PCoA)将宽鳍鱲 7 个群体划分为 JK1/JK2 组群、XS 组群、CS/SNJ 组群、WC/NC 组群共 4 个组群,与 SSR 标记的 UPGMA 聚类结果相近,XS 群体被单独划分为一个组群。AMOVA 分析表明,宽鳍鱲 7 群体间存在极显著遗传分化($P<0.01$);无论是将宽鳍鱲群体划分为两个、3 个或 4 个组群,组群间都存在显著遗传分化($P<0.05$),组群内群体间都存在极显著遗传分化($P<0.01$)。STRUCTURE 聚类分析结果与 PCoA 结果一致,宽鳍鱲 7 个群体的最佳分组数为 4 个组群,STRUCTURE 聚类图可直观显示群体之间的遗传关系,组群内群体之间的遗传距离更小,亲缘关系更近^[41]。

宽鳍鱲的务川、南川群体来自于乌江的不同支流,同属乌江水系,因此,务川、南川群体的遗传关系较近。习水、赤水群体分别来自于习水河、赤水河,而习水河是赤水河的一级支流。由于乌江和赤水河都是长江的上游支流,地理位置较近,因此,习水、赤水、务川、南川 4 个群体在整体上有较近的遗传关系。江口 1 和江口 2 两个宽鳍鱲群体来自锦江及其支流,因此,两个群体的亲缘关系较近。但锦江流入洞庭湖水系,与乌江、赤水河水系存在明显的地理分隔,神农架宽鳍鱲群体来自于神农架林区的南河,也与锦江距离较远,因此,江口 1 和江口 2 两个宽鳍鱲群体与习水、赤水、务川、南川、神农架等 5 个群体之间存在显著的遗传分化。宽鳍鱲是一种山区溪流急流性鱼类,主要分布在水系的支流中^[1],本研究中 7 个宽鳍鱲群体分布在不同的水系或支流,由于水系分离和地理隔离,因而不同群体之间都存在不同程度的遗传分化。

3.3 宽鳍鱲群体历史动态

历史因素如古气候和古地质事件被认为是塑造现存物种群体遗传结构的两个主要驱动力。气候变化和地质事件中单个因素或者两个因素相结合,通常是形成物种现有群体遗传格局的重要原因。受第四纪更新世气候周期性波动的影响,生物群体被分割到众多的避难所,然后经历瓶颈效应或遗传漂变,最终形成了现存物种不同地理群体间的遗传差异。古地质事件(如距今 2.5 亿年前武陵山大裂谷的形成)可能会造成物种生境片段化,地理群体间的基因流受阻,从而形成物种的遗传多样性,甚至导致新物种的形成^[42]。

目前普遍认为 Fu's F_s 检验更适合验证种群扩张事件^[43]。从本研究中宽鳍鱲种群历史动态分析来看,南川群体 Cyt *b* 序列中性检验的 Fu's F_s 值为显著的负值,暗示该群体可能经历过近期的群体扩张。但根据 Grant 等^[34]以 $H_d=0.5$ 和 $\pi=0.005$ 为阈值划分的 4 类群体历史事件模式,务川、南川和赤水 3 个群体的遗传多样性表现为模式 I ($H_d<0.5$ 且 $\pi<0.005$),推测群体可能经历过瓶颈效应或奠基者效应而没有发生群体扩张。江口 1 群体的遗传多样性表现为模式 IV ($H_d>0.5$ 且 $\pi>0.005$),推测群体可能规模大并且在历史上较稳定。Cyt *b* 序列的错配分布拟合优度检验提示,江口 2、神农架群体不符合群体扩张模型,推测江口 2、神农架群体未经历过群体扩张事件。Cyt *b* 序列的错配分布表明,习水/赤水/务川/南川组群、神农架组群、江口 1/江口 2 组群的错配分布均为多峰分布,将 7 个群体合为一个组群后的错配分布也为多峰分布,揭示这 3 个遗传谱系及 7 个群体整体上均没有经历过近期的群体扩张。

综上可知,武陵山西部及邻近地区宽鳍鱲群体遗传多样性现状不容乐观,部分地区宽鳍鱲群体的遗传多样性水平很低,说明宽鳍鱲的生存适应能力被削弱。同时,由于不同水系或支流的宽鳍鱲群体之间存在较大的遗传分化,因此,宽鳍鱲的保护工作必须得到重视。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鱲的生存环境造成了很大影响,河流生

境破碎化明显,加之宽鳍鱮作为小型鱼类不受保护重视,导致其自然资源急剧下降。因此,建议从控制捕捞、保护栖息地生境以及水污染控制等各方面着手加强宽鳍鱮野生种群资源的保护。

参考文献:

- [1] Cao A N, Li Q, Bao W H, et al. Population structure and fecundity of *Zacco platypus* in the Xikou Section of Yongjiang River[J]. Journal of Hydroecology, 2019, 40(2): 94-101. [曹安娜, 李强, 包薇红, 等. 甬江溪口段宽鳍鱮的种群结构及繁殖力初步研究[J]. 水生态学杂志, 2019, 40(2): 94-101.]
- [2] Liu H F, Zhang C, Wang J, et al. Genetic diversity of wild *Zacco platypus* populations among four river systems in Henan Province analyzed by mitochondrial CO I gene[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(2): 269-277. [刘慧芬, 张超, 王静, 等. 河南境内四水系宽鳍鱮野生群体的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2018, 25(2): 269-277.]
- [3] 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.]
- [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] 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.
- [6] Guo X H, Liu S J, Liu Q, et al. New progresses on mitochondrial DNA in fish[J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(9): 983-1000. [郭新红, 刘少军, 刘巧, 等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展[J]. 遗传学报, 2004, 31(9): 983-1000.]
- [7] Guo D D, Liu F, Niu B L, et al. Genetic diversity of wild and cultured populations of little yellow croaker (*Larimichthys polyactis*) based on mitochondrial *Cytb* gene and D-loop region[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(9): 1856-1865. [郭丹丹, 刘峰, 牛宝龙, 等. 基于线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 区的野生与养殖小黄鱼群体遗传多样性[J]. 浙江农业学报, 2022, 34(9): 1856-1865.]
- [8] Ma Z F, Pan Q Z, An M, et al. Analysis of genetic diversity of *Siniperca scherzeri* population in Qingshui River based on mitochondrial *Cytb* and D-Loop sequences[J]. Marine Fisheries, 2022, 44(6): 657-669. [麻智芳, 潘秋芝, 安苗, 等. 基于 mtDNA D-Loop 区和 *Cytb* 基因的清水江斑鲮群体遗传多样性分析[J]. 海洋渔业, 2022, 44(6): 657-669.]
- [9] Li D M, Liu Y, Tang S K, et al. Genetic diversity of three *Culter* species in national aquatic germplasm resource conservation area of Ge Lake based on *Cytb* gene sequence[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2022, 49(1): 1-7. [李大命, 刘洋, 唐晟凯, 等. 基于 *Cytb* 基因的涪湖鲃类国家级水产种质资源保护区 3 种鲃鱼的遗传多样性分析[J]. 水产科技情报, 2022, 49(1): 1-7.]
- [10] de Graaf M, Megens H J, Samallo J, et al. Preliminary insight into the age and origin of the *Labeobarbus* fish species flock from Lake Tana (Ethiopia) using the mtDNA cytochrome *b* gene[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2010, 54(2): 336-343.
- [11] Ma C Y, Cheng Q Q, Zhang Q Y, et al. Genetic variation of *Coilia ectenes* (Clupeiformes: Engraulidae) revealed by the complete cytochrome *b* sequences of mitochondrial DNA[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2010, 385(1-2): 14-19.
- [12] Guo J F, Wang Y, Ma H Y, et al. Microsatellite marker analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships in three populations of *Pseudobagrus fulvidraco*[J]. Amino Acids and Biotic Resources, 2006, 28(3): 5-8. [郭金峰, 王玉, 马洪雨, 等. 三个黄颡鱼群体遗传多样性及亲缘关系的微卫星标记分析[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(3): 5-8.]
- [13] Yin S W, Huang H, Lei C G, et al. Application of DNA molecular markers in genetics and breeding of fish[J]. Fisheries Science, 2005, 24(11): 42-45. [尹绍武, 黄海, 雷从改, 等. DNA 标记技术在鱼类遗传育种中的应用[J]. 水产科学, 2005, 24(11): 42-45.]
- [14] Hu G F, Liang H W, Li Z, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in the yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Conservation Genetics Resources, 2009, 1(1): 63-66.
- [15] Kong Y, Guo B Y, Xie C X, et al. The isolation via enrichment and characterization of 9 dinucleotide microsatellite markers in *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Conservation Genetics Resources, 2009, 1(1): 353-355.
- [16] Xie M M, Wang Y K, Wei C Q, et al. Paternity test technology based on microsatellite marker islet[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2022, 46(12): 1932-1938. [谢敏敏, 王亚坤, 魏成清, 等. 基于微卫星标记的鳊亲亲子鉴定技术[J]. 水生生物学报, 2022, 46(12): 1932-1938.]
- [17] Liang Y, Fu J Q, Shen M H, et al. Microsatellite analysis on genetic diversity and genetic structure of three successive

- selected generations of *Babylonia areolata*[J]. Marine Sciences, 2022, 46(10): 85-93. [梁园, 付敬强, 沈铭辉, 等. 方斑东风螺 3 个选育世代遗传多样性和遗传结构的微卫星分析[J]. 海洋科学, 2022, 46(10): 85-93.]
- [18] Peng M, Chen X L, Jiang W M, et al. Ammonium acetate method to isolate high quality genomic DNA of *Trachinotus ovatus*[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2011, 17(1): 114-117. [彭敏, 陈秀荔, 蒋伟明, 等. 醋酸铵法提取卵形鲳鲹基因组 DNA[J]. 天津农业科学, 2011, 17(1): 114-117.]
- [19] Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 18(2): 163-173.
- [20] 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.
- [21] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [22] Leigh J W, Bryant D. Popart: Full-feature software for haplotype network construction[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2015, 6(9): 1110-1116.
- [23] Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [24] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences[J]. Molecular Biology and Evolution, 1992, 9(3): 552-569.
- [25] Benjamini Y, Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency[J]. The Annals of Statistics, 2001, 29(4): 1165-1188.
- [26] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update[J]. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [27] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment[J]. Molecular Ecology, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [28] Takezaki N, Nei M, Tamura K. POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows interface[J]. Molecular Biology and Evolution, 2010, 27(4): 747-752.
- [29] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 2000, 155(2): 945-959.
- [30] Deng Y, Wang X, Lin P C, et al. Genetic divergence and population differentiation analysis of *Opsariichthys bidens* from Yiluo He[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(2): 339-345. [邓艳, 王雪, 林鹏程, 等. 伊洛河马口鱼遗传差异及其种群分化研究[J]. 水生生物学报, 2020, 44(2): 339-345.]
- [31] Soltis P S, Soltis D E. Genetic variation in endemic and widespread plant species: Examples from Saxifragaceae and Polystichum (Dryopteridaceae)[J]. Aliso, 1991, 13(1): 215-223.
- [32] Andrews K R, Good J M, Miller M R, et al. Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics[J]. Nature Reviews Genetics, 2016, 17(2): 81-92.
- [33] 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.
- [34] Grant W, Bowen B. 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.
- [35] Yan L N, Zhang D X. Effects of sample size on various genetic diversity measures in population genetic study with microsatellite DNA markers[J]. Acta Zoologica Sinica, 2004, 50(2): 279-290. [闫路娜, 张德兴. 种群微卫星 DNA 分析中样本量对各种遗传多样性度量指标的影响[J]. 动物学报, 2004, 50(2): 279-290.]
- [36] Peng M Y. Isolation and characterization of polymorphic SSRs markers in three *Siniperca chuatsi* population[D]. Guangzhou: Jinan University, 2013. [彭敏燕. 翘嘴鲌微卫星标记的开发以及三个群体遗传多态性分析[D]. 广州: 暨南大学, 2013.]
- [37] Gutiérrez-Espeleta G A, Kalinowski S T, Boyce W M, et al. Genetic variation and population structure in desert Bighorn sheep: Implications for conservation[J]. Conservation Genetics, 2000, 1(1): 3-15.
- [38] Fang R. Studies on molecular genetic polymorphisms of TRY & AMY gene and association analysis with feed habit domestication in *Siniperca chuatsi*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2012. [方荣. 鳊 TRY、AMY 基因遗传多态性研究及其与食性驯化的相关分析[D]. 广州: 暨南大学, 2012.]
- [39] Wright S. Evolution and the genetics of population, volume 4: Variability within and among natural populations[M].

- Chicago: University of Chicago Press, 1978.
- [40] Wang J X, Yu L Y, Bai J J, et al. Development of EST-SSR markers and analysis of genetic diversity in five populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(5): 24-32. [王解香, 于凌云, 白俊杰, 等. 草鱼 EST-SSR 标记及 5 个不同地域群体的遗传结构分析[J]. 动物学杂志, 2011, 46(5): 24-32.]
- [41] Song C Y. Populations genetic diversity and genetic structure of *Acanthogobius ommaturus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2020. [宋晨雨. 斑尾刺虾虎鱼的遗传多样性与群体遗传结构研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2020.]
- [42] Guo X Z. Population genetics of three *Schizothorax* species in the Yarlung Tsango River[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017. [郭向召. 雅鲁藏布江三种裂腹鱼属鱼类群体遗传学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.]
- [43] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. Genetics, 1997, 147(2): 915-925.

Population genetic diversity and genetic structure of *Zacco platypus* in the western Wuling Mountains and adjacent areas

QIN Ning^{1,2}, ZHANG Licheng¹, XIAO Mengna¹, ZHOU Xu¹, ZHANG Guirong¹, MA Xufa¹, WEI Kaijian¹

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Guizhou Fisheries Research Institute, Guiyang 550025, China

Abstract: To assess the germplasm genetic diversity of *Zacco platypus* populations in the western Wuling Mountains and Shennongjia Forestry District, we analyzed the genetic diversity and structure of seven *Z. platypus* populations using mitochondrial Cyt *b* sequences and microsatellite DNA (SSR) markers. Our results revealed 144 variant sites and 33 haplotypes among 185 Cyt *b* sequences from the seven populations. The haplotype diversity (H_d) ranged from 0.000 to 0.887, and the nucleotide diversity (π) ranged from 0.000 to 0.275. The neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree and median-joining network of Cyt *b* haplotypes grouped the seven populations into three branches: Jiangkou1/Jiangkou2 (JK1/JK2), Shennongjia (SNJ), Xishui/Chishui/Wuchuan/Nanchuan (XS/CS/WC/NC). Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated significant genetic differentiation among the seven populations and among the three branches. Analyses based on 11 microsatellite DNA loci showed that the mean number of alleles (N_A) in the seven populations of *Z. platypus* was 3.66, the mean Shannon's information index (I) was 0.689, the mean observed heterozygosity (H_O) was 0.315, the mean expected heterozygosity (H_E) was 0.354, and the mean polymorphic information content (PIC) was 0.409. The genetic differentiation index (F_{ST}) among the populations varied from 0.060 to 0.547, with significant genetic differentiation among the populations ($P < 0.05$). The UPGMA phylogenetic tree and PCoA showed that the seven *Z. platypus* populations clustered into four clades. STRUCTURE clustering analysis revealed that the seven populations of *Z. platypus* could be classified into four genetic groups. AMOVA showed significant genetic differentiation among the seven populations and among the four genetic groups of *Z. platypus*. Hence, the wild *Z. platypus* populations in the western Wuling Mountains and Shennongjia Forestry District exhibit low genetic diversity and significant genetic differentiation. Strengthening the protection of the riverine ecology and environment is crucial to ensure the sustainable utilization of wild germplasm resources of *Z. platypus*.

Key words: *Zacco platypus*; Cyt *b* sequences; microsatellite DNA; genetic diversity; genetic structure

Corresponding author: WEI Kaijian. E-mail: kjwei@mail.hzau.edu.cn