

黄河上游花斑裸鲤 *Cyt b* 基因的序列变异和遗传多样性

祁得林

(青海大学 农牧学院动物科学系, 青海 西宁 810016)

摘要: 花斑裸鲤 (*Gymnocypris eckloni*) 主要分布于黄河上游高原宽谷河段深水缓流处或静水湖泊中, 在高原淡水生态系统的食物链中具有重要的地位。本文获得了黄河上游花斑裸鲤 5 个种群共 68 个个体线粒体 DNA (mtDNA) 细胞色素 *b* 基因的全序列 (1140bp), 分析了序列变异和种群遗传多样性。68 个序列经比对后, 发现 30 个 (2.63%) 多态性位点, 共定义了 18 个单倍型。结果显示, 花斑裸鲤种群单倍型多样度和核苷酸多样性均低于其它鲤科鱼类, 这可能与青藏高原所经历的地质变迁和古气候环境的改变有关, 由此生活在高原水域中的鱼类或多或少经历过瓶颈效应。AMOVA 分析结果显示, 遗传差异主要发生在种群之内, 而不是来自不同地理组群间或组群内种群间。单倍型网络图和系统发育分析均没有显示出单倍型与地理位置的对应关系, 提示黄河上游花斑裸鲤自然种群未出现分化, 应作为一个整体进行保护。单倍型歧点分布呈现为单峰以及中性检验 Fu's F_s (-15.3400 , $P < 0.001$) 和 Tajima's D (-0.6254 , $P = 0.3080$) 结果综合表明, 花斑裸鲤可能经历过近期的种群扩张事件。

关键词: 花斑裸鲤; 线粒体细胞色素 *b* 基因; 遗传多样性; 种群扩张; 黄河

中图分类号: Q349.5; Q959.468 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853(2009)03-0255-07

Genetic Variation and Diversity of *Gymnocypris eckloni* in the Upper Yellow River Inferred from Mitochondrial Cytochrome *b* Gene

QI De-lin

(Animal Science Department of Agriculture and Animal Husbandry College, Qinghai University, Xi'ning 810016, China)

Abstract: *Gymnocypris eckloni*, being distributed mainly in the upper reaches of Yellow River and lakes in the Qinghai-Tibetan Plateau, plays significant roles in the trophic web of plateau freshwater communities. In the present study, the complete sequences of the mitochondrial *Cyt b* gene (1140bp) from sixty eight individuals representing five populations from the upper Yellow River were obtained to assess the genetic variation and diversity. Within the aligned 1140 bp bases, 30 (2.63%) nucleotides were variable, and a total of 18 haplotypes were identified. The results showed that the haplotype diversity and nucleotide diversity of *Gymnocypris eckloni* populations were low by comparison with the other species of family Cyprinidae, which maybe related to tectonic movements and paleoenvironmental fluctuations of the Qinghai-Tibetan Plateau, and that the populations have experienced bottleneck events in history. The AMOVA analysis indicated that the genetic variation mainly occurred within populations instead of among different geographic groups or among populations within among different geographical groups. There is no geographic clustering observed in the phylogenetic tree and the TCS network, which suggest that the natural populations of *Gymnocypris eckloni* should be managed and conserved as a whole. The unimodal mismatch distribution of haplotypes, together with the selective neutrality test of Fu's F_s (-15.3400 , $P < 0.001$) and Tajima's D (-0.6254 , $P = 0.3080$), suggest that a recent population expansion of *Gymnocypris eckloni* have been occurred.

Key words: *Gymnocypris eckloni*; Mitochondrial cytochrome *b* gene; Genetic diversity; Population expansion; Yellow River

花斑裸鲤 (*Gymnocypris eckloni*) 隶属鲤形目 (Schizothoracinae) 裸鲤属 (*Gymnocypris*), 主要 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 裂腹鱼亚科 分布于兰州以上黄河上游高原宽谷河段深水缓流

收稿日期: 2009-02-07; 接受日期: 2009-04-16

基金项目: 国家自然科学基金 (30860048); 青海大学高层次人才项目资助

第一作者简介: 祁得林, 男, 博士, 副教授, 主要从事动物分子遗传与生态学研究。E-mail: delinqi@126.com

处或静水湖泊中,通常以其宽大而横裂的口通过滤食方式摄取水域中上层的浮游动物和兼食部分浮游植物性食料,在高原淡水生态系统的食物链中具有重要的地位。作为一种渔业资源,花斑裸鲤在黄河上游局部地区资源量比较丰富,但是近十余年来,由于受栖息地的破坏、繁育环境的改变、引入外来物种和疾病等因素的影响,其种群数量急剧下降。因此,保护花斑裸鲤物种,恢复其种群数量具有重要意义。

线粒体 DNA(mtDNA)以较快的进化速度、严格的母系遗传、几乎不发生重组等分子特点(Avise & Saunders, 1984)使其在群体遗传学和分子系统地理学研究方面的应用越来越广泛(Burridge, 1999; Perdices et al, 2004; Xiao et al, 2005; Qi et al, 2007; Zhu et al, 2007; Yang et al, 2008)。在诸多线粒体基因中,线粒体细胞色素 *b* 基因(Cyt *b*)的结构和功能了解的最为清楚,因此在鱼类种群遗传结构和遗传分化研究中应用较为广泛,并在一些濒危鱼类的保护中发挥了积极作用(Perdices et al, 2004; Zaccara, 2005; Gouin et al, 2006)。

以往对花斑裸鲤的研究主要集中在其分类、生物学特性、资源状况等方面(Wu, 1984; Wu & Wu, 1991; Zhao et al, 2005),而对花斑裸鲤不同群体的遗传多样性和分化方面知之甚少。本研究通过对花斑裸鲤 Cyt *b* 基因全序列进行分析,探讨黄河上游花斑裸鲤 5 种群的遗传多样性,了解花斑裸鲤自然种群的遗传分化程度和不同种群间的基因交流情

况,进而为花斑裸鲤种群资源的保护和合理开发利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 鱼样采集

花斑裸鲤样品采集于黄河上游贵德县、贵南县、玛多县、扎陵湖和鄂陵湖,共5个种群68个个体。以同亚科采集于澜沧江水系的澜沧裂腹鱼(*Schizothorax lantsangensis*)和黄河的厚唇裸重鱼(*Gymnodiptychus pachycheilus*)作为外群构建分子系统进化树(图1和表1)。野外采样时,取肌肉或鳍组织暂时保存于-20℃车载冰箱或液氮中,带回实验室后保存在-70℃备用。

1.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取保存备用的肌肉或鳍组织 20mg 左右,置于干净灭菌的玻璃板上切碎(肌肉)或置于有液氮的研钵中研磨(鳍组织),然后转入到 1.5mL EP 管中,用常规 SDS/蛋白酶 K 消化、酚-氯仿抽提、乙醇沉淀总 DNA。Cyt *b* 基因全序列 PCR 扩增采用一对通用引物 L14724, 5'-GACTTGAAAACCACCGTTG-3'和 H15915, 5'-CTCCGATCTCCGGATTACAA-GAC-3',由上海生工生物工程技术公司合成。PCR 扩增反应体系 30μL,其中包括 1.0U TaKaRa EX Taq (TaKaRa), 2.5mmol/L 的 dNTPs 1μL, 10×Taq buffer (TaKaRa, 含 Mg^{2+}) 3.0μL, 10mmol/L 的引物各 0.5μL, 模板 DNA 0.2μg, 最后加 ddH₂O 补齐 30μL。

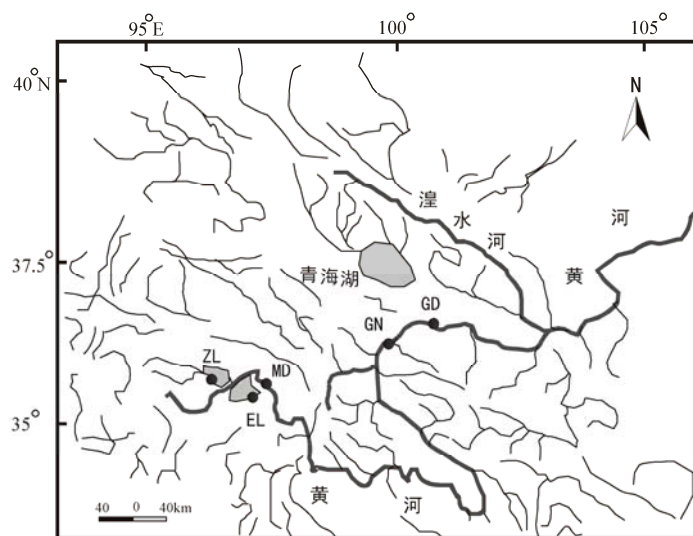


图 1 黄河上游花斑裸鲤 5 个种群的采样点

Fig. 1 Sampling localities for five populations of *Gymnocypris eckloni* from the upper reaches of Yellow River

表 1 采样点以及样本信息
Tab. 1 Information of samples and their localities

种群 Population	采集地点 Collection location	水系 Drainage	物种/代码 Species/Code	样本量 Sample size
外群 Outgroup	青海杂多 Zadoi, Qinghai	澜沧江 Lancang River	澜沧裂腹鱼 <i>Schizothorax lantsangensis</i>	1
	青海玛多 Madoi, Qinghai	黄河 Yellow River	厚唇裸重鱼 <i>Gymnoditychus pachycheilus</i>	1
种群 1 Population 1	青海贵德 Guide, Qinghai	黄河 Yellow River	GD	14
种群 2 Population 2	青海贵南 Guinan, Qinghai	黄河 Yellow River	GN	11
种群 3 Population 3	青海玛多 Madoi, Qinghai	黄河 Yellow River	MD	18
种群 4 Population 4	扎陵湖 Zhaling Lake	黄河 Yellow River	ZL	14
种群 5 Population 5	鄂陵湖 Eling Lake	黄河 Yellow River	EL	10

PCR 扩增程序: 94℃ 预变性 4min; 94℃ 变性 1 min, 50℃ 退火 1min, 72℃ 延伸 1min, 共 35 循环; 72℃ 延伸 5 min。PCR 扩增结束后, 取 2 μL 扩增产物在 1.0% 的琼脂糖凝胶中点样进行电泳, 紫外凝胶成像仪观察并照相记录。扩增结束后, 依据厂商提供的操作指南, 扩增产物采用 PCR Purification Kit(中科开瑞, 上海)进行纯化。纯化产物经 DYEnamic Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham Biosciences Corporation)试剂盒进行测序反应后, 利用 MegaBACE 500 测序仪直接测序。序列递交至 GenBank, 序列号为: FJ790498-FJ790515。

1.3 DNA序列数据的处理

序列的比对采用 CLUSTAL X (Thompson et al, 1997)和 DNA STAR 软件包的 Editseq 5.0 及 MegAlign 5.0 软件(DNASTAR Inc.)。用 MEGA 3.1 软件 (Kumar et al, 2004) 分析核苷酸的组成、变异位点等序列特征。用 DnaSP4.0 软件计算各地理种群的单倍型多样性(haplotype diversity, *h*)、核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)、种群间平均净遗传距离 (*Da*)、种群间基因流情况 (*Nm*; Nei, 1982) 和分析单倍型歧点分布。

采用 Arlequin 3.1 软件中的 AMOVA(Excoffier et al, 2005)方法分析花斑裸鲤的种群结构。分析中采用两种地理组群方法, 一是以种群间相距的远近程度, 将花斑裸鲤划分成两个地理组群 (GD+GN; MD+ZL+EL); 二是以天然地理屏障为界 (在贵德种群与贵南种群间存在龙羊峡, 而在玛多种群与贵南种群间存在拉加峡), 将花斑裸鲤划分成 3 个地理组群 (GD; GN; MD+ZL+EL), 分析时以置换数为 1000 进行显著性检验。同时, 采用该软件分析花斑裸鲤群体无限突变位点模型的 Tajima (1989) 的 *D* 和 Fu (1997) 的 *F_s* 中性检验。利用 TCS1.18 (Clement et al, 2000) 构建基于简约法原理的单倍型网络图。

利用 MrBayes3.04b (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) 软件构建贝叶斯 (Bayesian) 树, 选用 GTR+I+ Γ 模型。Bayesian 分析中以后验概率 (posterior probability, PP) 来表示各分支的可信性。以随机树 (random) 开始分析, 马尔科夫链的蒙特卡洛方法 (Markov chain Monte Carlo process) 设置 4 条链同时运行, 三条热链一条冷链, 共执行 500 万代 (generations), 每 100 代保存一颗树, 由此总共可获得 5 万颗树。根据可能性值 (likelihood value) 及经验估计, 舍弃前 5000 颗树老化样本 (burn-in samples), 而后面的 4.5 万颗树用于计算 50% 一致性树。

2 结 果

2.1 序列特征和单倍型分布

本研究 5 个花斑裸鲤种群的 68 个个体均获得 Cyt *b* 基因的全长序列 (1140bp)。序列经比对后发现, 在 1140 个位点中存在 30 个变异位点 (2.63%), 其中包括 13 个简约性位点和 17 个单突变位点。所有变异位点均为转换, 无颠换, 发生在密码子第 3 位的变异占 73.34%, 第 1 和 2 位的各占 13.33%。花斑裸鲤 Cyt *b* 基因序列碱基组成分析显示: A、T、C 和 G 碱基平均含量分别为 26.6%、31.3%、26.0% 和 16.1%, 其中 A+T 含量 (57.9%) 明显高于 G+C 含量 (42.1%), 表现出明显的反 G 偏倚。

花斑裸鲤 68 个序列共定义了 18 个单倍型, 各个单倍型在不同种群中的分布见表 2。单倍型 H2 由种群 GD 和 GN 所共享, 占 5/68; 单倍型 H5 由种群 GD、GN 和 MD 所共享, 出现次数最多, 占 16/68; 单倍型 H6 由种群 GD 和 ZL 所共享, 占 2/68; 单倍型 H9 由种群 GN、MD 和 EL 所共享, 占 6/68; 单倍型 H11 由种群 GN、MD、ZL 和 EL 所共享, 占 15/68; 单倍型 H13 由种群 MD、ZL 和 EL 所共享, 占 6/68; 单倍型 H15 由种群 MD 和 ZL 所共享, 占 4/68; 单倍型 H17 由种群

ZL和EL所共享，占3/68；其余均为特有单倍型。

表 2 花斑裸鲤 *Cyt b* 单倍型 (H1-18) 在不同种群中的分布
Tab. 2 The distribution of cytochrome *b* gene haplotypes (H1-18) of *Gymnocypris eckloni* in different populations

种群 Population	单倍型代码 Haplotype code																	
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18
GD	1	3	1	1	7	1	1											
GN		2			3			1	2	2	1							
MD					6				2		4	1	1	1	3			
ZL						1					6		2		1	1	2	1
EL									2		4		3				1	

2.2 遗传多样性和种群分化

花斑裸鲤5种群的单倍型多样性在0.75—0.89之间，其中贵南种群（GN）的单倍型多样性最高（ $h=0.89\pm0.06$ ），而鄂陵湖种群最低（ $h=0.75\pm0.11$ ）。各种群的核苷酸多样性（ π ）与单倍型多样性（ h ）之间并不成正比关系，但是，一般来说， h 值较高者 π 值相应也高（表3）。

种群间净遗传距离（ Da ）的分析显示，贵德种群（GD）与鄂陵湖种群（EL）相距最远，两者之间具有最高的 Da 值（0.2393），而贵南种群（GN）与玛多种群（MD）相距并非最近，但是具有最低的 Da 值（0.1362），相反，扎陵湖种群（ZL）与鄂陵湖种群（EL）相距最近，但是两者之间的 Da 值相对较高（0.2184），同样，种群间的分化程度（ F_{st} ）也出现这种现象（表3）。AMOVA分析显示，将花斑裸鲤看作一个地理群时，其遗传变异主要发生在种群之内，占88.85%，而不同采样点的种群之间只占11.15%；当考虑种群间相距的远近程度和天然地理屏障将花斑裸鲤化分成不同地理组群时，其结果显示遗传变异主要发生在种群之内，而不是来自不同地理组群间或组群内不同种群间（表4）。

种群间基因流分析表明，各种群之间的 Nm 值

在1.72—3.12之间，其中贵南种群（GN）与玛多种群（MD）之间的 Nm 值最大；贵南种群（GN）与扎陵湖种群（ZL）、贵南种群（GN）与鄂陵湖种群（EL）、贵德种群（GD）与贵南种群（GN）之间的 Nm 值次之；贵德种群（GD）与鄂陵湖种群（EL）间的 Nm 值最小。

2.3 花斑裸鲤种群的系统发育关系

基于*Cyt b*序列的Bayesian分析显示，花斑裸鲤5个种群的单倍型混杂分布在系统发育树上（图2）。从图可见，花斑裸鲤5个种群的68个个体并没有按地理位置形成对应族群。

2.4 单倍型网络图和种群扩张分析

从网络图可以看出，18个单倍型相邻两个之间的突变从一步到五步不等，具有多步突变的相邻单倍型间存在期望中间单倍型（图3）。单倍型H11位于网络图的中心，推测这个单倍型可能是较为原始的，其他单倍型由其衍生而来。各种群间有广泛的共享单倍型，不同种群个体混杂在一起，没有显示出明显的地理位置与单倍型间的对应关系。

本文采用线粒体DNA单倍型歧点分布（Rogers & Harpending, 1992）、无限突变位点模型的中性检验值Tajima’s D 和Fu’s F_s 三种方法同时估计花斑裸

表 3 花斑裸鲤鱼种群内核苷酸多样性（ π ，对角线）、种群间平均净遗传距离（ Da ，对角线上）、种群间分化程度（ F_{st} ，对角线下）和群内单倍型多样性（ h ）*

Tab. 3 Nucleotide diversity within population (π , along diagonal), average pairwise difference between populations (Da , above diagonal), F_{st} (below diagonal) between populations and haplotype diversity within population (h) of *Gymnocypris eckloni*

种群 Population	GD	GN	MD	ZL	EL	单倍型多样性 Haplotype diversity
GD	0.0026±0.0016	0.1688	0.1960	0.2077	0.2393	0.77±0.10
GN	0.1951 ($P>0.05$)	0.0035±0.0022	0.1362	0.1480	0.1796	0.89±0.06
MD	0.1951 ($P>0.05$)	0.1381 ($P>0.05$)	0.0046±0.0026	0.1751	0.2067	0.84±0.06
ZL	0.2079 ($P>0.05$)	0.1494 ($P>0.05$)	0.1747 ($P>0.05$)	0.0048±0.0028	0.2184	0.81±0.09
EL	0.2256 ($P>0.05$)	0.1647 ($P>0.05$)	0.1900 ($P>0.05$)	0.2034 ($P>0.05$)	0.0045±0.0027	0.75±0.11

*群体间净遗传距离经 Jukes-Cantor 模型校正， $Da=PiXY-(PiX+PiY)/2$ 。

Average pairwise difference between populations corrected by Jukes-Cantor model, $Da=PiXY-(PiX+PiY)/2$.

表 4 花斑裸鲤 mtDNA 单倍型分子变异等级分析 (AMOVA)
Tab. 4 Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of mtDNA haplotypes of *Gymnocypris eckloni*

组群 Groups	变异来源 Source of variation	变异百分数 Percentage of variation	Φ 统计值 Φ Statistic	显著性检验 P
(GD+GN)+(MD+ZL+EL)	组群间 Among groups	16.35	Φ _{CT} =0.1635	= 0.10
	组群内种群间 Among populations within groups	0.65	Φ _{SC} =0.0078	= 0.31
	种群内 Within populations	83.00	Φ _{ST} =0.1700	< 0.05
(GD)+(GN)+(MD+ZL+EL)	组群间 Among groups	13.82	Φ _{CT} =0.1382	= 0.09
	组群内种群间 Among populations within groups	1.17	Φ _{SC} =0.0136	= 0.37
	种群内 Within populations	85.01	Φ _{ST} =0.1499	< 0.05
整个群体 Whole population	种群间 Among populations	11.15	—	—
	种群内 Within populations	88.85	Φ _{ST} =0.1115	< 0.05

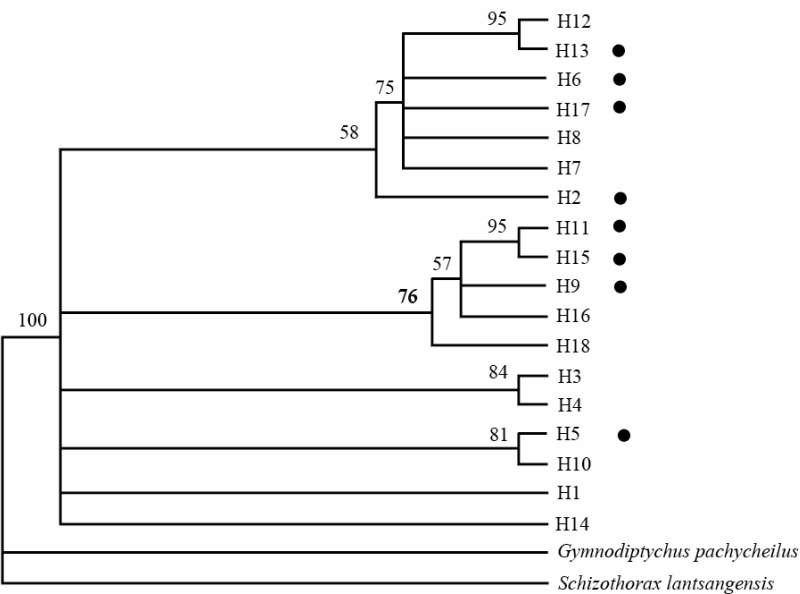


图 2 花斑裸鲤 5 个种群 Cyt b 单倍型的 Bayesian 50%多数一致性树
Fig. 2 Fifty percent Bayesian majority rule consensus tree of *Gymnocypris eckloni* inferred from Cyt b haplotypes among five populations

实心圈表示共享单倍型, 单倍型代码同表 2, 节点上数据表示贝叶斯后验概率。
Solid circles represent the haplotypes shared by different populations. Haplotype codes are the same as Fig. 2. Numbers at nodes indicate posterior probabilities (PP, %) from Bayesian analysis.

鲤的种群扩张事件。歧点分布分析结果显示, 花斑裸鲤的种群单倍型碱基差异分布呈单峰 (图4), 同时 Tajima's *D* (−0.6254, *P* =0.3080) 和 Fu's *F*_s (−15.3400, *P*<0.001) 均为负值, 显示花斑裸鲤可能经历过近期的种群扩张事件。

3 讨 论

3.1 遗传多样性和种群分化

一般而言, 一个种群在相当长的时间内比较稳定且资源量丰富时, 该种群可能会维持较高的遗传多样性。当种群遭受瓶颈效应时, 种群遗传多样性将会受遗传漂变的影响而降低。本研究中, 花斑裸鲤5个种群的68个个体中共检测到18个单倍型, 单

倍型多样度和核苷酸多样度均低于其他鲤科鱼类 (Perdices et al, 2004, 2005), 这可能与青藏高原第四纪以来经历了数次地质变迁和气候的改变, 生活在高原水域中的鱼类或多或少经历过瓶颈效应有关, 该结论与Qi et al (2007) 和Zhao et al (2005) 在黄河裸裂尻鱼及裸鲤属鱼类中的研究相一致。然而, 在花斑裸鲤的5个种群, 贵德 (GD) 种群的单倍型多样性 (0.77±0.10) 和核苷酸多样性 (0.0026±0.0016) 明显低于其他几个种群, 这可能与水体的自然屏障和人为因素, 如栖息地的破坏、繁育环境的改变、引入外来物种等有着直接关系。事实表明, 贵德 (GD) 种群处于其他4个种群的下游, 在贵德上游存在两个黄河峡谷, 可能抑制了贵

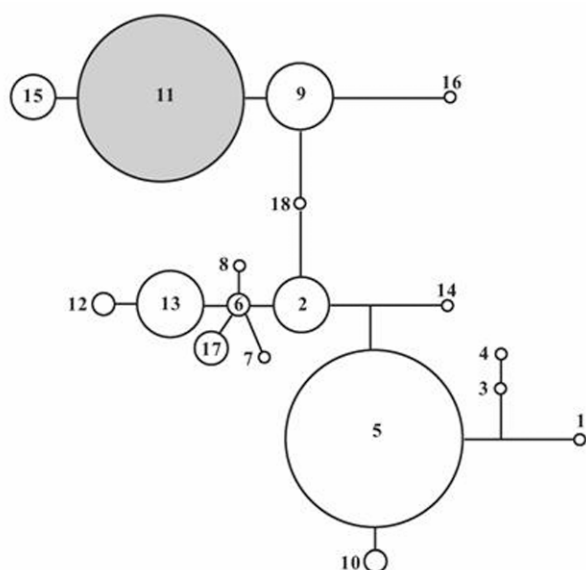


图 3 基于统计简约法构建的单倍型网络图

Fig. 3 The statistical parsimony network of haplotypes

数字表示单倍型代码 (同表2), 单倍型11位于网络中心。单倍型之间的连线长度约表示变异次数。圆圈大小大约表示该单倍型出现的次数。Numbers of haplotypes correspond to Tab.2. Haplotype 11 lies the center of the network. The length of lines roughly represents mutational steps. The size of circles roughly represents the number of individuals.

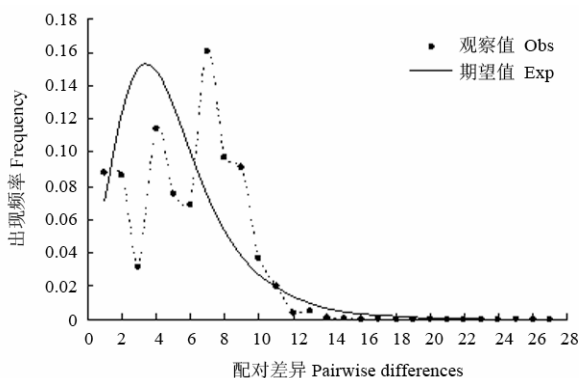


图 4 花斑裸鲤 *Cyt b* 单倍型的歧点分布

Fig. 4 Mismatch distributions of the *Cyt b* haplotypes of *Gymnocypris eckloni* in the Yellow River

德种群与其他种群间的基因交流; 另外, 进入20世纪90年代后在贵德上游兴建了多处大型水电站, 并引入了一定量的外来物种, 可能对贵德种群的发展产生了不利的影响。

AMOVA分析结果表明, 无论是将花斑裸鲤看作一个地理群, 还是进行不同地理组群, 其结果是遗传变异主要来自种群内, 而不是来自不同地理组群或组群内不同种群间, 揭示花斑裸鲤不同群体并未形成显著的地理种群结构。基于*Cyt b*序列的Bayesian系统发育分析也表明, 花斑裸鲤5个种群的

单倍型混杂分布在系统发育树上, 并没有按地理位置形成对应族群。种群间平均净遗传距离 (D_a) 和分化水平 (F_{st}) 的分析均支持了以上结果, 说明花斑裸鲤5个种群均来自黄河上游干流, 存在一定的基因流。基因流是一个群体迁移至另一个群体时将某基因带到新的群体产生的基因流动。通常 $Nm > 1$, 表明群体间的基因流的水平较高, 群体间遗传分化较小; 当 $Nm < 1$ 时, 表明群体可能由于遗传漂变而发生了分化 (Millar & Libby, 1991)。本研究中花斑裸鲤5个种群间的 Nm 均高于1, 说明种群间存在较丰富的基因交流, 这在一定程度上说明了黄河上游花斑裸鲤自然种群未出现分化, 应作为一个整体进行保护。

3.2 种群扩张

种群扩张事件的检测有多种分析方法, 不同方法各具优缺点 (Su et al, 2001; Pearse & Crandall, 2004)。因此, 本文在分析花斑裸鲤种群扩张事件时采用了多种方法: 单倍型歧点分布分析、Tajima's D 中性检验法和Fu's F_s 中性检验法。其中, Tajima's D 检验法注重种群的古老突变, 因此本方法在一定程度上能够反映较长时间尺度上的种群事件; Fu's F_s 中性检验法对种群的近期事件较为敏感, 因此当种群在近期 (短时间尺度) 积累较多变异时, F_s 往往趋向于较大的负值 (Su et al, 2001)。本研究中, 花斑裸鲤种群 F_s 为负值 ($-15.3400, P < 0.001$), 其绝对值明显高于Tajima's D ($-0.6254, P = 0.3080$), 结合本文单倍型歧点分布呈单峰, 说明花斑裸鲤可能经历过近期的种群扩张事件。Qi et al (2007) 在对黄河裸裂尻鱼进行研究时, 提出黄河裸裂尻鱼种群扩张事件大概发生在11万年前, 该时间尺度在青藏高原“共和运动”范围内。地质资料表明, 青藏运动约1.6万年以来高原东北部的强烈隆升致使区内湖泊消失或萎缩, 进而形成了古黄河 (Li et al, 1998, 1999, 2001), 约0.15万年发生的青藏高原“共和运动”对黄河水系改变起决定性作用, 这次隆升事件导致了开始向源区侵蚀溯源, 黄河水系格局形成 (Pan et al, 1996; Li et al, 2001), 在此间可能有过适应于花斑裸鲤生存和发展的环境条件, 使得花斑裸鲤种群进一步扩张。

致谢: 评审专家在数据分析方面提出了宝贵意见, 特此致谢。

参考文献:

- Avise JC, Saunders NC. 1984. Hybridization and introgression among species of sunfish (*Lepomis*) analysis by mitochondrial DNA and allozyme markers [J]. *Genetics*, **108**: 237-255.
- Burridge CP. 1999. Molecular phylogeny of *Nemadactylus* and *Acantholatris* (Perciformes: Cirrhitidae: Cheilodactylidae), with implications for taxonomy and biogeography [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **13**: 93-109.
- Clement M, Posada D, Crandall KA. 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies [J]. *Molecular Ecology*, **9**(10): 1657-1659.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**: 47-50.
- Fu YX. 1997. Statistics tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, **147**: 915-925.
- Gouin N, Grandjean F, Souty-grosset C. 2006. Population genetic structure of the endangered crayfish *Austropotamobius pallipes* in France based on microsatellite variation: biogeographical inferences and conservation implications [J]. *Freshwater Biology*, **52**: 1369-1387.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment [J]. *Briefings in Bioinformatics*, **5**(2): 150-163.
- Li CA, Yin HF, Yu QW, Huang CS. 1998. Tectonic uplift, water system response and environment evolution in the eastern part of the Kunlun mountains [J]. *Earth Science-Journal of China University of Geosciences*, **23**: 456-459. [李长安, 殷鸿福, 于庆文, 黄长生. 1998. 昆仑山东段的构造隆升、水系相应与环境变化. 地球科学-中国地质大学学报, **23**(5): 456-459.]
- Li CA, Yin HF, Yu QW. 1999. Evolution of drainage systems and its developing trend in connection with tectonic uplift of Eastern Kunlun Mt [J]. *Chinese Science Bulletin*, **44** (2): 211-214. [李长安, 殷鸿福, 于庆文. 1999. 东昆仑山构造隆升与水系演化及其发展趋势. 科学通报, **44**(2): 211-214.]
- Li JJ, Fang XM, Pan BT, Zhao ZJ, Song YG. 2001. Late cenozoic intensive uplift of Qinghai-Xizang Plateau and its impacts on environments in surrounding area [J]. *Quaternary Science*, **21**(5): 381-390. [李吉均, 方小敏, 潘保田, 赵志军, 宋友桂. 2001. 新生代晚期青藏高原强烈隆起及其对周边环境的影响. 第四纪研究 **21**(5): 381-390.]
- Millar CL, Libby WJ. 1991. Strategies for conserving clinal, Cootypic, Ana disjunct population diversity in widespread species [A]. In: Fald DA, Holsinger KE. *Genetics and Conservation of Rare Plants* [M]. New York: Oxford University Press, 149-170.
- Nei M. 1982. Evolution of human races at the gene level. In: Bonne Tamir B, Cohen T, Goodman RM ed. *Human Genetics, Part A: The Unfolding Genome* [M]. New York: Alan R. Liss, 167-181.
- Pan BT, Li JJ, Cao JX, Chen FH. 1996. Study on the geomorphic evolution and development of the Yellow River in the Hualong basin [J]. *Mountain Research*, **14**(3): 153-158. [潘保田, 李吉均, 曹继秀, 陈发虎. 1996. 化隆盆地地貌演化与黄河发育研究. 山地研究, **14**(3): 153-158.]
- Pearse DE, Crandall KA. 2004. Beyond Fst: analysis of population genetic data for conservation [J]. *Conservation Genetics*, **5**: 586-602.
- Perdices A, Cunha C, Coelho M. 2004. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei, Cyprinidae) populations on the upper and middle Chang Jiang (=Yangtze) drainage inferred from cytochrome b sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **31**: 192-203.
- Perdices A, Sayanda D, Coelho MM. 2005. Mitochondrial diversity of *Opsariichthys bidens* (Teleostei, Cyprinidae) in three Chinese drainages [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **37**: 920-927.
- Qi DL, Guo SC, Zhao XQ, Yang J, Tang WJ. 2007. Genetic diversity and historical population structure of *Schizopygopsis pylzovi* (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Freshwater Biology*, **52**: 1090-1104.
- Rogers AR, Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **9**: 552-569.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under missed models. *Bioinformatics*, **19**: 1572-1574.
- Su B, Fu YX, Wang YX, Jin L, Chakraborty R. 2001. Genetic diversity and population history of the red panda (*Ailurus fulgens*) as inferred from mitochondrial DNA sequence variations [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **18**(6): 1070-1076.
- Swofford DL. 2000. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4 [M]. Massachusetts: Sinauer, Sunderland.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, **123**: 585-595.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewinak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Res*, **24**: 4876-4882.
- Wu YF, Wu CZ. 1991. The Fishes of the Qinghai-Xizang Plateau [M]. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science & Technology. [武云飞, 吴翠珍. 1991. 青藏高原鱼类. 成都: 四川科学技术出版社.]
- Wu YF. 1984. Systematics and taxonomy of the the Schizothoracine fishes in China [J]. *Acta Biologica Plateau Sinica*, **3**: 119-139. [武云飞. 1984. 中国裂腹鱼亚科鱼类分类与系统关系研究. 高原生物学集刊, **3**: 119-139.]
- Xiao H, Chen SY, Liu ZM, Zhang RD, Li WX, Zan RG, Zhang YP. 2005. Molecular phylogeny of *Sinocyclocheilus* (Cypriniformes: Cyprinidae) inferred from mitochondrial DNA sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **36**: 67-77.
- Yang B, Chen XY, Yang JX. 2008. Structure of the Mitochondrial DNA Control Region and Population Genetic Diversity Analysis of *Anabarilius grahami* (Regan) [J]. *Zool Res*, **29** (4): 379-385. [杨博, 陈小勇, 杨君兴. 2008. 鯪鱼良白鱼线粒体 DNA 控制区结构和种群遗传多样性分析. 动物学研究, **29** (4): 379-385.]
- Zaccara S, Stefani F, Crosa G. 2005. Diversity of mitochondrial DNA of the endangered white-clawed crayfish (*Austropotamobius italicus*) in the Po River catchment [J]. *Freshwater Biology*, **50**: 1262-1272.
- Zhao K, Li JB, Yang GS, Duan ZY, He SP, Chen YY. 2005. Molecular phylogenetics of *Gymnocypris* (Teleostei: Cyprinidae) in Lake Qinghai and adjacent drainages [J]. *Chinese Science Bulletin (Chinese version)*, **50** (13): 1349-1355. [赵凯, 李俊兵, 杨公社, 段子渊, 何舜平, 陈宜瑜. 2005. 青海湖及其相邻水系特有裸鲤鱼类的分子系统发育. 科学通报, **50** (13): 1349-1355.]
- Zhu SH, Zheng WJ, Zhou JX, Yang YC, Shen XQ. 2007. Mitochondrial DNA control region structure and molecular phylogenetic relationship of Carangidae [J]. *Zool Res*, **28**(6): 606-614. [朱世华, 郑文娟, 邹记兴, 杨迎春, 沈锡权. 2007. 鲮科鱼类线粒体DNA控制区及系统发育关系. 动物学研究, **28**(6): 606-614.]