

黄颡鱼群体遗传变异分析

周伟¹, 王俊², 金斌松³, 高天翔⁴, 宋娜^{1*}

(1. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

3. 南昌大学生命科学学院, 江西 南昌 330031;

4. 浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山 316022)

摘要: 为了解中国黄颡鱼群体遗传变异规律, 基于线粒体DNA控制区片段对本研究采集到的5个群体和文献收集的4个群体共258尾黄颡鱼进行群体遗传多样性、遗传结构、基因交流和群体历史动态分析。结果显示, 在长度为413 bp的控制区片段上, 9个群体的单倍型多样性在 $0.336 \pm 0.095 \sim 0.700 \pm 0.078$ 之间, 核苷酸多样性为 $0.087\% \pm 0.096\% \sim 0.258\% \pm 0.208\%$ 。基于所有单倍型构建的系统发育树结果显示不存在明显的谱系结构。单倍型网络图显示存在两个主单倍型。遗传结构分析显示不同水系间存在显著的遗传结构差异, 其中洪泽湖和射阳河群体遗传结构位置不确定。群体历史动态分析表明, 黄颡鱼群体存在群体扩张事件, 扩张时间发生在末次间冰期时期。研究表明, 9个群体遗传多样性呈现中—低等水平; 射阳河和洪泽湖群体与长江和黄河水系在历史上尤其在黄河夺淮期间存在广泛的基因交流, 导致其遗传结构位置不确定。黄颡鱼有效种群数量变化与第四纪冰期—间冰期气候波动有一定关系, 中更新世气候转型后的末次间冰期升温可能导致了黄颡鱼群体扩张。

关键词: 黄颡鱼; 线粒体DNA控制区; 遗传多样性; 遗传结构; 基因流; 群体历史动态
中图分类号: Q 347; S 917.4 **文献标志码:** A

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*), 属鲇形目(Siluriformes)、鲿科(Bagridae)、黄颡鱼属(*Pelteobagrus*), 是一种重要的淡水名优经济鱼类, 广泛分布于黑龙江、黄河、长江及珠江各水域^[1]。近些年来, 渔业的过度捕捞, 水环境的污染和破坏等人为干扰因素导致黄颡鱼资源量急剧下降。黄颡鱼的种质资源现状以及群体遗传多样性和遗传结构的研究, 对科学保护和合理利用黄颡鱼资源有重要作用。遗传多样性是物种、生态系统和景观生态多样性的基础, 为探索物种演化历史、遗传进化潜力和对环境因子的容受力提供有力证据。研究表明, 地理屏障、基因交流和不同环境对物种的选择压力会导致群体遗传结构发生变化^[2-4]。明确群

体遗传结构, 不仅为物种群体细分提供方法^[5], 还对推断物种的进化历史和物种的区域保护和管理做出正确的指导^[6-7], 也为界定物种范围提供更有力的证据。

线粒体DNA(mt DNA)由于其没有基因重组现象和突变速率快等特点, 成为开展物种群体遗传学研究的有效分子标记手段。目前, 基于分子标记对黄颡鱼群体遗传多样性研究较多^[8], 如方耀林等^[9]基于线粒体ND1/2基因分析表明长江中游黄颡鱼群体遗传差异不显著。库喜英等^[10]基于线粒体Cyt b基因对中国长江、珠江、闽江、辽河、韩江和富春江6个水系黄颡鱼群体进行分析, 结果表明黄颡鱼在10.1~14.1万年前发生过群体扩张事件。钟立强等^[11]基于Cyt b基因对长

收稿日期: 2015-11-01 修回日期: 2016-05-08

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303048, 201303050)

通信作者: 宋娜, E-mail: songna624@163.com

江中下游巢湖、溇湖、太湖、鄱阳湖和洪泽湖5个湖泊群体进行遗传变异分析表明5个地理群体没有分化成明显的谱系分支,群之间存在广泛的基因交流,所有群体存在扩张事件。刘朋朋等^[12]基于线粒体D-loop对以上5个湖泊群体进行群体遗传学分析,发现洪泽湖群体和其他群体之间遗传分化相对较大,所有群体存在扩张事件。

到目前为止,黄颡鱼群体遗传学分析主要局限于对中国长江及以南群体遗传多样性和遗传结构的研究。本研究采集了中国牡丹江、黄河和长江等多个水系黄颡鱼样品,基于线粒体DNA控制区部分序列对其遗传多样性、遗传结构、基因交流和群体历史动态进行研究,以期为中国黄颡鱼的资源保护和开发提供资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究所用黄颡鱼样品于2013—2015年来自中国多个水系,样品采集地点包括:黄河河南洛阳段、山东莱州小清河、江西盐城射阳河、江西鄱阳湖和黑龙江镜泊湖(图1,表1)。样品经形态鉴定后,取其背部肌肉于95%的酒精中于-20℃保存备用。同时,从GenBank数据库中下载序列号为JX262291-JX262362序列,得到安徽巢湖、江苏溇湖、江苏洪泽湖和江苏太湖共115个个体序列用于比较分析^[12](图1)。

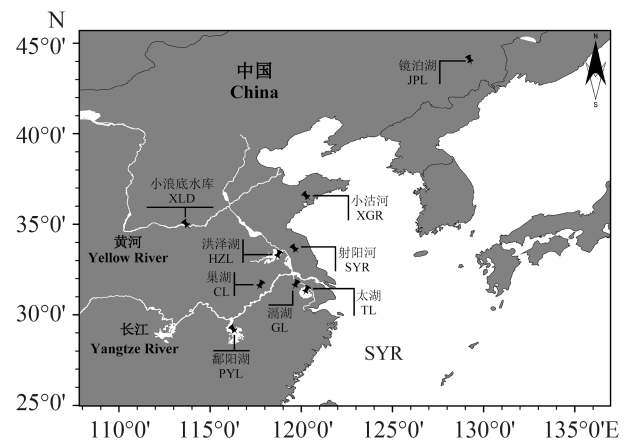


图1 黄颡鱼采样地点

Fig. 1 Sampling locations for *P. fulvidraco*

1.2 DNA提取

采用蛋白酶K和苯酚/氯仿法提取黄颡鱼基因组DNA,并通过琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性,置4℃保存备用。

1.3 PCR扩增与产物测序

采用引物L15923^[13](5'-TTAAAGCATCGGTCTTGTA-3')和H16500^[14](5'-GCCCTGAAATAGGAACCAGA-3')扩增mtDNA控制区的第一高变区(Hypervariable region I; HVR I)。将纯化、回收后的PCR产物送到上海桑尼生物科技有限公司,采用ABI Prism 3700自动测序仪对序列双向测定。

表1 黄颡鱼采样信息和群体遗传多样性指数

Tab. 1 Sample information and genetic diversity indices for *P. fulvidraco*

群体 populations	编号 ID	采样日期 sampling date	样品数量 sample size	单倍型数量 haplotypes numbers	多态位点数 polymorphic sites	单倍型多样性 haplotype diversity	核苷酸多样性 nucleotide diversity	平均两两碱基差异 mean pairwise nucleotide differences
黑龙江镜泊湖 ^a	JPL	2014.06	37	4	5	0.336±0.095	0.087±0.096	0.361±0.357
山东小清河 ^a	XGR	2013.08	35	3	2	0.565±0.041	0.123±0.119	0.509±0.441
河南小浪底水库 ^a	XLD	2013.07—2015.01	11	4	6	0.673±0.123	0.258±0.208	1.066±0.761
江苏射阳河 ^a	SYR	2013.01	35	5	5	0.617±0.049	0.178±0.150	0.734±0.559
江西鄱阳湖 ^a	PYL	2014.01	25	7	9	0.537±0.115	0.137±0.128	0.565±0.476
江苏洪泽湖 ^b	HZL	—	29	7	9	0.700±0.078	0.227±0.179	0.937±0.663
安徽巢湖 ^b	CL	—	28	5	9	0.471±0.103	0.179±0.152	0.740±0.565
江苏溇湖 ^b	GL	—	30	5	6	0.536±0.097	0.150±0.135	0.618±0.501
江苏太湖 ^b	TL	—	28	7	8	0.688±0.084	0.205±0.167	0.847±0.619

注: a.本研究采集的群体样本; b.由GenBank下载JX262291-JX262362序列所得到的群体样本

Notes: a. the samples in this study; b. the samples from GenBank

1.4 序列和遗传多样性分析

所有序列均由DNASTar软件包(DNASTAR, Inc., Madison和USA)进行编辑、校对和排序, 并采用Clustal X2和MEGA 7.0软件进行序列比对和人工校正。基于BIC衍生的决策论(decision-theoretic performance-based; DT)搜索策略, 采用jModelTest 2.1.6^[15]计算HVRI碱基替代模型。使用Arlequin 3.5^[16]软件分析计算分子多态性指数。

1.5 系统发育关系分析

通过PAUP 4^[17]和MrBayes 3.1.2^[18]分别构建单倍型邻接关系树(neighbor-joining tree; NJ)和贝叶斯树(bayes inference tree; BI)。基于群体间遗传距离, 采用MEGA 7.0软件构建群体UPGMA(unweighted pair-group method with arithmetic mean)和NJ聚类树。

通过TCS 1.21^[19]的联合最大简约树(union of maximum parsimonious tree, UMPT)和Arlequin 3.5的最小跨度树(minimum spanning trees; MST)构建单倍型网络图。UMPT中权重最高的单倍型被认为是最古老的单倍型, 即为祖先单倍型^[19], 本研究中用粗线圈表示。

1.6 群体遗传结构和基因流分析

通过SAMOVA 2.0^[20]软件对群体进行预先分组来探索分组合理性, 其中 F_{CT} 值最大的一组为最佳分组。采用Arlequin 3.5软件进行分子方差分析(AMOVA), 计算两两群体 F_{ST} 值及确切 P 检验值。AMOVA进行群体细分的分组策略为: (1)分为一组; (2)由SAMOVA 2.0预测结果进行分组; (3)根据聚类分析结果进行分组; (4)按照地理位置分组。

采用Lamarc 2.1.10^[21]软件进行近期基因流分析, 根据最大似然法计算群体迁移率(immigration rate; M)、有效种群大小(θ)和每世代的迁入数量(θM)。

1.7 群体历史动态分析

通过Arlequin 3.5 软件计算核苷酸不配对分布(mismatch distribution)模拟群体数量(demographic expansion)和空间扩张(range expansion)。运用Beast 1.8^[22]软件中贝叶斯天际线(bayesian skyline plot; BSP)检测群体历史群体大小变动。

2 结果

2.1 序列分析

扩增得到长度为516 bp的黄颡鱼mtDNA控制

区序列片段, 其中包括103 bp的tRNA和413 bp的HVRI片段。在103 bp的tRNA片段上, 并未检测到变异位点。将GeneBank数据库中下载的黄颡鱼JX262291-JX262362的序列进行比对, 截取413 bp的HVRI同源片段进行后续分析。

在所得到的258条HVRI序列片段中共检测到18个变异位点, 其中包括10个简约信息位点和8个单一位点; 观测到4次插入缺失和20次替换, 其中包括13次转换和7次颠换; 定义了22个单倍型, 其中包括7个共享单倍型和15个独有单倍型。基于决策论法计算得到序列替换模型为HKY+I ($I=0.9150$)。

2.2 遗传多样性分析

基于HVRI片段序列分析, 黄颡鱼9个群体的单倍型多样性为 $0.336 \pm 0.095 \sim 0.700 \pm 0.078$, 核苷酸多样性为 $0.087\% \pm 0.096\% \sim 0.258\% \pm 0.208\%$ 。其中, JPL群体遗传多样性水平为最低; XGR、PYL、CL和GL群体遗传多样性水平次之; XLD、SYR、TL和HZL群体遗传多样性相对较高(表1)。

2.3 群体遗传关系分析

以长须黄颡鱼(*P. eupogon*)和光泽黄颡鱼(*P. nitidus*)为外群, 构建的黄颡鱼单倍型邻接关系树和贝叶斯树并未显示出明显的分支或与地理相对应的谱系结构(图2)。

基于距离法构建的UPGMA和NJ聚类树显

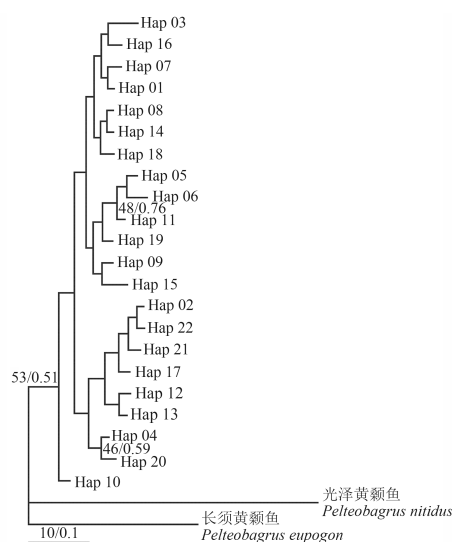


图2 以长须黄颡鱼和光泽黄颡鱼构建的黄颡鱼单倍型NJ/BI系统发育树

Fig. 2 Unrooted neighbor-joining tree and Bayesian tree of mtDNA control region 22 haplotypes

示：PYL、GL、CL和TL聚为一类，为长江组群(YtR组群)；XLD、XGH和JPL聚为一类，以黄河组群(YwR组群)为代表表示；SYR与YtR组群聚为一支；HXL在UPGMA树中与YwR组群聚为一支，在NJ树中聚为YtR组群(图3)。

基于TCS构建的统计联合简约树和Arlequin构建的最小跨度树均显示存在两个主体单倍型，其他单倍型辐射状分布在这两个单倍型周围，其中祖先单倍型中包括除XGR之外的其他所有群体，且主要由长江组群群体组成(图4)。

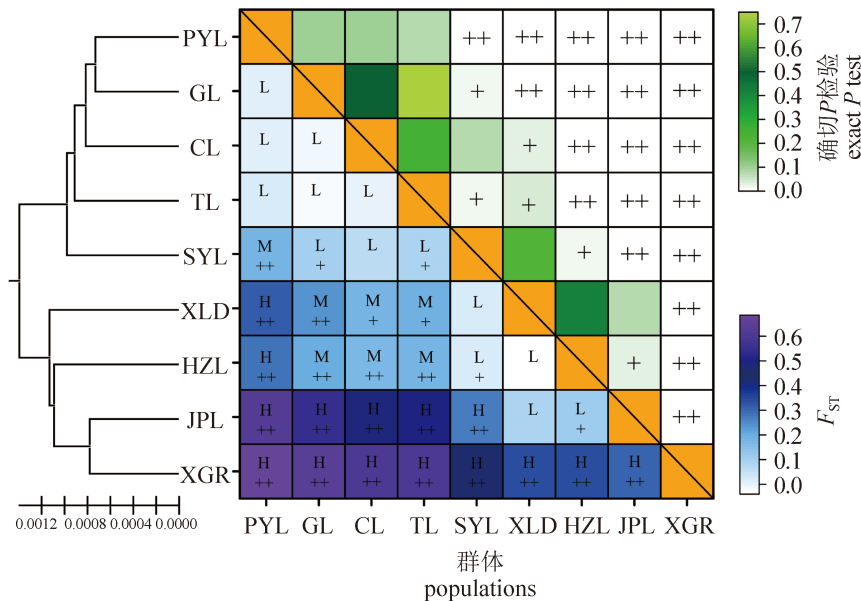


图3 黄颡鱼群体UPGMA聚类树(左)、 F_{ST} 值(右左下三角)和确切P值(右右上三角)

根据 F_{ST} 值大小，把群体间遗传差异程度分为低(-1~0.15)、中[0.15~0.25)和高[0.25, 1)水平，分别用L、M和H表示，“+”表示为0.05显著性水平，“++”表示为0.01显著性水平。

Fig. 3 UPGMA cluster tree (left), F_{ST} (right, below diagonal) and exact P test (right, above diagonal) of *P. fulvidraco*

The level of genetic differentiation computed by pairwise F_{ST} , low (-1, 0.15), middle [0.15, 0.25) and high [0.25, 1), was respectively noted by L, M and H; the plus and two-plus sign represented the significance level of 0.05 and 0.01

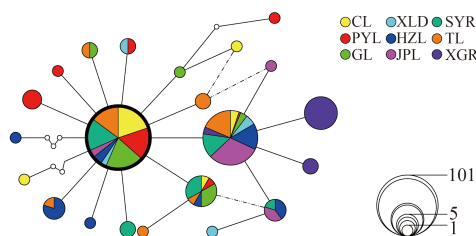


图4 黄颡鱼单倍型网络图

单倍型间的连线段代表突变次数，虚线只由UMPT产生，实线由UMPT和MST同时产生，祖先单倍型由粗线圈表示

Fig. 4 Haplotypes network showing genetic relationship in nine populations of all 22 haplotypes for *P. fulvidraco*

The line joining haplotypes represented one nucleotide substitution and dotted lines were only generated by UMPT

2.4 群体遗传结构

SAMOVA分析结果显示最佳分组为2组：JPL

和XGR分为一组，其他群体分为一组(图5)。SAMOVA结果显示黄颡鱼群体间存在显著的遗传结构，群体间的变异来源占32.44%。基于SAMOVA分析、聚类分析和地理位置分组策略分析表明：YtR群体和YwR群体能够显著分开；JPL分到黄河组群较合适；HZL和SYR群体分到长江组群 Φ_{CT} 值最大，单独分为一组时显著性最高(表2，图5)。

两两群体 F_{ST} 值显示：YwR组群群体(XLD、XGR、JPL)与YtR组群群体(PYL、GL、CL、TL)间存在中—高且显著的遗传差异；YtR组群内群体间存在低且不显著的遗传差异；YwR群体内的群体之间XLD和JPL群体差异较小，其他差异均较大；HZL和SYR群体与其他群体间遗传差异呈现由低到高水平，两群体之间 F_{ST} 值为负，表明群体间的差异小于两群体内的平均差异；XGR群体与其他所有群体均存在显著较大的遗传分化。确切P检验也得到类似的结果，结

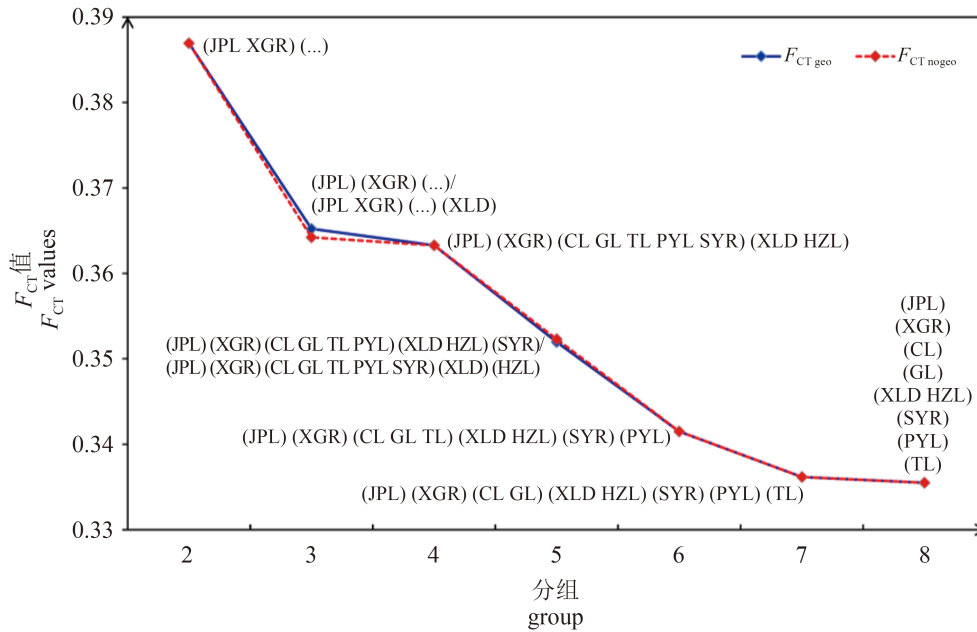


图 5 黄颡鱼群体SAMOVA预分组

Fig. 5 Defining groups of populations for *P. fulvidraco* with or without constraint for geographic composition of the groups

表 2 黄颡鱼群体分子方差分析

Tab. 2 Genetic structuring of *P. fulvidraco* populations based on mitochondrial control region

结构检验 structure tested	观测部分 observed partition		统计检验 statistics	
	协方差 variance	比例/% percentage	Φ statistics	P
1. 单个基因池 one gene pool (JPL, XGR, XLD, HZL, SYR, CL, PYL, GL, TL)				
群体间(AP)	0.161Va	32.44	Φ _{ST} =0.324	0.000±0.000
群体内(WP)	0.334Vb	67.56		
2. 两个基因池 two gene pools (JPL, XGR) (XLD, HZL, SYR, CL, PYL, GL, TL)				
组群间(AG)	0.229Va	37.02	Φ _{CT} =0.370	0.026±0.002
组群内群体间(AP/WG)	0.056Vb	9.02	Φ _{SC} =0.143	0.000±0.000
群体内(WP)	0.334Vc	53.96	Φ _{ST} =0.460	0.000±0.000
3-1. 两个基因池 two gene pools (JPL, XGR, XLD, HZL) (SYR, CL, PYL, GL, TL)				
组群间(AG)	0.199Va	34.13	Φ _{CT} =0.341	0.007±0.001
3-2. 两个基因池 two gene pools (JPL, XGR, XLD) (HZL, SYR, CL, PYL, GL, TL)				
组群间(AG)	0.213Va	35.31	Φ _{CT} =0.353	0.013±0.001
4-1. 三个基因池 three gene pools (JPL) (XGR, XLD, HZL, SYR) (CL, PYL, GL, TL)				
组群间(AG)	0.136Va	25.37	Φ _{CT} =0.254	0.036±0.002
4-2. 三个基因池 three gene pools (JPL) (XGR, XLD) (HZL, SYR, CL, PYL, GL, TL)				
组群间(AG)	0.191Va	32.98	Φ _{CT} =0.330	0.016±0.002
4-3. 四个基因池 four gene pools (JPL) (XGR, XLD) (HZL, SYR) (CL, PYL, GL, TL)				
组群间(AG)	0.172Va	32.51	Φ _{CT} =0.325	0.003±0.001

果显示YtR组群群体间存在随机交配现象，其他大多数群体间不存在随机交配现象(图3)。

2.5 基因流

由于SYR和HZL间遗传差异较小以及近期两河流有较大流通，因此把这两个群体分为一组，为淮河射阳组群(Huai-She)。通过Lamarck软

件计算YtR组群、YwR组群和Huai-She组群间的近期基因流。结果显示组群间存在不对称的基因交流现象，Huai-She组群的迁入数量较高，YtR组群迁入数量其次，YwR组群迁入数量最低；YwR组群对Huai-She组群和YtR组群存在较大的迁出数量；长江组群和淮河组群存在广泛的基因交流(表3)。

表 3 黄颡鱼群体基因流和对应95%置信区间估算

Tab. 3 Maximum-likelihood estimates among three groups of the effective population size (Θ) and the number of immigrants per generation (ΘM)

组群 group	有效种群大小 theta (Θ)	近期迁移数量/每世代 recent migration		
		$M_{YtR \rightarrow i}$	$M_{Huai-She \rightarrow i}$	$M_{YwR \rightarrow i}$
长江组群 YtR	0.009 (0.007, 0.011)	-	7.696	3.227
淮河-射阳组群 Huai-She	0.006 (0.004, 0.007)	6.224	-	8.023
黄河组群 YwR	0.002 (0.002, 0.003)	3.370E-05	0.313	-

2.6 群体历史动态

黄颡鱼所有群体显著偏离中性，核苷酸不配对分布数量和空间扩张模型表现为单峰分布，提示黄颡鱼群体扩张(图6)。核苷酸不配对分布拟合优度检验显示，观测分布和期望分布拟合较差(表3)，群体扩张动态参数可能会有一些偏差^[23-24]。由于未找到黄颡鱼控制区合适的进化速率，设黄颡鱼线粒体控制区序列的突变速率为 u 每位点每百万年。黄颡鱼群体的群体数量扩张和空间扩张时间大约在 $t=1.334 \times 10^{-3}/u$ Mya左右。

由于核苷酸不配对分布和中性检验两种方法基于分离位点和单倍型频率推导群体历史动态，因此有时不能充分利用DNA序列的动态历史信

息^[25-26]。BSP进一步分析显示：黄颡鱼所有群体有效种群快速增长发生在 $t=9.400 \times 10^{-3}/u$ Mya左右，较核苷酸不配对分布估算值小；有效种群数量(NeT)在快速增长后达到 $5.600 \times 10^4/u$ (中值)或 $1.200 \times 10^5/u$ (均值)(图7)。

黄颡鱼长江组群与其他群体存在显著的遗传结构差异且采样相对完整，因此对其进行群体历史动态检验^[24, 27]。结果显示长江组群存在数量和空间明显的扩张事件(图6)，其群体扩张时间大约在 $t=9.600 \times 10^{-4}/u$ Mya左右，BSP曲线显示黄颡鱼长江组群的有效群体快速增长发生在 $t=1.102 \times 10^{-3}/u$ Mya左右，有效种群数量(NeT)在快速增长后达到 $2.200 \times 10^4/u$ (中值)或 $4.800 \times 10^4/u$ (均值)(图7)。

表 4 黄颡鱼所有群体和长江组群中性检验和核苷酸不配对分析参数

Tab. 4 Neutrality test and the indices of mismatch distributions for sudden and spatial expansion of all populations and Yangtze River deme

分组 group	中性检验 neutrality test				扩张模型 model	核苷酸不配对分布 mismatch distribution					
	Tajima's D		Fu's F_S			拟合优度检验 test of goodness-of-fit			群体动态参数 demographic parameters		
	D	P	F_S	P		SSD	P_{SSD}	H_{tri}	$P_{H_{tri}}$	τ	M
所有群体 all populations	-1.684	0.013	-18.052	0.00	数量 sudden	0.012	0.009	0.124	0.000	1.102	-
长江组群 YtR deme	-1.824	0.009	-11.413	0.00	空间 spatial	0.012	0.000	0.000	1.099	99999	-
					数量 sudden	0.005	0.124	0.106	0.085	0.793	-
					空间 spatial	0.005	0.030		0.098	0.792	99999

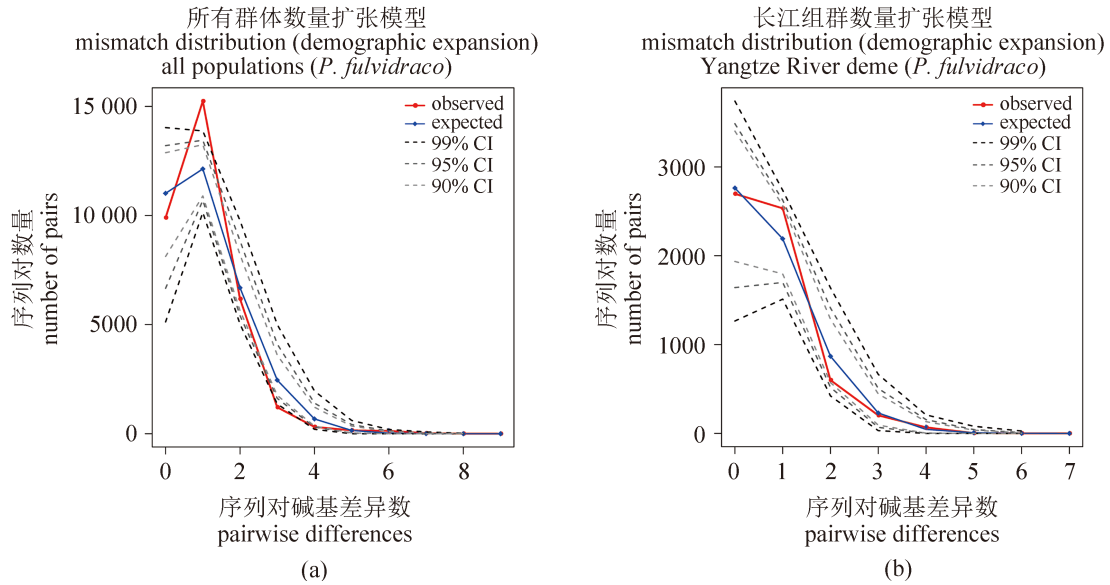


图 6 黄颡鱼所有群体(a)和长江组群(b)数量扩张模型核苷酸不配对分布图

Fig. 6 Mismatch distribution for demographic expansion based on mtDNA control region sequences of all populations (a) and Yangtze River deme (b)

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

遗传多样性是生物多样性的核心组分之一, 对物种的稳定和发展起重要作用^[28]。本研究基于双向测序, 每一条序列碱基位点都有正反两条序列完全覆盖, 确保序列的可信度。根据HVRI分析结果发现所有群体呈现出中—低水平的遗传多样性, 结果与Watanabe等^[29]基于414 bp相同片段对俄罗斯、中国和朝鲜共60尾黄颡鱼中检测到较低的遗传多样性结果一致。钟立强等^[11]和刘朋朋等^[12]分别基于Cyt *b*和D-loop全序列比较分析发现长江中下游5个湖泊存在较高的单倍型多样度和较低的核苷酸多样性, 遗传多样性检测结果比本研究高。刘朋朋等^[12]对5个群体进行HVRI和D-loop全序列比较分析发现, HVRI序列遗传多样性指数与D-loop全序列相比较低, 但是群体遗传多样性指数的大小顺序基本不变。黄颡鱼5个群体D-loop序列变异主要集中在Poly T和C碱基位点和保守序列区, 从而导致D-loop全序列相对HVRI序列单倍型多样度和核苷酸多样性显著升高。

黄颡鱼所有个体HVRI序列的碱基替换模型HKY+I(I=0.915), 258条序列只有22个单倍型和10个简约信息位点, 可以看出黄颡鱼HVRI突变速率较慢。黄颡鱼HVRI片段中较低的序列变异可能与群体发生瓶颈效应之后种群HVRI片段未

在短时间内累积大量的突变^[30-31], 环境选择压力小, 或者在冰期等环境压力选择下HVRI部分的遗传信息发生了丢失有关^[32]。

3.2 遗传结构和基因流

不同水系黄颡鱼群体之间的遗传差异较大主要是由于地理隔离导致较小的基因交流, 但是系统发育树上并未表现出明显的谱系分支, 表明地理隔离时间不长, 并未累积较大的突变。HZL和SYR群体之间较小的遗传差异可能与近期淮河和射阳河的相互连通和侵蚀有一定关系。相同水系群体间存在较小的遗传差异与河流的流通性和中国水系多变相连有重要关系。聚类分析显示长江、黄河两个类群分别聚类, 但是单倍型网络图显示两类群间不存在明显的谱系结构, 人为养殖活动也可能对野生黄颡鱼群体遗传结构有一定影响。

黄颡鱼产粘性卵, 为湖泊定居性鱼类, 不同生物区系间的遗传差异相对于洄游性鱼类较大, 区系间基因交流以河流变动因素和人为引种等被动迁移为主。近期基因流结果显示, 黄河和长江对洪泽湖和射阳河存在较大的基因交流。历史时期(1128—1855 AD)黄河袭夺淮水, 促使淮河及其洪泽湖等湖泊水量大增, 河水流入长江, 至此淮河成为长江的一条支流^[33-35]。黄颡鱼黄河群体可能迁入到洪泽湖区, 并发生基因交流, 洪泽湖黄颡鱼群体可能迁入长江流

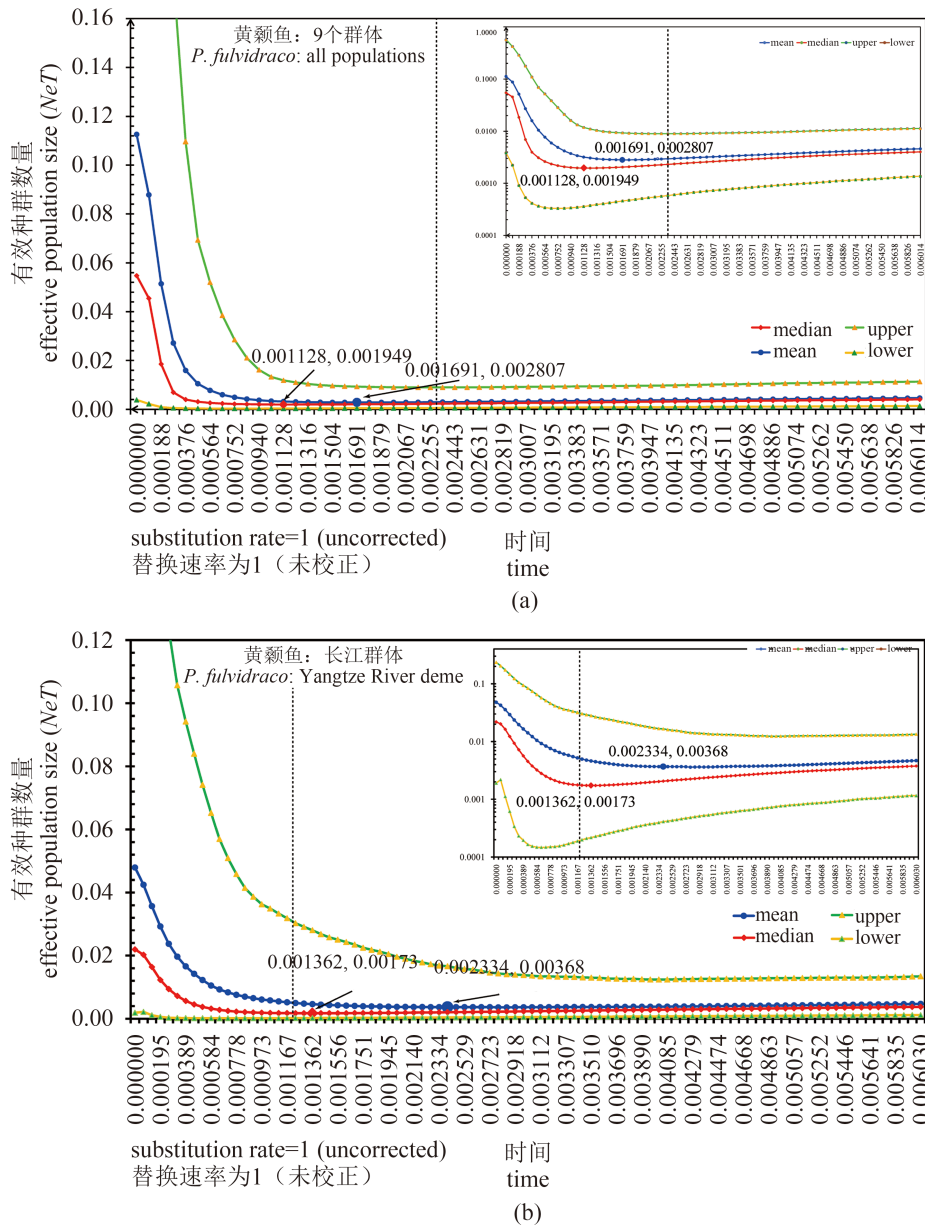


图7 黄颡鱼所有群体(a)和长江组群(b)BSP分析(未经速率校正 $R=1$)

Ne : 有效种群大小; T : 世代时间; 未经速率校正, $R=1$

Fig. 7 Bayesian skyline plots showing changes through time of NeT with uncorrected substitution rate ($R=1$)

(Ne =effective population size; T =generation time) with uncorrected substitution rate ($R=1$) based on mtDNA control region sequences of all populations and Yangtze River deme

域, 并发生基因交流。

里下河地区(以射阳湖为中心)是射阳河的发源地, 在4.0 ka BP—1128 AD之前, 射阳湖为古潟湖, 曾发生多次海侵^[36], 期间湖群水道密集, 互为连通, 长江水流可通过射阳湖再次流入淮河^[37-38]。1128 AD之后黄、淮、运河等曾多次溃决流水入射阳湖区, 湖水淡化^[37-39]。里河下区的黄颡鱼群体可能随着河湖水体的逐渐淡

化, 长江和黄河中下游水系及其淮河等附属水系对里河下区的侵蚀导致黄颡鱼迁移至湖区, 并适应、定居, 发生种群增长。

3.3 群体历史动态

Donaldson和Wilson^[40]估算鱼类的mtDNA控制区的分歧速率为 $3.6\% \pm 0.46\%$ 每位点每百万年。Burrige等^[41]通过较古老的河流隔离事件估算

Galaxiid科鱼类的进化速率在1.1%~2.6%每位点每百万年之间。本研究采用Cyt *b* 1.7%~2%的分歧速率计算得到黄颡鱼控制区的分歧速率大约为1.9%~2.4%。

基于1.9%~2.4%的分歧速率估算得到黄颡鱼所有群体数量和空间扩张大约在晚更新世0.078~0.099 Ma B.P., 长江组群扩张和空间扩张大约在0.080~0.126 Ma B.P., 较库喜英等^[10]基于线粒体Cyt *b*基因估算黄颡鱼群体扩张为0.101~0.141 Ma B.P.略晚, 但同样位于中更新时晚期海洋同位素MIS5时期, 发生在末次间冰期(0.128~0.075 Ma B.P.), 末次间冰期的气温上升、冰川消融可能对黄颡鱼数量和栖息地发生扩张。

Grant等^[32]指出受到环境因子较大影响的物种(如末次盛冰期对太平洋鲱鱼产生较大的影响), 环境因子导致物种之前的mtDNA遗传信号丢失, BSP曲线较为平坦, 之前的种群大小变动消除。黄颡鱼所有群体和长江组群BSP曲线均表现出早期的平坦(图7), 这可能是冰期等事件使黄颡鱼HVRI序列遗传信号发生丢失。尽管黄颡鱼为营底栖生活鱼类, 冬季会到深水越冬, 对环境的适应能力较强, 但是第四纪中更新世冰期—间冰期循环交替导致气候波动等环境因子变化可能对黄颡鱼有效种群的收缩和扩张起着重要作用(图7)。

本研究利用HVRI分子标记分析了9个地理群体的遗传多样性和遗传结构。研究表明黄颡鱼群体表现出中等偏低的遗传多样性水平, 这与HVRI较低的分歧率有关。同时, 近些年来, 水环境污染, 栖息地和产卵场的破坏同样可能会导致群体遗传多样性的降低。遗传结构表明各个水系之间差异显著, 因此, 对于不同水系的黄颡鱼群体, 应设置不同的保护单元, 采取不同的保护策略, 以防区域化的渔业资源衰竭。射阳河群体和洪泽湖群体与长江和黄河水系间存在较大的基因交流, 这与历史时期黄河袭夺淮河有很大关系, 这两个地理群体可以采取相同的保护策略。黄颡鱼群体存在群体扩张事件可能与中更新世末次间冰期气温升高有一定关系。

感谢介子林研究员、刘曼红副教授、李渊博士等为本实验提供黄颡鱼样品。

参考文献:

[1] 褚新洛, 莫天培, 戴定远. 中国动物志[M]. 北京: 科学

出版社, 1999, 152-156.

Chu X L, Zheng B S, Dai D Y. Fauna Sinica (Teleostei): Siluriformes[M]. Science Press, Beijing. (in China), 1999, 152-156 (in Chinese).

[2] Slatkin M. Gene flow and selection in a cline[J]. Genetics, 1973, 75(4): 733-756.

[3] Barbujangi G, Sokal R R. Genetic population structure of Italy. II. Physical and cultural barriers to gene flow[J]. American Journal of Human Genetics, 1991, 48(2): 398-411.

[4] Palstra F P, O'Connell M F, Ruzzante D E. Population structure and gene flow reversals in Atlantic salmon (*Salmo salar*) over contemporary and long-term temporal scales: effects of population size and life history[J]. Molecular Ecology, 2007, 16(21): 4504-4522.

[5] Excoffier L. Analysis of population subdivision[M]. John Wiley & Sons, Ltd, 2001.

[6] Avise J C. Molecular Markers, natural history and evolution. 2nd edition[M]. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 2004.

[7] Kronholm I, Loudet O, Meaux J. Influence of mutation rate on estimators of genetic differentiation—lessons from *Arabidopsis thaliana*[J]. BMC Genet, 2010, 11(1): 33.

[8] 张国松, 侯新远, 尹绍武, 等. 黄颡鱼属(*Pelteobagrus*) 鱼类遗传多样性的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 174-179.

Zhang G S, Hou X Y, Yin S W, *et al.* Research progress of genetic diversity of *Pelteobagrus*[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2014, 42(3): 174-179 (in Chinese).

[9] 方耀林, 汪登强, 刘绍平, 等. 长江中游湖泊中黄颡鱼线粒体DNA的遗传变异[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 56-61.

Fang Y L, Wang D Q, Liu S P, *et al.* Variation in mitochondrial DNA of *Pelteobagrus fulvidraco* from three lakes in the Middle Yangtze River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(1): 56-61 (in Chinese).

[10] 库喜英, 周传江, 何舜平. 中国黄颡鱼的线粒体DNA多样性及其分子系统学[J]. 生物多样性, 2010, 18(3): 262-274.

Ku X Y, Zhou C J, He S P. Validity of *Pseudobagrus sinensis* and mitochondrial DNA diversity of *Pseudobagrus fulvidraco* populations in China[J]. Biodiversity Science, 2010, 18(3): 262-274 (in Chinese).

[11] 钟立强, 刘朋朋, 潘建林, 等. 长江中下游5个湖泊黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)种群线粒体细胞色素*b*基因的遗传变异分析[J]. 湖泊科学, 2013, 25(2): 302-308.

Zhong L Q, Liu P P, Pan J L, *et al.* Genetic variation analysis of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

- from five lakes in the middle and lower reaches of the Yangtze River based on Mitochondrial DNA Cyt *b*[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2013, 25(2): 302-308 (in Chinese).
- [12] 刘朋朋, 钟立强, 潘建林, 等. 基于线粒体D-loop区分析黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)五个淡水湖泊群体的遗传多样性[J]. *海洋与湖沼*, 2013, 44(30): 728-733.
Liu P P, Zhong L Q, Pan J L, *et al.* Population genetics in mitochondrial DNA control region for five fresh-water yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 44(30): 728-733 (in Chinese).
- [13] Iguchi K, Tanimura Y, Nishida M. Sequence divergence in the mtDNA control region of amphidromous and landlocked forms of ayu[J]. *Fisheries Science*, 1997, 63(6): 901-905.
- [14] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus*[J]. *Fisheries Science*, 2000, 66(5): 924-932.
- [15] Posada D. jModelTest: phylogenetic model averaging[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2008, 25(7): 1253-1256.
- [16] 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.
- [17] Swofford, D. L. 1998. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)[M]. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 1998.
- [18] Ronquist F, Huelsenbeck J P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models[J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(2): 1572-1574.
- [19] Castelleo J, Templeton A. Root probabilities for intraspecific gene trees under neutral coalescent theory[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1994, 3(2): 102-113.
- [20] Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations[J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(12): 2571-2581.
- [21] Kuhner M K. LAMARC 2. 00: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters[J]. *Bioinformatics*, 2006, 22(6): 6768-6770.
- [22] Drummond A J, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 7(1): 214.
- [23] Schneider S, Excoffier L. Estimation of demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 1999, 152(3): 1079-1089.
- [24] Excoffier L. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model[J]. *Molecular Evolution*, 2004, 13(4): 853-864.
- [25] Fitzpatrick S W, Brasileiro C A, Haddad C F B, *et al.* Geographical variation in genetic structure of an Atlantic coastal forest frog reveals regional differences in habitat stability[J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18(13): 2877-2896.
- [26] Hu Z M, Li W, Li J J, *et al.* Post-Pleistocene demographic history of the North Atlantic endemic Irish moss *Chondrus crispus*: glacial survival, spatial expansion and gene flow[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2010, 24(3): 505-517.
- [27] Ray N, Currat M, Excoffier L. Intra-Deme Molecular Diversity in Spatially Expanding Populations[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(1): 76-86.
- [28] Solbrig O T. From genes to ecosystems: a research agenda for biodiversity[R]. Washington, D. C. , Island Press, 1991.
- [29] Watanabe K, Nishida M. Genetic population structure of Japanese bagrid catfishes[J]. *Ichthyological Research*, 2003, 50(2): 140-148.
- [30] Watterson G A. Allele frequencies after a bottleneck[J]. *Theoretical Population Biology*, 1984, 26(3): 387-407.
- [31] Avise J C. *Phylogeography: the history and formation of species*[M]. Harvard University Press, Cambridge, MA, 2000.
- [32] Grant W S, Liu M, Gao T X, *et al.* Limits of Bayesian skyline plot analysis of mtDNA sequences to infer historical demographics in Pacific herring (and other species)[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, 65(1): 203-212.
- [33] 哈承祐, 朱锦旗, 叶念军, 等. 被遗忘的三角洲-论淮河三角洲的形成与演化[J]. *地质通报*, 2005, 24(12): 1094-1106.
Ha C Y, Zhu J Q, Ye N J, *et al.* Formation and evolution of a forgotten Delta-the Huaihe River Delta, eastern China[J]. *Geological Bulletin of China*, 2005, 24(12): 1094-1106 (in Chinese).
- [34] 薛春汀, 刘健, 孔祥淮. 全新世淮河三角洲初步研究[J]. *第四纪研究*, 2010, 30(5): 892-901.
Xue C D, Liu J, Kong X H. Preliminary study of Holocene Huaihe River Delta on west coastal plain of

- Yellow Sea, China[J]. Quaternary Sciences, 2010, 30(5): 892-901 (in Chinese).
- [35] Liu P, Yang Z S, Wen C. Subaqueous deltaic formation of the Old Yellow River (AD 1128-1855) on the western South Yellow Sea[J]. Marine Geology, 2013(4): 344: 19-33.
- [36] 郭盛乔, 马秋斌, 张祥云, 等. 里下河地区全新世自然环境变迁[J]. 中国地质, 2013, 40(1): 341-351.
Guo S Q, Ma Q B, Zhang X Y, *et al.* Holocene environmental changes in Lixiahe area[J]. Geology of China, 2013, 40(1): 341-351 (in Chinese).
- [37] 凌申. 射阳湖历史变迁研究[J]. 湖泊科学, 1993, 5(3): 225-233.
Shen L. Study on changes of Sheyang Lake in historical periods[J]. Journal of Lake Sciences, 1993, 5(3): 225-233 (in Chinese).
- [38] 凌申. 历史时期射阳湖演变模式研究[J]. 中国历史地理论丛, 2005, 20(3): 73-79.
- Shen L. Study on Models of the Changes About Sheyang Lake in Historical Period[J]. Journal of Chinese Historical Geography, 2005, 20(3): 73-79 (in Chinese).
- [39] 吴必虎. 黄河夺淮后里下河平原河湖地貌的变迁[J]. 扬州师院学报, 1988, 8(1-2): 132-138.
Wu B H. Geomorphological changes of Lixiahe basin in north Jiangsu province[J]. Journal of Yangzhou Teachers College, 1988, 8(1-2): 132-138 (in Chinese).
- [40] Donaldson K A, Wilson R R. Amphipanamic geminates of snook (Percoidei: Centropomidae) provide a calibration of the divergence rate in the mitochondrial DNA control region of fishes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1999, 13(1): 208-213.
- [41] Burrige C P, Craw D, Fletcher D, *et al.* Geological dates and molecular rates: fish DNA sheds light on time dependency. Molecular Biology and Evolution, 2008, 25(4): 624-633.

Genetic variation based on the mitochondrial DNA control region of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

ZHOU Wei¹, WANG Jun², JIN Binsong³, GAO Tianxiang⁴, SONG Na^{1*}

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Institute of Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China;

4. Fishery College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China)

Abstract: The yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) is extensively distributed throughout rivers and lakes of China. With overexploitation and water eco-environment deterioration, the resources of *P. fulvidraco* are severely affected. The genetic diversity and population structure of the commercial fish were examined by using 413 bp of the first hypervariable region of mitochondrial DNA sequences in 258 specimens collected from 9 localities in China. Only 18 polymorphism sites were detected and 22 haplotypes were defined. All of the 9 populations exhibited middle-low haplotype diversity and low nucleotide diversity ($h=0.336\pm 0.095\sim 0.700\pm 0.078$; $\pi=0.087\pm 0.096\%\sim 0.258\pm 0.208\%$). Low genetic differentiation was estimated within Yellow River deme and Yangtze River deme and significant level of genetic structure was detected between two drainages via AMOVA and pairwise F_{ST} . The uncertainty of genetic structure in Sheyang River and Hongze Lake populations may be connected with the extensive gene flow between the two populations and the two drainages especially during 1128—1855 AD. Neutrality tests, analysis of mismatch distribution and Bayesian skyline analysis suggested that all populations and Yangtze River deme experienced historical sudden and special population expansion. The climatic changes in the Quaternary may have had an important influence on *P. fulvidraco* and climate warming during the last interglacial age may have played an important role in population expansion. Information on genetic diversity and genetic structure will have implications for the management of fisheries and conservation efforts.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; control region; genetic diversity; genetic structure; gene flow; population demography

Corresponding author: SONG Na. E-mail: songna624@163.com

Funding projects: Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201303048, 201303050)