

文章编号:1000-0615(2009)06-0925-07

基于 mtDNA 控制区序列的拟平鳅遗传变异和种群分化

左艳玲¹, 林岳光², 梁晓旭¹, 马天峰¹, 庆宁¹

(1. 华南师范大学生命科学学院, 广东省高等学校生态与环境科学重点实验室, 广东 广州 510631;

2. 中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301)

摘要:采用 DNA 序列分析方法, 分析拟平鳅不同地理种群间的遗传变异和亲缘关系。共检测了 12 条水系 87 尾拟平鳅的 mtDNA 控制区序列, 在 477 bp 片段中有 95 个核苷酸变异位点, 其中 39 个单个多态位点, 56 个简约信息位点。系统发育分析(NJ)结果显示, 华南西部沿海地区拟平鳅 20 个单倍型分成 3 支; 分支 I 由广东西部独立入海水系和珠江水系的种群组成, 分支 II 由广西东部独立入海水系和海南岛昌化江的种群组成, 而海南岛的万泉河和南渡江种群聚合成分支 III。表明海南岛不同水系的拟平鳅已经发生了遗传分化, 一部分与广西的种群相似, 另一部分是海南特有的。3 个分支内的变异率(0.583% ~ 1.775%)都明显小于各分支间的变异率(4.205% ~ 5.715%), 也远小于各分支与外类群间的变异率(11.825% ~ 13.73%)。说明华南西部沿海和海南岛的拟平鳅已分化成 3 个在遗传上有明显差异的群。基于现在的地理格局, 研究曾经假设华南西部沿海独立水系种群与珠江水系种群的关系较密切, 而与海南岛种群的关系较疏远。分子变异分析(AMOVA)表明, 大部分的变异(65.04%)分布于地理区内种群间, 而地理区间的变异仅占 2.24%, 与假设不符。表明 12 条水系拟平鳅 mtDNA 控制区序列的遗传分化可能主要是由于第三纪水系的隔离, 而不是第四纪冰后期海南岛与大陆的分离所致。而第四纪盛冰期低海平面所造成的陆连, 使相互分离的水系有机会连接, 因此, 海南岛昌化江种群与广西沿海独立水系种群关系密切, 珠江水系种群保持与广东西部沿海独立水系种群的密切关系。而琼中海峡这个地理屏障形成的时间还不够长久, 并没有成为有效的生殖屏障。AMOVA 分析结果与上述 NJ 分析中各个分支之内的分子变异非常小的结果一致。

关键词:拟平鳅; mtDNA 控制区; 亲缘地理; 分化; 华南西部沿海; 海南岛

中图分类号:Q 951; S 917

文献标识码:A

拟平鳅(*Liniparhomaloptera disparis*)隶属于鲤形目(Cypriniformes), 平鳍鳅科(Homalopteridae), 腹吸鳅亚科(Gastromyzonidae), 拟平鳅属(*Liniparhomaloptera*), 为底栖的小型淡水鱼类^[1]。因分布区域的局限, 多年来对该种的研究仅见于平鳍鳅科的研究报道或各地方的鱼类资源调查报道中^[2-8], 未见专门针对拟平鳅的研究报道。我们自 2005 年 10 月至 2007 年 10 月对华南西部沿海独立水系、珠江水系和海南岛诸水系进行了多次采样调查, 发现拟平鳅主要分布于华南西部沿

海独立水系和海南岛诸水系, 在珠江水系中, 除在罗浮山(东江)采到样品外, 仅在西江的支流北流河的信宜附近采到, 而在西江向北发出的支流均未发现有拟平鳅。调查中发现, 不仅海南岛的拟平鳅与华南大陆的拟平鳅在形态上存在差异, 且海南岛昌化江的种群与南渡江和万泉河的种群也存在差异, 分布于华南大陆西部沿海诸独立入海小水系的种群间也存在一定的形态差异, 如体形的大小, 身体的花纹等, 但在可数性状上并不存在稳定的差异。

收稿日期:2008-12-10 修回日期:2009-05-19

资助项目:国家自然科学基金(30670286); 广东省自然科学基金(04010391)

通讯作者:庆宁, Tel: 13620426904, E-mail: qingn@scnu.edu.cn

本文采用 DNA 序列分析方法,分析拟平鳅不同地理种群间的遗传变异和亲缘关系,初步探讨其种群分化的原因以及华南西部沿海地区与海南岛、西江水系的关系,研究结果对进一步研究华南大陆与海南岛鱼类的亲缘地理关系具有重要的理论意义。

1 材料与方法

1.1 材料

样品采集于华南西部沿海地区和海南岛的 12 条水系,采集到的拟平鳅样品用 95% 乙醇保存。共检测了拟平鳅 87 尾,外类群(OUT)平舟原缨口鳅(*Vanmanenia pinchowensis*)为采自广东佛冈濠江(北江)的 2 个样品和广西昭平桂江(西江)的 2 个样品。拟平鳅样品的数量、采样地及所属水系见表 1。

1.2 基因组 DNA 的提取

取鱼背部肌肉 50 mg 于 1.5 mL 的 Eppendorf 管中,研磨后加入 1 mL TE 缓冲液,6 000 r/min 离心 2 min,去除上清液;加入 200 μ L TE 缓冲液、400 μ L 细胞裂解液和 8 μ L 蛋白酶 K(40 μ g/ μ L)混匀,置于 55 $^{\circ}$ C 水浴 60~90 min;加入 600 μ L 氯仿,摇匀后 12 000 r/min 离心 3 min,吸取 500 μ L 上清液并加入等体积沉淀液,混匀;室温放置 2 min 后 12 000 r/min 离心 3 min,倒掉上清液,立即向沉淀中加入 100 μ L 1.2 mol/L NaCl,轻轻振荡至 DNA 样品完全溶解;加入 300 μ L 冰冷乙醇并摇匀,-20 $^{\circ}$ C 静置 10 min;12 000 r/min 离心 5 min,吸去乙醇;70% 乙醇再洗涤后倒置室温干燥 10 min,再加入 100 μ L TE 缓冲液溶解 DNA;检测后 4 $^{\circ}$ C 备用或 -20 $^{\circ}$ C 保存。

表 1 不同水系拟平鳅样品的采集地、样品数、单倍型和序列多样性
Tab.1 Sample locations, sample size, haplotypes and diversity statistics of *Liniparhomaloptera disparis* in different drainage systems

水系 drainage systems	采样地 sample locations	样品数 sample size	单倍型(N*) haplotypes	变异位点数 number of polymorphic sites	单倍型多样性(h) haplotype diversity	核苷酸多样性(π) nucleotide diversity
峒中河 DZH	峒中(dz)/ 广西防城	8	DZHBLN(8)	0	0.000	0.000 00
北仑河 BLN	那良(nl)/ 广西防城	8	DZHBLN(8)	0	0.000	0.000 00
防城河 FCH	那勤(nq)/ 广西防城	11	FCH1(8),FCH2(3)	1	0.436	0.000 92
南流江 NLU	博白(bb)/ 广西玉林	8	NLU1(4),NLU2(4)	1	0.571	0.001 41
鉴江 JAN	池洞(cd)/ 广东信宜	8	JAN1(1),JAN2(3), JAN3(1),JAN4(3)	6	0.844	0.005 85
漠阳江 MOY	阳春(yc)/ 广东阳江	10	MOY1(8), MOY2(2)	1	0.356	0.000 88
潭江 TAN	古兜山(gds)/ 广东江门	4	TAN1(2), TAN2(2)	1	0.667	0.001 65
北流河 BLU	白石(bs)/ 广东信宜	7	BLU1(3), BLU2(4)	1	0.571	0.001 42
东江 DON	罗浮山(lfs)/ 广东惠州	7	DON(7)	0	0.000	0.000 00
万泉河 WQH	琼中(qz)/ 海南琼中	7	WQU(7)	0	0.000	0.000 00
南渡江 NDU	白沙(bs)/ 海南白沙	6	NDU(6)	0	0.000	0.000 00
昌化江 CHU	水满(sm)/ 海南五指山	4	CHU1(2),CHU2(2)	19	0.833	0.031 17
合计 total		87	20	95	0.929	0.036 30

注:*表示单倍型的标本数

Notes: * Number of the specimen with the same haplotype

1.3 PCR 扩增和序列测定

用于扩增 mtDNA 控制区序列的一对特异引物是 LI5923 (5'-TTA AAG CAT CGG TCT TGT AA-3') 和 HI6500 (5'-GCC CTG AAA TAG GAA CCA GA-3')^[9]。50 μ L 的 PCR 反应体系包括 10 \times PCR Buffer 5.0 μ L (含 MgCl₂ 20 mmol/L), dNTPMix 5.0 μ L (10 mmol/L), Taq 酶 2 U, 引物各 4.0 μ L (55 ng/ μ L), DNA 样品 8.0 μ L, 用去离子灭菌水补足 50 μ L。反应程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 然后进行 35 个循环, 每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用 1% 琼脂糖电泳检验样品扩增情况, 送英骏生物技术有限公司用 377 测序仪完成序列测定。

1.4 数据分析

用 CLUSTAL X 2.0 软件进行序列比对, 然后手工核对序列结果; 用 DNAsp 4.90.1 软件统计单倍型多样性 (h) 和核苷酸多样性 (π), 用 MEGA 4.0 软件统计种群间的遗传距离和碱基变异率, 并用邻接法 (NJ) 构建分支系统树; 用 ARLEQUIN 3.11 软件进行分子变异分析 (AMOVA)。

2 结果

2.1 mtDNA 控制区序列变异

共获得 12 条水系 87 尾拟平鳅的 mtDNA 控制区序列长 477 bp, 共有 95 个变异位点, 其中 39 个单个多态位点, 56 个简约信息位点, 有 7 处插入/缺失。各水系种群的碱基变化不大, A、C、T、

G 平均含量分别为 34.4%、19.0%、32.5% 和 14.1%, 其中 A+T 的含量为 67.0%, G+C 的含量为 33%, A+T 的含量明显高于 G+C 的含量; 平均转换与颠换比为 2:1。

2.2 序列的遗传多样性和单倍型

从 87 尾拟平鳅的 mtDNA 控制区序列数据共获得 20 个单倍型, 除北仑河 (BLN) 和峒中河 (DZH) 种群共享同一个单倍型外, 其他各水系种群间没有共享的单倍型 (表 1)。北仑河、峒中河、东江 (DON)、万泉河 (WQU) 和南渡江 (NDU) 种群均仅有 1 个单倍型; 鉴江 (JAN) 种群具有 4 个单倍型 6 个变异位点, 昌化江 (CHU) 种群具有 2 个单倍型 19 个变异位点, 这 2 个种群的单倍型多样性和核苷酸多样性较高 ($h > 0.8$, $\pi > 0.002$)。

由表 2 可见, 广西沿海各小水系 (BLN、DZH、FCH、NLU) 的种群之间, 广东沿海各小水系 (JAN、MOY、TAN) 和珠江水系 (BLU、DON) 的种群之间, 海南岛万泉河 (WQU) 与南渡江 (NDU) 种群之间的遗传距离和碱基变异率均较低, 而广东、广西、海南 3 个地区间的种群之间的遗传距离和碱基变异率均高于地区内种群间的值, 只有海南岛昌化江的种群特殊。昌化江种群与同属于海南岛的另外 2 条水系的种群之间, 以及与广东各水系 (含珠江支流) 种群之间的遗传距离和碱基变异率明显大于它与广西各水系种群之间的值, 提示昌化江种群与广西独立水系种群的亲缘关系较密切。拟平鳅各种群与外类群之间的遗传距离和碱基变异率都明显大于拟平鳅各种群间的数值。

表 2 不同水系拟平鳅种群间的遗传距离 (对角线下方) 和碱基变异率 (对角线上方)
Tab. 2 Genetic distance and percent of sequence variations between different drainage systems of *Liniparhomaloptera disparis*

	DZH	BLN	FCH	NLU	JAN	MOY	TAN	BLU	DON	WQU	NDU	CHU	OUT
DZH		0.00	2.84	3.21	3.89	4.55	3.79	4.04	4.81	6.58	5.56	3.55	13.00
BLN	0.000 0		2.84	3.21	3.89	4.55	3.79	4.04	4.81	6.58	5.56	3.55	13.00
FCH	0.037 4	0.032 2		0.83	3.82	4.48	3.76	3.97	4.30	6.31	5.32	3.01	12.16
NLU	0.035 2	0.035 2	0.013 3		3.58	3.81	3.72	3.77	4.09	6.12	4.85	3.28	12.36
JAN	0.048 3	0.048 3	0.041 6	0.048 3		0.65	0.10	0.40	0.66	5.93	5.68	4.17	11.70
MOY	0.053 3	0.053 3	0.043 4	0.053 3	0.010 6		0.76	1.07	0.51	5.76	5.51	4.83	11.95
TAN	0.056 5	0.056 5	0.040 8	0.040 6	0.007 3	0.011 9		0.30	0.75	6.06	5.81	4.07	11.97
BLU	0.042 0	0.042 0	0.037 4	0.042 0	0.008 6	0.013 3	0.006 6		1.06	5.86	5.61	3.87	11.73
DON	0.046 2	0.046 2	0.044 2	0.046 2	0.010 6	0.006 6	0.009 9	0.011 9		5.30	5.05	4.32	11.89
WQU	0.069 0	0.069 0	0.073 6	0.068 3	0.067 4	0.063 0	0.060 0	0.064 5	0.057 3		1.77	5.58	11.97
NDU	0.060 4	0.060 4	0.059 0	0.053 3	0.064 6	0.060 2	0.063 2	0.061 7	0.054 5	0.018 7		5.32	12.94
CHU	0.040 6	0.040 6	0.038 1	0.037 1	0.069 3	0.073 7	0.065 0	0.066 3	0.070 8	0.088 7	0.076 7		15.30
OUT	0.184 5	0.184 5	0.169 2	0.174 2	0.168 0	0.166 5	0.167 3	0.162 2	0.167 3	0.167 3	0.180 7	0.202 0	

2.3 系统发育关系

为了检测华南西部沿海和海南岛不同水系的拟平鳅种群间的关系,将基于 mtDNA 控制区序列所获得的 20 个单倍型进行了系统发育分析,采用 NJ 法构建系统发育树(图 1)。系统树提示,华南西部沿海地区拟平鳅 20 个单倍型聚合成 3 支(I、II 和 III):分支 I 由广东独立入海水系(JAN、MOY、TAN)和珠江支流(BLU、DON)的

种群组成(节点支持率为 95%);分支 II 由广西独立入海水系(DZH、BLN、FCH、NLU)和海南岛昌化江(CHU)水系的拟平鳅种群组成(节点支持率为 74%);而海南岛主要水系万泉河(WQU)和南渡江(NDU)的种群聚合成分支 III(节点支持率为 97%)。2 个水系的外类群聚在一起位于系统发育树的根部。系统发育树中 3 个分支间及其与外类群的碱基变异率见表 3。

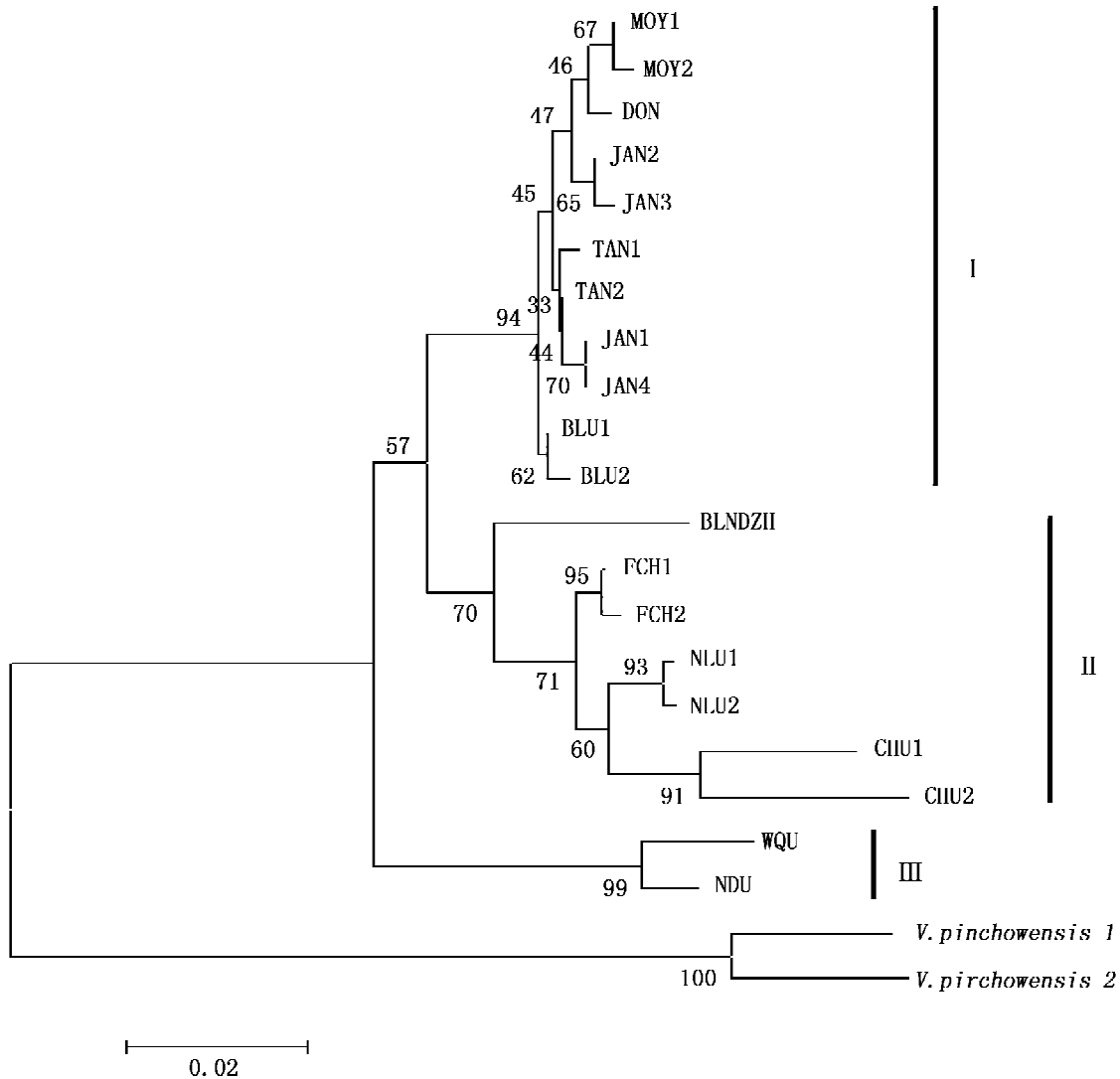


图 1 拟平鳅 mtDNA 控制区单倍型 NJ 树
 Fig. 1 NJ tree of haplotypes for *Liniparhomaloptera disparis* based on mtDNA control region

表 3 拟平鳅 3 个分支的平均变异率

Tab. 3 Average percentage of sequence variations between 3 clades of <i>Liniparhomaloptera disparis</i> %				
	I	II	III	OUT
I	0.585(0.10 ~ 1.07)			
II	4.205(3.87 ~ 4.83)	1.775(0.00 ~ 3.55)		
III	5.555(5.05 ~ 6.06)	5.715(4.85 ~ 6.58)	1.77	
OUT	13.73(12.16 ~ 15.30)	11.825(11.70 ~ 11.95)	12.455(11.97 ~ 12.94)	2.4

2.4 分子变异分析(AMOVA)

为了了解华南西部沿海地区与海南岛、珠江水系这 3 个区域的关系和其中生活的拟平鳅的种群变异分布模式,将拟平鳅 12 个种群分成 3 个地理区,进行分子变异分析(AMOVA)。海南岛的南渡江(NDU)、万泉河(WQU)和昌化江(CHU)

为一地理区;珠江为一地理区,包括西江支流北流河(BLU)及东江(DON);华南大陆沿海西部诸独立入海小水系为另一地理区。结果显示,大部分的变异分布于地理区内种群间,约占 65.04%,种群内的变异占 32.72%,地理区间的变异仅占 2.24%(表 4)。

表 4 拟平鳅分子变异分析(AMOVA)

Tab. 4 Analysis of molecular variance among populations of *Liniparhomaloptera disparis*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	变异组成 variance components	变异百分比 percentage of variation
地理区间(φ_{CT}) among regions	2	5.276	0.011 30 V_a	2.24
地理区内种群间(φ_{SC}) among populations within regions	8	20.263	0.328 70 V_b	65.04
种群内(φ_{SC}) within populations	68	11.246	0.165 38 V_c	32.72
合计 total	78	36.785	0.505 39	100

3 讨论

平鳍鳅科鱼类是东洋区淡水鱼类区系的典型代表,由于适应山溪急流环境,栖息地较固定,容易形成地理分化^[3,10]。拟平鳅是分布在华南西部沿海和海南岛的平鳍鳅科鱼类,因此是研究这一地区淡水鱼类演化和亲缘地理的理想材料。通过对不同水系的种群进行亲缘关系的分析,可以了解此地区水系过去所经历的历史演化事件^[11-12]。本文研究了华南大陆西部沿海地区和海南岛共 12 条水系的拟平鳅,其 mtDNA 控制区部分序列的单倍型多样性和核苷酸多样性($h=0.929$, $\pi=0.036 30$)与同处这一地区的中间黄颡鱼 *Pelteobagrus intermedius* 的相应数据($h=0.813$, $\pi=0.005 42$)相比,具有较高的数值^[13],显示该物种的遗传多样性较高,适于进行亲缘地理的研究。

拟平鳅 mtDNA 控制区序列的 20 个单倍型所聚成的 3 个分支(图 1)说明海南岛和华南西部沿海的拟平鳅已分化成 3 个在遗传上有明显差异的种群。首先,海南岛不同水系的拟平鳅已经发生了遗传分化,一部分与广西的种群相似,另一部分是海南特有的。同时,华南大陆西部沿海地区的种群也发生了遗传分化,珠江水系种群与广东沿海独立水系种群的关系密切,而与广西沿海独立水系的种群较疏远。广西沿海独立水系和海南

岛昌化江的种群组成的分支 II 与海南岛万泉河和南渡江的种群(分支 III)之间的分化程度高于其与广东西部沿海独立水系和珠江水系种群(分支 I)之间的分化程度。结果提示,拟平鳅可能已经发生分化,但对于不同地理种群的亲缘关系有待进一步研究。

分子变异分析(AMOVA)结果与 NJ 分析中各个分支之内的分子变异非常小的结果一致。拟平鳅主要分布在华南西部沿海独立水系和海南岛诸水系,在珠江水系中,除在罗浮山山溪(东江)采到样品外,仅在西江的支流北流河的信宜附近采到,而在西江向北发出的支流均未发现有拟平鳅,其分布范围仅限于北回归线以南。在拟平鳅现在的分布区域中,海南岛是一个独立的岛屿,华南大陆西部沿海独立水系和珠江水系均位于大陆,与海南岛以琼州海峡相隔。基于现在的地理格局,我们曾经假设华南西部沿海独立水系种群与珠江水系种群的关系较密切,而与海南岛种群的关系较远。但对这 3 个区域进行的 AMOVA 分析结果却与我们的假设不符,大部分的变异分布于地理区内种群间,约占 65.04%,而地理区间的变异仅占 2.24%(表 4)。表明 12 条水系拟平鳅 mtDNA 控制区序列的遗传分化主要是由于水系的隔离,而不是海南岛与大陆的分离所致。淡水鱼类的迁移受淡水水系的限制,陆地河流的水系隔离是由山系分水岭等造成。由于第三纪海南

岛中部山区隆起,造成海南岛各水系分流入海不相会合^[14];华南大陆西部沿海的各小水系之间互相分隔,与珠江水系不相联系;这些都是山系的隔离所致。而第四纪盛冰期低海平面时期造成的陆连,使这些相互分离的水系有机会连成统一的大水系,原来分离的种群有机会进行交流。这些交流导致海南岛昌化江种群与广西东部沿海独立水系种群、珠江水系种群与广东西部沿海独立水系种群的密切关系。而琼洲海峡这个地理屏障形成的时间还不够长久,并没有形成有效的生殖屏障。对于拟平鳅而言,将华南西部沿海诸独立水系(包括广东和广西)划分为一个地理区并不合适,广东和广西交界处的云开大山山系可能是有效的地理屏障。

地质构造的变化不仅影响鱼类现今的分布,同时也导致种群发生遗传分化。在12条水系的拟平鳅中,昌化江的种群值得特别注意。从遗传距离和变异率(表2)可见,昌化江种群与同处海南岛的万泉河和南渡江种群间的差异较大(0.076 7~0.088 7,5.32%~5.58%),而与广西沿海的4条独立水系的差异较小(0.037 1~0.040 6,3.01%~3.55%),在NJ系统发育树中昌化江与广西独立水系种群聚成一支。拟平鳅从大陆向海南岛扩散的途径和方向之一,可能是由广西与越南交界地区通过北部湾向海南岛西部的昌化江方向,这在第四纪冰期陆连时是可行的途径^[15]。因为海南岛是在南海大陆架上,在第四纪全新世(距今10 000年前)还是和大陆相连着的。由于海南岛中部山地第三纪末期已经形成,由多雨山区发源的河流也四散分流,独自入海,不相联系汇合^[14]。拟平鳅的昌化江种群与万泉河和南渡江种群在第三纪海南岛中部山地形成后就已分离,而昌化江与广西沿海独立水系种群在第四纪冰期还有机会进行基因交流。因此可以解释昌化江种群与万泉河和南渡江种群的亲缘关系较远,而与广西沿海独立水系种群的关系密切。

华南师范大学的江海声教授对我们在海南岛的样品采集给予了大力协助,美国罗德岛生物保护研究所(The Conservation Agency)的卢文华和James Lazell博士撰写了本文的英文摘要,本项目同时得到美国Falconwood Foundation的基金资助,在此一并表示衷心的感谢!

参考文献:

- [1] 乐佩琦. 中国动物志硬骨鱼纲 鲤形目[M]. 下卷. 北京:科学出版社,2000:446-449.
- [2] 陈宜瑜. 中国平鳍鳅科鱼类系统分类的研究Ⅱ. 腹吸鳅亚科鱼类的分类[J]. 水生生物集刊,1980,7(1):95-119.
- [3] 陈宜瑜. 中国平鳍鳅科鱼类系统分类的研究Ⅲ. 平鳍鳅科鱼类的系统发育[J]. 动物分类学报,1980,5(2):200-211.
- [4] 郑慈英,陈宜瑜. 广东省的平鳍鳅科鱼类[J]. 动物分类学报,1980,5(1):89-101.
- [5] 郑慈英,陈银瑞,黄顺友. 云南省的平鳍鳅科鱼类[J]. 动物学研究,1982,3(4):393-402.
- [6] 李树青. 福建省平鳍鳅科鱼类的研究[J]. 水产学报,1998,22(3):260-264.
- [7] 陈 旻,黄 宁,李红敬. 广西平鳍鳅科鱼类及其地理分布研究[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版),2002,15(2):204-207.
- [8] 唐文乔,陈宜瑜. 平鳍鳅鱼类的分类学研究[J]. 上海水产大学学报,2003,9(1):1-10.
- [9] Katsutoshi W, Zhang C G, Zhao Y H. Redescription of the East Asian bagrid catfish, *Pseudobagrus kyphus* Mai, 1978, and a new record from China[J]. Ichthyol Res, 2002,49:384-388.
- [10] 陈宜瑜,曹文宣,郑慈英. 珠江的鱼类区系及其动物地理区划的讨论[J]. 水生生物学报,1986,10(3):228-236.
- [11] Bermingham E, Martin A P. Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fish: testing shared history of infer the evolutionary landscape of lower Central America [J]. Mol Ecol,1998,7: 499-517.
- [12] Bernachez L, Wilson C C. Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes [J]. Mol Ecol,1998,7: 431-452.
- [13] 庆 宁,吕凤义,廖伟群,等. 中间黄颡鱼种群遗传变异与亲缘生物地理[J]. 动物学报,2007,53(5):845-852.
- [14] 曾昭旋,曾宪中. 海南岛自然地理[M]. 北京:科学出版社,1989.
- [15] Harold K V. Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations [J]. Journal of Biogeography, 2000, 27: 1153-1167.

Genetic variation and population differentiation of *Liniparhomaloptera disparis* (Cypriniformes: Homalopteridae) based on mtDNA sequences in the control region

ZUO Yan-ling¹, LIN Yue-guang², LIANG Xiao-xu¹, MA Tian-feng¹, QING Ning¹

(1. Key Laboratory of Ecology and Environmental Science in Guangdong Higher Education, College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

2. South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China)

Abstract: This study investigated population genetics and phylogenetics of *Liniparhomaloptera disparis* (Cypriniformes: Homalopteridae) among river drainages on Hainan Island and in coastal western South China, using nucleotide sequences in the mtDNA control region. Samples were taken from 3 major river systems on Hainan Island (Province), 2 major branches of the Pearl River system in Guangdong Province, and 7 independent coastal river systems in Guangdong and Guangxi Provinces. Hainan Island and coastal western South China were connected at the last glacial maximum about 10 thousand years ago. This study thus contributes to the understanding of phylogeography of different fishes from Hainan Island and the South China mainland. A total of 87 individuals from these 12 drainages were used in sequencing; we found 95 variable nucleotide sites among 477 base pairs, with 39 singleton sites and 56 parsimoniously informative sites. Neighbor-joining (NJ) analysis with 20 haplotype nucleotides in the control region revealed 3 monophyletic clades. The Pearl River system and the independent coastal drainages in western Guangdong Province are closely related (clade I); the independent coastal drainages in eastern Guangxi Province group tightly with the Changhuajiang River on Hainan Island (clade II); the Wanquanhe and Nandujiang River drainages on Hainan Island form a lineage distinctly separate from the others (clade III). This indicates that populations of *L. disparis* on Hainan Island are genetically differentiated into 2 lineages, one similar to those in Guangxi Province, and the other unique. The variation within a clade (0.583% – 1.775%) was much lower than that between clades (4.205% – 5.715%) or that between clades and outgroups (11.825% – 13.73%), demonstrating that *L. disparis* in these 12 drainage systems in coastal western South China and Hainan Island has divided into 3 genetically distinguishable groups. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that most of the genetic variation resided among populations within a geographic region (65.04%) with little variation between geographic regions (2.24%), rejecting our null hypothesis based on current disjunct geography that populations from the independent drainages in coastal western South China were closely related to those from the Pearl River but distantly related to those from Hainan Island. Variation in the mtDNA control region may have occurred due to drainage separation by montane uplift in the Tertiary, and cannot postglacial disjunction of Hainan Island from the mainland in the Quaternary. This geographic barrier has not existed long enough to effect reproductive isolation, leaving close relationships of populations from the Changhuajiang River on Hainan Island with those from the independent coastal drainages in eastern Guangxi Province. Glacial maxima sea level recessions facilitated connections of different river systems, allowing those from the independent coastal drainages in western Guangdong Province to remain closely related to those from the Pearl River system. Our AMOVA is consistent with the small variation within a clade revealed by the NJ analysis. Speciation within *L. disparis* and phylogenetic positions among clades require further study.

Key words: *Liniparhomaloptera disparis*; mtDNA control region; phylogeography; differentiation; coastal western South China; Hainan Island