

青海湖及其相邻水系特有裸鲤属鱼类的分子系统发育

赵凯^{①②④} 李俊兵^① 杨公社^② 段子渊^③ 何舜平^{①*} 陈宜瑜^①(① 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; ② 西北农林科技大学动物脂肪沉积与肌肉发育实验室, 杨凌 712100; ③ 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; ④ 青海大学农牧学院, 西宁 810003. * 联系人, E-mail: clad@ihb.ac.cn)

摘要 对来自青海湖、黄河和柴达木水系特有的青海湖裸鲤、花斑裸鲤和斜口裸鲤 149 个个体的 *Cyt b* 基因全序列进行了测定和分析。一致的系统进化树显示, 以上 3 个物种并未形成 3 个独立的单系群; 而是分为 3 个谱系: 谱系 A 包括青海湖裸鲤、斜口裸鲤和黄河花斑裸鲤的一部分; 谱系 B 由黄河花斑裸鲤的另一部分组成; 谱系 C 则由来自柴达木盆地格尔木河的花斑裸鲤形成单系群。AMOVA 分析显示, 大部分的遗传变异来自于谱系间(93.12%), 提出该地区裸鲤属鱼类存在 3 个多样化谱系。青海湖裸鲤与其甘子河亚种在 *Cyt b* 水平没有形成分化, 不支持青海湖裸鲤为多型种, 也不支持斜口裸鲤作为独立的种或作为花斑裸鲤的一个亚种。黄河花斑裸鲤有 2 个谱系来源, 群体内的遗传分化表明, 黄河上游峡谷对裸鲤的基因交流有一定的限制。黄河花斑裸鲤的另一谱系(谱系 B)很可能是黄河在最近一次溯源过程中, 融合了当地的土著裂腹鱼类而在遗传上留下了族源印迹。柴达木盆地花斑裸鲤形成单系群(谱系 C), 与黄河花斑裸鲤间高于 0.98 的 F_{st} 值表明基因交流在它们之间长期被阻断, 暗示生态隔离可能已经使柴达木裸鲤独立进化成相当于不同的种。形态分类的鳃耙数与群体遗传变异间没有显著的相关性。种群的遗传多样性普遍较低($\pi = 0.00096 \sim 0.00485$), 柴达木裸鲤很可能在历史上遭受过严重的“瓶颈效应”, 提议当前应对柴达木的裸鲤给予优先保护。

关键词 青海湖裸鲤 花斑裸鲤 斜口裸鲤 *Cyt b* 鲤科 裂腹鱼 分子系统发育

青藏高原鱼类区系组成相对较为单纯, 表现为几乎全部由鲤科(Cyprinidae)的裂腹鱼亚科(Schizothoracinae)和鳅科(Cobitidae)的条鳅亚科(Nemacheilinae)组成, 而且各水系鱼种类一般不超过 10 种^[1]。鱼类区系组成的单纯性与水系的复杂性构成了高原统一而又独特的动物地理单元, 也显示高原地区鱼类起源较为新近的历史。

位于青藏高原东北部的青海湖、黄河和柴达木盆地, 地理毗邻, 水系独立, 分布着裂腹鱼亚科的 5 个属: 裸鲤属(*Gymnocypris*)、裸裂尻鱼属(*Schizopygopsis*)、扁咽齿鱼属(*Platypharodon*)、黄河鱼属(*Chuanichia*)和裸重唇鱼属(*Gymnodiptychus*)。其中的裸鲤属在该地区分布最广, 是青藏高原发挥经济效益最大的鱼类。根据形态的鳃耙数、口裂位置和地理分布, 该地区裸鲤属被分为 3 个特有种和 1 个亚种。青海湖裸鲤(*G. przewalskii*), 分布于青海湖水系, 具有适合于咸淡水环境的生态特性^[2]。青海湖东北部甘子河的裸鲤, 被记述为青海湖裸鲤甘子河新亚种(*G. przewalskii ganzihonensis*)^[3]。花斑裸鲤(*G. eckloni*), 分布于黄河上游和柴达木盆地格尔木河^[4], 以后武云飞等人^[5]将来自黄河上游逊木措湖的裸鲤描述为又一新

种斜口裸鲤(*G. scolistomus*)。

以往的形态学研究为我们提供了大量宝贵的资料。随着分子生物技术的发展, mtDNA 对于检测种群结构和评估种及种下进化关系显示出其更加优越的敏感性, 但由于青海湖等地区地处高海拔, 环境恶劣, 新鲜样品采集很困难, 加之物种濒危, 数量较少, 已有的相关研究仅限于青海湖裸鲤和黄河花斑裸鲤的小样本^[6,7], 甘子河亚种、柴达木地区花斑裸鲤和斜口裸鲤的研究还未开展。该地区裸鲤属鱼类分子系统学和分子系统地理学研究的现状还需要我们针对这一类群进行深入的研究。

本研究立足种群水平, 通过地理群体的广泛采样, 检测线粒体 *Cyt b* 基因全序列, 比较不同种群的形态差异, 分析该地区特有裸鲤属鱼类的种群结构和遗传多样性, 构建系统发育进化关系, 拟阐明青海湖、黄河和柴达木水系裸鲤鱼可能的进化过程 and 分化模式。

1 材料与方法

(i) 样品来源。样品为 1999~2003 年野外采集的 149 个个体。青海湖裸鲤 67 个个体, 其中 53 个来自青海湖裸鲤指名亚种, 14 个来自青海湖裸鲤甘子

河亚种; 花斑裸鲤 81 个个体, 其中 58 个来自黄河上游, 23 个来自柴达木盆地的格尔木河; 斜口裸鲤 1 个个体, 来自黄河上游逊木措湖。样品根据物种来源的水系和地域缩写编号命名(如 Q-GZ 表示青海湖水系甘子河亚种)(图 1, 表 1), 样品用 95% 酒精固定, 存放在中国科学院武汉水生生物研究所。以裸鲤属鱼类的斜口裸鲤(*G. scolistomus*)和裂腹鱼亚科有代表性的斑重唇鱼(*Diptychus maculatus*)、格咱叶须鱼(*Ptychobarbus c. gezaensis*)和双须叶须鱼(*Ptychobarbus dipogon*)作为外类群^[5,7]。序列的 Genbank 登录号为 DQ058216~DQ058291。

(ii) PCR 扩增和序列测定。采用 Ausubel^[8]的方法从肌肉中提取总 DNA。60 μ L PCR 反应体系包括 100 ng 模板, 0.75 μ L dNTP, 1.5 μ L 引物, 5.0 μ L 缓冲液 (10 $\times$), 3 U Taq 酶 (Biostar)。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 180 s; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 63 $^{\circ}$ C 复性 60 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 420 s。扩增产物用 Glassmilk 试剂盒回收纯化目的片段, 由联合基因公司测序。使用引物为 L14724 (5'-GAC TTG AAA AAC

CAC CGT TC-3') 和 H15915 (5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC-3')。

(iii) 数据分析。序列的排定采用 Clustal W^[9] 程序并辅以手工校正。核苷酸的组成和可变位点等遗传变异分析采用 MEGA2.1^[10] 软件。NJ, ML 和 MP 分析在 PAUP* 4.0b10^[11] 程序下完成。采用 Modeltest 3.06^[12] 程序, 选择最佳模型为 TrN+G ($\alpha = 0.1913$), 通过 Bootstrap 方法估计支持率, NJ 分析重复 1000 次, ML 分析重复 100 次。MP 分析选择启发式搜索 (heuristic search), 树二分再连接选项 (tree-bisection reconnection, TBR), 1000 次叠加重估支持率。

种群结构和遗传变异分析采用 Arlequin Ver. 2000^[13] 程序。群体的遗传变异 (F_{st}) 和净遗传距离 (D_a) 用来估计种群的遗传分化。采用 AMOVA 方法^[14], 依据 mtDNA 谱系、地理种群和物种划分为不同的组群, 估计种群结构和地理群体遗传变异的分布, 用 10000 次重复随机抽样单倍型重排后进行显著性检验。核苷酸多样性 (π) 和单倍型多样性 (h) 用来评估种群的遗传多样性^[15]。比较不同种群的形态差异, 统计裸鲤个

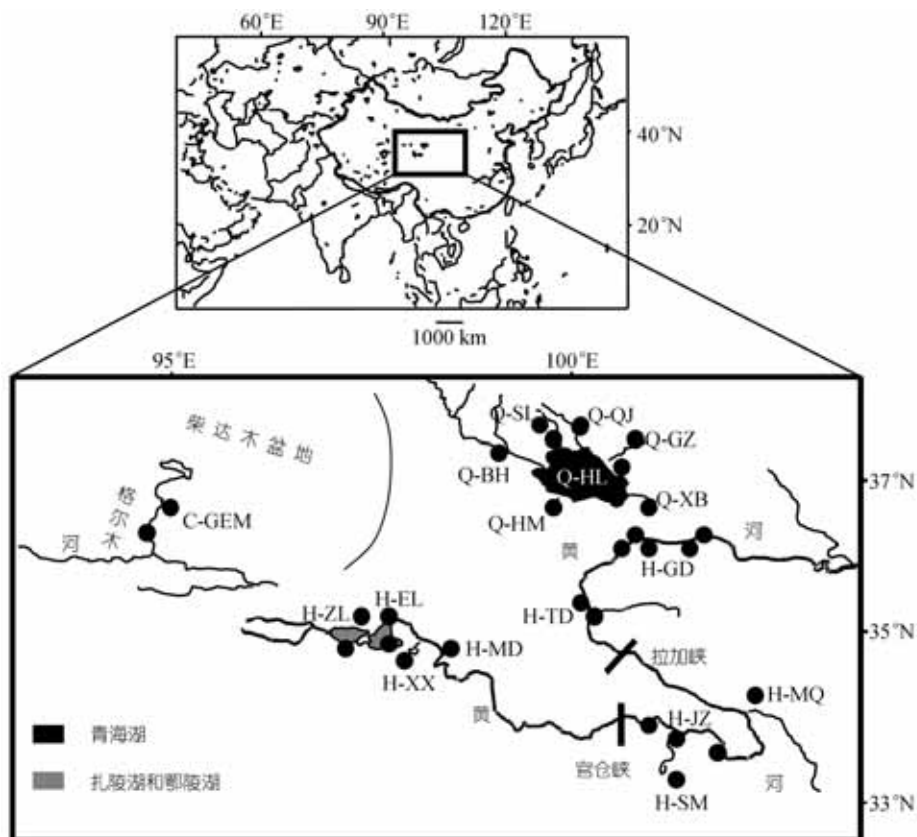


图 1 青海湖裸鲤、花斑裸鲤和斜口裸鲤的采样图(编号所示采样地名见表 1)

表 1 Cyt *b*单倍型(1~37)在裸鲤各种群中的分布^{a)}

种群	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	总数	
Q-GZ(甘子河)		1	2									6	4	1																									14
Q-SL(沙柳河)	1	1			1		1	1		1	2		4	2																									14
Q-QJ(泉吉河)									1		2		2			2																							7
Q-BH(布哈河)								1				1	3	1																									6
Q-HM(黑马河)								1			1	1	2	1																									6
Q-XB(小北河)													4		1	1																							6
Q-HL(青海湖)				1	2	1					1		8	1																									14
H-ZL(扎陵湖)																		2				1						5	1									9	
H-EL(鄂陵湖)																		1	3							1		4										9	
H-XX(星星湖)																							1				1	1		2	1							6	
H-MD(玛多)																			1								1	4	3	1								10	
H-JZ(久治)																		1					2			2			2									7	
H-MQ(玛曲)																						1	2	1														4	
H-GD(贵德)																							1	6	1													8	
H-TD(同德)																				1				1		1												3	
H-SM(逊木措湖)																	1			1			1															3	
C-GEM(格尔木河)																																1	1	1	1	2	17	23	
N	1	2	2	1	3	1	1	3	1	1	6	8	27	6	1	3	1	2	6	1	1	1	8	8	1	4	2	14	6	3	1	1	1	1	1	2	17	149	

a) N, 每个单倍型包含的个体总数; Q-, 来自青海湖不同种群的青海湖裸鲤; H-, 来自黄河不同种群的花斑裸鲤; C, 来自柴达木盆地格尔木河的花斑裸鲤; H-SM, 来自黄河上游逊木措湖的花斑裸鲤和斜口裸鲤(1个斜口裸鲤和花斑裸鲤共享单倍型 23)

体的第 1 鳃弓外鳃耙数,采用相关分析法检测群体遗传变异与平均鳃耙数的相关性.

2 结果

2.1 序列变异

对来自 3 个水系的裸鲤进行排序分析后,得到全序列长 1140 bp,其中保守位点 1040 个,变异位点 101 个,包括 83 个简约信息位点和 18 个单个变异位点.大多数的变异发生在密码子第 3 位(90.1%),第 1 位(6.93%)和第 2 位(2.97%)的变异较低. Cyt *b* 基因片段中 A, T, C 和 G 碱基平均含量分别为 26.1%, 31.2%, 26.4% 和 16.3%,表现出明显的反 G 偏倚,显示细胞色素 *b* 基因的共同特性^[16]. 其中(A+T)含量(57.3%)明显高于(G+C)含量(42.7%). 在 Cyt *b* 全序列中,群体间有 89 个位点发生转换,12 个位点发生了颠换,平均转换与颠换比为 7.42 : 1. 核苷酸替代的饱和性分析表明核苷酸序列所有位点碱基替代缺乏饱和性.

2.2 系统发育关系

采用 NJ, MP 和 ML 构建了系统发育树,拓朴结构在 3 个谱系(谱系 A, B 和 C)的划分上得到完全一致的结果,节点支持率均达 98% 以上(图 2). 然而青海湖裸鲤、甘子河裸鲤、斜口裸鲤和花斑裸鲤都没有形成各自的单系群. 支系 A 由青海湖裸鲤、斜口裸鲤和部分黄河花斑裸鲤组成,节点的支持率都比较低,显示个体间关系较为紧密;支系 B 为其余的黄河花斑裸鲤;支系 C 则由来自柴达木水系格尔木河的花斑裸鲤构成单系群;支系 A 和支系 B 为姐妹群,显示较近的亲缘关系. 谱系多样性显示,黄河花斑裸鲤很可能存在 2 个独立的谱系来源,青海湖裸鲤与黄河花斑裸鲤中的一支关系密切. 群体(谱系)间的净遗传距离和遗传变异(表 2),显示了与系统进化树相同的结果.

2.3 群体多样性

在全部 149 个个体中共检测出 37 个单倍型(表 1),

其中青海湖裸鲤 16 个单倍型,黄河的花斑裸鲤 15 个单倍型,柴达木盆地格尔木河的花斑裸鲤 6 个单倍型,并表现为各自所特有;在 14 个来自甘子河裸鲤亚种的个体中检测到 5 个单倍型,其中 4 个与指名亚种共享,1 个为特有. 值得注意的是,来自逊木措湖的 1 个斜口裸鲤与黄河花斑裸鲤单倍型共享(单倍型 23)(表 1),显示出它们高度一致的 Cyt *b* 特征. 不同群体单倍型多样性($h = 0.5771 \sim 0.8720$)和核苷酸变异度($\pi = 0.00096 \sim 0.00485$)均表现为较低的水平(表 3). 其中黄河花斑裸鲤的群体多样性最高,柴达木花斑裸鲤最低.

2.4 种群结构和 AMOVA 分析

对青海湖裸鲤和花斑裸鲤的不同群体(population)按水系、谱系和物种分为不同的组群(group)进行 AMOVA 层次分析(hierarchical analysis)(表 4). 所有显著性检验都显示了分析的有效性($P = 0.00$),具有最大组群间变异的群体被假定为最符合自然的种群关系模式. 青海湖、黄河和柴达木水系裸鲤种群谱系间的分子变异($\theta_{ct} = 0.9312$)远大于谱系内的变异($\theta_{sc} = 0.4131$). 由此可见,依据谱系建立的青海湖裸鲤和花斑裸鲤的种群关系更符合自然模式.

以黄河上游官仓峡和拉加峡为界,将黄河花斑裸鲤分为 3 个组群(图 1). AMOVA 分析显示,在整个遗传变异中,组群间变异占 18.97% ($P < 0.01$),而组群内不同群体间的遗传变异占 5.82%,其余 75.21% 的变异则存在于各自的群体内部,组群间的差异表明黄河上游最大的 2 个峡谷对黄河花斑裸鲤群体基因交流有一定的限制作用.

由遗传变异推断的 N_m 值可反映群体间基因的交流情况^[17],青海湖裸鲤与甘子河亚种间的 $N_m = 8.1$,远大于 1,提示种群间广泛的基因交流,青海湖裸鲤与柴达木盆地格尔木河裸鲤群体间的 N_m 值为 0.012,揭示基因交流已在种群间长期受到限制.

表 2 青海湖裸鲤和花斑裸鲤群体(谱系)间平均净遗传距离(Da)和遗传变异值(F_{st})^{a)}

种群(谱系)	青海湖裸鲤指名亚种	青海湖裸鲤甘子河亚种	黄河花斑裸鲤 (谱系 A)	黄河花斑裸鲤 (谱系 B)	柴达木花斑裸鲤
青海湖裸鲤指名亚种		0.1501($P < 0.05$)	1.5850($P < 0.01$)	6.4746($P < 0.01$)	76.844($P < 0.01$)
青海湖裸鲤甘子河亚种	0.0581($P < 0.05$)		1.8930($P < 0.01$)	6.8323($P < 0.01$)	77.246($P < 0.01$)
黄河花斑裸鲤(谱系 A)	0.4168($P < 0.01$)	0.4878($P < 0.01$)		6.9804($P < 0.01$)	77.908($P < 0.01$)
黄河花斑裸鲤(谱系 B)	0.7639($P < 0.01$)	0.8177($P < 0.01$)	0.8036($P < 0.01$)		72.176($P < 0.01$)
柴达木花斑裸鲤	0.9769($P < 0.01$)	0.9861($P < 0.01$)	0.9864 ($P < 0.01$)	0.9819 ($P < 0.01$)	

a) 对角线以上为 Jukes-Canter 模型校正的群体间净遗传距离, $Da = Pixy - (Pix + Piy)/2$; 对角线以下为群体间的遗传变异值(F_{st})

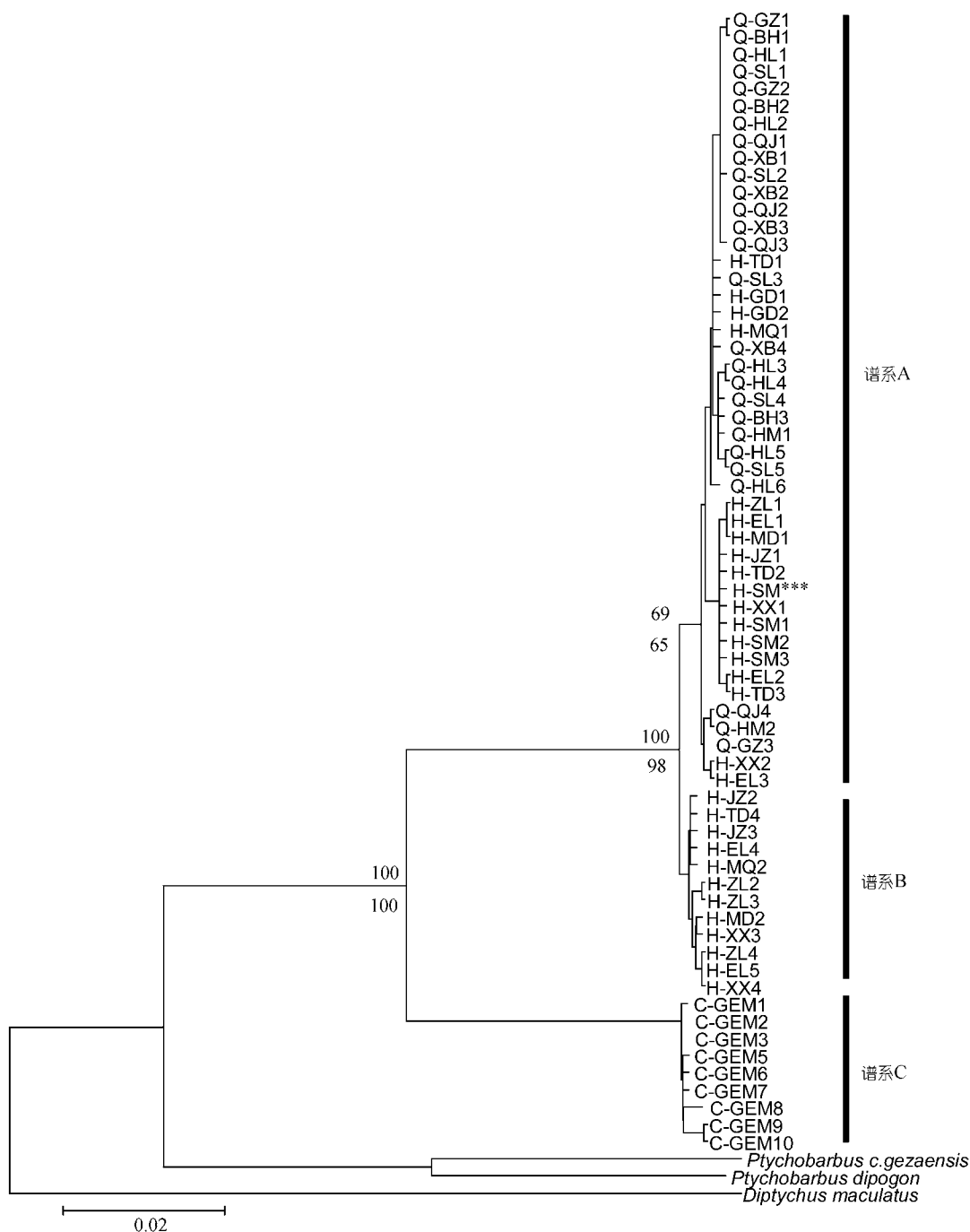


图2 基于 Cyt *b* 基因序列构建的青海湖、黄河和格尔木河裸鲤部分个体的 NJ 树

节点的数字为 NJ 分析(上, TrN+G, $\alpha=0.1913$)和 MP 分析(下, 启发式搜索, TBR)的 Bootstrap 支持率(1,000 次重复)。以 *Ptychobarbus c.gezaensis*, *Ptychobarbus dipogon* 和 *Diptychus maculatus* 作为外类群。个体按水系和地域编号。如 Q-GZ1 表示来自青海湖水系甘子河的 1 号样品。Q-, 来自青海湖不同种群的青海湖裸鲤; H-, 来自黄河不同种群的花斑裸鲤; C-, 来自柴达木盆地格尔木河的花斑裸鲤; H-SM, 来自逊木措湖的花斑裸鲤; H-SM***, 来自逊木措湖的斜口裸鲤

表 3 青海湖裸鲤和花斑裸鲤群体单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)

种群	N	$h \pm SE$	$\pi \pm SE$
青海湖裸鲤	67	0.8042 $\pm$ 0.0424	0.00201 $\pm$ 0.00124
青海湖裸鲤指名亚种	53	0.7828 $\pm$ 0.0532	0.00205 $\pm$ 0.00126
青海湖裸鲤甘子河亚种	14	0.7582 $\pm$ 0.0841	0.00168 $\pm$ 0.00114
黄河花斑裸鲤	58	0.8720 $\pm$ 0.0205	0.00485 $\pm$ 0.00249
柴达木花斑裸鲤	23	0.5771 $\pm$ 0.1182	0.00096 $\pm$ 0.00073

表 4 青海湖裸鲤和花斑裸鲤种群的 AMOVA 层次分析^{a)}

组群	θ_{st}	θ_{sc}	θ_{ct}	组间变异所占百分比	P
整个种群	0.9408			94.08	0.00
水系	0.9503	0.6918	0.8386	83.86	0.00
mtDNA	0.9596	0.4131	0.9312	93.12	0.00
物种	0.9338	0.9505	0.3382	37.92	0.00

a) P 为显著性检验水平; θ_{st} 表示总变异, θ_{ct} 表示组群间的变异, θ_{sc} 表示组群内的变异

2.5 形态学分析

青海湖裸鲤、花斑裸鲤和斜口裸鲤形态分类的主要依据是第 1 鳃弓外鳃耙数和口裂位置, 我们对样本进行了形态鉴定和鳃耙数统计, 并与以往的资料作比较, 显示了一致的结果^[3~5]: 第 1 鳃弓外鳃耙数, 青海湖裸鲤指名亚种为 20~31 (29.65 $\pm$ 3.86); 青海湖裸鲤甘子河亚种 11~29 (18.21 $\pm$ 3.14); 谱系 A 的花斑裸鲤 12~24 (18.44 $\pm$ 1.94); 谱系 B 的花斑裸鲤 10~23 (17.85 $\pm$ 3.03); 柴达木花斑裸鲤 12~20 (16.32 $\pm$ 1.98); 斜口裸鲤 32. 相关性分析显示, 遗传距离或两两 F_{st} 值与第 1 鳃弓外鳃耙平均数之间相关性差异不显著 ($P>0.05$).

3 讨论

3.1 系统进化关系

形态学研究认为青海湖裸鲤与来自黄河和格尔木河的花斑裸鲤互为单系群. Cyt *b* 基因序列资料中, 一致的系统进化树、高的节点支持率和 AMOVA 种群参数都证明谱系的多样性能更好地反映青海湖裸鲤和花斑裸鲤种群的系统发育关系. 青海湖裸鲤和黄河花斑裸鲤群体的单倍型在谱系 A 中相互交叉, 可能表明这 2 个群体隔离较晚, 但各自具有完全不同的单倍型又显示它们之间已出现遗传分化, 表明地理隔离在群体的进化中又起着重要作用. 朱松泉等人^[3]指出青海湖裸鲤可能与黄河花斑裸鲤为近缘种关系, 因为历史上青海湖与古黄河相通. 地质资料表明^[18],

黄河源区的水系发育非常新近, 约 1.2 Ma 前黄河出现在高原边缘, 约 0.15 Ma 发生的青藏高原“共和运动”使青海湖与古黄河的上游分离, 黄河开始向源区侵蚀溯源. 使青海湖与古黄河分离的青藏高原“共和运动”事件, 可以很好地解释青海湖裸鲤和黄河花斑裸鲤隔离进化模式的形成.

何德奎等人^[7]曾对 6 个来自黄河玛曲的花斑裸鲤 Cyt *b* 基因全序列进行了研究, 对花斑裸鲤的单系性给予了支持, 但我们的分析显示了不同的结果. 在对照采样地点后发现, 我们的研究中, 来自黄河玛曲和附近水域的大量个体在谱系 A 和 B 中同时出现. 由此判断, 样本数量和采样地区的局限, 可能导致了分析结果的差异, 也说明脱离了种群水平的系统学研究会对评估自然的进化关系带来一定的困难.

Cyt *b* 资料显示格尔木河的裸鲤与其它水系的裸鲤谱系间高于 0.97 的 F_{st} 值(表 2), 证明它们之间的遗传差异不是新近形成的, 它们的基因交流受到长期限制. 暗示长期的地理隔离和不同的生态环境可能使它们独立进化成当于不同的种. 与其它基因组的联合分析将有助于进一步澄清格尔木河裸鲤的系统进化地位. 在淡水鱼类中, 形态相似但遗传上分化形成了不同的谱系^[19,20], 而最终被确定为异种的现象, 已有大量的报道^[21~23].

来自逊木措湖的斜口裸鲤虽只有 1 尾, 但与黄河花斑裸鲤单倍型共享. 逊木措湖属黄河水系, 除分布有斜口裸鲤外还分布有大量的花斑裸鲤, 共同的生态环境可能使它们在遗传上未出现分化. 赵铁桥^[24]曾认为斜口裸鲤作为花斑裸鲤的一个亚种斜口花斑裸鲤(*G. eckloni scoliosomus*)更为适宜, 但我们基于 Cyt *b* 基因的分子系统分析, 不支持斜口裸鲤为单型种或作为花斑裸鲤的亚种.

3.2 种群结构

历史上, 青海湖地区的裸鲤先后被描述了共 7 个种^[2,25~27], 朱松泉等人^[3]将其归并为青海湖裸鲤一种, 我们的 Cyt *b* 分析表明青海湖裸鲤在种的水平上没有显示分化, 支持形态学结果. 甘子河裸鲤亚种有 4 个单倍型与青海湖裸鲤指名亚种共享, 一个特有单倍型(单倍型 3)(表 1)在系统树上与其它单倍型交叉(Q-GZ3)(图 2), 特有单倍型与其它单倍型之间的序列差异(0.27%)也小于指名亚种群体内的序列差异(0.3%), 因而不支持青海湖裸鲤是一个多型种. 地质

资料表明^[28], 甘子河与青海湖的隔离是非常新近的事件, 即使隔离后仍存在由于洪水相互溢入的可能性, 这也为鱼类的交流提供了条件, Nm 值基本上反映了这一情况。

黄河溯源到达今日源区之前已有大量裂腹鱼类生活在源区水域^[1,29]。我们的 $AMOVA$ 分析有力地支持了黄河上游的2大峡谷在一定程度上限制了鱼类的扩散, 这与裸鲤鱼一般生活于宽谷河流和湖泊的习性相一致。由于黄河完全贯穿上游湖泊是发生在晚更新世末甚至全新世以后的事件^[28,30], 因此, 黄河花斑裸鲤显示的谱系多样化, 最有可能的解释是, 黄河溯源最近一次切开上游峡谷后与当地的土著鱼类发生了融合, 并留下了族源的印迹。事实上, 在我们的资料中, 谱系B的大部分个体(88%)就是来自于官仓峡以上黄河上源的扎陵湖鄂陵湖和附近地区。

综合以前的形态学资料和我们统计的鳃耙数, 虽然种群间平均鳃耙数存在较大差别, 但变异范围也较大, 且大幅度重叠, 鳃耙数的差异还表现在共享单倍型的个体上。相关性分析不支持鳃耙数与mtDNA谱系存在显著相关。王基琳等人^[31]认为, 青海湖和甘子河裸鲤鳃耙数的差异是由于水环境的差别造成。由此看来, 鳃耙数和口裂上斜等特征对于裸鲤鱼并不具有系统发育的意义, 许多研究也表明^[32~34], 传统分类学中使用的一些形态特征并不完全与系统发育进化相一致。

3.3 遗传多样性

在149个个体中只检测到37种单倍型, Cyt *b*单倍型多样度和核苷酸多样性与一般鲤科鱼类相比保持较低的水平^[35~37]。这是因为青藏高原第四纪以来经历了数次地质和气候的改变, 生活在高原水域中的鱼类或多或少经历过“瓶颈效应”(Bottleneck)的打击。黄河花斑裸鲤的遗传变异($\pi = 0.00485$)大于青海湖裸鲤($\pi = 0.00201$), 体现了一般情况下江河性鱼类和湖泊性鱼类遗传多样性的差异^[38]。格尔木河的裸鲤表现出非常低的种内变异($\pi = 0.00096$), 提示种群有可能在历史上遭受过非常严重的瓶颈, 这一推断与柴达木盆地在晚更新世末经历了一个非常干旱的时期, 导致盆地内一些生物灭绝的历史事实相符^[39]。格尔木河裸鲤极低的遗传变异与柴达木盆地鱼类多样性的相对贫乏相一致, 反映了青藏高原的强烈隆升导致柴达木盆地总的干旱化趋势和对生物多样性的影响。

自然群体中的遗传变异是该群体将来进化的原材料, 遗传多样性的丧失, 对于生活于波动环境中的野生群体是一个极大的威胁。因此, 目前对青海湖裸鲤和黄河花斑裸鲤种群的保护措施应继续进行下去。鉴于柴达木盆地格尔木河裸鲤特殊的系统地位和极度缺乏的遗传变异, 提议对格尔木河裸鲤也应给予优先保护。

致谢 采样得到青海大学陈刚教授、李太平教授和青海省水产局史建全、祁洪芳老师的大力协助; 实验得到中国科学院水生生物研究所刘焕章研究员、王绪桢博士、彭作刚博士、郭宪光博士和杨雷博士以及西北农林科技大学卢建雄博士的热心帮助; 中国科学院昆明动物研究所张亚平院士、庞峻峰博士、向余劲功博士和吴桂生博士对资料分析给予了指导, 在此谨致衷心感谢。本工作为国家自然科学基金(批准号: 32005008)和中国科学院知识创新工程(批准号: KSCX2-SW-101B)资助项目。

参 考 文 献

- 1 曹文宣, 陈宜瑜, 武云飞, 等. 裂腹鱼类的起源和演化及其与青藏高原的隆起关系. 见: 中国科学院青藏高原综合科学考察队编. 青藏高原隆起的时代、幅度和形式问题. 北京: 科学出版社, 1981. 118~130
- 2 Kessler K F. Beitrage zur ichthyologie von Central-Asien. Mël Biol Bull Acad Sci St Pétersb, 1879, (10): 233~272
- 3 朱松泉, 武云飞. 青海湖地区鱼类区系的研究. 青海湖地区的鱼类区系和青海湖裸鲤的生物学. 北京: 科学出版社, 1975. 59~26
- 4 曹文宣, 邓中麟. 四川西部及其邻近地区的鱼类. 水生生物学集刊, 1962, (2): 27~53
- 5 武云飞, 陈缓. 青海省果洛和玉树地区的鱼类. 动物分类学报, 1979, 4(3): 287~296
- 6 赵凯, 李军祥, 张亚平, 等. 青海湖裸鲤 mtDNA 遗传多样性的初步研究. 遗传, 2001, 23(5): 445~448
- 7 何德奎, 陈毅峰, 陈宜瑜, 等. 特化等级裂腹鱼类的分子系统发育与青藏高原隆起. 科学通报, 2003, 48(22): 2354~2362[摘要][PDF]
- 8 Ausubel F M. Short Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley and Sons, 1992
- 9 Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucl Acids Res, 1994, 22: 4673~4680
- 10 Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA: Molecular evolutionary genetics analysis. Pennsylvania: Pennsylvania State University, 1993
- 11 Swofford D L. PAPA*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Ver 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 1998~2002
- 12 Posada D, Crandall K A. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14: 817~818[DOI]
- 13 Schneider S, Roessli D, Excoffier L. ARLEQUIN Version 2.000: A software for population genetic data analysis. Switzerland: Uni-

- iversity of Geneva, 2000
- 14 Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 2000, 136: 343~359
- 15 Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press, 1987
- 16 Cantatore P, Roberti M, Pesole G, et al. Evolutionary analysis of cytochrome *b* sequences in some perciformes: Evidence for a slower rate of evolution than in mammals. *J Mol Evol*, 1994, 39: 589~597[DOI]
- 17 Hudson R R, Slatkin M, Maddison W P, et al. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetic*, 1992, 132: 583~589
- 18 李吉均, 方小敏, 潘保田, 等. 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*, 2001, 21(5): 381~391
- 19 Coelho M M, Brito R M, Pacheco T R, et al. Genetic variation and divergence of *Leuciscus pyrenaicus* and *L. carolitertii* (Pisces, Cyprinidae). *J Fish Biol*, 1995, 47: 243~258
- 20 Kotlík P, Berrebi P. Genetic subdivision and biogeography of the Danubian rheophilic barb *Barbus petenyi* inferred from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA variation. *Mol Phylogenet Evol*, 2002, 24: 10~18[DOI]
- 21 Coelho M M, Bogutskaya N, Godrigues J A, et al. *Leuciscus torgalensis* and *L. aradensis*, two new cyprinids for Portuguese fresh waters. *J Fish Biol*, 1998, 52: 937~950
- 22 Doadrio I, Carmona J A, Fernández-Delgado C. Morphometric study of the Iberian *Aphanius* (Actinopterygii, Cyprinodontiformes), with description of a new species. *Folia Zool*, 2002, 51: 67~79
- 23 Kotlík P, Tsigenopoulos C, Ráb P, et al. Two new *Barbus* species from the Danube Basin, with redescription of *B. petenyi* (Teleostei: Cyprinidae). *Folia Zool*, 2002, 51: 227~240
- 24 赵铁桥. 关于花斑裸鲤的分类问题. *动物世界*, 1986, 3(4): 49~55
- 25 Herzenstein S M. Wissenschaftlichen Resultate der von N M. Przewalski nach Central-Asien. *Zool Theil*, III, 1888~1991, 2(1&3): 1~91; 181~262
- 26 张春霖, 张玉玲. 青海湖鱼类新种 I. *动物学报*, 1963, 15(2): 291~295
- 27 张春霖, 张玉玲. 青海湖鱼类新种 II. *动物学报*, 1963, 15(4): 635~638
- 28 陈志明. 黄河上源古湖沼及其环境初析. 第三次中国海洋湖沼科学会议论文集. 北京: 科学出版社, 1988. 244~253
- 29 武云飞, 吴翠珍. 青海省黄河鱼类及其区系分析. *高原生物集刊*, 1987, (7): 141~153
- 30 张智勇, 于庆文, 张克信, 等. 黄河上游第四纪河流地貌演化. *地球科学——中国地质大学学报*, 2003, 28(6): 621~633
- 31 王基琳, 郑英明, 邢定介. 青海湖裸鲤饵料调查报告. 青海湖地区的鱼类区系和青海湖裸鲤的生物学. 北京: 科学出版社, 1975. 27~36
- 32 Yang J X. Phylogeny and zoogeography of Cyprinid genus *Epalzeorhynchus* Bleeker (Cyprinidae: Ostariophysi). *Copeia*, 1998, (1): 48~63
- 33 Zhang E. Phylogenetic relationships of the endemic Chinese cyprinid fish *Pseudogyrinocheilus proechilus*. *Zoological Research*, 1994, 15(additional): 26~35
- 34 李俊兵, 王绪桢, 何舜平, 等. 16S rRNA 基因序列变异和中国野鲮亚科鱼类单系性研究. *自然科学进展*, 2004, 14(11): 132~139
- 35 Alves M J, Coelho H, Collares-Pereira M J, et al. Mitochondrial DNA variation in the highly endangered cyprinid fish *Anaecypris hispanica*: importance for conservation. *Heredity*, 2001, 87: 463~473[DOI]
- 36 Mesquita N, Carvalho G, Shaw P, et al. River basin-related genetic structuring in an endangered fish species, *Chondrostoma lusitanicum*, based on mtDNA sequencing and RFLP analysis. *Heredity*, 2002, 86, 253~264 [DOI]
- 37 Perdiges A, Cunha C, Coelho M M. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei: Cyprinidae) populations on the upper and middle Chang Jiang (=Yangtze) drainage inferred from cytochrome *b* sequences. *Mol phylogenet Evol*, 2004, 31: 192~203[DOI]
- 38 Grewe P M. Mitochondrial DNA variation among Lake trout (*Salvelinus namaycush*) strains stocked into Lake Ontario. *Can J Fish Aquat Sci*, 1993, 50: 2397~2403
- 39 景民昌, 孙镇城, 李东明, 等. 柴达木盆地 3 万年前左右 *Ilyocyprisinerms* 灭绝事件及其古环境意义. *现代地质*, 2001, 15(1): 49~57

(2005-02-11 收稿, 2005-06-02 收修改稿)