•研究报告•

多基因联合揭示海南鲮的遗传结构与遗传多样性

向登高^{1,2}, 李跃飞², 李新辉², 陈蔚涛^{2*}, 马秀慧^{1*}

1. 贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025; 2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广州 510380

摘要: 海南鲮(*Culter recurviceps*)是我国华南地区重要经济鱼类, 由于受到近些年水利开发、过度捕捞、环境污染等诸多因素的影响, 其资源量快速下降, 亟需得到更多的关注和保护。为保护和合理开发海南鲮种质资源, 本研究采集了华南地区23个地理群体207尾海南鲮样本, 测定了2个线粒体基因(*Cytb*和*ND2*)并从Barcode of Life Data System数据库获得相对应线粒体*COI*基因, 结合多种分析方法(系统发育分析、分化时间估算、单倍型网状图、群体遗传分析和Mantel检验)对海南鲮的遗传结构和遗传多样性展开研究。系统发育分析和单倍型网状图表明华南地区海南鲮群体被分成3个谱系(I、II和III), 其中谱系I和III由珠江的群体组成, 谱系II由海南岛的群体组成。分化时间估算发现3个谱系之间的分化时间介于0.028–0.251 Ma之间, 表明华南地区更新世气候变化可能是造成海南鲮谱系分化的重要原因。群体遗传分析发现海南鲮群体之间存在极显著的遗传分化($F_{ST} = 0.511$, $P < 0.001$), 并且符合距离隔离模式($R = 0.348$, $P = 0.0010$)。群体动态历史分析表明, 海南鲮群体可能在0.010–0.025 Ma经历了群体扩张, 表明更新世的气候波动也影响了海南鲮的群体大小和分布。综上所述, 海南鲮群体由3个谱系组成, 更新世气候变化是导致3个谱系分化和影响海南鲮群体动态历史的重要因素。此外, 海南鲮群体之间的遗传分化也可能受到了空间距离的影响。

关键词: 海南鲮; 遗传结构; 遗传多样性; 多基因

向登高, 李跃飞, 李新辉, 陈蔚涛, 马秀慧 (2021) 多基因联合揭示海南鲮的遗传结构与遗传多样性. 生物多样性, 29, 1505–1512. doi: 10.17520/biods.2021166.

Xiang DG, Li YF, Li XH, Chen WT, Ma XH (2021) Population structure and genetic diversity of *Culter recurviceps* revealed by multi-loci. Biodiversity Science, 29, 1505–1512. doi: 10.17520/biods.2021166.

Population structure and genetic diversity of *Culter recurviceps* revealed by multi-loci

Denggao Xiang^{1,2}, Yuefei Li², Xinhui Li², Weitao Chen^{2*}, Xiuhui Ma^{1*}

1 College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025

2 Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380

ABSTRACT

Aim: *Culter recurviceps* (Cypriniformes: Cyprinidae) is an economic fish species in South China. Nevertheless, the resources of this species declined rapidly during recent years due to water conservancy, overfishing, and environmental pollution. Therefore, more attention and conservation measure are needed for this species. Population genetic analyses can both reveal genetic diversity and population structure of particular species and provide implications for management and conservation of these species. The aim of this study is to investigate the population genetic structure and genetic diversity of *C. recurviceps* and further provide implications for the preservation and reasonable development of its resources.

Methods: We collected 207 individuals from 23 populations in the drainages in Southern China. With respect to the 207 individuals, two mitochondrial genes (*Cytb* and *ND2*) were sequenced and the corresponding mitochondrial *COI* gene was obtained from the Barcode of Life Data System (BOLD) database. We then combined the three genes to study the genetic structure and genetic diversity of *C. recurviceps* populations. Multiple analyses including phylogenetic analysis, divergence time estimates, haplotype network, population genetic analyses, and Mantel tests were employed.

收稿日期: 2021-04-29; 接受日期: 2021-07-05

基金项目: 珠江渔业资源调查与评估创新团队项目(2020TD-10)

* 共同通讯作者 Co-author for correspondence. E-mail: ncuskchenweitao@163.com; lovemxh@126.com

Results: Phylogenetic analysis and haplotype network revealed that *C. recurviceps* populations contained three lineages (I, II and III). The members of lineages I and III contained populations from the Pearl River and the representatives of lineage II comprised of populations from the Hainan Island. Divergence time estimates indicated the three lineages were split between 0.028 and 0.251 million years ago (Ma), suggesting that Pleistocene climate change may have triggered the divergence of the three lineages. Population genetic analyses showed significant genetic differentiation ($F_{ST} = 0.511$, $P < 0.001$) and isolation by distance pattern ($R = 0.348$, $P = 0.0010$) was observed among *C. recurviceps* populations. Demographic analyses revealed that *C. recurviceps* populations might experience population expansion during 0.010–0.025 Ma, implying that Pleistocene climatic fluctuations have influenced the population size and distribution of *C. recurviceps* populations.

Conclusion: We observed that *C. recurviceps* populations in South China consisted of three mitochondrial lineages. Pleistocene climate changes have not only triggered the divergences of the three lineages, but also influenced the demographic history of *C. recurviceps* populations. Furthermore, spatial distance acted as a key factor that improved the population differentiation among *C. recurviceps* populations.

Key words: *Culter recurviceps*; population structure; genetic diversity; multi-loci

海南鲃(*Culter recurviceps*)隶属于鲤形目鲤科鲃亚科鲃属,主要分布于珠江水系以及海南岛河流中,是我国华南地区重要的经济鱼类(郑慈英, 1989)。然而,由于受到水利开发、过度捕捞、环境污染等诸多因素的影响,海南鲃的资源量下降,亟需予以关注和保护(李捷等, 2009; 帅方敏等, 2017)。

群体遗传学能够有效揭示物种遗传多样性及其地理分布结构,对于物种管理和保护策略的制定具有重要的指导意义(Avise et al, 1987; Manel et al, 2003; 轩中亚等, 2020; 周志雄等, 2020)。截至目前,关于海南鲃的研究主要集中于常规资源调查(李捷等, 2009)、人工繁殖技术(谢刚等, 1998)、毒性实验(许淑英等, 2001)等方面,而在遗传层面上的研究鲜有报道。仅见黎瑞宝(2013)^①利用线粒体ND2基因对珠江水系和海南岛水系的海南鲃遗传多样性进行的研究。然而,此项研究涉及的样本覆盖度有限,并且仅使用了一个基因标记,不能很好地反映海南鲃的遗传结构与遗传多样性。因此,非常有必要使用更高覆盖度的样本以及更多的遗传标记来开展海南鲃的群体遗传学分析,进而为其管理与保护提供科学参考。

本研究在珠江水系和海南岛水系采集海南鲃样本,基本覆盖了海南鲃分布的大部分江段。扩增了所有样本的线粒体Cytb和ND2基因并下载所有样本的对应线粒体COI基因序列,同时结合3个基因对海南鲃的遗传结构、遗传多样性和群体动态历史

展开研究。本文旨在揭示海南鲃的遗传结构,了解海南鲃遗传多样性的分布格局,并阐明海南鲃的群体动态历史,为海南鲃的管理和保护提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

2017–2020年期间,在珠江水系20个江段、海南岛3个江段共采集207尾海南鲃样本,共计23个地理群体(表1, 图1)。根据形态学鉴定后,剪取少量胸鳍并妥善保存在无水乙醇中,用来提取基因组DNA。

1.2 基因组DNA提取、扩增与测序

采用高盐法提取基因组DNA。首先选取了2个线粒体基因:线粒体细胞色素b (Cytb)和酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)脱氢酶亚单位2 (ND2)。2个基因扩增与测序的引物信息见附录1。PCR反应体系为25 μL: 2 × PCR mix (0.1 U/μL) 12.5 μL, 正反向引物(10 mM) 1 μL, DNA模板1 μL, 最后用无菌水补齐至25 μL。Cytb和ND2的PCR反应条件为: 95℃预变性3 min, 95℃变性1 min, 58–64℃退火1 min, 72℃延伸1 min; 运行30个循环后, 72℃延伸5 min。PCR产物经1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测,将扩增效果良好的产物交由测序公司双向测序。

1.3 数据处理与分析

测序获得的DNA序列采用Lasergene v7.1软件包(DNASTAR, Inc., USA)中的Seqman软件进行人工核查、校正及组装拼接。拼接完成的序列用MEGA 6.06软件(Tamura et al, 2013)进行多重比对,剪切掉冗余片段获得一致序列备用。此外,从Barcode of Life Data System (BOLD)数据库下载207尾海南鲃个

① 黎瑞宝 (2013) 中国海南鲃遗传多样性的比较研究. 硕士学位论文, 暨南大学, 广州。

表1 海南鲃样本采集信息

Table 1 Sampling information of *Culter recurviceps* specimens

群体 Population	样本量 Sample size	经纬度 Locality
海南岛水系 Hainan Island drainage		
白沙 Baisha (BS)	33	19°13' N/109°26' E
南丰 Nanfeng (NF)	15	19°25' N/109°33' E
定安 Dingan (DA)	4	19°40' N/110°21' E
珠江水系 Pearl River drainage		
从江 Congjiang (CJ)	9	25°44' N/108°55' E
崇左 Chongzuo (CZ)	14	22°16' N/107°22' E
桂平 Guiping (GP)	14	23°23' N/110°04' E
武宣 Wuxuan (WX)	2	23°35' N/109°40' E
古竹 Guzhu (GZ)	16	23°30' N/114°42' E
惠州 Huizhou (HZ)	11	23°06' N/114°24' E
江门 Jiangmen (JM)	4	22°34' N/113°07' E
横沥 Hengli (HL)	1	22°43' N/113°29' E
开平 Kaiping (KP)	5	22°22' N/112°41' E
柳州 Liuzhou (LZ)	5	24°18' N/109°23' E
柳城 Liucheng (LC)	8	24°38' N/109°14' E
南宁 Nanning (NN)	7	22°46' N/108°21' E
清远 Qingyuan (QY)	5	23°37' N/113°03' E
梧州 Wuzhou (WZ)	13	23°25' N/111°16' E
濠江 Mengjiang (MJ)	1	23°27' N/110°44' E
永福 Yongfu (YF)	12	24°59' N/109°59' E
郁南 Yunan (YN)	11	23°14' N/111°31' E
思林 Silin (SL)	12	23°30' N/107°20' E
韶关 Shaoguan (SG)	2	24°47' N/113°35' E
平乐 Pingle (PL)	3	24°37' N/110°38' E
总计 Total	207

图1 海南鲃样本采集地点示意图。不同颜色代表不同谱系。群体代号含义见表1。

Fig. 1 Map of sample sites of *Culter recurviceps* specimens. Different colors represent different lineages. Population codes see Table 1.

体对应的线粒体 COI 基因序列(BOLD项目名称: Barcodes of Culterinae Species; CUBAR), 并将3个线粒体基因联合成1条组合序列(CCN)进行后续分析。

利用DnaSP 5.10 (Librado & Rozas, 2009)统计联合基因的单倍型数, 并计算单倍型多样性(H_d)和核苷酸多样性(π)。采用Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010)软件进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA), 并计算样本量大于5的两两群体之间的遗传分化系数(F_{ST})。由于江门和横沥、武宣和桂平、柳州和柳城、濠江和梧州群体相隔较近且样本量较小, 因此将以上这些群体两两合并(JH、WG、ZC、MZ)进行遗传分化系数的计算。另外, 利用Mantel检验验证海南鲃群体是否符合距离隔离模式(isolation by distance)。Mantel检验分析使用Arlequin 3.5软件。所有在Arlequin软件的计算均使用1,000次的自展重复。为了解群体之间的进化关系, 使用Haploviewer软件构建单倍型网络图(Salzburger et al, 2011)。

使用MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003)构建海南鲃的系统发育树, 选取翘嘴鲃(*Culter alburnus*)作为外类群。利用MRMODELTEST 2.3 (Nylander et al, 2004)基于赤池信息量原则(AIC)选择最优的核苷酸替代模型(GTR + I + G)。贝叶斯系统发育树运算一共运行了 2×10^8 代, 每1,000代取样1次, 舍弃前25%的运行代数。

本研究利用中性检验和贝叶斯天际线两种方法对海南鲃的群体动态历史展开分析。首先, 在Arlequin 3.5中计算Fu's F_s (Fu, 1996)和Tajima's D (Tajima, 1989)值来检验群体是否经历群体扩张; 然后, 使用一种非参数估计的贝叶斯天际线来分析海南鲃过去的有效群体数目的变化。运用BEAST v1.8.1 (Drummond & Rambaut, 2007)软件中贝叶斯马尔科夫链的蒙特卡洛方法(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)进行贝叶斯天际线的计算。一般认为鲤科鱼类线粒体 $Cytb$ 的进化速率介于1%–2%之间 (Durand et al, 2002; Ketmaier et al, 2004), 我们粗略利用联合基因与 $Cytb$ 的Kimura-2 parameter (Kimura, 1980)遗传距离之比($CCN/Cytb = 0.67$)来估算联合基因的进化速率。基于此, CCN 按每百万年的进化速率主要介于0.67%–1.34%之间, 并利用两个临界进化速率分别构建贝叶斯天际线点图。最优核苷酸模型是GTR + I, 总共运行 10^9 代, 取样频率是

1,000。最后,在Tracer 1.5 (Drummond & Rambaut, 2007)生成贝叶斯天际线点图。

此外,基于联合基因序列,使用IMa2软件(Hey, 2010)计算海南鲈3个谱系之间的分化时间。分析基于IM模型进行,并利用马尔可夫链蒙特卡尔理论估算谱系的分化时间。首先,在M-mode下运行 10^7 代并舍弃前10%;然后,边界后验分布和最大似然参数值在L模式运算获得。核苷酸替代模型使用HKY模型,为确保似然率收敛,使用了40条马尔可夫链进行联合计算。在此项分析中,海南鲈的性成熟年龄为3年。每个位点的替代速率使用公式 $\mu = K \times u$,其中 μ 是序列的进化速率, K 是序列长度, u 是每个位点的替代速率。序列的进化速率与贝叶斯天际线使用的进化速率相同。

表2 基于CCN序列单倍型数、单倍型多样性、核苷酸多样性和中性检测。群体代号见表1。

Table 2 Number of haplotype, haplotype diversity, nucleotide diversity and neutrality tests based on CCN sequences. Population codes see Table 1.

群体 Population	单倍型数 Number of haplotype	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	中性检测 Neutrality tests	
				Tajima's D	Fu's Fs
BS	7	0.383 (± 0.107)	0.0002 (± 0.0001)	-1.75856**	-6.19981***
CJ	4	0.806 (± 0.089)	0.0021 (± 0.0003)	1.29983	2.70828
CZ	7	0.879 (± 0.058)	0.0009 (± 0.0001)	0.01278	-1.77070
GP	10	0.923 (± 0.060)	0.0011 (± 0.0001)	-0.27622	-5.21979***
GZ	10	0.917 (± 0.049)	0.0013 (± 0.0003)	-1.10830	-3.75174*
HZ	7	0.891 (± 0.074)	0.0014 (± 0.0002)	-1.41142	-1.25974
KP	4	0.900 (± 0.161)	0.0019 (± 0.0008)	-0.92693	0.35685
LZ	3	0.800 (± 0.164)	0.0026 (± 0.0006)	1.25408	2.74649
LC	5	0.893 (± 0.086)	0.0018 (± 0.0005)	-0.66317	0.49798
NF	2	0.133 (± 0.112)	0.0001 (± 0.0001)	-1.15945	-0.64899
NN	3	0.762 (± 0.115)	0.0006 (± 0.0002)	1.10686	0.78880
QY	5	1.000 (± 0.126)	0.0031 (± 0.0006)	0.40617	-0.71434
WZ	12	0.987 (± 0.035)	0.0022 (± 0.0004)	-1.15138	-6.16071***
YF	2	0.485 (± 0.106)	0.0004 (± 0.0001)	1.35640	2.32787
YN	5	0.782 (± 0.107)	0.0011 (± 0.0004)	-1.13653	0.36244
SL	9	0.909 (± 0.079)	0.0020 (± 0.0004)	-0.32946	-2.27867
DA	1	NA	NA	NA	NA
SG	2	NA	NA	NA	NA
PL	1	NA	NA	NA	NA
WX	2	NA	NA	NA	NA
JM	4	NA	NA	NA	NA
MJ	1	NA	NA	NA	NA
HL	1	NA	NA	NA	NA
总计 Total	52	0.912 (± 0.012)	0.0023 (± 0.0001)	-0.91788	-24.88587***

NA, 不可用; NA, Not available; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2 结果

2.1 序列信息

本研究成功获得了207尾海南鲈的*Cytb*和*ND2*。在序列两端截齐后,共获得:(1) 1,084 bp的*Cytb*序列,其中包含了22个变异位点和15个简约信息位点;(2) 734 bp的*ND2*序列,其中包含了16个变异位点和12个简约信息位点。下载的207条海南鲈*COI*序列长度为602 bp,其中包含了9个变异位点和5个简约信息位点。联合基因长度为2,420 bp 共界定了52个单倍型(表2)。

2.2 遗传多样性和遗传结构

每个群体的单倍型数、单倍型多样性和核苷酸多样性见表2。总体的单倍型多样性和核苷酸多样性

性值分别为 0.912 ± 0.012 和 0.0023 ± 0.0001 。各群体单倍型多样性范围在0.133–1.000之间,核苷酸多样性范围在0.0001–0.0031之间。

AMOVA分析结果表明海南鲃的总 F_{ST} 值为0.511,并且是极显著($P < 0.001$)。海南鲃两两群体之间的遗传分化系数 F_{ST} 如表3所示。两两群体之间的遗传分化系数介于0.000–0.921之间;此外发现海南岛的2个群体(白沙、南丰)与珠江水系群体(其他群体)之间都显示出较高并且极显著的 F_{ST} 值($F_{ST} > 0.6, P < 0.001$)。在120组 F_{ST} 中,有63组在统计学上为差异显著。此外, Mantel检验发现海南鲃群体之间符合距离隔离模式($R = 0.348, P = 0.0010$)。

根据海南鲃52个单倍型构建的贝叶斯发育树表明(图2),海南鲃形成了3个谱系(I、II和III);结合单倍型网络图发现,谱系I和III包括了珠江水系的群体,谱系II仅包含海南岛的3个群体(白沙、定安、南丰)。分化时间估算表明,谱系I和II发生在0.028–0.056 Ma之间, I和III发生在0.104–0.208 Ma之间, II和III发生在0.125–0.251 Ma之间。

2.3 群体动态历史

Fu's F_s 和Tajima's D 值见表2。在总的群体和白沙、桂平、古竹和梧州群体中检测到极显著的负值,

表明海南鲃可能经历了群体扩张。贝叶斯天际线点图(图3)结果显示,总群体海南鲃在0.025 Ma (0.67%的进化速率)和0.010 Ma (1.34%的进化速率)发生了群体扩张。

3 讨论

3.1 遗传多样性和遗传结构

根据贝叶斯进化树和单倍型网络图,发现珠江水系和海南岛水系的海南鲃群体可分为3个谱系(I、II、III)。谱系I由珠江水系的19个群体组成,谱系II由海南岛白沙、南丰、定安群体组成,谱系III由珠江水系的12个群体组成。表明海南岛群体与珠江水系群体存在显著的地理遗传结构。分化时间估算发现,谱系I和II分化发生在0.028–0.056 Ma之间, I和III分化发生在0.104–0.208 Ma之间, II和III分化发生在0.125–0.251 Ma之间,这些时间节点恰好与后更新世冰期的时间节点相一致。这表明更新世气候(冰期和间冰期)和海平面的波动可能对海南鲃的分化产生了重要的影响(Gascoyne et al, 1979)。已有研究表明,更新世冰期的气候变化和海平面波动导致了华南地区淡水鱼类的遗传分化,如东方墨头鱼(*Garra orientalis*) (Yang et al, 2016)、三角鲂

表3 两两群体之间 F_{ST} 值(对角线下)和显著性检验(对角线上)。群体代号见表1。
Table 3 Pairwise population F_{ST} values (below diagonal) and significance probability estimates (above diagonal). Population codes see Table 1.

	BS	CJ	CZ	WG	GZ	JH	NF	HZ	KP	ZC	MZ	NN	QY	SL	YF	YN
BS	0.000	***	***	***	***	***	NS	***	***	***	***	***	***	***	***	***
CJ	0.816	0.000	*	*	**	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS
CZ	0.859	0.160	0.000	NS	***	NS	***	***	NS	*	NS	NS	***	NS	NS	NS
WG	0.838	0.157	0.000	0.000	**	*	***	**	NS	NS	NS	NS	*	*	NS	NS
GZ	0.842	0.260	0.211	0.111	0.000	*	***	NS	*	*	NS	***	***	**	***	***
JH	0.849	0.000	0.237	0.234	0.307	0.000	***	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	*
NF	0.000	0.753	0.834	0.802	0.803	0.795	0.000	***	***	***	***	***	***	***	***	***
HZ	0.868	0.264	0.288	0.175	0.025	0.292	0.830	0.000	NS	*	NS	***	**	*	***	***
KP	0.876	0.000	0.021	0.021	0.142	0.000	0.847	0.150	0.000	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ZC	0.747	0.000	0.091	0.043	0.103	0.000	0.664	0.119	0.000	0.000	NS	NS	NS	NS	*	NS
MZ	0.765	0.050	0.010	0.000	0.036	0.058	0.691	0.057	0.000	0.000	0.000	NS	*	NS	NS	NS
NN	0.899	0.100	0.083	0.061	0.290	0.192	0.906	0.372	0.136	0.020	0.078	0.000	*	NS	NS	NS
QY	0.841	0.007	0.351	0.344	0.373	0.000	0.779	0.361	0.046	0.062	0.146	0.299	0.000	NS	**	*
SL	0.800	0.000	0.068	0.085	0.168	0.000	0.735	0.185	0.000	0.003	0.000	0.105	0.102	0.000	NS	NS
YF	0.913	0.211	0.000	0.024	0.209	0.324	0.921	0.314	0.053	0.113	0.028	0.227	0.429	0.066	0.000	NS
YN	0.854	0.093	0.000	0.000	0.161	0.146	0.821	0.228	0.000	0.043	0.000	0.107	0.218	0.013	0.000	0.000

NS, 不显著; NS, Nonsignificant; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

图2 分子系统树和单倍型网络图。(a)单倍型的分子系统树(数字代表后验概率);(b)海南鲃单倍型网络图;圆圈的大小对应单倍型频率。群体代号见表1。

Fig. 2 Bayesian tree and haplotype network. (a) Bayesian tree for *Culter recurviceps* (numbers indicated posterior probability); (b) Haplotype network of *C. recurviceps*. Cycle size is roughly proportional to the haplotype frequency. Population codes see Table 1.

图3 海南鲃贝叶斯天际线点图。(a)基于0.67%的进化速率;(b)基于1.34%的进化速率。

Fig. 3 Bayesian skyline plots of *Culter recurviceps*. (a) Based on 0.67% evolutionary rate; (b) Based on 1.34% evolutionary rate.

(*Megalobrama terminalis*) (Chen et al, 2020)。我国华南地区在更新世期间经历了多次冰期(Gascoyne et al, 1979)。间冰期期间,海平面上升,原本连通的海南鲃群体被海水阻隔,经历长时间隔离后,在0.104–0.251 Ma期间形成了谱系I和II的祖先群体和谱系III。进入冰期后,海平面下降,河流再次连通,海南岛和大陆之间形成陆桥,谱系I和II的祖先群体扩散至海南岛,然后由于进入间冰期后陆桥的消失

和琼州海峡的隔离作用导致海南岛群体与珠江水系群体形成明显的地理分化,在0.028–0.056 Ma期间形成谱系I和II (Chen et al, 2007; Qiu et al, 2008; Yang et al, 2016)。前期研究表明,琼州海峡是导致海南岛群体和大陆群体分化的一个关键因素,如福建纹胸鮡(*Glyptothorax fukiensis*) (Chen et al, 2007)、美丽小条鳅(*Micronemacheilus pulcher*) (Qiu et al, 2008)、东方墨头鱼(Yang et al, 2016)、三角鲂(Chen

et al, 2020)。此外, 谱系I和III的同域分布很可能是由于某次冰期期间海平面下降, 河流再次互通导致。

本研究发现海南鲃群体之间的总遗传分化系数达到较高水平($F_{ST} = 0.511$, $P < 0.001$), 并且超过50%的两两群体的 F_{ST} 值在统计学上是显著的, 表明海南鲃各群体之间存在着显著的遗传分化。由于物种的扩散能力有限, 因而空间距离是造成遗传分化的一个重要因素(Wright, 1943)。本研究通过Mantel检验发现海南鲃的遗传分化与空间距离呈现出显著的相关性, 表明除了地理隔离和古地质事件的因素外, 空间距离可能是导致海南鲃遗传分化的另外一个重要因素。

3.2 群体历史动态

在本研究中, 贝叶斯天际线分析检测到海南鲃经历近期群体扩张。基于0.67%和1.34%的进化速率估算出海南鲃群体扩张分别发生在距今0.025 Ma和0.010 Ma, 这个时间点刚好与华南地区后更新世冰期接近。研究表明, 我国华南地区在中更新世期间(0.786–0.126 Ma)经历了多次冰期, 并在后更新世期间(0.126–0.018 Ma)进入间冰期(Gascoyne et al, 1979)。间冰期气候回暖, 海平面上升, 营养物质丰富, 促进了海南鲃的群体扩张。因此, 更新世冰期与间冰期循环导致的气候波动影响了海南鲃的群体动态历史。

3.3 保护建议

本研究发现海南鲃的遗传多样性相对较低, 很有必要给予重点关注并采取有效措施加以保护。我们提出以下保护建议: (1)本研究界定了3个遗传谱系, 因此在制定保护管理策略上需要区别对待; (2)由于海南岛水系的群体形成了特有的谱系, 并且遗传多样性水平相较于珠江水系群体的遗传多样性水平低很多, 因此需要着重关注和保护。为了能够提出全面的保护措施, 后期亟需使用更多的标本量和分子标记来系统评估海南鲃的遗传多样性。

致谢: 感谢中国水产科学研究院珠江水产研究所珠江渔业资源调查与评估创新团队在样本收集时提供的帮助。

ORCID

陈蔚涛 <https://orcid.org/0000-0002-4324-1926>

马秀慧 <https://orcid.org/0000-0003-1057-5759>

参考文献

- Avice JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489–522.
- Chen WT, Li C, Chen FC, Li YF, Yang JP, Li J, Li XH (2020) Phylogeographic analyses of a migratory freshwater fish (*Megalobrama terminalis*) reveal a shallow genetic structure and pronounced effects of sea-level changes. *Gene*, 737, 144478.
- Chen XL, Chiang TY, Lin HD, Zheng HS, Shao KT, Zhang Q, Hsu KC (2007) Mitochondrial DNA phylogeography of *Glyptothorax fokiensis* and *Glyptothorax hainanensis* in Asia. *Journal of Fish Biology*, 70, 75–93.
- Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 214.
- Durand JD, Tsigenopoulos CS, Ünlü E, Berrebi P (2002) Erratum to “Phylogeny and Biogeography of the Family Cyprinidae in the Middle East Inferred from Cytochrome *b* DNA—Evolutionary Significance of This Region”. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 91–100.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564–567.
- Fu YX (1996) Estimating the age of the common ancestor of a DNA sample using the number of segregating sites. *Genetics*, 144, 829–838.
- Gascoyne M, Benjamin GJ, Schwarcz HP, Ford DC (1979) Sea-level lowering during the Illinoian glaciation: Evidence from a Bahama “Blue Hole”. *Science*, 205, 806–808.
- Hey J (2010) Isolation with migration models for more than two populations. *Molecular Biology and Evolution*, 27, 905–920.
- Ketmaier V, Bianco PG, Cobolli M, Krivokapic M, Caniglia R, De Mattheis E (2004) Molecular phylogeny of two lineages of Leuciscinae cyprinids (*Telestes* and *Scardinius*) from the peri-Mediterranean area based on cytochrome *b* data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32, 1061–1071.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–120.
- Li J, Li XH, Tan XC, Li YF, He MF, Luo JR, Lin JZ, Su SF (2009) Species diversity of fish community of Provincial Xijiang River Rare Fishes Natural Reserve in Zhaoqing City, Guangdong Province. *Journal of Lake Sciences*, 21, 556–562. (in Chinese with English abstract) [李捷, 李新辉,

谭细畅, 李跃飞, 何美峰, 罗建仁, 林建志, 苏少芳 (2009) 广东肇庆西江珍稀鱼类省级自然保护区鱼类多样性. 湖泊科学, 21, 556–562.]

Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25, 1451–1452.

Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003) Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. Trends in Ecology & Evolution, 18, 189–197.

Nylander JAA, Ronquist F, Huelsenbeck JP, Nieves-Aldrey J (2004) Bayesian phylogenetic analysis of combined data. Systematic Biology, 53, 47–67.

Qiu CF, Lin YG, Qing N, Zhao J, Chen XL (2008) Genetic variation and phylogeography of *Micronoemacheilus pulcher* populations among basin systems between western South China and Hainan Island. Acta Zoologica Sinica, 54, 805–813. (in Chinese with English abstract) [丘城锋, 林岳光, 庆宁, 赵俊, 陈湘舜 (2008) 华南西部及海南岛美丽小条鳅种群遗传变异与亲缘地理. 动物学报, 54, 805–813.]

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19, 1572–1574.

Salzburger W, Ewing GB, Von Haeseler A (2011) The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration. Molecular Ecology, 20, 1952–1963.

Shuai FM, Li XF, Liu QF, Li YF, Yang JP, Li J, Chen FC (2017) Spatial patterns of fish diversity and distribution in the Pearl River. Acta Ecologica Sinica, 37, 3182–3192. (in Chinese with English abstract) [帅方敏, 李新辉, 刘乾甫, 李跃飞, 杨计平, 李捷, 陈方灿 (2017) 珠江水系鱼类群落多样性空间分布格局. 生态学报, 37, 3182–3192.]

Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics, 123, 585–595.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version

6.0. Molecular Biology and Evolution, 30, 2725–2729.

Wright S (1943) Isolation by distance. Genetics, 28, 114–138.

Xie G, Pang SX, Xu SY, Ye X, Qi BL, Pan DB (1998) Artificial reproduction and embryo development of *Culter recurviceps*. Fisheries Science and Technology, (5), 23–25. (in Chinese) [谢刚, 庞世勋, 许淑英, 叶星, 祁宝仑, 潘德博 (1998) 海南红鲮人工繁殖和胚胎发育. 水产科技, (5), 23–25.]

Xu SY, Xie G, Qi BL, Ye X, Pang SX (2001) Study on the sensitivity of *Culter recurviceps* to aquatic drugs. Reservoir Fisheries, 21(1), 36–36. (in Chinese) [许淑英, 谢刚, 祁宝仑, 叶星, 庞世勋 (2001) 海南红鲮对水产药物的敏感性研究. 水利渔业, 21(1), 36–37.]

Xuan ZY, Jiang T, Liu HB, Chen XB, Yang J (2020) Genetic divergence of *Coilia nasus taihuensis* and *Coilia brachygnathus* populations based on the mitochondrial *Cyt-b* gene. Progress in Fishery Sciences, 41(4), 3340. (in Chinese with English abstract) [轩中亚, 姜涛, 刘洪波, 陈修报, 杨健 (2020) 基于线粒体 *Cyt-b* 序列的太湖湖鲢与短颌鲢种群遗传分析. 渔业科学进展, 41(4), 33–40.]

Yang JQ, Hsu KC, Liu ZZ, Su LW, Kuo PH, Tang WQ, Zhou ZC, Liu D, Bao BL, Lin HD (2016) The population history of *Garra orientalis* (Teleostei: Cyprinidae) using mitochondrial DNA and microsatellite data with approximate Bayesian computation. BMC Evolutionary Biology, 16, 73.

Zheng CY (1989) The Ichthyography of the Pearl River. Science Press, Beijing. (in Chinese) [郑慈英 (1989) 珠江鱼类志. 科学出版社, 北京.]

Zhou ZX, Liu B, Gong J, Bai YL, Yang JY, Xu P (2020) Phylogeny and population genetics of species in *Takifugu* genus based on mitochondrial genome. Journal of Fisheries of China, 44, 1792–1803. (in Chinese with English abstract) [周志雄, 刘波, 宫杰, 白玉麟, 阳俊逸, 徐鹏 (2020) 基于线粒体基因组的东方鲀属系统发育学及群体遗传学. 水产学报, 44, 1792–1803.]

(责任编辑: 何舜平 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 本研究使用的引物信息

Appendix 1 Primers used in the present study

<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021166-1.pdf>

向登高, 李跃飞, 李新辉, 陈蔚涛, 马秀慧 (2021) 多基因联合揭示海南鲃的遗传结构与遗传多样性. 生物多样性, 29, 1505–1512.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021166>

附录1 本研究使用的引物信息
Appendix 1 Primers used in the present study

基因	引物名	引物序列	退火温度	参考文献
Gene	Primer	Primer sequence (5'–3')	Annealed temperature (°C)	Reference
<i>Cytb</i>	L14724	GACTTGAAA AACCACCGTTG	58–64	Xiao et al, 2001
	H15915	CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC		
<i>ND2</i>	AFND2L	AAGCTYTYGGGCCCATACC	58	黎瑞宝, 2013
	AFND2R	TCCYGCTTAGGGCTTTGAAGG		

参考文献 References

黎瑞宝 (2013) 中国海南鲃遗传多样性的比较研究. 硕士学位论文, 暨南大学, 广州.

Xiao WH, Zhang YP, Liu HZ (2001) Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18, 163–173.