

DOI: 10.5846/stxb201301050033

张艳萍, 杜岩岩, 王太, 虎永彪, 娄忠玉, 焦文龙. 秦岭细鳞鲑群体遗传结构. 生态学报, 2014, 34(17): 4950-4956.

Zhang Y P, Du Y Y, Wang T, Hu Y B, Lou Z Y, Jiao W L. Population genetic structure of *Brachymystax lenok tsinlingensis* as inferred from mtDNA D-loop sequence. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(17): 4950-4956.

秦岭细鳞鲑群体遗传结构

张艳萍, 杜岩岩, 王太*, 虎永彪, 娄忠玉, 焦文龙

(甘肃省水产研究所/甘肃省冷水性鱼类种质资源与遗传育种重点实验室, 兰州 730030)

摘要: 秦岭细鳞鲑 (*Brachymystax lenok tsinlingensis*) 是秦岭地区特有鱼类, 近年来由于环境恶化及人类活动的加剧, 已对其造成严重影响, 种群处于濒危状态, 因此研究秦岭细鳞鲑的群体遗传结构、演化历史、分布动态等对其进行有效保护具有重要意义。本研究用线粒体 D-loop 区序列对秦岭地区 6 个群体 ($n=112$) 进行了遗传结构和群体演化分析。D-loop 区扩增出的 891bp 序列在 112 个个体中, 检测到 42 个变异位点, 共 26 个单倍型; 碱基序列总的单倍型多样性较高为 0.883, 核苷酸多样性为 0.00799。AMOVA 分析显示, 60.05% 的分子差异位于群体内, 39.95% 的分子差异位于群体间, F_{st} 值统计检验表明, 除那布大河群体与漳河群体和千河群体之间差异不显著之外, 其余两两群体之间 F_{st} 值统计检验均为显著。系统树和单倍型网络图分析表明, 6 个地理群体的单倍型按照渭河上游和渭河中游两个河段形成两个大的类群, 且 5 个群体共享一个单倍型 H2, 表明这些群体具有相同的演化历史, 为同一个祖先群体演化而来。中性检验和歧点分布显示, 秦岭细鳞鲑种群大小保持相对稳定, 未经历明显的种群扩张。同时建议将渭河上游秦岭细鳞鲑群体作为一个整体进行重点保护。

关键词: 秦岭细鳞鲑; 线粒体控制区; 遗传结构; 种群扩张

Population genetic structure of *Brachymystax lenok tsinlingensis* as inferred from mtDNA D-loop sequence

ZHANG Yanping, DU Yanyan, WANG Tai*, HU Yongbiao, LOU Zhongyu, JIAO Wenlong

Gansu Key Laboratory of Cold Water Fishes Germplasm Resources and Genetics Breeding/Gansu Fishers Research Institute, Lanzhou 730030, China

Abstract: *Brachymystax lenok tsinlingensis* is one of an endemic fishes distributing in Qinling mountains scatteredly. Due to environmental depravation and overfishing, its population size was sharply decreased. To establish a scientific basis to conserve this species, studies on the population genetic structure and phylogeography are necessary. In this study, the population genetic variations and phylogeographical patterns of 112 *Brachymystax lenok tsinlingensis* collected from six sites of the Wei River basin were investigated. An 891bp control region partial sequence of mtDNA was amplified in each sample, and 42 variable sites were detected, including 39 parsim-info sites and 3 singleton sites, with 26 haplotypes. The contents of cytosine, thymine, adenine and guanine were 23.1%, 30.8%, 31.7%, and 14.5%, respectively. Total haplotype diversity and nucleotide diversity were 0.883 and 0.00799, respectively. The genetic diversity of the Malu River population was the highest among these six populations, while the population of Zhang River was the lowest with only one haplotype H2. Of the 26 haplotypes, H2 was detected in 35 samples (31%) from 5 populations except the Malu River population. The result of AMOVA showed that 39.95% molecular variation was among populations and 60.05% within populations. The pairwise fixation index (F_{st}) revealed significant differences except between the Zhang River population and the Nabuda River population. Phylogenetic tree with *Hucho taimen* as outgroup showed that three geographic populations from the middle reach

基金项目: 国家自然科学基金 (31160529); 甘肃省自然科学基金 (1208RJYA033)

收稿日期: 2013-01-05; 网络出版日期: 2014-03-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: aqhongqi@qq.com

of Wei River including 16 haplotypes formed a big branch, and the rest haplotypes formed several small branches. The minimum spanning network for *Brachymystax lenok tsinlingensis* showed that the haplotypes of six geographical populations formed two big groups: the upper reach group and the middle reach group of the Wei River. The haplotype H2 was inner branch haplotype, it tend to be more widely as the ancestors haplotype, thus *Brachymystax lenok tsinlingensis* may have originated in the haplotype H2. Mismatch distribution analysis map showed a peak type, and Tajima's *D* value (-0.18715) of neutrality test is negative, but no significant difference, which indicates that *Brachymystax lenok tsinlingensis* in this research hadn't experience population expansion. Maybe due to climate change, the remaining individuals do not adapt to the living environment, the population don't carry out expansion. The haplotype H2 derives to the other haplotype in the different environmental, Wei River was cut off by a large number of water-shore projects, the migratory route is blocked, it was distributed with dots along the Wei River basin, lacked gene exchange between among populations. Due to the low level of genetic variation of three populations in the Wei River upper reach, more attentions should be paid to protect *Brachymystax lenok tsinlingensis* as a whole population.

Key Words: *Brachymystax lenok tsinlingensis*; mtDNA D-loop; genetic structure; population expansion

秦岭细鳞鲑 (*Brachymystax lenok tsinlingensis*) 属于鲑形目 (Salmoniformes) 鲑科 (Salmonidae) 细鳞鲑属 (*Brachymystax*), 为我国特有种, 主要分在秦岭北麓的渭河流域较大支流中, 是一种陆封型冷水性鱼类^[1]。由于其肉质鲜美、营养丰富, 早在 1938 年就被人工引入到汉江支流渭水河中进行人工驯养^[2-3]。近年来随着生存环境的恶化、不当的开发和过度捕捞等原因的影响, 秦岭细鳞鲑资源急剧减少, 呈点状分布在渭河上游部分支流中。1998 年秦岭细鳞鲑被收录于《中国濒危动物红皮书——鱼类》中, 属濒危物种, 国家 II 级保护水生野生动物^[4]。目前, 针对秦岭细鳞鲑的研究主要集中在资源调查^[5]、生物学^[6-8]、胚胎发育^[9]和人工繁殖^[10]等方面, 然而对其遗传背景的研究较少, 仅见原居林等^[11]采用 RAPD 技术对黑河种群和渭水河种群的遗传多样性进行了分析。了解现有群体的遗传背景对于制定有效的保护措施十分重要。

线粒体 DNA (mtDNA) 由于结构简单、进化速度快和几乎不发生重组等特点, 使得 mtDNA 成为探讨物种起源、系统发生和种内遗传分化的有效遗传标记^[12]。线粒体控制区序列 (D-loop) 为非编码区, 因缺乏编码的选择压力而比其他线粒体基因的进化速率更快^[13], 在鱼类群体研究中被广泛应用。Wu 等^[14]利用 D-loop 区分析了台湾近海西太平洋黄鳍金枪鱼群体与印度洋群体间的系统分化关系, 未发现明显分化。孟玮等^[15]利用 D-loop 区揭示了塔里木裂腹鱼各群体间遗传分化显著, 并且经历过种群

扩张事件。王培欣等^[16]利用同样技术分析得出 8 个流域叉尾斗鱼种群遗传多样性很低且存在地理差异。本研究采集渭河流域几条主要支流的秦岭细鳞鲑样本, 获取和分析了线粒体控制区序列, 试图揭示秦岭细鳞鲑群体的组成和分化特征, 从而为秦岭细鳞鲑资源的科学管理、合理保护和开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集和 DNA 提取

实验采集秦岭细鳞鲑 6 个野生群体, 共 112 尾个体。样品数量、采集地及所属水系见表 1。用无水乙醇固定尾鳍标本带回实验室进行分析。采用酚/氯仿法提取基因组 DNA, 采用哲罗鲑 (*Hucho taimen*) 为外类群构建系统发育树。

1.2 PCR 扩增和序列测定

扩增 mtDNA 控制区序列的引物^[17]: 正向引物为 M13 通用引物和引物 t-pro, M13/t-pro: 5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT CCC AAA GCT AAG ATT CTA AA-3'; 反向引物 s-phe: GCT TTA GTT AAG CTA CG。PCR 反应体系为 25 μ L, 其中包括 1 U TaqDNA 聚合酶 (TaKaRa), 1 μ L dNTPs (2.5 mmol/L), 2.5 μ L 10 X Taq buffer (TaKaRa, 含 Mg^{2+}), 两条引物 (10 mmol/L) 各 1 μ L, 3 μ L DNA 模板, 其余双蒸水补足。PCR 反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 共 30 个循环; 反应结束后在 72 $^{\circ}$ C 再延伸 8 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后送上海美吉生物工程公司纯化并双

向测序,测序引物为扩增引物。

表 1 样本的名称、来源

Table 1 Scientific name, sampling localities, number of individuals of <i>Brachymystax lenok tsinlingensis</i>				
种群 Populations	坐标 Coordinates	时间 Time	采集地点 Sampling localities	样本数 <i>n</i>
马鹿河 (ZH)	N 34°46.181'/E 106°33.462' (海拔 2192 m)	2010 年 4 月 20 日	张家川县马鹿乡	28
Malu River	N 34°48.243'/E 106°30.699' (海拔 1745 m)	2012 年 7 月 14 日		12
西河 (W)	N 34°35.187'/E 104°53.646' (海拔 2400 m)	2012 年 7 月 22 日	武山县龙台乡	9
Xi River	N 34°31.381'/E 104°53.166' (海拔 2512 m)	2013 年 2 月 20 日		5
千河 (L)	N 35°02.878'/E 106°29.357' (海拔 1490 m)	2012 年 7 月 10 日	陇县	7
Qian River	N 35°02.878'/E 106°29.357' (海拔 1490 m)	2013 年 3 月 3 日		14
那布大河 (M)	N 34°30.128'/E 104°40.125' (海拔 2214 m)	2012 年 8 月 7 日	岷县闫井镇	9
Nabuda River				
漳河 (Z)	N 34°49.932'/E 104°16.731' (海拔 2112 m)	2012 年 8 月 17 日	漳县	11
Zhang River	N 34°52.123'/E 104°22.626' (海拔 1971 m)	2013 年 2 月 25 日		2
东岔河 (T)	N 34°13.388'/E 105°58.018' (海拔 1403 m)	2012 年 7 月 20 日	天水市麦积区	15
Dongcha River				

1.3 数据分析

测序获得的序列通过 Chromas 1.45 软件获得原始序列数据;利用 CLUSTAL X2 软件对所有序列进行比对,参照测序图进行人工校正。用 DnaSP 5.0 软件计算单倍型数、单倍型多样性和核苷酸多样性等;运用 Arlequin 3.1 软件中的分子变异(AMOVA)方法估算遗传变异在群体内和群体间的分布及遗传分化指数 F_{ST} 值及其 P 值(用排列测验法,1000 次重排后的显著性检验),碱基不配对分析和 Tajima's D 检验来推断种群发生扩张的历史;用 Mega 4.0 软件统计碱基组成,并基于 Kimura 2-papamter 模型以细鳞鲑的近缘物种哲罗鲑 *Hucho taimen* 为外类群,用最大简约法(Maximum parsimony, MP)和邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建系统进化树,系统树中节点的自举置信水平应用自引导估计,循环次数为 1000 次。利用 PAUP×4.0 软件构建最大似然法(Maximum likelihood, ML)系统发育树。Network 软件构建最小网络图,用以检测单倍型之间的进化关系。

2 结果

2.1 序列变异及群体遗传多样性

对所得序列进行比对分析,得到目的片段长度为 891bp。6 个群体共检测到 42 个多态位点,其中 39 个简约信息位点,3 个单突变位点。T、C、A、G 平均含量分别为 30.8%、23.1%、31.7%和 14.5%,A+T 含量(62.5%)高于 G+C 含量(37.5%)。转换/颠换

平均值为 5.2。

秦岭细鳞鲑 112 尾个体共检测到 26 个单倍型,碱基序列总的单倍型多样度较高,为 0.883,核苷酸多样度为 0.00799。秦岭细鳞鲑各群体多样性信息如表 2 所示,群体内单倍型多样性以马鹿河最高为 0.921,核苷酸多样度以岷县那布大河最高为 0.03635。马鹿河群体与千河群体共享单倍型 H1 和 H5,与东岔河群体共享单倍型 H7 和 H12。西河群体与那布大河群体有两个共享单倍型 H2 和 H3。在所有单倍型中 H2 分布最广,分布在除马鹿河外的其它五条河流,共 35 个个体,漳河群体仅有 H2 一个单倍型,认为漳河群体受“创立者效应”的影响最大,未形成新的遗传变异。

2.2 群体遗传结构

秦岭细鳞鲑群体 AMOVA 分析结果显示,39.95%的分子差异位于群体间,60.05%的分子差异位于群体内,群体间遗传分化极显著($F_{ST}=0.39947$; $P=0.00$)(表 3)。通过计算两两群体间 F_{ST} 值得到的结果显示,那布大河群体与漳河群体和千河群体之间差异不显著,其余两两群体之间 F_{ST} 值统计检验均显著。其中,漳河群体与马鹿河群体间的 F_{ST} 值最大(0.63487),漳河群体与那布大河群体间的 F_{ST} 值最小(0.06885)(表 4)。

2.3 秦岭细鳞鲑群体的系统发育与网络关系分析

以近缘种哲罗鲑(*Hucho taimen*)为外群,采用 3 种不同方法(MP、ML 和 NJ)构建系统发育树来分析不同水系之间的秦岭细鳞鲑种群之间的关系

表 2 秦岭细鳞鲑遗传多样性信息

Table 2 Molecular diversity indices of <i>Brachymystax lenok tsinlingensis</i>				
群体 Population	个体数 Individuals	单倍型 Haplotypes(n^*)	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity
马鹿河(ZH) Malu River	40	H1(4)、H5(5)、H7(6)、H8(2)、H9(6)、H10(3)、H11(1)、H12(3)、H13(4)、H14(2)、H15(2)、H16(2)	0.921	0.00027
西河(W) Xi River	14	H2(4)、H3(1)、H21(2)、H22(2)、H23(1)、H24(3)、H25(1)	0.879	0.00516
千河(L) Qian River	21	H1(4)、H2(8)、H3(2)、H4(3)、H5(3)、H6(1)	0.805	0.00854
那布大河(M) Nabuda River	9	H2(7)、H3(1)、H26(1)	0.417	0.03635
漳河(Z) Zhang River	13	H2(13)	0.000	0.00000
东岔河(T) Dongcha River	15	H2(3)、H7(1)、H12(1)、H17(4)、H18(2)、H19(2)、H20(2)	0.886	0.00251

* 表示享有该单倍型的标本数

表 3 秦岭细鳞鲑群体 AMOVA 分析结果

Table 3 Results of AMOVA analysis of <i>Brachymystax lenok tsinlingensis</i>						
变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	变异组分 Variance components	变异百分比 Percentage of variation	F	P
群体间 Among populations	5	160.921	1.68854 Va	39.95	0.39947	$P=0.00$
群体内 Within populations	106	269.070	2.53839 Vb	60.05		
总体 Total	111	429.991	4.22693			

表 4 秦岭细鳞鲑群体间 F_{st} 值(对角线下) 及相应的 P 值(对角线上)

Table 4 Pairwise F_{st} (below the diagonal line) and associated P values (above the diagonal line) among <i>Brachymystax lenok tsinlingensis</i>						
	1	2	3	4	5	6
1 千河 Qian River(L)		0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.09009
2 马鹿河(ZH) Malu River	0.33469		0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
3 东岔河(T) Dongcha River	0.18770	0.15816		0.00000	0.00000	0.00000
4 西河 Xi River(W)	0.19062	0.56221	0.43152		0.00000	0.00901
5 漳河 Zhang River(Z)	0.19747	0.63487	0.54382	0.53893		0.17117
6 那布大河(M) Nabuda River	0.09443	0.57019	0.42443	0.32059	0.06885	

(图 1)。3 种方法构建的系统发育树具有完全一致的拓扑结构,区别在于节点的支持率有所不同。从系统树可以看出,26 个单倍型形成的谱系分支中 16 个单倍型形成一个大分支,该分支中包括马鹿河群体、东岔河群体全部单倍型和千河群体中的 2 个单倍型,主要集中在渭河中游,除马鹿河群体以外 5 个群体的部分单倍型构成一个混合分支。而渭河上游西河种群 5 个单倍型独立构成一个小分支。

采用 NETWORK 构建的单倍型最小网络图显示(图 2),大多数单倍型之间只有 1 步突变,中心单倍

型 H2 与西河(单倍型 H21、H22)和马鹿河(单倍型 H7、H9)之间经过 2 步突变,H2 与千河(单倍型 H4)和西河(单倍型 H23)之间经过 3 步变异,做为渭河上游河流西河的特异单倍型 H23 和中游河流千河特异单倍型 H4 位于同一推测进化分支上,中间经过 mv1 和 mv4 两个丢失单倍型,推测认为千河群体和西河群体之间有过基因的交流,相互交流的通道就是渭河干流。所得到的 26 个单倍型按其所处地理位置基本演化为两支,一支由千河、马鹿河和东岔河群体组成,另一支以渭河上游的漳河、那布大河和西

河种群为主。网络图进一步支持了系统发育树的分析,秦岭细鳞鲑 6 个地理群体的单倍型按照渭河上游和渭河中游两个河段形成两个大的类群,并在两大类群中有共享单倍型存在,暗示秦岭细鳞鲑在渭河上游和中游之间存在一定的基因交流。

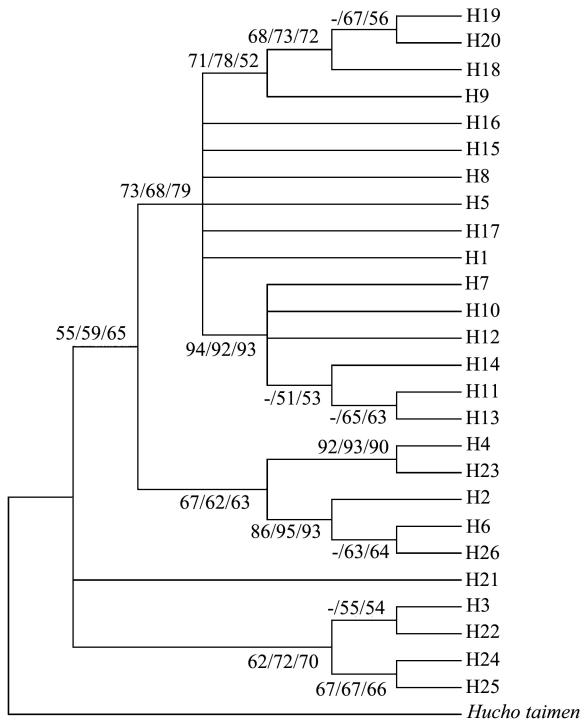


图 1 基于 D-loop 区序列构建秦岭细鳞鲑的系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree for *Brachymystax lenok tsinlingensis* base on mitochondrial D-loop sequences

由于 MP、ME 和 NJ 系统发育树的拓扑结构相同,此处仅显示 NJ 系统发育树,节点上数据从左到右为 MP/ML/NJ 的 BP 值(%),仅显示 $\geq 50\%$ 的值)

2.4 秦岭细鳞鲑群体历史动态分析

采用 Arlequin 3.1 软件分析秦岭细鳞鲑的种群动态,利用歧点分布和 Tajima's D 中性检测分析秦岭细鳞鲑是否经历种群扩张。结果显示,秦岭细鳞鲑所有种群的检测中,歧点分布 (Mismatch-distribution) 分析图谱呈现多峰型 (图 3),在中性检验中 Tajima's D 值为负值但差异不显著 (Tajima's $D = -0.18715$, $P = 0.64950$),表明秦岭细鳞鲑在各水系的种群大小保持相对稳定,未发生明显的种群扩张。

3 讨论

3.1 遗传结构分析

一个物种的进化潜力和抵御不良环境的能力与

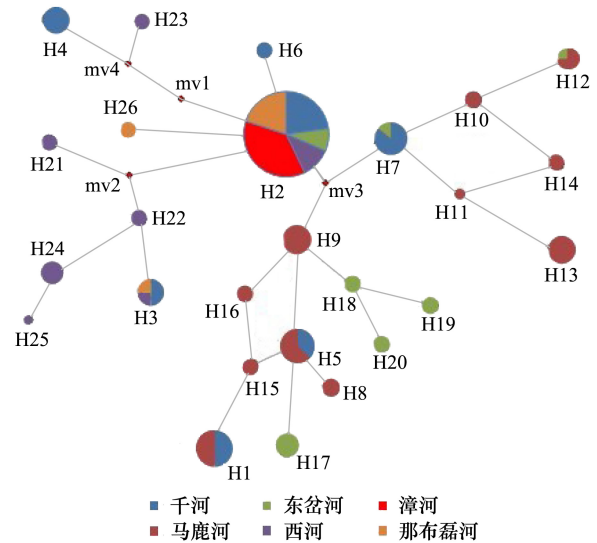


图 2 秦岭细鳞鲑单倍型最小进化网络关系

Fig. 2 Haplotypes minimum spanning network for *Brachymystax lenok tsinlingensis*

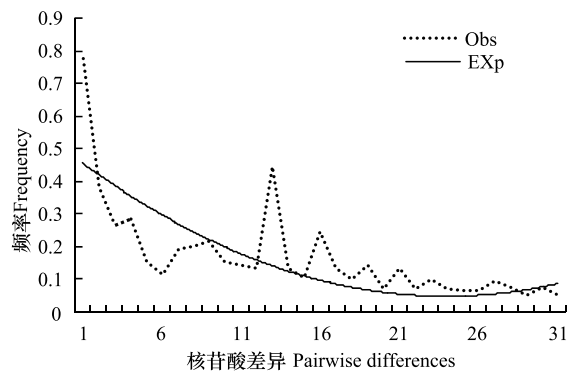


图 3 秦岭细鳞鲑种群的歧点分布分析图 (其中实线代表期望值,虚线代表观察值)

Fig. 3 Mismatch-distribution analysis of *Brachymystax lenok tsinlingensis* (solid lines represent the distribution expected, dotted lines represent the observe distribution)

群体遗传结构和遗传变异密切相关,种群遗传多样性水平、形成机制及分布格局的研究,可揭示物种的进化历程,单倍型多样性 (h) 和核苷酸多样性 (π) 是衡量群体遗传多样性的重要指标^[18]。渭河流域 6 条支流的 112 尾个体共检测出 26 个单倍型,单倍型多样性 h 和核苷酸多样性 π 分别为 0.883, 0.00799, 显示出较高的遗传多样性。这与夏颖哲等^[17]对渭河秦岭细鳞鲑种群的单倍型多样性 $h = 0.622$ 和核苷酸多样性 $\pi = 0.0017$ 的研究结果有差异,本研究得出的研究结果较高,这可能与采样数量和采集地范围较小有关。原居林等采用 RAPD 技术对渭水河秦岭

细鳞鲑种群分析得出其遗传多样性较低,渭水河作为秦岭细鳞鲑第一个人工移植驯化点,其遗传多样性较低可能是由于引入的亲鱼数量较少,群体所含变异少,导致“奠基者效应”和近交压力,从而引起该群体遗传多样性低的缘故。

AMOVA 分析结果显示,遗传变异主要发生群体内,占 60.05%,而种群间遗传变异占 39.95%。群体间遗传分化极显著($F_{st} = 0.39947$; $P = 0.00$),除那布大河群体与漳河群体和千河群体之间 F_{st} 差异不显著之外,其余两两群体之间 F_{st} 值统计检验均为显著,表明各群体之间出现了一定程度的分化,这可能与秦岭细鳞鲑自身的散布能力较差和基因交流通道受阻有关^[12]。在漳河的 13 尾个体,仅检测到一个单倍型 H2,遗传多样性贫乏,对这一现象最普遍的解释是种群遭受瓶颈效应后,受到“奠基者效应”的影响^[19]。

3.2 群体进化历程与保护

生物多样性与物种进化历程紧密相关,在秦岭细鳞鲑 6 个种群之间都共享一定的单倍型,其中单倍型 H2 为 5 个群体所共享,漳河的 13 尾个体仅有 1 个单倍型 H2,说明渭河流域秦岭细鳞鲑来源于同一祖先群体,且在部分河流奠基者效应放大,遗传变异较少,这与样品采集范围大小有关。分支系统树显示,秦岭细鳞鲑可以按照渭河上游与中游大体分开的地理分布格局,暗示两大群体之间基因交流受到一定限制,但是两群体间又存在共享的单倍型(H2 和 H3),说明两群体并不是完全阻隔,还存在部分基因交流。在 Brunner 等^[20]报道了北极红点鲑(*Salvelinus alpinus*)种群不同地理区域间具有显著遗传分化,认为种群间基因交流低的原因可能是由于鲑科鱼类的洄游产卵和有限的散布能力决定的。

单倍型最小进化网络图显示,按照采样地理区域形成了各自的分支,单倍型 H2(35 个体)有更广泛的地理分布。Posada 的研究^[21]认为在种群中有很高频率的单倍型可能成为内枝单倍型,并趋于更广泛的分布,作为祖先单倍型存在。由此认为秦岭细鳞鲑可能起源于单倍型 H2,偶然的历史事件(底质事件或者古气候变迁)形成了瓶颈效应或者奠基者效应,使原有种群的个体数量减少,但由歧点分布和 Tajima's D 中性检测得出,秦岭细鳞鲑种群未发生明显的种群扩张事件,这可能由于偶然事件发生

后,使得生存环境恶劣,秦岭细鳞鲑未能很好的适应当前环境所致,这与我国鲑科鱼类的形成和地质事件的发生过程相吻合。从约距今 260 万年前的第四纪开始,曾有四次大的冰川进退,起源与分布在西伯利亚地区的细鳞鲑,随着冰期与间冰期的反复细鳞鲑沿日本海向南扩散至黄海和渤海,由于鲑科鱼类溯河洄游产卵繁殖的需要,沿黄河古道溯河而上,洄游至渭河流域进行产卵繁殖,随着冰川的消失,大部分种群返回到原产地,而一部分被滞留在渭河流域的高山溪流里,并被长期封闭在那些地区^[22]。滞留在渭河流域的单倍型 H2 个体经过扩散,衍生出其他单倍型,后由于人类的活动范围扩大,大量涉水工程的建设,使河流失去连通性,秦岭细鳞鲑的洄游路线被阻断,使秦岭细鳞鲑的分布区沿渭河流域呈点状分布,上下游之间基因交流较少。由于渭河上游三处秦岭细鳞鲑群体之间遗传分化较低,且部分河流遗传多样性贫乏,建议将渭河上游 3 个秦岭细鳞鲑自然保护区(岷县秦岭细鳞鲑自然保护区、漳县秦岭细鳞鲑自然保护区和武山秦岭细鳞鲑水产种质资源保护区)做为一个整体进行重点保护。

References:

- [1] Huang H F, Luo Z T, Liu M X. *Brachymystax lenok* (Pallas) in the discovery of Shanxi province. Chinese Journal of Zoology, 1964, (5): 220-220.
- [2] Shaanxi Institute of Zoology. Ichthyography of Qinling Mountains. Beijing: Science Press, 1987: 14-15.
- [3] Du H B, Wu J X, Wang L Z. Story behind *Brachymystax lenok tsinlingensis* in Xushui river valleys. China Fisheries, 2006, 373 (12): 79-80.
- [4] Wang S, Yue P Q, Chen Y Y. China Red Data Book of Endangered Animals: Pisces. Beijing: Science Press, 1998.
- [5] Ren J, Liang G. Resource survey report of *Brachymystax lenok tsinlingensis* in Qianhe river valleys of Qinling mountains. Journal of Shaanxi Normal University: Natural Science Edition, 2004, 32 (9): 165-168.
- [6] Yang J Y, Zhong L, Wang K F, Zhang H B, Zhang X Q, Xu T Q. Biological studies and protection proposes of *Brachymystax lenok* in Heihe river Shaanxi province. Journal of Shaanxi Normal University: Nature Science Edition, 2006, 34(S1): 67-69.
- [7] Wang G X, Zhou J S, Qian X M. Preliminary studies on oxygen consumption rate and suffocated point of *Brachymystax lenok tsinlingensis*. Chinese Journal of Zoology, 2006, 41(2): 72-75.
- [8] Zheng X L, Duan M, Bu S H, Ji H. Analysis of the Nutritional Components of Muscle of *Brachymystax lenok* from Qinling

- Mountains. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2010, 32(5): 516-520.
- [9] Shi D L, Wei Q W, Sun Q L, Li L X, Du H. Early ontogenesis of *Brachymystax lenok tsinlingensis*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(4): 557-567.
- [10] Xue C J. Technology of breeding and cultivation for *Brachymystax lenok tsinlingensis*. *China Fisheries*, 2011, (10): 32-33.
- [11] Yuan J L, Zhu J J, Wang G X. Analysis of the genetic diversity in Heihe River and Xushuihe River populations of *Qinling Brachymystax lenok*. *South China Fisheries Science*, 2009, 5(3): 63-66.
- [12] Avise J C, Arnold J, Ball R M, Bermingham E, Lamb T, Neigel J E, Reeb C A, Saunders N C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA Bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1987, 18: 489-522.
- [13] Shisà E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structure analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 1997, 205(1/2): 125-140.
- [14] Wu G C, Chiang H C, Chou Y W, Wong Z R, Hsu C C, Chen C Y, Yang H Y. Phylogeography of yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) in the Western Pacific and the Western Indian Oceans inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research*, 2010, 105(3): 248-253.
- [15] Meng W, Guo Y, Hai S, Yang T Y, Ma Y W, Xie C G. Genetic structure and diversity of *schizothorax biddulphi* populations. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, 36(5): 851-857.
- [16] Wang P X, Bai J J, Hu Y C, Mu X D, Wang X J, Li X H, Song H M, Yang Y X, Luo J R. Population genetic variations and phylogeography of *Macropodus opercularis*. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(2): 441-448.
- [17] Xia Y Z, Sheng Y, Chen Y Y. DNA sequence variation in the mitochondrial control region of lenok (*Brachymystax lenok*) populations in China. *Biodiversity Science*, 2006, 14(1): 48-54.
- [18] The Chinese Academy of Sciences Biodiversity Committee. The Research Principles and Methods of Biodiversity. Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1994.
- [19] Billington N, Hebert P D N. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48(S1): 80-94.
- [20] Brunner P C, Douglas M R, Osinov A, Wilson C C, Bernatchez L. Holarctic phylogeography of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Evolution*, 2001, 55(3): 573-586.
- [21] Posada D, Crandall K A. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution*, 2001, 16(1): 37-45.
- [22] Li S Z. Discussed the geographical distribution of China salmonidae fish. *Chinese Journal of Zoology*, 1984, (1): 34-37.

参考文献:

- [1] 黄洪富, 罗志腾, 刘美侠. 细鳞鱼 *Brachymystax lenok* (Pallas) 在陕西的发现. *动物学杂志*, 1964, (5): 220-220.
- [2] 陕西省动物研究所. 秦岭鱼类志. 北京: 科学出版社, 1987: 14-15.
- [3] 杜汉斌, 武金星, 王绿洲. 渭水河流域秦岭细鳞鲑背后的故事. *中国水产*, 2006, 373(12): 79-80.
- [4] 汪松, 乐佩琪, 陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书(鱼类). 北京: 科学出版社, 1998.
- [5] 任健, 梁刚. 千河流域秦岭细鳞鲑资源调查报告. *陕西师范大学学报: 自然科学版*, 2004, 32(9): 165-168.
- [6] 杨军严, 钟林, 王开锋, 张海斌, 张晓茜, 许涛清. 陕西黑河细鳞鲑生物学研究及资源保护. *陕西师范大学学报: 自然科学版*, 2006, 34(S1): 67-69.
- [7] 王高学, 周继术, 强晓明. 秦岭细鳞鲑耗氧率和窒息点的初步研究. *动物学杂志*, 2006, 41(2): 72-75.
- [8] 郑雪莉, 段梅, 卜海海, 吉红. 秦岭细鳞鲑肌肉营养成分的分析. *营养学报*, 2010, 32(5): 516-520.
- [9] 施德亮, 危起伟, 孙庆亮, 李罗新, 杜浩. 秦岭细鳞鲑早期发育观察. *中国水产科学*, 2012, 19(4): 557-567.
- [10] 薛成杰. 秦岭细鳞鲑繁育与养殖技术. *中国水产*, 2011, (10): 32-33.
- [11] 原居林, 朱俊杰, 王高学. 秦岭细鳞鲑黑河种群和渭水河种群的遗传多样性分析. *南方水产*, 2009, 5(3): 63-66.
- [15] 孟玮, 郭焱, 海萨, 杨天燕, 马燕武, 谢春刚. 塔里木裂腹鱼群体遗传结构及遗传多样性分析. *水生生物学报*, 2012, 36(5): 851-857.
- [16] 王培欣, 白俊杰, 胡隐昌, 牟希东, 汪学杰, 李小慧, 宋红梅, 杨叶欣, 罗建仁. 叉尾斗鱼种群遗传变异与亲缘地理. *生态学报*, 2011, 31(2): 441-448.
- [17] 夏颖哲, 盛岩, 陈宜瑜. 利用线粒体 DNA 控制区序列分析细鳞鲑种群的遗传结构. *生物多样性*, 2006, 14(1): 48-54.
- [18] 中国科学院生物多样性委员会. 生物多样性研究的原理方法. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [22] 李思忠. 中国鲑科鱼类地理分布的探讨. *动物学杂志*, 1984, (1): 34-37.