

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20180226002

http://www.yykxjz.cn/

周华兴, 胡玉婷, 段国庆, 凌俊, 江河, 潘庭双. 基于线粒体细胞色素**b**基因序列的新安江流域温州光唇鱼群体遗传研究. 渔业科学进展, 2019, 40(2): 43–50

Zhou HX, Hu YT, Duan GQ, Ling J, Jiang H, Pan TS. Population genetic analyses of *Acrossocheilus wenchowensis* in Xin'an Basin based on the mitochondrial DNA cytochrome *b* gene. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(2): 43–50

基于线粒体细胞色素 *b* 基因序列的新安江流域 温州光唇鱼群体遗传研究*

周华兴^① 胡玉婷 段国庆 凌俊 江河 潘庭双

(安徽省农业科学院水产研究所 合肥 230031)

摘要 为了解新安江流域温州光唇鱼(*Acrossocheilus wenchowensis*)的群体遗传变异规律, 本研究采集6个不同地理群体共170个体, 采用线粒体基因组细胞色素**b**(mtDNA Cyt *b*)测序方法, 研究群体遗传结构以及群体变化的历史动态。研究显示, 温州光唇鱼不同地理群体间的遗传多样性差异较大, 整体遗传多样性水平较低。群体间检测到了不同程度的遗传分化, 但由于分化时间较短(上新世晚期), 分子遗传变异主要来自于群体内。温州光唇鱼约于335万年前发生过群体扩张事件。群体扩张时, 全球处于末次冰川时期的早期, 群体的扩张并未受到低温的影响, 因此, 推测新安江流域可能是潜在的冰期避难所。祖籍地重建分析结果表明, 新安江流域温州光唇鱼起源于率水上游和练江上游, 经过一系列的群体扩散-隔绝-分化事件, 形成现今的分布。原种的鉴定为新安江流域光唇鱼群体保育工作提供理论依据。

关键词 新安江流域; 温州光唇鱼; mtDNA Cyt *b*; 群体遗传分析

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2019)02-0043-08

新安江源于黄山南麓, 流域上游多为山间溪流, 地势复杂, 水流湍急。下游东入浙江省西部, 经淳安至建德与兰江汇合后为钱塘江。温州光唇鱼(*Acrossocheilus wenchowensis*)隶属鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、光唇鱼属(*Acrossocheilus*) (Nelson *et al.*, 2016), 是新安江流域中上游栖息的淡水型鱼类, 在浙江、广东、福建境内也有分布。因其成鱼常栖息于石缝间, 体侧具有多条鲜艳的黑色横斑而被地方称为“石斑鱼”。由于温州光唇鱼肉质细嫩、体色鲜艳, 具有较高的食用和观赏价值, 深受消费者的青睐(冀德伟

等, 2009)。近年来, 受水质污染、栖息地破坏、过度捕捞等人类活动的影响, 新安江流域温州光唇鱼的野生资源急剧减少, 其分布范围日益减缩, 资源数量逐渐下降, 个体规格也越来越小(胡玉婷等, 2017)。因此, 开展新安江流域温州光唇鱼群体遗传结构研究和保育工作已迫在眉睫。

由于具有高突变率、低重组率及严格的母系遗传等特征, 线粒体基因序列一直是群体遗传学和系统发生学研究中的理想标记(Cann *et al.*, 1987)。马春艳等(2009)采用线粒体细胞色素**b**基因(Cyt *b*)对鲴属3种鱼类系统进

* 安徽省农业科学院院长青年基金(17B0510)、安徽省科技重大专项(17030701009)和安徽省水产产业技术体系(2016-84)共同资助 [This work was supported by Youth Foundation of President of Anhui Academy of Agricultural Science (17B0510), Anhui Science and Technology Major Project (17030701009), and Earmarked Fund for Anhui Fishery Research System (2016-84)]

^① 通讯作者: 周华兴, E-mail: hxzhou1987@126.com

收稿日期: 2018-02-26, 收修改稿日期: 2018-04-01

化关系进行分析,提出银鲴(*Pampus argenteus*)是3种鲴属鱼类中较早分化出的种,而刺鲴(*Psenopsis anomala*)则是鲴属鱼类的原始类群的观点。李大命等(2017)利用线粒体 *Cyt b* 和细胞色素氧化酶亚基 I (CO I) 基因作为分子标记,分析洪泽湖大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*) 40 个个体的序列多态性,提出该群体可能经历种群扩张事件,且单倍型未出现遗传分化。张争世等(2017)基于线粒体 *Cyt b* 基因探讨齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)野生群体的遗传多样性和遗传结构,长江上游4个齐口裂腹鱼野生群体未经历过种群扩张,且群体间和群体内存在显著的遗传分化。

本研究采用线粒体 *Cyt b* 基因,探讨新安江流域

的6个不同温州光唇鱼地理群体的遗传结构,并重建其群体进化历史,以期为该类鱼种的保育和开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

实验所用的温州光唇鱼样本于2016年10月~2017年8月采集自新安江流域。6个自然群体分别来自毕村(BC)、杞梓里(QZL)、南塘(NT)、上丰(SF)、北岸(BA)、朱家坑(ZJK),共170个个体(表1,图1)。样本采集后做好标记,保存于95%的酒精中固定。

表1 温州光唇鱼样本采集信息
Tab.1 Sampling information of *A. wenchowensis*

群体 Populations	样本采集地 Sampling site	所属支流 Streams	采集样本数 Sampling number	经度/E Longitude	纬度/N Latitude
BC	毕村 Bicun	率水中游 Shuaishui midstream	30	118°5'43.8"	29°39'24.48"
QZL	杞梓里 Qizili	昌溪 Changxi	30	118°44'53.88"	30°0'10.8"
NT	南塘 Nantang	横江 Heng River	25	118°7'14.16"	29°54'1.08"
SF	上丰 Shangfeng	练江 Lian River	27	118°21'11.88"	29°59'33"
BA	北岸 Bei'an	锦溪 Jinxi	28	118°34'14.16"	29°54'12.96"
ZJK	朱家坑 Zhujiakeng	率水上游 Shuaishui upstream	30	117°42'54"	29°37'10.2"

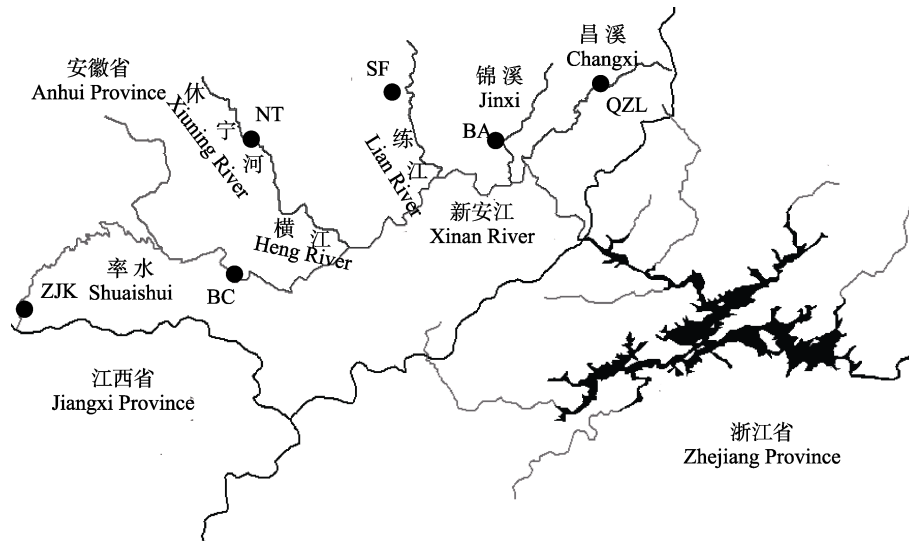


图1 温州光唇鱼6个群体样本采集点

Fig.1 Sampling sites of 6 populations of *A. wenchowensis*

BC: 毕村; QZL: 杞梓里; NT: 南塘; SF: 上丰; BA: 北岸; ZJK: 朱家坑。下同
BC: Bicun; QZL: Qizili; NT: Nantang; SF: Shangfeng; BA: Bei'an; ZJK: Zhujiakeng. The same as below

1.2 基因组DNA提取

取样本背部肌肉组织,采用 Sambrook 法提取基因组DNA(Sambrook *et al*, 1989)。

1.3 PCR 扩增及测序

Cyt b 基因的扩增和测序引物为H15915(5'-CTC CGATCTCCGGATTACAAGAC-3')和L14724(5'-GAC

TTGAAAAACCACCGTTG-3')(Xiao *et al.*, 2001)。

PCR 反应体系: 200 ng 的模板 DNA, 10×Buffer 缓冲液(TaKaRa) 5 μ l, dNTP(2.5 mmol/L) 3 μ l, MgCl₂ (2.5 mol/L) 4 μ l, 上下游引物(5 μ mol/L)各 2 μ l, *Taq* DNA 聚合酶 0.75 U, 补充无菌超纯水至 50 μ l。

PCR 反应条件: 96℃ 预变性 1 min; 94℃ 变性 45 s, 55℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 34 个循环; 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 委托生工生物工程(上海)有限公司双向测序。

1.4 数据分析

所得序列通过 Seqman 软件(Burland, 2000)辅助人工进行拼接组装, 获得完整的 mtDNA Cyt *b* 基因。序列集通过 MAFFT v.7(Katoh *et al.*, 2013)在线比对, 并辅以人工校正。采用 DNAsp 5.0(Librado *et al.*, 2009)计算多态位点、单倍型数目、错配分布(Mismatch distribution)、单倍型多样性(Haplotype diversity, H_d)和核苷酸多样性(Nucleotide diversity, P_i)。使用 Network 5 绘制单倍型网络关系图。通过 MrBayes3.1.2 (Ronquist *et al.*, 2003)采用贝叶斯法(Bayesian inference, BI)构建单倍型系统进化树。使用 MEGA 6(Tamura *et al.*, 2013)(Kumara2-parameter)计算种群遗传距离, 并通过 Arlequin 3.11(Excoffier *et al.*, 2005)计算种群遗传分化指数(F-statistics, F_{st})并进行分子变异分析(Analysis of molecular variance, AMOVA)。使用 Beast1.6 软件包(Drummond *et al.*, 2007)进行贝叶斯天际线(Bayesian skyline plot, BSP)分析, 检测种群变化的历史动态。基于聚类树的拓扑学结构, 使用 RASP 3.0 软件(Yu *et al.*, 2015)重建温州光唇鱼祖先种群起源地, 追溯其原种群。

2 结果与分析

2.1 序列特征和遗传多样性分析

测序获得的 170 条温州光唇鱼 mtDNA Cyt *b* 序列已上传至 NCBI 数据库, 登录号为 MH141624~MH141793。经过同源比对后, 用于下游分析的基因片段全长 1039 bp, 共检测到 69 个突变位点, 突变率 6.6%, 包含简约信息位点(Parsimony-informative sites) 31 个, 单突变位点(Singleton sites)38 个。序列中 A、T、G 和 C 的平均含量分别为 27.8%、27.3%、14.8% 和 30.1%, 遵循 A+T>G+C 的规律。编码序列出现了明显的反 G 偏倚(Anti-G bias)现象, 尤其体现在第 3 位密码子 G 的含量(7%)上。Saccone 等(1999)认为这种偏倚现象与线粒体基因组的进化趋势相关, 物种由低等向高等进化过程中, 反 G 偏倚会逐渐弱化, 在

鸟类和哺乳类动物线粒体中 G 的含量达到最高。

温州光唇鱼 6 个群体共 170 条序列定义了 28 个单倍型, 其中, 群体间共享单倍型 9 个, 包含 148 个个体, 占总样本数的 87.06%; 特有单倍型 19 个, 包含 22 个个体, 占总样本数的 12.94%。

各群体的单倍型多样性为 0.308~0.876, 核苷酸多样性为 0.00112~0.00838。其中, BC 群体定义 13 条单倍型, 单倍型多样性最高; NT 群体检测到 38 个多态位点, 核苷酸多样性最高(表 2)。

表 2 温州光唇鱼 6 个群体遗传多样性参数
Tab.2 Population genetic diversity of 6 populations of *A. wenchowensis*

群体 Populations	样本数 Sampling number	单倍型数 Number of haplotypes	多态位点数 Polymorphic sites	单倍型多样性 H_d	核苷酸多样性 P_i (%)
BC	30	13	22	0.876	0.635
QZL	30	4	16	0.402	0.328
NT	25	10	38	0.787	0.838
SF	27	5	30	0.396	0.336
BA	28	9	21	0.757	0.594
ZJK	30	5	10	0.308	0.112
整体 Total	170	28	69	0.799	0.631

2.2 群体遗传结构分析

单倍型系统发生分析选择光唇鱼(*Acrossocheilus fasciatus*)(登录号: KF781289)作为外群, 构建进化树。如图 2 所示, 28 个单倍型形成了 4 个支系, 其中

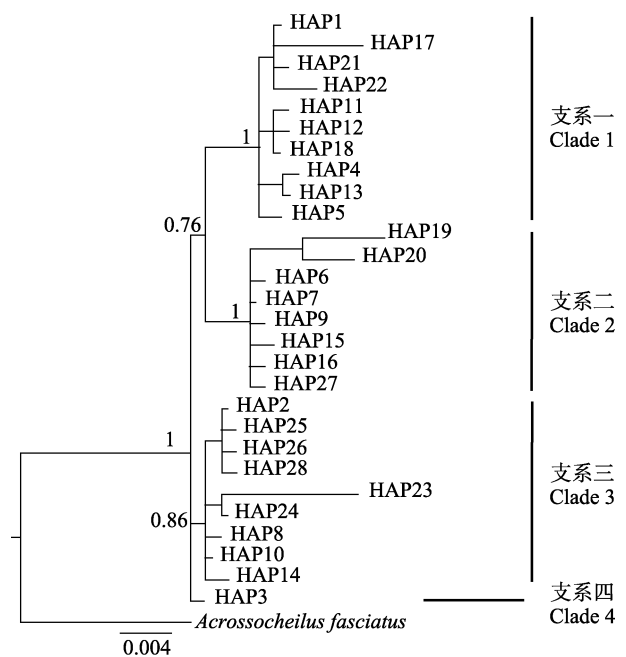


图 2 基于贝叶斯法构建的 28 个单倍型系统进化树
Fig.2 Phylogenetic tree for 28 haplotypes constructed based on BI method

HAP1、4、5、11、12、13、17、18、21、22 聚为支系一，HAP6、7、9、15、16、19、20、27 聚为支系二，HAP2、8、10、14、23、24、25、26、28 聚为支系三，HAP3 聚为支系四。

采用中介网络理论(Median joining, MJ)绘制的单倍型网络图中，28 个单倍型也形成了 4 个支系。不同支系内出现了多个主体单倍型(支系一为 HAP1，支

系二为 HAP7，支系三为 HAP2)，其他单倍型呈辐射状环绕在主体单倍型周围(图 3)。

将温州光唇鱼 6 个不同地理种群设定为同一族群，执行 AMOVA 分析(表 3)，估算种群间和种群内个体间变异率。结果表明，新安江温州光唇鱼整体的变异主要来自于群体内，变异比例为 66.85%，而种群间的变异仅占 33.15%。

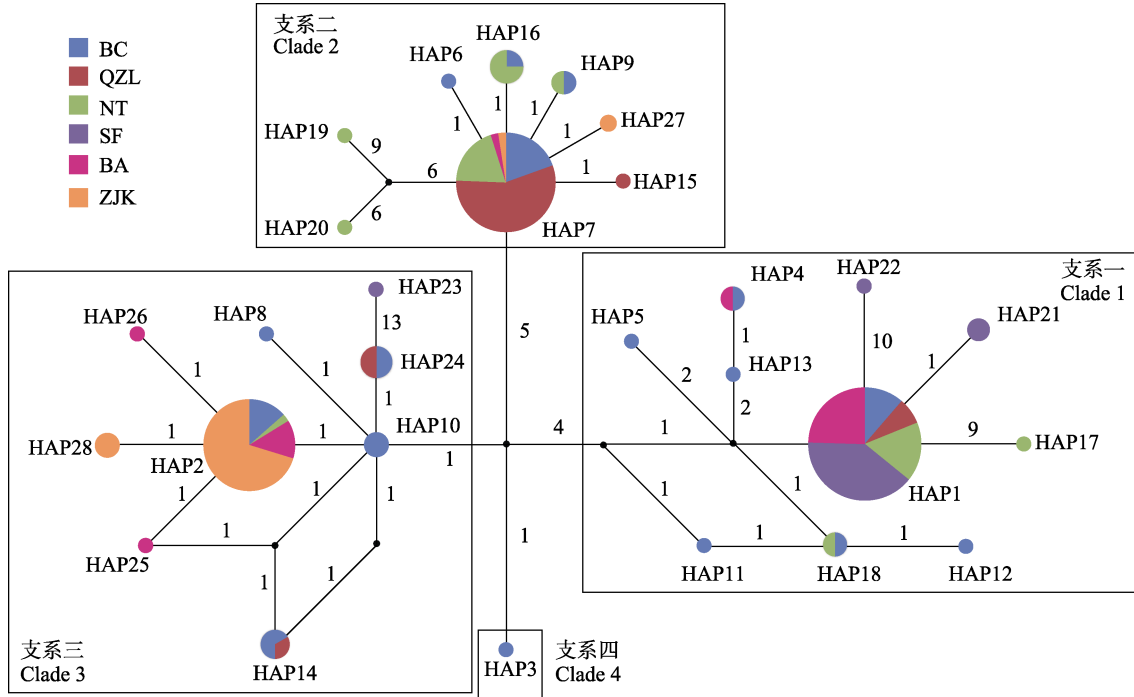


图 3 基于中介网络理论构建的单倍型中介网络图
Fig.3 Haplotypes network based on MJ method

线段上的数字代表单倍型间的突变次数，不同的颜色代表不同的群体

The numbers on the lines represents mutation steps; Different colors represents different populations

表 3 温州光唇鱼 6 个群体分子变异分析
Tab.3 AMOVA of 6 populations of *A. wenchowensis*

变异来源 Source of variation	自由度 df	方差组分 Sum of squares	变异比例 Percentage of variation (%)	P 值 P value
群体间 Among population	5	1.27334	33.15	<0.001
群体内 Within population	164	2.56783	66.85	<0.001
总变异 Total	169	3.84117		

表 4 群体间遗传分化指数(F_{st})和群体间有效迁徙个体数(N_m)

Tab.4	Pairwise values of F_{st} (below diagonal) and N_m (above diagonal) between populations					
	BC	QZL	NT	SF	BA	ZJK
BC		2.16	20.42	1.18	18.46	0.86
QZL	0.188**		3.44	0.32	0.88	0.24
NT	0.024	0.127**		1.66	7.16	0.64
SF	0.297**	0.614**	0.232**		2.82	0.18
BA	0.026	0.363**	0.065*	0.151*		0.64
ZJK	0.366**	0.667**	0.438**	0.733**	0.439**	

* $P < 0.05$; ** $P < 0.001$; $N_m = 0.5 \times (1 - F_{st}) / F_{st}$

不同群体间的 F_{st} 值见表 4，温州 6 个地理群体出现了不同程度的分化，其中，SF 和 ZJK 两个群体之间的分化程度最高($F_{st}=0.73281$)，而 BC 和 NT 群体间未检测到明显分化($F_{st}=0.02389$)。少数群体间存在着不同水平的基因流($N_m > 1$)，6 个群体间的平均基因流 $N_m=2.04$ 。

2.3 群体历史动态

6 个群体的中性检验显示 Tajima's D 和 Fu's F_s 为负值，其中 Fu's F_s 结果显著(表 5)。基于期望值持续增长模式下的错配分布分析结果显示，曲线呈现单

峰泊松分布, 且实际观测结果与期望的假定模型吻合度较高(图 4)。因此, 认为新安江温州光唇鱼群体可能经过扩张或者仍处于持续增长状态。

表 5 温州光唇鱼群体中性检验和错配分布参数

Tab.5 Neutral test and mismatch distribution of nucleotide of *A. wenchowensis* populations

中性检验 Neutral test		错配分布 Mismatch distribution		
Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>	τ	θ_0	θ_1
-0.627	-24.851**	9.705	0	18.418

***P*<0.001

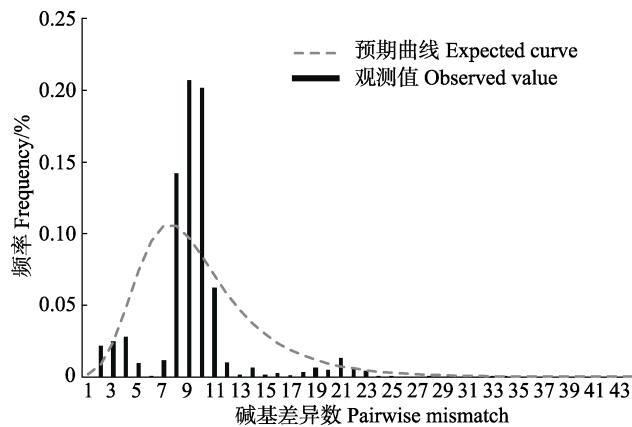


图 4 温州光唇鱼碱基错配分布

Fig.4 Nucleotide mismatch distribution of *A. wenchowensis*

选择 GTR+Gamma 替代模型, 基于宽松分子钟 (Relaxed clock) 理论构建了贝叶斯天际线图来模拟群体变化动态。BSP 结果显示(图 5), 新安江温州光唇鱼 6 个群体发生过扩张事件。由于未见温州光唇鱼 mtDNA Cyt *b* 基因分子进化速率的报道, 研究基于 Gamma 替代模型并辅以选择压估算校正, 估算了温州光唇鱼 mtDNA Cyt *b* 基因位点进化速率 *u* 为 2.87~3.00/百万年。考虑到光唇鱼属于 2 龄性成熟鱼类, 将表 5 中的 τ 值代入公式 $\tau=2ut$, 推算出新安江温州光唇鱼群体扩张时间约为 335 万年前。

为了追溯该流域光唇鱼群体的扩张历史, 重建其祖先群体的分布情况, 本研究基于贝叶斯二进制法 (Bayesian binary method, BBM) 和分散-隔绝理论 (Statistical dispersal-vicariance method, S-DIVA), 重新构建了温州光唇鱼祖先群体分布地(图 6)。图中上半区是新安江的地图, 按照采集到的群体分布, 将该区域划分成 A~F 六片区域, 分别为 A 率水上游、B 率水下游、C 昌溪、D 休宁河、E 练江、F 锦溪。下半区则是基于 *F_{st}* 值构建的邻接树(Neighbor joining)拓扑学结构, 进行的祖先起源地重建以及随后的物种区

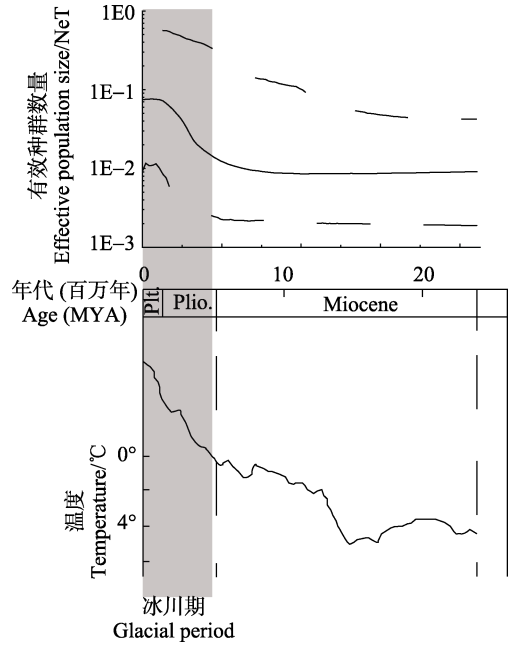


图 5 温州光唇鱼群体历史动态

Fig.5 Historical demography of *A. wenchowensis*

上图为反映温州光唇鱼群体动态的贝叶斯天际线图, 下图为 Zachos(2001)等研究结果的全球温度变化趋势图。

图中阴影部分表示冰川时期

Top plot represents the BSP of 6 populations; bottom plot represents the trend of global temperature change redrawn from Zachos *et al's* results. The shadow zone represents the glacial period

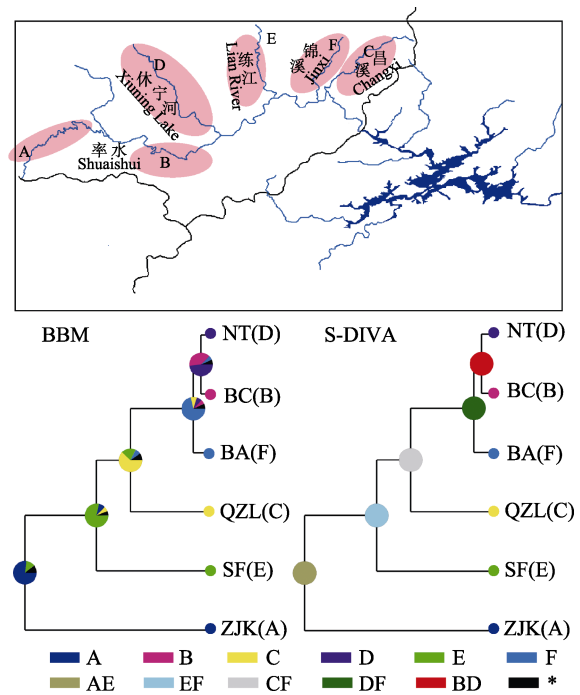


图 6 基于 BBM 和 S-DIVA 理论重建的祖先起源地

Fig.6 The ancestral area reconstruction inferred from BBM and S-DIVA

域进化推测结果。结果显示,新安江水系温州光唇鱼可能起源于率水上游和练江上游,随后群体逐渐扩张,形成现在的分布。

3 讨论

3.1 新安江流域温州光唇鱼群体遗传多样性

遗传多样性是种群适应外界环境、延续物种生存的遗传基础,与种群的扩张、迁徙、选择和分化息息相关(Crawford *et al.*, 2010; Lacy, 1987)。单倍型多样性和核苷酸多样性是评价种群遗传多样性的重要指标,其数值的大小可直观地反映遗传多样性的高低。

新安江流域温州光唇鱼 6 个地理群体的单倍型多样性为 0.799,核苷酸多样性为 0.00631,群体遗传多样性水平较低,这与胡玉婷等(2017)对皖南山区光唇鱼的研究结果相一致。新安江水系较为封闭,与其他水系的光唇鱼物种群体交流较少,加之近年来光唇鱼价格越来越高,当地村民捕鱼热情高涨,温州光唇鱼野生群体数量较少,多种原因造成了该水系温州光唇鱼群体遗传多样性较低的现象。建议该水域的温州光唇鱼资源应以保护为主,科学划定休渔期和禁捕区,对资源量丰富、遗传多样性相对高的群体(BC、NT)可适度开发。

3.2 温州光唇鱼群体遗传分化

新安江流域河流呈现出支流多、蜿蜒盘曲、河道窄、河水浅、河床地质为岩石、水质清澈、河道比降大等特点(王文剑, 2014)。采样过程中,发现光唇鱼分布丰度由一级支流至二级、三级支流呈现显著的增长趋势,这与 Zhu 等(2017)的研究结果相印证。复杂的水系加之季节性的干旱断流和人为建坝的影响,导致了温州光唇鱼出现了栖息地斑块化(Habitat Patch)现象(Erős *et al.*, 2005),不同地理群体间很少有基因交流的机会。因此,在长期遗传漂变的作用下,各个群体分别出现了不同程度的遗传分化。BC 群体采集于多条支流交汇后的水域,个体可能来自上游多个群体,因此,未检测到地理分化,群体个体分布于 4 个进化支系中。

然而, AMOVA 分析结果显示, 6 个地理群体的主要遗传变异仍来自于群体内部,群体间的遗传变异占 33.15%。结合估算的群体扩张时间为 335 万年前,认为新安江温州光唇鱼群体扩张-隔绝-分化事件所处地质年代较新(上新世晚期),群体间隔绝时间较短,较之遗传漂变,基因流在形成群体遗传结构中占主导作用(平均基因流 $N_m=2.04$)。因此,虽然 6 个群体检

测到一定的地理分化,但大多数的分子遗传变异仍来自于群体内个体间。

3.3 新安江温州光唇鱼群体扩张历史

研究表明,多数物种,如鱼类、爬行类,在冰川时期都经历过种群收缩(Zhou *et al.*, 2015; 周伟等, 2017)。由于地表温度过低,物种仅能存活在冰期避难所中,以免灭绝。而处于避难所中的物种,由于温度适宜、资源丰富,往往比冰期后扩张的物种有着更长的群体进化历史。对新安江温州光唇鱼群体历史动态分析暗示,温州光唇鱼于 335 万年前(上新世晚期)发生过群体扩张事件,此时全球处于末次冰川时期的早期(Zachos *et al.*, 2001)。地表温度骤降并未影响到新安江温州光唇鱼群体的扩张。因此,推测新安江流域可能是潜在的冰期避难所。

原种保护一直是保育生物学的重点工作,检测到不同地理群体间的遗传分化,引起了作者对该流域温州光唇鱼原种群鉴定的兴趣。结合温州光唇鱼现有的分布和祖籍地重建分析结果,推测新安江流域温州光唇鱼起源于 ZJK 和 SF 两个种群,即原种群,经过一系列的种群扩散-隔绝-分化事件,形成现今的分布。研究通过广泛采样,采用严格母系遗传的 mtDNA Cyt *b* 基因序列作为分子标记,追溯该物种的起源,鉴定新安江流域温州光唇鱼的原种群,为该物种种群保护的优先级提供理论依据。

参 考 文 献

- Burland TG. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. Bioinformatics methods and protocols. Humana Press, 2000
- Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*, 1987, 325(3): 31-36
- Crawford K, Whitney K. Population genetic diversity influences colonization success. *Molecular Ecology*, 2010, 19(6): 1253-1263
- Drummond AJ, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 7(1): 214
- Erős T, Grossman G. Effects of within-patch habitat structure and variation on fish assemblage characteristics in the Bernecei stream, Hungary. *Ecology of Freshwater Fish*, 2005, 14(3): 256-266
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (Version 3. 0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 2005, 1(4A): 47-50
- Hu YT, Jiang H, Duan GQ, *et al.* Population genetic structure of *Acrossocheilus wenchowensis* in mountainous area of Southern Anhui Province based on mitochondrial Cyt *b* gene.

- Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 33(32): 121–126 [胡玉婷, 江河, 段国庆, 等. 基于线粒体 Cyt *b* 基因的皖南山区温州光唇鱼种群遗传结构. 中国农学通报, 2017, 33(32): 121–126]
- Ji DW, Li MY, Shi YH, *et al.* The nutritional composition and evaluation in muscle of *Acrossocheilus fasciatus*. Acta Nutrimenta Sinica, 2009, 31(3): 298–300 [冀德伟, 李凌云, 史雨红, 等. 光唇鱼的肌肉营养组成与评价. 营养学报, 2009, 31(3): 298–300]
- Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(4): 772–780
- Lacy RC. Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. Conservation Biology, 1987, 1(2): 143–158
- Li DM, Li K, Zhang TQ, *et al.* Genetic polymorphism analysis of Cyt*b* and CO I gene sequences of *Protosalanx hyalocranius* in the Hongze Lake. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(6): 25–31 [李大命, 李康, 张彤晴, 等. 洪泽湖大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*) Cyt*b* 和 CO I 基因序列多态性分析. 渔业科学进展, 2017, 38(6): 25–31]
- Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451–1452
- Ma CY, Zhao F, Meng YY, *et al.* Phylogenetic relationships of *Pampus* inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(5): 20–26 [马春艳, 赵峰, 孟彦羽, 等. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因片段序列变异探讨 3 种鲴属鱼类系统进化. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 20–26]
- Nelson JS, Grande TC, Wilson MV. Fishes of the world. New York: John Wiley & Sons Press, 2016
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572–1574
- Saccone C, De Giorgi C, Gissi C, *et al.* Evolutionary genomics in Metazoa: The mitochondrial DNA as a model system. Gene, 1999, 238(1): 195–209
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725–2729
- Wang WJ. Spatial pattern in the structure and diversity of the taxonomic and functional organizations of stream fish in the mountains of southern Anhui. Master's Thesis of Anhui Normal University, 2014 [王文剑. 皖南山区溪流鱼类分类群与功能群结构及其多样性的空间格局. 安徽师范大学硕士研究生学位论文, 2014]
- Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of Xenocyprinace (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 18(2): 163–173
- Yu Y, Harris AJ, Blair C, *et al.* RASP (reconstruct ancestral state in phylogenies): A tool for historical biogeography. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2015, 87: 46–49
- Zachos J, Pagani M, Sloan L, *et al.* Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. Science, 2001, 292(5517): 686–693
- Zhang ZS, Hu BJ, Ye XY, *et al.* Genetic diversity of the pregnant schizothoracin (*Schizothorax prenanti*) based on partial mtDNA Cyt *b* sequences. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(3): 609–616 [张争世, 胡冰洁, 叶祥益, 等. 基于 mtDNA Cyt *b* 序列分析齐口裂腹鱼群体遗传多样性. 水生生物学报, 2017, 41(3): 609–616]
- Zhou HX, Jiang Y, Nie LW, *et al.* The historical speciation of *Mauremys* Sensu Lato: Ancestral area reconstruction and interspecific gene flow level assessment provide new insights. PLoS One, 2015, 10(12): e0144711
- Zhou W, Gao TX, Wang J, *et al.* Genetic diversity and structure analysis based on the mitochondrial DNA control region of the northern snakehead (*Channa argus*). Journal of Fisheries of China, 2017, 41(10): 1521–1532 [周伟, 高天翔, 王俊, 等. 乌鳢群体遗传多样性和遗传结构分析. 水产学报, 2017, 41(10): 1521–1532]
- Zhu R, Li Q, Wang W, *et al.* Effects of local, river-network and catchment factors on fish assemblages in the headwater streams of the Xin'an Basin, China. Journal of Freshwater Ecology, 2017, 32(1): 309–322

(编辑 冯小花)

Population Genetic Analyses of *Acrossocheilus wenchowensis* in Xin'an Basin Based on the Mitochondrial DNA Cytochrome *b* Gene

ZHOU Huaxing^①, HU Yuting, DUAN Guoqing, LING Jun, JIANG He, PAN Tingshuang

(Fisheries Research Institution, Anhui Academy of Agricultural Science, Hefei 230031)

Abstract In order to clarify the variations in population genetic patterns of *Acrossocheilus wenchowensis* in the Xin'an Basin, 170 individuals from 6 different geographic populations were collected. Subsequent analyses of population genetic structure and historical demography were carried out using the mitochondrial DNA cytochrome *b* (mtDNA cyt *b*) gene. The results suggested that the genetic diversity of different geographic populations varied greatly, and that of *A. wenchowensis* was low. Whereas different levels of genetic differentiation were detected among the 6 populations, molecular genetic variation was mainly detected within populations owing to the short divergence time. Population expansion had occurred approximately 3.35 million years ago, while the global temperature was freezing. The expansion had not been affected by low temperatures. Therefore, the Xin'an Basin may have been a potential refuge during the glacial period. Reconstruction of the ancient area suggested that the Shuaishui and Lian rivers may have been the areas of *A. wenchowensis* origin in the Xin'an Basin. After population diffusion, isolation, and differentiation, the current distribution patterns emerged. The identification of the original population provides a theoretical basis for the conservation of *A. wenchowensis* in the Xin'an Basin.

Key words Xin'an Basin; *Acrossocheilus wenchowensis*; mtDNA Cyt *b*; Population genetic analyses

^① Corresponding author: ZHOU Huaxing, E-mail: hxzhou1987@126.com