

华南地区大刺鳅的遗传结构与群体动态历史研究

高 尚^{1,2}, 李跃飞², 李 捷², 陈蔚涛²

1. 上海海洋大学 海洋生态与环境学院, 上海 201306

2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所/广东省水产动物免疫技术重点实验室, 广东 广州 510380

摘要: 为掌握华南地区大刺鳅 (*Mastacembelus armatus*) 的遗传种质资源现状, 并为其管理和保护提供科学依据, 采集了华南地区7个独立水系的16个地理群体共计140尾大刺鳅样本, 基于Sanger测序获得了2个线粒体基因 (COI和Cytb), 综合多种分析方法对其遗传结构和群体动态史展开研究。结果表明, 华南地区大刺鳅群体形成了3个谱系 (I、II和III), 分化时间介于0.596~0.676 Ma (百万年前)。此外, 单倍型网状图发现不同谱系群体存在共域分布的现象, 并提示海南岛群体与大陆群体之间可能存在两条扩散路线。群体遗传分析发现大刺鳅群体间存在显著的遗传分化 ($F_{ST}=0.676, P<0.001$), 并且符合距离隔离模式 ($R=0.463, P=0.001$), 暗示空间距离是造成大刺鳅遗传分化的一个重要因素。种群动态历史分析表明, 大刺鳅群体可能在0.025 Ma经历了种群扩张事件。

关键词: 大刺鳅; 遗传结构; 遗传分化; 种群动态历史

中图分类号: Q 953

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Genetic structure and demographic history of *Mastacembelus armatus* in southern China

GAO Shang^{1,2}, LI Yuefei², LI Jie², CHEN Weitao²

1. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science/ Key Laboratory of Aquatic Animal Immune Technology of Guangdong Province, Guangzhou 510380, China

Abstract: In order to understand the genetic resources of *Mastacembelus armatus* populations in southern China, and to provide an important scientific basis for their management and protection, we collected 140 individuals from 16 geographical populations from seven independent river systems in southern China and sequenced two mitochondrial genes (COI and Cytb) via PCR amplification and Sanger sequencing, and finally revealed the genetic structure and demographic history of *M. armatus* populations by phylogenetic analysis, haplotype network, population genetic analysis and Bayesian skyline plot. The results show that *M. armatus* populations consisted of three lineages (I, II and III) and split between 0.596 and 0.676 million years ago (Ma). Haplotype network shows that there was a common domain distribution among different lineages, and suggests that there might be two diffusion routes between Hainan Island population and mainland population. Population genetic analysis finds significant genetic differentiation ($F_{ST}=0.676, P<0.001$) and isolation by distance pattern ($R=0.463, P=0.001$) among *M. armatus* populations, implying that spatial distance was an important factor for genetic differentiation of *M. armatus*. Demographic analysis shows that *M. armatus* populations experienced population expansion at 0.025 Ma.

收稿日期: 2022-07-20; 修回日期: 2022-08-17

基金项目: 珠江渔业资源调查与评估创新团队项目 (2020TD-10, 2020ZJTD-04)

作者简介: 高 尚 (1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类分子生态学。E-mail: 13215640995@163.com

通信作者: 李 捷 (1979—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为渔业生态学。E-mail: lijie1561@163.com

陈蔚涛 (1988—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为鱼类分子生态学。E-mail: ncuskchenweitao@163.com

Keywords: *Mastacembelus armatus*; Genetic structure; Genetic differentiation; Demographic history

大刺鳅 (*Mastacembelus armatus*) 隶属合鳃鱼目、刺鳅科、刺鳅属, 主要分布在南亚次大陆及东南亚; 在我国主要分布于长江以南水域, 是华南地区的名贵经济鱼类^[1-3]。然而, 在涉水工程、环境污染、过度捕捞等多重因素的影响下, 大刺鳅野生资源早已呈现衰退趋势^[4-5]。因此, 为了更好地管理和保护大刺鳅资源, 亟须了解其遗传资源现状。

已有关于大刺鳅的研究主要集中在常规资源考察^[6]、生理构造^[7-8]、繁养技术^[9-10]、微卫星标记开发^[11]以及遗传多样性^[3,12-13]等方面。然而, 由于早期关于大刺鳅遗传多样性的研究仅涉及一个江段或未包含重要水系(如漠阳江、鉴江、昌化江、万泉河等), 因此不能系统地反映其遗传多样性分布格局^[3,12-13]。另外, 早期研究重点关注遗传多样性指数、遗传结构等内容, 而对影响群体遗传多样性和遗传结构的潜在因素并未进行深入探讨^[3,12-13]。系统地理学研究不仅能够有效利用基因数据评估遗传多样性分布格局, 还能够结合分化时间与古地质资料解释物种遗传多样性和遗传结构的形成机制, 为生物多样性的管理与保护提供更为丰富的科学数据^[14-16]。因此, 对大刺鳅展开系统地理学研究, 不仅有助于系统揭示其遗传多样性分布格局及形成机制, 还可为大刺鳅的管理与保护提供重要参考, 具有重要的学术和实践价值。

华南地区多样的环境类型和复杂的地质事件可能塑造了大刺鳅复杂的遗传结构与进化历史。华南地区水系众多, 除珠江水系外, 还有众多独立入海的水系(韩江、鉴江、昌化江等)且这些水系存在地理隔离。该地区还拥有独特的山脉结构, 例如云开山脉以及海南岛的鹦哥岭和五指山; 它们既是华南许多河流水系的发源地, 同时又形成天然屏障阻碍鱼类扩散^[17-18]。此外, 华南地区在历史上经历了由更新世冰期循环引起的海平面波动地质事件, 导致众多河流之间出现周期性的联通与中断^[19-20], 促进或阻隔着鱼类的交流。这些环境类型和古地质事件在一定程度上影响着大刺鳅的遗传与进化历史。

为了阐明大刺鳅复杂的遗传结构与进化历史, 本研究在华南地区7个独立水系获得了16个地理群体共计140尾大刺鳅样本(表1)。扩增了所有样本的线粒体细胞色素c氧化酶I基因(COI)和细胞色素b基因(Cytb), 联合两个基因对大刺鳅开展系

统地理学研究。本研究旨在揭示华南地区大刺鳅群体的遗传结构, 探讨其群体动态历史, 分析影响其遗传结构与群体动态历史的可能因素, 为大刺鳅的科学管理和保护提供建议。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2016—2021年在华南地区7个独立水系(珠江、南流江、鉴江、漠阳江、韩江、万泉河和昌化江, 表1)采集16个地理群体, 共计140尾大刺鳅样本(表1, 图1)。形态学特征鉴定后, 剪取少量胸鳍并妥善保存在体积分数为95%的乙醇中。

1.2 基因组DNA提取、扩增与测序

采用Axygen DNA提取试剂盒提取基因组DNA, 具体实验步骤参考试剂盒说明书。选取线粒体细胞色素c氧化酶I(COI)和细胞色素b(Cytb)基因。COI基因扩增与测序引物为FishF1和FishR1^[21], Cytb基因扩增与测序的引物为MNCN-Glu F^[22]和MNCN-Fish Pro R^[23]。PCR反应体系为20 μL: 2×PCR mix (0.1 U·μL⁻¹) 12.5 μL, 正反向引物(10 mol·L⁻¹)各1 μL, DNA模板1 μL, 最后用无菌水补齐至20 μL。COI和Cytb的PCR反应条件为: 95 °C 预变性5 min; 95 °C 变性1 min, 48~50 °C 退火45~60 s, 72 °C 延伸1 min, 30~35个循环; 72 °C 延伸10 min。PCR产物经质量分数为1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测后交由测序公司双向测序。

1.3 序列校对

利用SEQMAN软件(DNASTAR, Inc., USA)对测序峰图进行人工核查、校正及组装拼接。拼接序列使用MUSCLE软件^[24]比对, 然后在MEGA 6.0^[25]软件中剪除两端的噪音序列, 获得一致序列, 并统计两个基因的基本信息。将两个线粒体基因联合成一条组合序列(CC)用以后续相关分析。

1.4 系统发育分析和分化时间估算

基于单倍型序列, 选取网纹刺鳅(*M. favus*)作为外类群, 使用BEAST 1.8.2^[26]构建了大刺鳅的系统发育树。运用PAUP* 4.0.b10^[27]和MRMODELTEST 2.3^[28]基于赤池信息量原则(AIC)获得了最优核苷酸替代模型(GTR+I+G)。分析使用严格分子钟模型, 一共运行了10⁹代, 每1 000次取样一次, 舍

表1 群体遗传多样性参数
Table 1 Parameters of genetic diversity

群体 Population	水系 River system	样本量 Sample size	经纬度 Coordinate	单倍型数/ 私有单倍型数 Haplotype/Private haplotype	单倍型多样性 Haplotype diversity	当前核苷酸多样性 Current nucleotide diversity	历史核苷酸多样性 Historical nucleotide diversity	中性检测 Neutrality test
博白 Bobai (BB)	南流江	7	109.967°E, 22.284°N	5/4	0.857±0.137	0.000 6±0.000 2	0.000 9±0.000 6	-1.434
昌化 Changhua (CH)	昌化江	2	109.03°E, 19.151°N	1/1				
从江 Congjiang (CJ)	珠江	14	108°91°E, 25.748°N	4/3	0.495±0.151	0.000 4±0.000 2	0.000 7±0.000 4	-1.222
崇左 Chongzuo (CON)	珠江	5	107.337°E, 22.398°N	5/2	1.000±0.126	0.007 2±0.002 3	0.007 3±0.003 8	-0.092
潮州 Chaozhou (CZ)	韩江	13	116.652°E, 23.677°N	1/0	0	0	0	0.000
大化 Dahua (DH)	珠江	2	107.99°E, 23.738°N	2/1				
桂平 Guiping (GP)	珠江	9	110.089°E, 23.392°N	5/2	0.806±0.002	0.003 6±0.002 1	0.005 4±0.002 4	-1.627
河源 Heyuan (HY)	珠江	14	114.694°E, 23.522°N	3/2	0.275±0.148	0.000 2±0.000 1	0.000 5±0.000 4	-1.671
化州 Huazhou (HZ)	鉴江	3	110.632°E, 21.65°N	2/1				
乐东 Ledong (LD)	昌化江	8	109.175°E, 18.752°N	2/2	0.333±0.215	0.000 2±0.000 1	0.000 3±0.000 3	-0.933
连州 Lianzhou (LZ)	珠江	10	112.371°E, 24.78°N	7/6	0.911±0.077	0.006 6±0.001 7	0.007 1±0.003 1	-0.386
南丰 Nanfeng (NF)	珠江	13	111.799°E, 23.741°N	5/2	0.782±0.079	0.002 7±0.001 6	0.004 7±0.002 0	-1.808
平乐 Pingle (PL)	珠江	6	110°649°E, 24.627°N	3/1	0.600±0.215	0.004 7±0.002 7	0.006 1±0.003 1	-1.505
琼海 Qionghai (QH)	万泉河	12	110.451°E, 19.243°N	6/6	0.758±0.122	0.000 8±0.000 2	0.001 5±0.000 8	-1.778
阳春 Yangchun (YC)	漠阳江	20	111.777°E, 22.173°N	4/2	0.489±0.117	0.006 3±0.001 3	0.004 3±0.001 6	1.863
宜州 Yizhou (YZ)	珠江	4	108.628°E, 24.499°N	4/2	1.000±0.177	0.007 3±0.003 5	0.008 0±0.004 5	
总计 Total		140		42/38	0.895±0.016	0.007 9±0.000 3	0.007 6±0.002 0	0.136

注: 加粗数值表示 $P<0.05$, 表 3 同此。

Note: Values in bold indicate $P<0.05$. The same case in Table 3.

弃前 25% 的运行代数。最终的一致树在 TreeAnnotator 1.8.0^[26] 中生成。另外, 利用 PopART 1.7.2 基于 TCS 法构建了大刺鳅群体的单倍型网状图^[29]。

使用 IMa2^[30] 的 IM 模型和马尔科夫链蒙卡尔方法 (Markov chain Monte Carlo, MCMC) 估算 3 个谱系之间的分化时间。具体参数设置参考向登高等^[31]。每个位点的替代速率使用公式 $\mu=K\times u$ 计算, 其中 μ 为序列的进化速率, K 为序列长度, u 为每个位点的替代速率。参考网纹刺鳅 *Cytb* 基因 1% 的替代速率^[32], 粗略利用联合基因与 *Cytb* 的 Kimura-2 parameter^[33] 遗传距离之比 ($CC/Cytb=1$) 来估算联合基因每个位点的替代速率 (1%)。大刺鳅的性成熟年龄为 2 年^[2]。

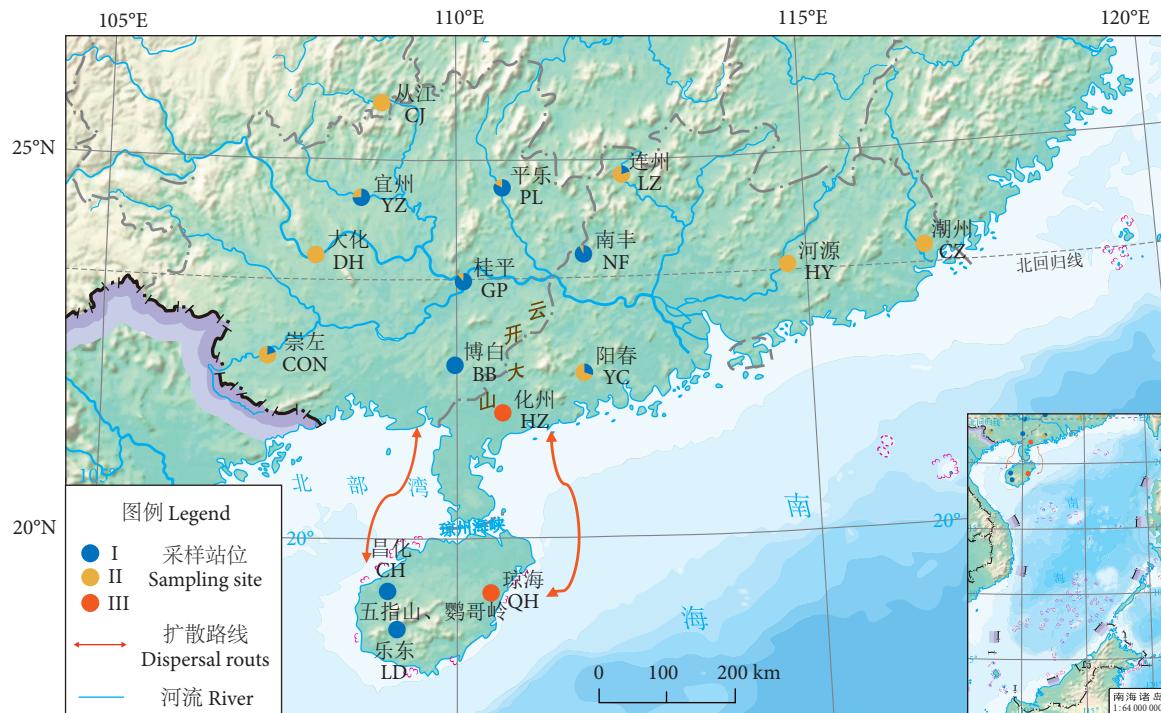
1.5 遗传多样性与遗传结构

通过 DnaSP 5.10 软件^[34] 计算单倍型数、私有单倍型单倍型多样性、当前核苷酸多样性和历史核苷酸多样性。采用 Arlequin 3.5^[35] 计算两两群体间的遗传分化系数 (F_{ST}), 并基于整体划分组群进行

分子方差分析 (Analysis of molecular variance, AMOVA)。以 1 000 次置换分析统计学显著性来评估遗传变异情况和分布模式。选择样本量大于 5 的群体进行 F_{ST} 和 AMOVA 运算。为验证大刺鳅群体是否符合地理隔离模式, 在 Arlequin 3.5^[35] 软件中使用了 Mantel 检验, 自展重复次数为 1 000 次。两两群体间的空间距离在 Google Earth 中测量获得。

1.6 群体动态历史分析

大刺鳅群体动态历史的评估主要采用了中性检验和贝叶斯天际线法。运用 Arlequin 3.5 计算 Tajima's D ^[36] 值并进行中性检验; 使用 BEAST 1.8.2 中的贝叶斯马尔科夫链的蒙特卡洛方法进行贝叶斯天际线的计算, 最优核苷酸模型 (GTR+I+G) 在 PAUP*4.0 b10^[27] 和 MRMODELTEST 2.3 中基于赤池信息量原则获得, 总共运行 5×10^9 代, 取样频率为 1 000。运行结束后在 Tracer 1.5^[26] 生成贝叶斯天际线点图。贝叶斯天际线使用的替代速率采用 IM 估算中使用的替代速率。



审图号: GS粤(2023)154号

图1 华南地区主要水系大刺鳅的采样示意图

注: 采样站位不同颜色代表不同谱系(见图2)。

Fig. 1 Sampling sites of *M. armatus* in southern China drainages

Note: Different colors represent different lineages (See Fig. 2).

2 结果

2.1 序列基本信息

本研究成功获得了 140 尾大刺鳅的 *COI* 和 *Cytb* 序列。比对后 *COI* 序列长为 669 bp, 其中包含了 20 个变异位点和 16 个简约信息位点, GenBank 序列号为 ON973284—ON973423; *Cytb* 序列长为 1 117 bp, 其中包含了 55 个变异位点和 31 个简约信息位点, GenBank 序列号为 ON989019—ON989158。联合基因 CC 长度为 1 786 bp, 共界定了 42 个单倍型(表 1)。

2.2 系统发育结果与分化时间

系统发育树和单倍型网状图均显示大刺鳅形成了 3 个谱系(I、II 和 III, 图 2)。遗传距离估算显示 3 个谱系之间的遗传距离介于 1.28%~1.34%, IM 分析表明谱系之间的分化时间介于 0.596~0.676 Ma(表 2)。单倍型网络图发现谱系 I 包括了珠江、海南昌化江、南流江、漠阳江、韩江的群体, 谱系 II 包含了珠江、漠阳江的群体, 谱系 III 包含鉴江和海南万泉河的群体。另外, 还发现仅有 4 个单倍型(Hap1、Hap4、Hap5 和 Hap14)被两个以上群体共享(图 2-b)。

2.3 遗传多样性和遗传结构

每个群体的单倍型数目、私有单倍型数目与遗传多样性指数见表 1。各群体单倍型多样性介于 0.333~1.000, 当前核苷酸多样性介于 0.000 2~0.007 3, 历史核苷酸多样性介于 0.000 5~0.007 9。大部分群体的历史核苷酸多样性大于当前核苷酸多样性(表 1)。大刺鳅整体的单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.895 ± 0.016 和 $0.007 9 \pm 0.000 3$ 。

两两群体之间的遗传分化系数 F_{ST} 介于 0.000~0.963(表 3), 其中样本量小于 5 的 4 个群体(CH、DH、HZ、YZ, 表 1)并未进行 F_{ST} 计算。在 66 组 F_{ST} 中, 有 54 组获得了显著的 F_{ST} ; 其中海南的琼海群体与其他群体之间均显示出较高并且显著的 F_{ST} ($F_{ST} > 0.740$, $P < 0.001$)。基于整体划分组群的 AMOVA 发现, 各分组方式的变异主要发生在群体间, 变异比例为 67.58%。Mantel 检验发现大刺鳅的遗传分化与空间距离具有显著相关性($R = 0.463$, $P = 0.001$)。

2.4 群体动态历史

Tajima's *D* 中性检验在博白、桂平、河源、南丰、平乐和琼海群体中检测到显著的负值(表 1),

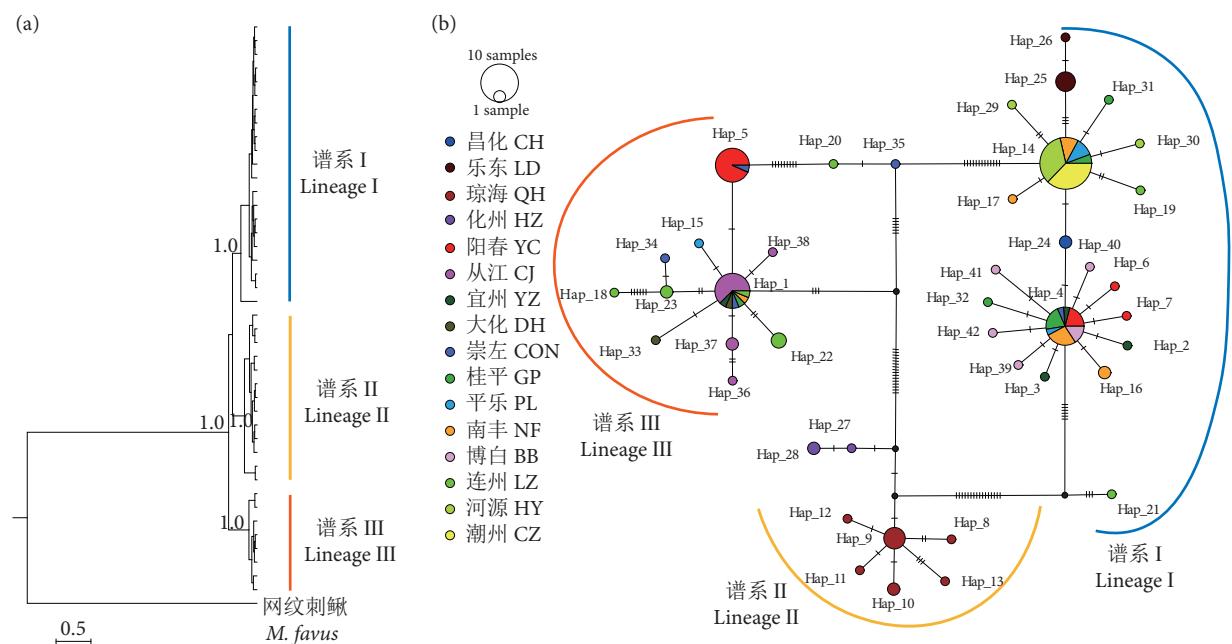


图2 分子系统树 (a) 和单倍型网络图 (b)

注: 数字代表后验概率, 黑色实心圆表示未采集到的单倍型, 字母简写表示不同的地理群体 (表1)。

Fig. 2 Phylogenetic tree (a) and haplotype network (b)

Note: Numbers indicate posterior probability. Black solid circles represent missing haplotype and the abbreviations represent different geographic populations (Table 1).

表2 谱系之间的遗传距离 (对角线下) 与分化时间
(对角线上)

Table 2 Genetic distance (Below diagonal) and divergence time (Above diagonal) among different clades

谱系I Clade I	谱系II Clade II	谱系III Clade III
谱系I Clade I	0.596	0.620
谱系II Clade II	1.34%	0.676
谱系III Clade III	1.30%	1.28%

注: 分化时间单位为 Ma (百万年前)。

Note: The unit of differentiation time is Ma (Million years ago).

表明这些群体可能在历史上经历了群体扩张。贝叶斯天际线点图 (图3) 显示, 总群体在 0.025 Ma 左右发生了显著的群体扩张。

3 讨论

3.1 大刺鳅的遗传结构与影响因素

系统发育树和单倍型网络图一致证明华南地区的大刺鳅群体由 3 个谱系 (I、II、III) 组成。谱系 I 包含了珠江、昌化江、南流江、漠阳江、韩江的群体, 谱系 II 包含了珠江、漠阳江的群体, 谱系 III 由鉴江和万泉河的群体组成。3 个谱系之间的遗传距离介于 1.28%~1.34%, 表明谱系间曾存在长期的地理隔离。3 个谱系的分化时间介于 0.596~0.676

Ma, 恰好处于中更新世期间。谱系 III 的群体仅仅局限在海南的万泉河与离海南空间距离较近的鉴江, 而未能继续向其他地方扩散, 这很可能与云开山脉的屏障作用相关。已有不少研究表明, 在更新世期间, 云开山脉的隔离导致了物种或者群体产生显著的遗传分化甚至形成新物种^[10,17,37-39]。另外, 研究发现海南岛东部的万泉河和西部的昌化江分别拥有独立的谱系, 并且不存在地理分布重叠, 这可能与海南岛中部的五指山和鹦哥岭的隔离作用有关。Yang 等^[18]也发现万泉河和昌化江的东方墨头鱼 (*Garra orientalis*) 群体分别形成两个独立的谱系, 认为五指山和鹦哥岭的阻隔作用是阻碍万泉河和昌化江群体相互扩散的重要原因。综上, 大刺鳅的谱系分化很可能与华南地区山脉的屏障作用相关。

不同谱系涉及的群体共域分布现象是本研究的另一重要发现, 这可能与华南地区更新世气候波动 (冰期与间冰期循环) 有关^[19-20,40]。华南地区多个河流水系均汇入我国南海, 冰期导致海平面下降, 海南岛和大陆之间形成陆桥或海岸平原, 促进海南岛群体与大陆群体的交流。间冰期期间, 气候回暖, 适宜栖息地扩张, 长期地理隔离的群体可能通过群体扩散再次接触, 导致不同谱系群体同域分布。群

表3 F_{ST} 和显著性检验
Table 3 Pairwise F_{ST} and significance test

	博白 BB	从江 CJ	崇左 CON	潮州 CZ	桂平 GP	河源 HY	乐东 LD	连州 LZ	南丰 NF	平乐 PL	琼海 QH
博白 BB	0.000										
从江 CJ	0.963	0.000									
崇左 CON	0.665	0.338	0.000								
潮州 CZ	0.843	0.982	0.775	0.000							
桂平 GP	0.048	0.858	0.455	0.207	0.000						
河源 HY	0.756	0.973	0.767	-0.006	0.200	0.000					
乐东 LD	0.866	0.974	0.696	0.969	0.451	0.882	0.000				
连州 LZ	0.670	0.146	-0.100	0.739	0.529	0.738	0.685	0.000			
南丰 NF	0.063	0.874	0.551	0.184	-0.086	0.180	0.484	0.600	0.000		
平乐 PL	0.238	0.839	0.324	0.139	-0.087	0.131	0.409	0.432	-0.037	0.000	
琼海 QH	0.943	0.950	0.788	0.967	0.842	0.958	0.951	0.742	0.858	0.829	0.000
阳春 YC	0.561	0.247	-0.081	0.615	0.432	0.617	0.601	0.022	0.495	0.347	0.684

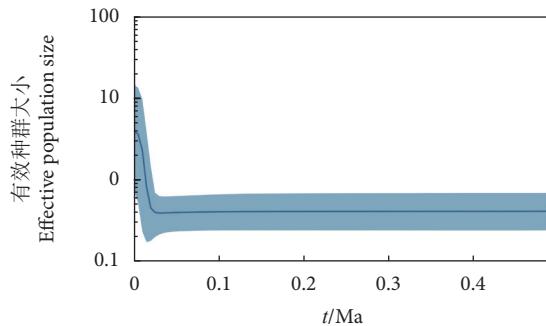


图3 大刺鳅的贝叶斯天际线点图

Fig. 3 Bayesian Skyline plots of *M. armatus*

体动态历史分析也证实大刺鳅在后更新世发生了明显的群体扩张事件。华南地区的东方墨头鱼也发现存在类似的分化与分布模式^[18]。此外, 研究发现海南万泉河群体与大陆鉴江群体的亲缘关系较近, 海南昌化江群体与大陆的珠江、南流江等群体的亲缘关系较近(图1)。上述结果表明海南两个水系的群体通过两个不同的扩散路线与大陆群体发生交流。早期生物地理学研究认为, 在更新世冰期期间, 海平面的下降导致北部湾、琼州海峡、雷州半岛和海南岛曾在某个时间点成为亚洲大陆海岸平原的一部分^[41-42]。因此, 本研究推测万泉河群体可能通过琼州海峡在冰期形成的海岸平原实现群体扩散, 昌化江群体主要通过北部湾在更新世冰期形成的海岸平原与大陆群体发生交流。

3.2 遗传分化

大刺鳅群体之间的总遗传分化系数达到较高水

平($F_{ST}=0.676, P<0.001$)^[43], 约82%两两群体间的 F_{ST} 是显著的, 表明各群体间存在显著的遗传分化。仅有4个单倍型被多个群体共享也很好地佐证了这个观点。Mantel检验发现大刺鳅群体的遗传分化与空间距离呈显著正相关($R=0.463, P=0.001$), 表明其符合距离隔离模式^[44]。大刺鳅营底栖生活, 扩散能力相对有限; 因此, 除了气候变化和生物地理屏障的作用外, 空间距离也是造成其遗传分化的一个潜在因素。

3.3 大刺鳅的群体动态历史

华南地区更新世期间经历的多次冰期深刻影响着该地区水生生物类群的群体动态历史^[17,31,45]。贝叶斯天际线分析监测到华南地区大刺鳅群体在0.025 Ma经历了群体扩张事件, 扩张的时间与华南地区海南鮈(*Culter recurvirostris*)群体的扩张时间节点(基于 $Cyt b$ 基因1%的进化速率计算获得)相近。这个时间节点刚好处于华南地区后更新世冰期的间冰期阶段。已有研究表明, 我国华南地区在后更新世期间(0.126~0.018 Ma)进入间冰期^[19]。间冰期期间气候回暖, 营养物质丰富, 适宜栖息地范围扩大, 为大刺鳅群体的扩张提供了有利条件。类似的群体扩张事件也发生在华南地区的其他鱼类, 如海南鮈^[31]、广东鲂(*Megalobrama terminalis*)^[17]、斑鱚(*Siniperca scherzeri*)^[44]等。

3.4 保护建议

本研究发现大部分大刺鳅群体遗传多样性处于

较低水平，并且呈现历史核苷酸多样性高于当前核苷酸多样性的现象，表明大刺鳅的遗传多样性已经呈现出显著的衰退迹象，很有必要给予重点关注并采取相应的保护对策。基于本研究结果，提出以下的管理保护建议：首先，本研究界定了3个遗传谱系，因此在制定保护管理策略上需要区别对待。例如，在开展增殖放流之前需要明确放流样本的遗传谱系来源，根据遗传谱系来确定放流区域。其次，海南水系的群体至少拥有两个遗传谱系，并且存在明确的地理界限，需要给予有区别的重点管理与保护。

参考文献：

- [1] 郑慈英.珠江鱼类志 [M].北京:科学出版社, 1989: 371-372.
- [2] 周解,张春光.广西淡水鱼类志 [M].2版.南宁:广西人民出版社, 2006: 489-499.
- [3] 朱元鼎.福建鱼类志 [M].福州:福建科学技术出版社, 1985: 447-448.
- [4] 林煜,樊海平,陈斌,等.大刺鳅致病性维氏气单胞菌分离鉴定及药物敏感性研究 [J].农学学报, 2019, 9(11): 50-56.
- [5] 杨华强,李强,舒琥,等.华南及邻近地区大刺鳅遗传多样性的ISSR分析 [J].水生生物学报, 2016, 40(1): 63-70.
- [6] 李捷,李新辉,贾晓平,等.西江鱼类群落多样性及其演变 [J].中国水产科学, 2010, 17(2): 298-311.
- [7] 初庆柱,陈刚,张健东,等.大刺鳅消化系统的组织学研究 [J].淡水渔业, 2009, 39(2): 14-18.
- [8] 薛凌展.大刺鳅胚胎发育观察 [J].淡水渔业, 2014, 44(2): 101-104.
- [9] 张建铭,曾庆祥,刘斌,等.大刺鳅人工繁殖技术初探 [J].中国水产, 2015(9): 85-86.
- [10] 林伟强,廖显平,陈挺,等.大刺鳅人工繁殖技术研究 [J].海洋与渔业, 2016(7): 50-53.
- [11] 房祖业,陈晓东,吴咏诗,等.大刺鳅 (*Mastacembelus armatus*) 二、三、四碱基重复微卫星标记的筛选和特征分析 [J].海洋与湖沼, 2018, 49(1): 174-182.
- [12] 李芬,陈绮萍,何佩莹,等.北江大刺鳅 (*Mastacembelus armatus*) 的核型分析及线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 的遗传多样性 [J].海洋与湖沼, 2019, 50(2): 449-454.
- [13] 江小璐.华南及邻近地区不同群体大刺鳅的遗传多样性及亲缘地理研究 [D].广州:广州大学, 2018: 1-90.
- [14] BERMINGHAM E, MORITZ C. Comparative phylogeography: concepts and applications [J]. Mol Ecol, 1998(7): 367-369.
- [15] MÉDAIL F, BAUMEL A. Using phylogeography to define conservation priorities: the case of narrow endemic plants in the Mediterranean Basin hotspot [J]. Biol Conserv, 2018, 224: 258-266.
- [16] 卢彦,廖庆玉,李靖.岛屿生物地理学理论与保护生物学介绍 [J].广州环境科学, 2011, 26(1): 10-12.
- [17] CHEN W, LI C, CHEN F, et al. Phylogeographic analyses of a migratory freshwater fish (*Megalobrama terminalis*) reveal a shallow genetic structure and pronounced effects of sea-level changes [J]. Gene, 2020, 737: 144478.
- [18] YANG J Q, HSU K C, LIU Z Z, et al. The population history of *Garra orientalis* (Teleostei: Cyprinidae) using mitochondrial DNA and microsatellite data with approximate Bayesian computation [J]. BMC Evol Biol, 2016, 16(1): 73.
- [19] GASCOYNE M, BENJAMIN G J, SCHWARCZ H P, et al. Sea-level lowering during the illinoian glaciation: evidence from a Bahama "blue hole" [J]. Science, 1979, 205(4408): 806-808.
- [20] WANG P, LI Q. The South China Sea [J]. Dev Paleoenvir Res, 2009, 30: 165-178.
- [21] WARD R, ZEMLAK T, INNES B, et al. DNA barcoding Australia's fish species [J]. Philos Trans B, 2005, 360(1462): 1847-1857.
- [22] SAN M D, GOWER D J, OOMMEN O V, et al. Phylogeny of *Caecilian amphibians* (Gymnophiona) based on complete mitochondrial genomes and nuclear RAG1 [J]. Mol Phylogenet Evol, 2004, 33(2): 413-427.
- [23] BROWN K J, RÜBER L, BILLS R, et al. Mastacembelid eels support Lake Tanganyika as an evolutionary hotspot of diversification [J]. BMC Evol Biol, 2010, 10: 188.
- [24] EDGAR R C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(5): 1792-1797.
- [25] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. Mol Biol Evol, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [26] DRUMMOND A J, RAMBAUT A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees [J]. BMC Evol Biol, 2007, 7(1): 214.
- [27] SWOFFORD D L. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) version 4. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA [J]. Nat Biotechnol, 2003, 18: 233-234.
- [28] NYLANDER J A A. MrModeltest v2. Program distributed by the author [M]. Uppsala: Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2004.
- [29] LEIGH J W, BRYANT D. PopART: full-feature software for haplotype network construction [J]. Methods Ecol Evol, 2015, 6(9): 1110-1116.
- [30] JODY H. Isolation with migration models for more than two populations [J]. Mol Biol Evol, 2010, 27(4): 905-920.
- [31] 向登高,李跃飞,李新辉,等.多基因联合揭示海南鮈的遗传结构与遗传多样性 [J].生物多样性, 2021, 29(11): 1505-1512.
- [32] AMIRUL J, JAMALUDDIN F, NAM S, et al. Genetic variation, demographic history and phylogeography of tire track eel, *Mastacembelus favus* (Synbranchiformes: Mastacembelidae) in Southeast Asia [J]. Hydrobiologia, 2019, 838(1): 163-182.
- [33] KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences [J]. J Mol Evol, 1980, 16(2): 111-120.

- [34] LIBRADO P, ROZAS R. DnaSP ver. 5: a software for comprehensive analyses of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25: 1451-1452.
- [35] 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]. Mol Ecol Resour, 2010, 10(3): 564-567.
- [36] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism.[J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [37] YANG J, YANG J X, CHEN X Y. A re-examination of the molecular phylogeny and biogeography of the genus *Schizothorax* (Teleostei: Cyprinidae) through enhanced sampling, with emphasis on the species in the Yunnan-Guizhou Plateau, China[J]. J Zool Syst Evol Res, 2012, 50(50): 184-191.
- [38] CHEN X L, CHIANG T Y, LIN H D, et al. Mitochondrial DNA phylogeography of *Glyptothorax fokiensis* and *Glyptothorax hainanensis* in Asia[J]. J Fish Biol, 2010, 70(sa): 75-93.
- [39] LIN H D, KUO P H, WANG W K, et al. Speciation and differentiation of the genus *Opsariichthys* (Teleostei: Cyprinidae) in East Asia[J]. Biochem Syst Ecol, 2016(68): 92-100.
- [40] ZONG Y, YIM W S, YU F, et al. Late quaternary environmental changes in the Pearl River mouth region, China[J]. Quatern Int, 2009, 206(1/2): 35-45.
- [41] YANG L, HE S P. Phylogeography of the freshwater catfish *Hemibagrus guttatus* (Siluriformes, Bagridae): implications for South China biogeography and influence of sea-level changes [J]. Mol Phylogenet Evol, 2008, 49(1): 393-398.
- [42] 赵亚辉, 张春光. 广西十万大山地区的鱼类区系及其动物地理学分析 [J]. 生物多样性, 2001(4): 336-344.
- [43] WRIGHT S. Variability within and among natural populations[M]. Chicago: The University of Chicago Press, 1978: 79-103.
- [44] WRIGHT S. Isolation by distance[J]. Genetics, 1943, 28: 114-138.
- [45] LIN M H, LIANG X F, GAO J J, et al. Phylogeographic structure and population demography of the leopard mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) in the Pearl River drainage[J]. Environ Biol Fish, 2022, 105(4): 477-486.