

DOI: 10.12264/JFSC2024-0272

额尔齐斯河细鳞鲑的遗传多样性及种群历史动态

彭文杰^{1, 2}, 马波¹

1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 国家渔业资源环境抚远观测实验站, 农业农村部黑龙江流域渔业资源环境科学观测实验站, 黑龙江 哈尔滨 150070;
2. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁 大连 116023

摘要: 细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)是额尔齐斯河流域濒危鱼类, 本研究通过线粒体 Cyt b 基因和 D-loop 控制区序列, 对额尔齐斯河分布的细鳞鲑进行群体遗传结构分析, 为其遗传多样性的科学保护提供理论依据。结果显示, 在 4 个群体 86 个样本的 Cyt b (1063 bp)+D-loop (1089 bp)联合序列中共检测出 13 个单倍型(Hap1-13), 单倍型多样性指数(H_d)为 0.515, 核苷酸多样性指数(P_i)为 0.00040, 呈现出较低的群体遗传多样性水平。分子方差变异分析(AMOVA)显示群体遗传变异主要来自群体内(99.51%), 群体间的变异仅占 0.49%, 遗传分化水平较低($F_{st}=0.00491, P>0.05$)。错配分布图呈现明显的单峰分布, 且中性检验 Tajima's D (-2.022) 和 Fu's F_s 值 (-9.530) 均为负值($P<0.05$), SSD 和 Hir 两个参数的检验性均不显著($P>0.05$), 暗示额尔齐斯河细鳞鲑曾经历了种群扩张历史, 近似扩张时间和贝叶斯天际线(BSP)表明扩张时间发生在距今 0.039 Ma。额尔齐斯河群体与黑龙江、勒拿河、叶尼塞河等其他流域的细鳞鲑存在显著的遗传分化, 推测其历史演化过程可能与萨彦岭-阿尔泰山造山运动、第四纪冰期以及阿尔泰山古水文等历史地质事件有关。研究表明, 额尔齐斯河的细鳞鲑群体可以作为一个进化显著单元(ESU)进行保护, 建议要有效保护其自然产卵场及繁殖群体, 维持河流连通性, 保持群体间的基因交流不受阻隔; 在人工增殖放流时应避免小群体繁殖, 以防遗传漂变降低遗传多样性, 并禁止跨流域引种, 以防止基因混杂。

关键词: 细鳞鲑; Cyt b 基因; D-loop 区; 遗传多样性; 额尔齐斯河

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)02-0203-11

细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)隶属于鲑科(Salmonidae)细鳞鲑属(*Brachymystax*), 主要分布于亚洲北部的西伯利亚地区, 从额尔齐斯-鄂毕河向东延伸至科雷马河以及俄罗斯的滨海边疆区等广阔区域^[1-2], 在中国, 细鳞鲑主要分布于东北的黑龙江^[3]和西北的额尔齐斯河^[4]等水域。细鳞鲑属冷水性鱼类, 主要栖息于河流上游、水质清新、水温较低的山区河流, 其洄游、摄食、繁殖等生活史独特^[5-7], 对环境变化敏感, 具有重要的生态保护意义, 同时作为珍贵的经济物种^[3-4], 具有较高的开发利用价值。近年来, 由于人类活动干扰

和环境变化影响, 细鳞鲑的栖息地因破碎化而丧失功能, 种群资源出现明显衰退而濒危^[3-4, 8], 2021 年被列入国家Ⅱ级重点野生保护动物名录^[9], 因此亟需开展保护性研究工作。

了解细鳞鲑的群体遗传结构, 分析遗传多样性水平, 确定进化显著单元(ESUs), 对于科学保护细鳞鲑的遗传特性及进化潜力, 维护其种群资源至关重要^[10]。研究表明, 细鳞鲑在同一水系内及不同水系间由于地理距离或生殖隔离等因素容易产生遗传分化。蒙古境内的叶尼塞河、色楞格河和中国黑龙江的细鳞鲑可划分为色楞格河、库苏古尔湖和黑

收稿日期: 2024-08-26; 修订日期: 2024-10-28.

基金项目: 农业农村部财政专项(西北地区重点水域渔业资源与环境调查); 农业农村部财政专项(西北地区重点水域渔业资源与环境常态化监测); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2023DT07).

作者简介: 彭文杰(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类生态学. E-mail: pengwenjie@live.com

通信作者: 马波, 研究员, 研究方向为渔业资源与生态学. E-mail: hsymabo@163.com

龙江3个进化显著单元^[10]。在中国,嫩江上游的细鳞鲑与黑龙江其他地理群体存在显著的遗传分化^[11],同属的秦岭细鳞鲑(*B. l. tsinlingensis*)在秦岭地区6个地理群体的单倍型按照渭河上游和渭河中游形成两个大的类群^[12];秦岭南北坡的细鳞鲑群体没有共享单倍型,遗传结构存在明显分化^[13]。这些研究为确定保护管理单元、划定保护区、人工放流增殖以及种质发掘和利用等方面提供了重要的遗传学依据。

额尔齐斯河位于新疆北部的阿尔泰山南麓,是我国唯一流入北冰洋的国际性河流,细鳞鲑是该水域重要的土著冷水性鱼类^[4],并处于世界上细鳞鲑地理分布范围的最西缘^[1-2],在物种进化上具有重要的研究意义。由于水利工程、外来物种、环境污染、过度利用等因素的影响,额尔齐斯河细鳞鲑的栖息地破碎化,种群资源呈现衰退趋势^[8,14]。近年来,关于黑龙江^[11,15]、秦岭地区^[12]等水域的细鳞鲑群体遗传学研究已取得进展,但针对额尔齐斯河流域这一特定生态区域的细鳞鲑

群体研究却相对匮乏,特别是通过人工繁育及增殖放流等措施恢复其种群资源的保护工作还缺少遗传学方面的支撑。本研究采用线粒体DNA分析技术,对额尔齐斯河细鳞鲑开展遗传多样性研究,旨在了解其群体的地理分布和遗传结构,探讨物种系统进化及种群历史动态,为细鳞鲑的保护管理提供遗传学理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2020年10—11月,于额尔齐斯河支流的哈巴河(HB)、喀纳斯河(KN)、喀拉额尔齐斯河(KL)和喀依尔特河(KY)采集细鳞鲑样本(图1,表1),使用定置刺网(网目内径5~10 cm)、垂钓等方式捕获细鳞鲑,参照《新疆鱼类志》^[16]进行形态学鉴定,剪取少量鳍条(胸鳍或腹鳍)组织置于无水乙醇中,保存在-20 °C的冰箱中待用,采样后将存活的细鳞鲑放归河流中。

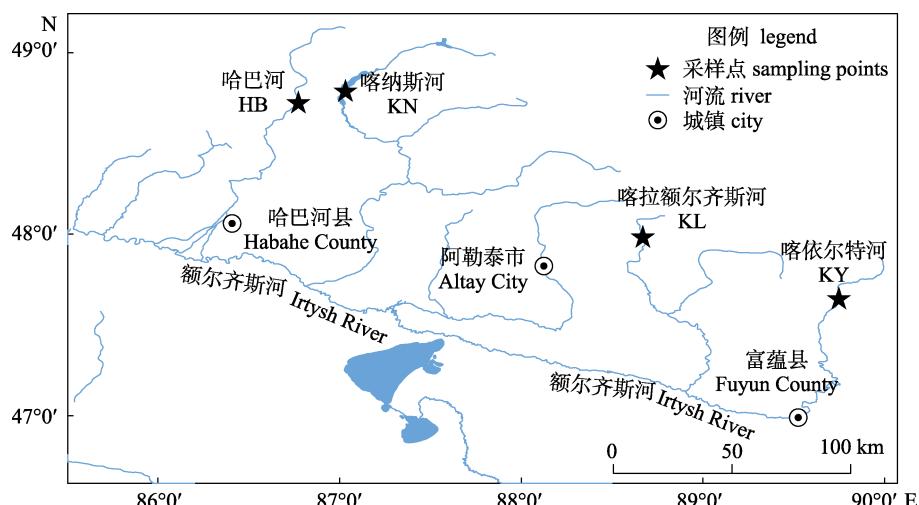


图1 额尔齐斯河细鳞鲑样本采集地点图
Fig. 1 Sampling location of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

表1 额尔齐斯河细鳞鲑采样地点及样本数量

Tab. 1 Sampling location and sample number of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

群体 population	缩写 sample code	经度 longitude	纬度 latitude	样本数量 number of samples
哈巴河 Haba River	HB	86°46'23"N	48°43'17"E	15
喀纳斯河 Kanasi River	KN	87°1'56"N	48°47'8"E	28
喀拉额尔齐斯河 Kalaerqisi River	KL	88°40'10"N	47°58'53"E	14
喀依尔特河 Kayierte River	KY	89°44'55"N	47°38'31"E	29

1.2 DNA 提取、PCR 扩增与测序

取细鳞鲑组织, 使用 Ezup 柱式基因组试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)按说明书提取DNA, 使用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 DNA 进行检测, 并置于 4 ℃冰箱保存。Cyt b 扩增引物使用 L14321 (5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3') 和 H15634 (5'-TAGACTTCTGGGTGGCAAAGAATCA-3'), D-loop 扩增引物采用 LRBT-25 (5'-AGAGC GCCGGTGTGTAATC-3') 和 LRBT-1195 (5'-GCT AGCGGGACTTCTAGGGTC-3')。建立 PCR 反应体系 50 μL, 包含 2× San Taq PCR Mix (上海生工生物工程股份有限公司) 25 μL, 正反向引物各 2 μL, 模板 DNA (50 ng/μL) 6 μL, 补充 ddH₂O 至 50 μL。使用 ABI9700 型 PCR 仪进行如下反应程序: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 30 s, 56 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 35 个循环, 最后 72 ℃ 延伸 10 min。反应结束后, 取 PCR 产物 4 μL 经 1% 凝胶电泳检测合格后, 由上海生工生物工程股份有限公司进行测序, 测序所用引物为扩增引物。

1.3 数据分析

使用 Chromas 2.6.6 软件比对序列, MEGA 11.0.13 软件分析碱基组成, DnaSP v6.12.03 软件计算序列可变点位、单倍型数量、单倍型多样性(H)、核苷酸差异数(k)、核苷酸多样性(π)、中性检验(Tajima's D 检验、Fu's F_s 检验), Arlequin 3.5 软件计算各群体间遗传分化指数(F_{st})、偏差平方和(the sum of squared differences, SSD)、粗糙系数(harpending's raggedness indices, Hir)及其检验显著性、用突变单位表示的种群扩张时间(τ), MEGA 11.0.13 软件计算 Kimura-2-parameter (K-2-P) 法的成对分化距离。使用 Popart1.7 软件生成单倍型网络图(haplotype network), DnaSP v6.12.03 观察预期错配曲线(mismatch distribution), 进行中性检验计算 Tajima's D 和 Fu's F_s 值; 采用 BEAST 2.7.4 软件进行 BSPs (Bayesian skyline plots) 分析来推测遗传谱系有效群体大小(effective sample size, ESS)的历史动态和大致时间范围, 树先验选择凝聚贝叶斯天际线(coalescent extended Bayesian skyline), 模型为 HKY+G, 选择对数正态分布的松散分子钟。通过 Tracer 1.5 软件实现有效群体大

小历史动态图谱的可视化, 基于错配分布的 τ 值, 可采用群体扩张公式 $\tau=2ut$ 计算, 其中 t 为扩张世代数, u 为单个世代核苷酸突变率。 u 由公式 $u=2\mu k$ 计算得出, 其中 μ 为每个核苷酸位点的突变率, k 为片段长度, 最终计算获得的近似扩张时间 T 由扩张世代数 t 乘以世代时间(细鳞鲑为 5 年)得出。

使用额尔齐斯河细鳞鲑 D-loop 序列(598 bp), 并引入来自叶尼塞河(GenBank No.AY230451、AY230452)、勒拿河(GenBank No.AY230453~AY230455)、黑龙江(GenBank No.AY230461、FJ713573)等水系源头细鳞鲑的同源序列, 以哲罗鲑(Hucho taimen)(GenBank No.AY230451)作为外类群构建系统发育树。分别采用 MEGA 11.0.13 和 MrModeltest 2 计算最大似然分析法(ML)和贝叶斯推理法(BI)的核苷酸取代最佳模型, 使用 raxmlGUI 2.0 将哲罗鲑设置为外群后, 采用获得的最佳模型进行 1000 次迭代进行最大似然建树(ML); 使用 MrBayes 3.2.7 建立贝叶斯树(BI), 将哲罗鲑序列设置为外群, 运行次数为 2×10^7 次。采用 figtree 将最大似然分析(ML)和贝叶斯推理(BI)系统发育树导出。

2 结果与分析

2.1 基因序列及遗传多样性

通过测序比对, 最终获得细鳞鲑的 Cyt b 基因长度为 1063 bp 及 D-loop 序列长度为 1089 bp, 联合后的 Cyt b+D-loop 序列长度为 2152 bp。Cyt b 序列中多态性变异位点 5 个, 共检测出 5 个单倍型, D-loop 序列中多态位点数为 8 个, 共检测出 12 个单倍型, Cyt b+D-loop 的联合序列中多态位点数为 15 个, 共检测出 13 个单倍型。

细鳞鲑各群体的 D-loop 序列单倍型多样性(H_d)为 0.446~0.505, 核苷酸差异数(k)为 0.478~0.817, 核苷酸多样性(P_i)为 0.00044~0.00076; Cyt b 序列单倍型多样性(H_d)为 0.000~0.371, 核苷酸差异数(k)为 0.000~0.514, 核苷酸多样性(P_i)为 0.00000~0.00048, D-loop 的多样性水平要明显高于 Cyt b。Cyt b+D-loop 联合序列单倍型多样性(H_d)为 0.446~0.625, 核苷酸差异数(k)为 0.478~1.220, 核

苷酸多样性(P_i)为 0.00022~0.00057。总体的 H_d 为 0.515, k 为 0.848, P_i 为 0.00040, 表现出单倍型多

样性较高, 而核苷酸差异数和核苷酸多样性较低的现象(表 2)。

表 2 额尔齐斯河细鳞鲑线粒体 DNA 序列的遗传多样性参数
Tab. 2 Genetic diversity indices of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

序列 sequence	群体 population	多态位点数 polymorphic loci	单倍型数 number of haplotypes	单倍型多样性 指数(H_d) haplotype diversity	核苷酸差异数(k) average number of nucleotide differences	核苷酸多样 性指数(P_i) nucleotide diversity
D-loop	HB	2	3	0.457	0.495	0.00046
	KN	4	4	0.505	0.817	0.00076
	KL	6	4	0.473	0.505	0.00047
	KY	2	3	0.446	0.478	0.00044
	total	5	12	0.462	0.595	0.00055
Cyt b	HB	3	4	0.371	0.514	0.00048
	KN	0	0	0.000	0.000	0.00000
	KL	3	2	0.143	0.428	0.00040
	KY	0	0	0.000	0.000	0.00000
	total	4	5	0.091	0.161	0.00015
D-loop+ Cyt b	HB	5	5	0.562	1.010	0.00047
	KN	6	5	0.519	0.960	0.00045
	KL	7	5	0.625	1.220	0.00057
	KY	3	4	0.446	0.478	0.00022
	total	15	13	0.515	0.848	0.00040

2.2 遗传距离及分化

成对遗传距离(K-2-P)显示(表 3), 4 个群体间的距离为 0.00033 (KN\KY)~0.00051 (HB\KL) 之间, 平均值为 0.00043, 各群体间遗传距离小, 亲缘关系较近, 未表现出明显的差异。AMOVA 分析显示(表 4), 群体遗传变异主要来自群体内 (99.51%), 群体间的变异仅占 0.49%, 遗传分化水平较低($F_{st}=0.00491$, $P>0.05$), 各群体间并未表现出明显的遗传分化。

2.3 系统发育关系

细鳞鲑 4 个群体 Cyt b+D-loop 联合序列共检测出 13 个单倍型(Hap1-13), 单倍型网络分析显示(图 2), 呈单一星状散射分布, 有 2 个单倍型(Hap1 和 Hap2)为各群体所共享, 其中 Hap1 单倍型居于网络图中心, 并出现频率最高(数量占比 67.44%), 并在 4 个群体中广泛分布, 推测为各群体共有的祖先单倍型。围绕 Hap1 单倍型呈散射连接了 12 个单倍型(Hap2~13), 各单倍型之间的步长为 1~5 步。除 Hap2 为各群体所共享外, 其他

11 个单倍型均为各群体所独有, 且出现的频率较低(Hap6 出现 2 个, 其他均 1 个)。其中 HB 有 3 个单倍型(Hap3~5), KN 有 3 个单倍型(Hap6~8), KL 有 3 个单倍型(Hap9~11), KY 有 2 个单倍型 (Hap12~13)。各单倍型互为交叉连接, 4 个群体间未发现明显的地理谱系分化。

使用 D-loop 单倍型(HD1-12)并引入来自叶尼塞河、勒拿河、黑龙江等水系源头的细鳞鲑的同源序列(598 bp), 以最大似然分析(ML)和贝叶斯推理(BI)核苷酸取代的最佳拟合模型(HKY+G)构建系统发育树, 两种方法获得一致的拓扑结构

表 3 额尔齐斯河细鳞鲑 Cyt b+D-loop 序列的
K-2-P 成对遗传距离

Tab. 3 Pairwise K-2-P distance of Cyt b+D-loop
sequences of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

群体 population	1	2	3	4
1. 哈巴河(HB)	—	—	—	—
2. 喀纳斯河(KN)	0.00047	—	—	—
3. 喀拉额尔齐斯河(KL)	0.00051	0.00035	—	—
4. 喀依尔特河(KY)	0.00035	0.00033	0.00039	—

表 4 额尔齐斯河细鳞鲑群体的分子变异分析(AMOVA)
Tab. 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

序列 sequence	变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 variance component	变异百分比/% percentage of variation	固定指数 fixation index
D-loop+Cyt b	群体间 among populations	3	0.00208	0.49	$F_{st}=0.00491$
	群体内 within populations	82	0.42255	99.51	
	总计 total	85	0.42464	100	

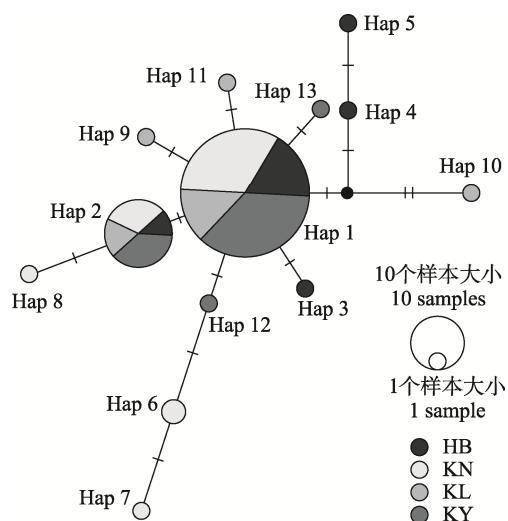


图 2 额尔齐斯河细鳞鲑 Cyt b+D-loop 序列的单倍型网络图

Fig. 2 Haplotype network of the Cyt b+D-loop sequences of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

(图 3)。系统发育树显示, 额尔齐斯河细鳞鲑 4 个群体的单倍型(HD1-12)之间相互交叉相聚, 并未表现出明显的地理分化而聚为一支(Cyt b 也显示相同的结果)。对比额尔齐斯河、叶尼塞河、勒拿河、黑龙江 4 条水系细鳞鲑的聚类关系, 结果显示出明显分化的 2 个分支, 其中, 额尔齐斯河为一个大的分支, 黑龙江与勒拿河相聚再与叶尼塞河相聚形成另外一个大的分支, 显示出这 3 个水系间的亲缘关系更近(遗传距离为 0.0028~0.0033), 而额尔齐斯河与它们的亲缘关系较远(遗传距离为 0.0085~0.01186), 其中额尔齐斯河与叶尼塞河遗传距离为近(0.0085), 与黑龙江最远(0.01186)。

2.4 种群历史动态

基于 Cyt b+D-loop 序列的细鳞鲑错配分布曲线图显示(图 4), 除 KL 呈现为多峰分布外, HB、

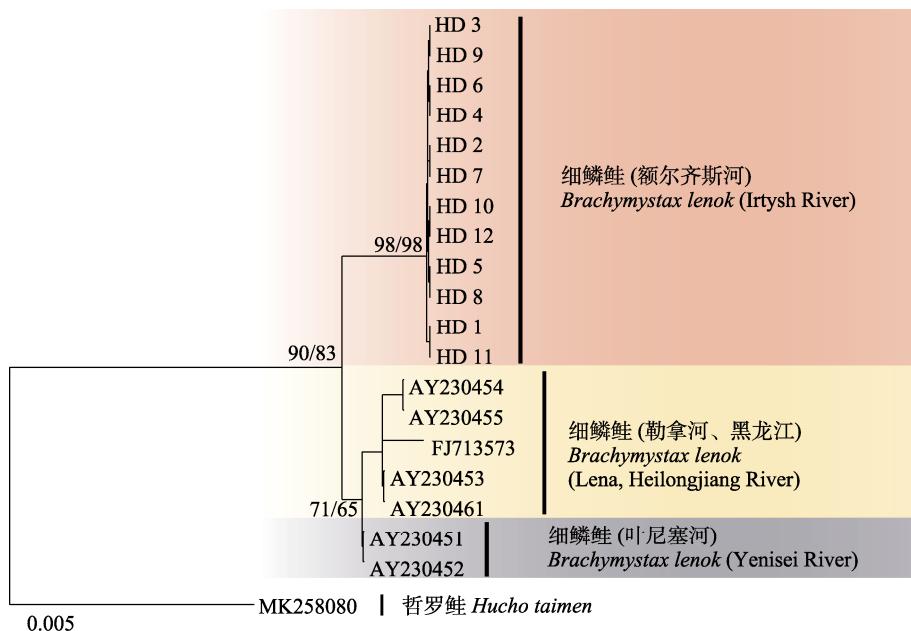


图 3 基于 D-loop 序列的贝叶斯和最大似然系统发育树
节点显示了两种方法中获得的贝叶斯后验概率(左侧)和最大似然支持值(右侧).

Fig. 3 BI and ML phylogenetic trees based on the D-loop sequences
The nodes show the BI posterior probability (left) and ML support values (right).

KN、KY 以及总体均为单峰分布, KY 和总体的中性检验 Tajima's D 以及 HB 和总体的 Fu's F_s 值均为显著的负值($P<0.05$), 错配分布检验显示, HB、KL 和总体的 SSD 以及所有群体及总体 Hir 的参数检验性均不显著($P>0.05$), 显示了细鳞鲑总体在历史上曾经发生过种群扩张。总体近似扩张时间 T 表明种群扩张发生在距今 0.039 Ma (表 5); 在贝叶斯天际线图(BSP)中(图 5), 深红色实线表示种群规模的中位数, 红色区间为 95% 的后验密度(HPD)显示, 种群扩张发生在距今 0.040 Ma。

表 5 额尔齐斯河细鳞鲑的 Tajima's D 、Fu's F_s 和错配分布检验及扩张时间
Tab. 5 Tajima's D , Fu's F_s , mismatch distribution parameter estimations and expansion time of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

群体 population	中性检验 neutrality test			错配分布检验 mismatch distribution parameter estimations				
	Tajima's D	Fu's F_s	SSD	P	Hir	P	τ	T
HB	-1.159	-1.500*	0.004072	0.72	0.063129	0.88	0.255	0.016
KN	-1.095	-0.813	0.004961	0.02	0.202675	0.77	0.376	0.023
KL	-1.645	-1.136	0.017241	0.84	0.061949	0.90	-	-
KY	-0.890*	-1.341	0.009359	0.00	0.18445	0.47	0.500	0.031
总体 total	-2.022*	-3.139*	0.0039	0.66	0.063129	0.86	0.625	0.039

注: *表示参数值达到显著水平($P<0.05$), “-”表示无数据.

Note: * indicates the parameter value reaches significant level at $P<0.05$, “-” indicates no data.

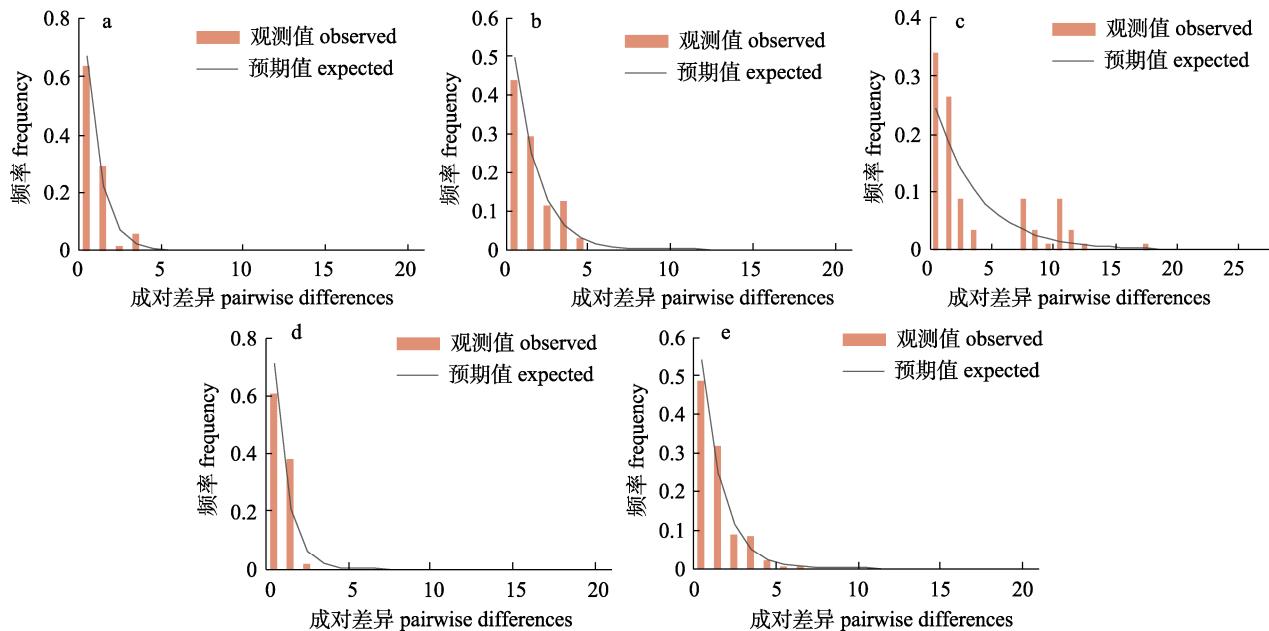


图 4 额尔齐斯河细鳞鲑 Cyt b +D-loop 序列的观测和预期错配曲线分布

a. 哈巴河. b. 喀纳斯河. c. 喀拉额尔齐斯河. d. 喀依尔特河. e. 总体.

Fig. 4 Observed and expected mismatch distribution curves of the Cyt b +

D-loop sequences of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

a. HB. b. KN. c. KL. d. KY. e. Total.

3 讨论

3.1 遗传多样性及分化

遗传多样性能够反映物种或其群体对环境的适应能力, 对濒危物种的保护管理具有重要意义^[17-18]。有研究认为, 当 $P_i<0.005$ 时群体为低遗传多样性水平^[19], 额尔齐斯河细鳞鲑群体的 Cyt b 和 D-loop 序列的 P_i 较低(分别为 0.00015 和 0.00055), 表明线粒体基因反映其多样性水平较低。同时, D-loop 序列的 H_d (0.462) 和 P_i 也远低于

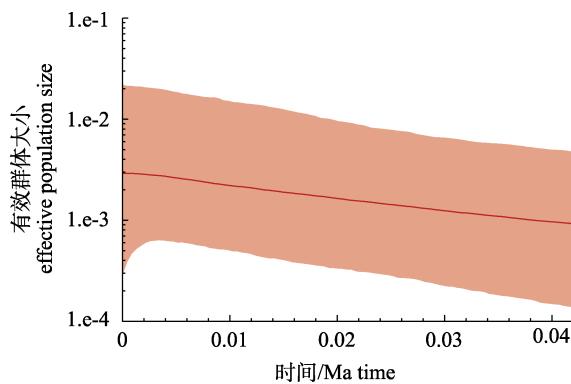


图 5 额尔齐斯河细鳞鲑 Cyt b+D-loop 序列的贝叶斯天际线图(BSP)

Fig. 5 Bayesian skyline plot (BSP) of the Cyt b+D-loop sequences of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River

黑龙江的细鳞鲑(分别为 0.7077 和 0.00187), 以及秦岭地区的秦岭细鳞鲑(0.8221 和 0.00525)和乌苏里江的钝吻细鳞鲑(0.9292 和 0.0039)^[20]。Cyt b 基因的 H_d (0.091) 和 P_i 也明显小于秦岭细鳞鲑(H_d 为 0.257~0.515, P_i 为 0.00013~0.00521)^[13]。额尔齐斯河细鳞鲑遗传多样性水平低, 主要表现为遗传变异小, 且共享的单倍型(Hap1 和 Hap2)频率较大, 产生了“奠基者效应”^[21], 与其他细鳞鲑相比显示出进化潜力较低, 对环境的适应能力弱。

冷水性鱼类在其栖息、摄食、繁殖等生活史阶段偏好低温的冷水环境^[22-23], 这影响了它们的迁移与散布能力, 这些生态习性容易限制群体间的基因交流, 使不同地理区域间产生遗传分化^[24-25], 虽然细鳞鲑还展现出季节性迁徙的习性, 但其活动能力和迁徙范围均相对有限^[7]。在蒙古的色楞格河细鳞鲑存在 2 个分化群体, 在流域内表现出地理距离所隔离的物种^[10]; 在中国的嫩江上游(奎勒河)与黑龙江的上游(呼玛河)水路距离约 2100 km, 2 个地理群体存在显著的遗传分化, 可能地理距离阻碍了群体交流^[11]; 秦岭细鳞鲑在渭河的分布格局展现出沿上游与中游大致分界的特征, 暗示两大群体之间在基因交流方面可能遭受的一定的限制^[12]。额尔齐斯河细鳞鲑各群体间展现出的较小遗传分化, 以及缺乏明显的地理分化格局, 可能是额尔齐斯河源头水域相对集中且范围不广, 上下游之间的直线距离较近, 加之各支流河口位置紧密相邻, 为细鳞鲑的扩散和基因

交流提供了有利条件, 其中哈巴河和布尔津河河口相距约 60 km, 喀拉额尔齐斯河和喀依尔特河河口距离相距约 50 km, 因此细鳞鲑容易在这些河流之间扩散并进行基因交流。

在西伯利亚地区, 细鳞鲑主要分布于额尔齐斯、叶尼塞河、勒拿河和黑龙江等流域, 这些水系不仅地理位置接近, 且其源头区域紧密相邻, D-loop 序列的系统发育关系显示, 勒拿河和黑龙江水系之间存在共享的单倍型^[1], 且叶尼塞河与勒拿河和黑龙江的亲缘关系更近, 当额尔齐斯河被纳入分析范畴后, 额尔齐斯河细鳞鲑群体呈现出独立的遗传谱系特征, 与其他水系的遗传分化最大。鉴于额尔齐斯河地处细鳞鲑主要地理分布区域的最西缘, 推测这一现状很可能是长期地理隔离作用下的自然结果, 长期的地理屏障限制了额尔齐斯河与其他流域的基因交流, 从而促进了其独特的遗传分化。因此, 为了准确反映其进化历程与遗传独特性, 应将额尔齐斯河细鳞鲑群体明确界定为一个区别于其他水域的进化显著单元(ESU)。

3.2 种群历史动态

历史上的西伯利亚地区曾广泛分布着细鳞鲑, 但其起源及其历史演化轨迹尚不明确^[1-2,22]。额尔齐斯河处于西伯利亚分布区域的最西缘, 该流域内的细鳞鲑群体与其他地理群体之间表现出显著的遗传分化, 这一范围内当代种群的地理分布格局很可能与萨彦岭-阿尔泰山脉的构造活动历史有关。在上新世末至早更新世末, 该地区出现了明显的差异性升降运动, 山区与平原的地形差异增大, 山体雏形基本形成; 到中更新世至全新世, 该地区以间歇性隆升运动为主, 特别是中更新世整个山体大幅度抬升, 形成阿尔泰山的现代地貌轮廓^[26-28]。按照 D-loop 序列核苷酸分歧速率为 1%/Ma 推算^[1], 额尔齐斯河与叶尼塞河的细鳞鲑发生分化时间约在 1.94 Ma, 这一时期阿尔泰山正经历了自中更新世的第二次造山隆升运动, 这场地质变化造成了水系格局的变化、主河道的迁移, 这些古地质和古水文事件很有可能影响了该地区细鳞鲑的栖息环境。同时阿尔泰山进入冰冻圈, 山脉隆起和冰期的双重作用使细鳞鲑逐渐脱离于西伯利亚的其他水系而进入阿勒泰山区。而

在晚更新世或更新世后，随着气候波动期间冰川前进、后退和融化，现在相互隔离的勒拿河、黑龙江、叶尼塞河之间产生了大规模古水文交融，这一时期细鳞鲑在这几大水系间发生了群体扩散和基因交流^[1,22]，而地处最西缘的额尔齐斯河与其他水系长期处于地理隔离状态，并未发生交融。

额尔齐斯河细鳞鲑各单倍型分化时间由1.48 Ma持续到0.24 Ma，这一时期阿尔泰山受到布尔津冰期、倒数第二次冰期、末次冰期和新冰期等冰川作用的影响，大量动植物在阿尔泰山范围的冰川作用下，被迫进入了河谷中的冰川避难所^[29-32]，细鳞鲑也可能在这一时期存留在避难所，并造成了单倍型的分化。当单倍型多样性高($H_d > 0.5$)，核苷酸多样性低($P_i < 0.005$)，这表明该群体在经历缩减后重新扩张^[18]，额尔齐斯河的细鳞鲑群体呈高单倍型多样性、低核苷酸多样性，以及 Tajima's D 检验、Fu's F_s 检验和中性检验结果表明，细鳞鲑曾经历过种群扩张。种群扩张时间显示额尔齐斯河细鳞种群扩张过程从0.039 Ma开始，此时为第四纪晚期的间冰期，推测这个过程可能与冰期之后的间冰期有关。依据萨彦岭-阿尔泰山脉范围生物地理学与古水文学史推测^[33-36]，在第四纪晚期的间冰期气候变迁中，中亚地区气温回升，水流量增加和冰川融化造成山间盆地的冰碛湖溃坝或溢出，产生了多次巨型洪水，其中包括阿尔泰特大洪水事件^[37]。阿尔泰山河谷中反复爆发的洪水，为这一区域的短颌山雅罗鱼(*Oreoleuciscus potanini*)、蒙古茴鱼(*Thymallus brevirostris*)、马尔卡科尔茴鱼(*T. brevicephalus*)等各类水生生物的种群扩散提供了有利条件^[38]。而基于线粒体DNA基因序列研究也显示，与细鳞鲑同域分布在额尔齐斯河的马尔卡科尔茴鱼也经历了种群扩张历史^[39]，因此，细鳞鲑可能在反复的洪水过程中实现了种群扩张，形成了今天在额尔齐斯河上游区域的地理分布格局。

本研究表明，额尔齐斯河细鳞鲑在近期可能经历瓶颈后从一个有效种群数量较小的群体快速扩张，但由于这一过程发生的历史时间跨度较短(0.039 Ma)，还未积累足够的碱基变异，表现出遗

传多样性水平还较低^[40]，但随着种群规模的扩大，仍促使了单倍型多样性的增加。

3.3 遗传多样性保护

额尔齐斯河分布着众多的珍稀冷水性土著鱼类，但由于受到气候、水利工程、环境污染、过度利用等人类活动和环境变化的影响，包括小体鲟(*Acipenser ruthenus*)、北鮓(*Stenodus leucichthys*)、哲罗鮓、细鳞鮓、马尔卡科尔茴鱼、江鳕(*Lota lota*)等在内的冷水性鱼类正面临着栖息地遭受严重破坏、分布范围急剧缩减的严峻挑战，其种群资源面临威胁^[8,14]。本研究显示，额尔齐斯河细鳞鮓群体遗传多样性较低，并有丰富的稀有单倍型，因此应当加强对遗传多样性的保护。在哈巴河、布尔津河、喀拉额尔齐斯河和喀依尔特河等分布区建立自然保护区，以有效保护产卵场及繁殖群体，维持遗传多样性水平，特别是各群体中稀少而特有的单倍型。在水利工程建设规划中，应优先考虑设计并建设过鱼通道，保持河流的连通性，保障群体间的基因交流不受阻隔^[41-42]。在自然水域开展人工增殖放流时要避免小群体繁殖，以防止遗传漂变导致的遗传多样性丧失^[43-44]。同时，鉴于额尔齐斯河的遗传谱系明显区别于黑龙江等其他水域，应严禁跨流域的引种增殖放流，避免造成基因混杂^[45-46]。

参考文献：

- [1] Froufe E, Alekseyev S, Alexandrino P, et al. The evolutionary history of sharp- and blunt-snouted lenok (*Brachymystax lenok* (Pallas, 1773)) and its implications for the paleohydrological history of Siberia[J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8: 40.
- [2] Osinov A G. Origin, phylogeny, and taxonomy of lenoks of the genus *Brachymystax* (Salmonidae): Available data, their interpretation, and unresolved problems[J]. Journal of Ichthyology, 2024, 64(3): 496-509.
- [3] Zhang J M, Li H M, Dong C Z, et al. Fish chronicles of Heilongjiang Province[M]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1995: 52-55. [张觉民, 李怀明, 董崇智, 等. 黑龙江省鱼类志[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995: 52-55.]
- [4] Ren M L, Guo Y, Zhang R M, et al. Fisheries resources and fishery of the Ertixhe River in China[M]. Urumchi: Xinjiang Science, Technology and Public Health Press, 2002: 63-67. [任幕莲, 郭炎, 张人铭, 等. 中国额尔齐

- 斯河鱼类资源及渔业[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版, 2002: 63-67.]
- [5] Olson K W, Jensen O P, Hrabik T R. Feeding ecology and prey resource partitioning of lenok (*Brachymystax lenok*) and Baikal grayling (*Thymallus arcticus baicalensis*) in the Eg and Uur Rivers, Mongolia[J]. *Ecology of Freshwater Fish*, 2016, 25(4): 565-576.
- [6] Esteve M, McLennan D A. Spawning behavior of lenok, *Brachymystax lenok* (Salmoniformes) from the Uur River, Northern Mongolia[J]. *Journal of Ichthyology*, 2008, 48(11): 1031-1036.
- [7] Kaus A, Büttner O, Karthe D, et al. Migration and movement profiles of a potadromous fish (*Brachymystax lenok* Pallas 1773) in a highly connected river system (Mongolia)[J]. *Ecology of Freshwater Fish*, 2018, 27(3): 752-766.
- [8] Huo T B, Jiang Z F, Adakbek K J, et al. Status of fishes distribution and species diversity in Ertix River Basin in China[J]. *Journal of Hydroecology*, 2010, 3(4): 16-22. [霍堂斌, 姜作发, 阿达克白克·可尔江, 等. 额尔齐斯河流域(中国境内)鱼类分布及物种多样性现状研究[J]. 水生态学杂志, 2010, 3(4): 16-22.]
- [9] National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Wildlife under special state protection list (revised February 1, 2021)[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(2): 605-640. [国家林业和草原局, 农业农村部. 《国家重点保护野生动物名录》(2021年2月1日修订)[J]. 野生动物学报, 2021, 42(2): 605-640.]
- [10] Kaus A, Michalski S, Häneling B, et al. Fish conservation in the land of steppe and sky: Evolutionarily significant units of threatened salmonid species in Mongolia mirror major river basins[J]. *Ecology and Evolution*, 2019, 9(6): 3416-3433.
- [11] Ma B, Jiang Z F, Huo T B. Study on the taxonomic status of species of *Brachymystax* in Heilongjiang River and Tumen River systems based on mitochondrial control region sequence[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2009, 34(3): 499-506. [马波, 姜作发, 霍堂斌. 基于线粒体DNA控制区序列变异探讨黑龙江和图们江细鳞鲑属鱼类的分类地位[J]. 动物分类学报, 2009, 34(3): 499-506.]
- [12] Zhang Y P, Du Y Y, Wang T, et al. Population genetic structure of *Brachymystax lenok tsinlingensis* as inferred from mtDNA D-loop sequence[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(17): 4950-4956. [张艳萍, 杜岩岩, 王太, 等. 秦岭细鳞鲑群体遗传结构[J]. 生态学报, 2014, 34(17): 4950-4956.]
- [13] Shao J, Xiong D M, Chu Z P, et al. Population differentiation and genetic diversity of endangered *Brachymystax tsinlingensis* Li between Yangtze River and Yellow River in China based on mtDNA[J]. *Mitochondrial DNA Part A*, 2019, 30(5): 695-701.
- [14] Li X J, Jia P Y, Niu C Y, et al. Species diversity of freshwater fish and assessment on watershed health in the Irtysh River and Ulungur River basins in Xinjiang, China[J]. *Biodiversity Science*, 2020, 28(4): 422-434. [李雪健, 贾佩尧, 牛诚祎, 等. 新疆阿勒泰地区额尔齐斯河和乌伦古河流域鱼类多样性演变和流域健康评价[J]. 生物多样性, 2020, 28(4): 422-434.]
- [15] Ma B, Jiang Z F. Genetic diversity and relationship between two species of *Brachymystax* in Wusuli River revealed by microsatellites[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, 14(1): 39-45. [马波, 姜作发. 乌苏里江2种细鳞鲑种群遗传多样性及亲缘关系的微卫星分析[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 39-45.]
- [16] Guo Y, Zhang R M, Cai L G. *Fishes of Xinjiang*[M]. Urumchi: Xinjiang Science and Technology Press, 2012: 42-43. [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: 42-43.]
- [17] Petit R J, El Mousadik A, Pons O. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers[J]. *Conservation Biology*, 1998, 12(4): 844-855.
- [18] Crandall K A, Bininda-Emonds O R P, Mace G M, et al. Considering evolutionary processes in conservation biology [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2000, 15(7): 290-295.
- [19] Grant W, 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.
- [20] Xiong D M, Meng Y X, Zhang X M, et al. The validity of species of *Brachymystax tsinlingensis* Li based on mitochondria control region and microsatellite[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, 47(5): 809-818. [熊冬梅, 蒙彦晓, 张鑫森, 等. 基于线粒体控制区和微卫星标记探讨秦岭细鳞鲑物种有效性[J]. 水生生物学报, 2023, 47(5): 809-818.]
- [21] Billington N, Hebert P D N. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48(S1): 80-94.
- [22] Besednov L N, Kucherov A I. On the systematic position of the genus *Brachymystax* from the Iman River[J]. *Zoological Problems of Siberia*, 1972(209): 220-221.
- [23] Gönczi A P. A study of physical parameters at the spawning sites of the European grayling (*Thymallus thymallus* L.)[J]. *Regulated Rivers: Research & Management*, 1989, 3(1): 221-224.
- [24] Weiss S, Persat H, Eppe R, et al. Complex patterns of colonization and refugia revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mitochondrial DNA control region[J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(8): 1393-1407.
- [25] Brunner P C, Douglas M R, Osinov A, et al. Holarctic phylogeography of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.)

- inferred from mitochondrial DNA sequences[J]. Evolution, 2001, 55(3): 573-586.
- [26] Huangfu P P, Fan W M, Li Z H, et al. Linkage between the India-Asia collision and far-field reactivation of the Altai Mountains[J]. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 2023, 616: 111478.
- [27] Shi Y F, Cui Z J, Su Z. The quaternary glaciations and environmental variations in China[M]. Shijiazhuang: Hebei Science & Technology Press, 2006: 503-519. [施雅风, 崔之久, 苏珍. 中国第四纪冰川与环境变化[M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 2006: 503-519.]
- [28] Pan S D, Zhang W S, Zhou G H, et al. Effect of tilted uplift and strike-slip shear-structure of Altai Mountains on Erqisi and Wulungu River-basin environment[J]. Geological Science and Technology Information, 2007, 26(2): 19-24. [潘思东, 张旺生, 周国华, 等. 新疆阿尔泰山的掀斜隆升及其构造制约[J]. 地质科技情报, 2007, 26(2): 19-24.]
- [29] Horsák M, Chytrý M, Pokryszko B M, et al. Habitats of relict terrestrial snails in southern Siberia: Lessons for the reconstruction of palaeoenvironments of full-glacial Europe[J]. Journal of Biogeography, 2010, 37(8): 1450-1462.
- [30] Hais M, Komprdová K, Ermakov N, et al. Modelling the Last Glacial Maximum environments for a refugium of Pleistocene biota in the Russian Altai Mountains, Siberia[J]. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 2015, 438: 135-145.
- [31] Řičánková V P, Robovský J, Riegert J. Ecological structure of recent and last glacial mammalian faunas in northern Eurasia: The case of Altai-Sayan refugium[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85056.
- [32] Chytrý M, Ermakov N, Danihelka J, et al. High species richness in hemiboreal forests of the northern Russian Altai, southern Siberia[J]. Journal of Vegetation Science, 2012, 23(4): 605-616.
- [33] Agatova A R, Nepop R K. Pleistocene fluvial catastrophes in now arid NW areas of Mongolian Inland drainage basin[J]. Global and Planetary Change, 2019, 175: 211-225.
- [34] Agatova A R, Nepop R K, Glebova A N. Lake systems in mountain borders of the Great Lakes Basin of Mongolia: From Pleistocene catastrophes to Holocene gradual evolution (case study from southwestern Tuva)[J]. Quaternary International, 2020, 538: 53-62.
- [35] Bronnikova M A, Konoplianikova Y V, Agatova A R, et al. Holocene environmental change in South-East Altai evidenced by soil record[J]. Geography, Environment, Sustainability, 2019, 11(4): 100-111.
- [36] Nepop R K, Agatova A R, Uspenskaya O N. Climatically driven late Pleistocene-Holocene hydrological system transformation and landscape evolution in the eastern periphery of Chuya Basin, SE Altai, Russia[J]. Quaternary International, 2020, 538: 63-79.
- [37] Komatsu G, Baker V R, Arzhannikov S G, et al. Catastrophic flooding, palaeolakes, and late Quaternary drainage reorganization in northern Eurasia[J]. International Geology Review, Taylor & Francis, 2016, 58(14): 1693-1722.
- [38] Weiss S, Grimm J, Gonçalves D V, et al. Comparative genetic analysis of grayling (*Thymallus* spp. Salmonidae) across the paleohydrologically dynamic river drainages of the Altai-Sayan Mountain region[J]. Hydrobiologia, 2020, 847(13): 2823-2844.
- [39] Peng W J, Han H X, Ma B. Genetic structure and phylogeographic divergence of *Thymallus brevicephalus* in the Ob-Irtysh River Headwaters[J]. Ecology and Evolution, 2024, 14(10): e70422.
- [40] Frankham R. Relationship of genetic variation to population size in wildlife[J]. Conservation Biology, 1996, 10(6): 1500-1508.
- [41] Dodd J R, Cowx I G, Bolland J D. Efficiency of a nature-like bypass channel for restoring longitudinal connectivity for a river-resident population of brown trout[J]. Journal of Environmental Management, 2017, 204(1): 318-326.
- [42] Bao J H, Li W W, Zhang C S, et al. Quantitative assessment of fish passage efficiency at a vertical-slot fishway on the Daduhe River in Southwest China[J]. Ecological Engineering, 2019, 141: 105597.
- [43] Meldgaard T, Nielsen E E, Loeschke V. Fragmentation by weirs in a riverine system: A study of genetic variation in time and space among populations of European grayling (*Thymallus thymallus*) in a Danish River system[J]. Conservation Genetics, 2003, 4(6): 735-747.
- [44] Whiteley A R, Hastings K, Wenburg J K, et al. Genetic variation and effective population size in isolated populations of coastal cutthroat trout[J]. Conservation Genetics, 2010, 11(5): 1929-1943.
- [45] Heo J, Jeon Y S, Ko M H, et al. Anthropogenic habitat interconnection provokes homogenization of allopatric freshwater fish: Concordance of genetic and phenotypic evidence[J]. Hydrobiologia, 2022, 849(15): 3335-3350.
- [46] Englmaier G K, Lecaudey L A, Schliewen U K, et al. Characterization of pure and admixed brown trout (*Salmo trutta*) populations of high conservation value in the upper Danubian contact zone using ddRADseq genotyping[J]. Hydrobiologia, 2024, 851(10): 2373-2388.

Population genetic diversity and historical dynamics of *Brachymystax lenok* in the Irtysh River, China

PENG Wenjie^{1,2}, MA Bo¹

1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; National Fishery Resources and Environment Fuyuan Observation Experimental Station; Heilongjiang River Basin Fishery Resources and Environment Scientific Observation Experimental Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150070, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Dalian Oceans University, Dalian 116023, China

Abstract: *Brachymystax lenok* (fine-scaled lenok) is a rare and endangered fish species found in the Irtysh River basin. In this study, we utilized mitochondrial Cyt b gene and D-loop (control region) sequences to analyze the population genetic structure of *B. lenok* in the Irtysh River, providing a theoretical basis for preserving its genetic diversity. Results indicated that 13 haplotypes (Hap1-13) were detected in the combined sequences of Cyt b (1063 bp)+D-loop (1089 bp) across 86 samples from 4 populations. Among these, Hap1 was centrally located in the haplotype network and widely distributed across populations, suggesting it is the ancestral haplotype. The haplotype diversity index (H_d) was 0.515, and the nucleotide diversity index (P_i) was 0.00040, indicating a low level of population genetic diversity. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that the genetic variation was primarily within populations (99.51%), with variation among populations accounting for only 0.49%, indicating a low level of genetic differentiation ($F_{st}=0.00491$, $P>0.05$) and no significant genetic differentiation among populations. The mismatch distribution curve showed a unimodal distribution, and the neutral test of Tajima's D (-2.022) and Fu's F_s (-9.530) were negative ($P<0.05$), and the test of SSD and Hir were not significant ($P>0.05$), suggesting that the *B. lenok* population in the Irtysh River underwent a historical expansion. Bayesian skyline plot (BSP) analysis indicated that the expansion occurred approximately 0.039 million years ago (Ma) and that the Irtysh River populations exhibited significant genetic differentiation from populations in other basins, such as the Heilongjiang (Amur River), Lena River, and Yenisei River, suggesting that the evolutionary history of these populations may be related to historical geological events such as the Sayan-Altaic orogeny, the Quaternary glaciation, and ancient hydrological changes in the Altai Mountains. We concluded that the *B. lenok* population in the Irtysh River basin can be identified as a distinct evolutionarily significant unit (ESU). It is recommended to effectively protect its natural spawning grounds and breeding populations, restore river connectivity to maintain gene flow between populations, avoid small population breeding during artificial propagation to prevent genetic drift and a reduction in genetic diversity, and prohibit the introduction of non-native stocks from other basins to prevent genetic pollution.

Key words: *Brachymystax lenok*; Cyt b gene; D-loop region; genetic diversity; the Irtysh River

Corresponding author: MA Bo. E-mail: hsymabo@163.com