

高度特化等级裂腹鱼类分子系统发育与生物地理学

何德奎 陈毅峰*

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072. * 联系人, E-mail: chenyf@ihb.ac.cn)

摘要 分析了分布于青藏高原及其邻近地区 23 个种和亚种 36 个群体高度特化等级裂腹鱼类的线粒体 DNA 细胞色素 *b* 序列, 重建了系统发育关系, 并采用地质隔离事件校正分支时间, 估计了主要分支发生时间. 结果发现, 高度特化等级裂腹鱼类不是单系群, 裸鲤属和裸裂尻属也不是单系群. 全裸重唇鱼可能是特化类群向高度特化类群演化的过渡类型. 高度特化等级裂腹鱼类的系统发育关系总体上反映了水系之间和地质历史的联系, 即来自相同和相邻水系的物种通常具有更近的亲缘关系. 估计的主要分支发生事件与青藏高原近晚地质时期强烈隆起有很好的—致性, 表明高度特化等级裂腹鱼类的起源演化与晚新生代青藏高原阶段性抬升导致的环境变化相关.

关键词 高度特化等级裂腹鱼类 青藏高原 分子系统发育 生物地理学 细胞色素 *b* 基因

现代生物地理学理论是基于地球上生物的进化与地球的地理演化同步的假说^[1]. 地理和生态的变化是造成生物分布区隔离、促使生物发生物种分化的一个重要因子. 对生物地理分布格局的研究, 可以追寻地质、地理的变化历史. 裂腹鱼类是理解青藏高原隆起与环境变化对物种演化及其分布格局的影响的良好对象. 这些鱼类特化为高海拔冷水环境生存并表现出极广泛的适应. 作为适应高海拔冷水环境的纯淡水鱼类, 其分布不仅受到水系的限制, 而且还受到海拔高度的限制. 在高原腹地形成的特化鱼类, 并不因为水系的贯通扩散到河流的中下游. 因此, 它们的分布密切地反映了类群的生物地理历史过程.

曹文宣等人^[2]依据裂腹鱼类中体鳞退化程度、下咽齿行数以及触须数目等, 将裂腹鱼类分成适应高原不同环境的 3 个等级类群, 即原始类群、特化类群和高度特化类群. 每一个等级分别代表了青藏高原在隆起过程中的特定的历史阶段. 高度特化类群是指体鳞全部退化、下咽齿 1~2 行、触须消失等特征的裂腹鱼类, 包括裸鲤属 *Gymnocypris*, 尖裸鲤属 *Oxygymnocypris*, 裸裂尻属 *Schizopygosis*, 扁咽齿鱼属 *Platypharodon*, 黄河鱼属 *Chuanchia* 和高原鱼属 *Herzensteinia*, 计 6 属 26 种和亚种^[3], 分布于海拔 1500~5000 m 的青藏高原及其邻近地区各主要水系的中上游. 除裸鲤属和裸裂尻属外, 其他 4 个属均为单型属, 而且都是我国的特有属.

本研究分析了 23 种和亚种高度特化等级裂腹鱼类的线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因 (*cyt b*) 全序列. 这些物种的分布区几乎涵盖了青藏高原所有的主要水系和湖泊. *cyt b* 基因为蛋白质编码基因, 被认为是较好的反映种属间系统发育关系的分子标记^[4], 已用于多种鲤科鱼类的系统发育研究^[5~10]. 本研究旨在重建高度特化等级裂腹鱼类的属种间系统发育关系, 探讨高度特化等级裂腹鱼类的生物地理学过程以及青藏高原水系演化关系.

1 材料和方法

() 样本采集. 本研究测定了 21 种高度特化裂腹鱼类 161 尾标本 (不包括 GenBank 下载序列), 这些标本来自 16 个水系 36 个地区 (图 1). 另外, 从 GenBank 下载极边扁咽齿鱼 *P. extremus* 和骨唇黄河鱼 *C. labiosa* 的 *cyt b* 序列一并进行分析. 标本采集于 1997~2005 年, 野外用 95% 乙醇固定鳍条或肌肉样, 标本用福尔马林固定后保存于中国科学院水生生物研究所淡水鱼类博物馆. 物种的种名、采集地点、水系和 GenBank 登录号见表 1.

() DNA 提取、PCR 扩增和测序. 基因组 DNA 的提取采用常规酚/氯仿法^[11]. *cyt b* 基因扩增和测序引物序列为 L14724 (5'-GACTTGAAAAACCACCGTTG-3') 和 H15915 (5'-CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC-3'), 退火温度 56 °C. 扩增产物用 QIAquick 凝胶回收试剂盒纯化后在测序公司测序, 所有的序

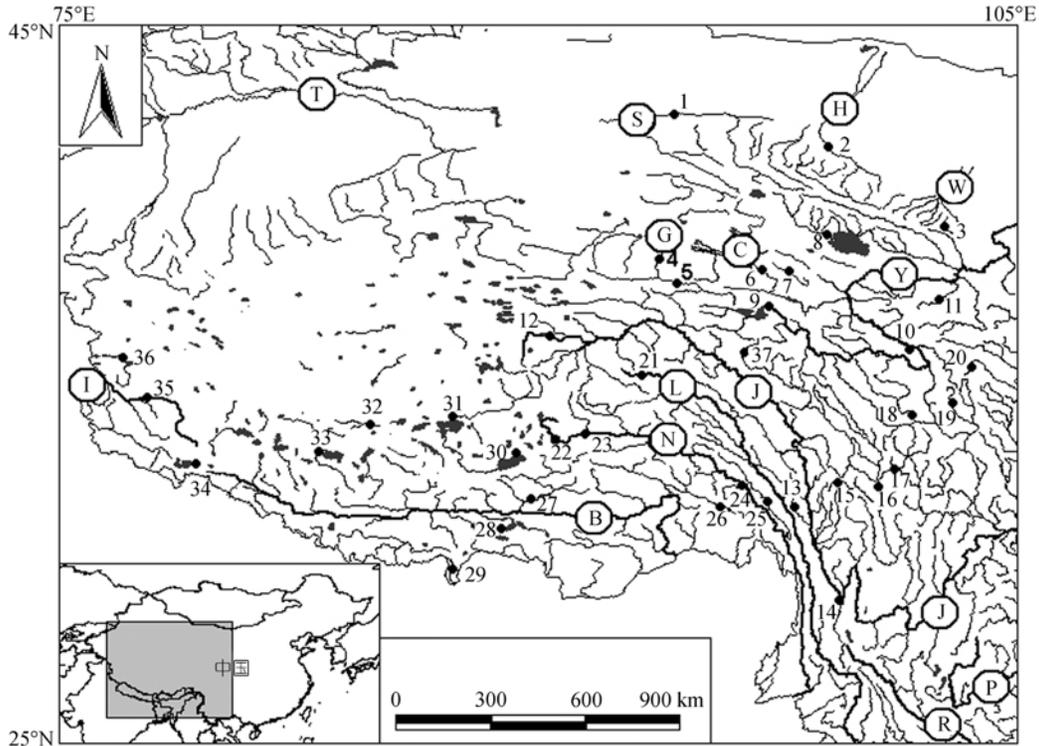


图1 采样分布图

B, 雅鲁藏布江; C, 柴达木河; G, 格尔木河; H, 黑河; I, 印度河; J, 金沙江; L, 澜沧江; N, 怒江; P, 珠江; R, 红河; S, 疏勒河; T, 塔里木河; Y, 黄河; W, 石羊河. 数字表示采样地代号, 具体说明见表1

列均提交到 GenBank.

() 数据分析. 序列最初采用Clustal X 1.8 程序^[12]进行排序后人工校对. 采用 χ^2 检验序列间碱基组成的均质性. 核苷酸替代饱和性分析通过绝对颠换(Tv)和转换(Ti)数与序列分支关系图来检验. 系统发育分析分别采用最大简约法(MP)、最大似然法(ML)和贝叶斯法(Bayesian, BI) 3 种分析方法构建. MP和ML分析采用PAUP*4.0b10^[13]程序. 根据形态学和分子系统学结果^[10,14,15], 4 种特化等级裂腹鱼类作为外类群. 采用Modeltest 3.06^[16]程序, 进行等级似然率检验(hLRT)选择最适合的进化模型用于ML分析中. 最适合的替代模型为GTR + I + Γ ^[17] ($I = 0.5089$, $\Gamma = 0.8401$, $A = 0.3021$, $C = 0.3272$, $G = 0.1017$, $T = 0.2690$). MP分析采用启发式搜索, 树二等分再连接, 分类单元 100 次随机逐步增加. 所有位点均作为无序特征处理, 分析前排除所有的无信息位点. Ti和Tv经验比通过ML树估计(估计值为Ti : Tv = 6.41 : 1), 并根据经验比对Tv给予相应的权重比值(设置为Tv : Ti = 6 : 1). 采用非参数自展分析估计MP树节点的支持率(BP)^[18], 重复 1000 次. 贝叶斯分析运用MrBayes 3.1.1b程序^[19], 采用GTR + I + Γ 模型. 马可

夫蒙特卡洛(MCMC)参数如下: number of generations = 2000000, number of chains = 4, sample frequency = 100, burnin = 600. 构建 50%的多数原则合意树和节点的后验概率值(BBP).

在PAUP*中执行Shimodaira-Hasegawa (SH)检验^[20], 以检验选定类元的单系性. 将基于同样替代模型而有分子钟约束的ML树与不受分子钟约束的ML树的似然对数值相比较^[21]以检验是否偏离分子钟. 为了使估计主要分支发生事件的系统树线形化, 在TreeEdit v1.0^[22]采用非参数率平滑(non-parametric rate smoothing, NPRS)转换支长. 误差的大小通过参数自展分析(parametric bootstrapping)获得. 采用Seq-Gen v1.3.1^[23]程序对最初的ML树(GTR + I + Γ)模拟获得 100 组参数自展分析数据, 每个数据组在PAUP中重建ML树(GTR + I + Γ), 并将ML转化为线形树. 然后计算每个节点平均值和 95%的置信区间. 虽然我们曾采用青海湖和黄河上游的隔离来校正分支年代^[10], 但这两个地区隔离很晚, 而且花斑裸鲤*G. eckloni*和青海湖裸鲤*G. przewalskii*不是单系群^[24]. 本研究采用了另一个比较可靠的质隔离时间, 昆仑

表 1 分析物种、采样地区(编号)、样本量、单倍型和 GenBank 登录号

属名	种名	采集地(代号, 见图 1)	样本量	单倍型编号	GenBank 登录号 ^{a)}	
尖裸鲤属 <i>Oxygymnocypris</i>	<i>O. stewartii</i>	西藏拉萨(27)	7	LS1-3		
裸鲤属 <i>Gymnocypris</i>	<i>G. waddelli</i>	羊卓雍错(28)	2	YZYC		
	<i>G. potanini potanini</i>	四川黑水县(19)	3	HS		
		四川马尔康(18)	2	DD		
	<i>G. p. firmispinatus</i>	云南石鼓(14)	2	SG1-2		
	<i>G. chui</i>	西藏公珠错(34)	4	GZC1-2		
	<i>G. eckloni</i>	青海玛多(9)	9	MD1-5		
		甘肃玛曲(10)		MQ1-3	AY463494-5* AY463522	
		青海格尔木(4)	6	WQ		
		青海温泉(5)	2	WQ		
	<i>G. chilienensis</i>	甘肃张掖(2)	7	XM1-3		
		甘肃安西(1)	2	AX		
	<i>G. namensis</i>	西藏纳木错(30)	2	NMC1-2	AY463500*	
		西藏色林错(31)	7	ZJZB1-2		
	<i>G. prezwaslskii</i>	青海青海湖(8)		QHH1-3	AY463496-7*, AY463523	
	裸裂尻属 <i>Schizopygosis</i>	<i>S. pylzovi</i>	青海都兰(7)	4	DL	
			青海香日德(6)	6	XRD	
青海温泉(5)			6	WQ		
青海格尔木(4)			3	WQ		
青海玛多(9)			12	MD1-2		
甘肃玛曲(10)			3	DL		
甘肃临夏(11)				LX	AY463503*	
甘肃夏玛(3)			6	XM1-3		
<i>S. stliczkai stliczkai</i>			西藏狮泉河(35)	5	SQH1-3	
<i>S. s. bangongensis</i>			西藏班公湖(36)	3	BGC	
<i>S. malacanthus Malacanthus</i>		西藏芒康(13)	2	MK		
		四川理塘(15)	2	LT		
		四川雅江(16)	3	YJ1-2		
		四川新渡桥(17)	3	XDQ1-2		
		青海清水河(37)	6	QSH1-3		
<i>S. thermalis</i>		西藏那曲(22)	4	NQ1-2		
		西藏查龙(23)	3	CL		
		西藏八宿(24)	2	BM2		
		西藏拉萨(27)	3	LS1-2	AY463501*	
<i>S. younghusbandi younghusbandi</i>		西藏波密(26)	4	BM1-2		
	西藏亚东(29)	4	YD1-2			
<i>S. kialingensis</i>	四川九寨沟(20)	4				
<i>S. anteroventris</i>	青海杂多(21)	4	ZD1-3	AY463499*		
	西藏左贡(25)	2	ZG1-2			
	西藏尼玛(31)	2	NM1-2	AY463502		
<i>S. 未描述种</i>	扎日南木错(32)	3	ZRNMC			
高原鱼属 <i>Herzensteinia</i>	<i>H. microcephalus</i>	青海沱沱河(12)	7	TTH1-3		
扁咽齿鱼属 <i>Platypharodon</i>	<i>P. extremus</i>				AY608657-8* AY608659-60* AY608650-1*	
黄河鱼属 <i>Chuanchia</i>	<i>C. labiosa</i>				AY608650-1*	
叶须鱼属 <i>Ptychobarbus</i>	<i>Pb. dipogon</i>	西藏拉萨(27)			AY463510*	
	<i>Pb. conirostris</i>	西藏狮泉河(35)			AY463509*	
	<i>Pb. c. chungtienensis</i>	青海杂多(21)			AY463508*	
裸重唇鱼属 <i>Gymnodiptychus</i>	<i>Gd. integrigymnatus</i>	云南瑞滇			AY463526*	

a) *示 GenBank 下载序列

山垭口的“昆仑-黄河运动”。该地区的大规模隆起开始于 1.1 Ma BP^[25]。我们初步推测这次运动隔离了长江源头和黄河上游-柴达木盆地水系鱼类的交流。

2 结果

2.1 序列变异

分析的cyt *b* 基因序列长度为 1140 个碱基, 其中 348 个位点为变异位点, 269 个为简约信息位点。在变异位点中, 79.60%变异位于密码子第 3 位上, 16.95%位于密码子第 1 位上。所分析的裂腹鱼类中, 平均碱基组成为: A = 0.3021, C = 0.3272, G = 0.1017, T = 0.2690, 具有低G含量, 而A, T和C含量较为一致。cyt *b* 和其他线粒体蛋白质编码基因一样具有强烈的碱基组成偏向性^[26]。特别是在密码子第 2 和第 3 位更为明显, 表现为显著的低G组成, 而密码子第 1 位碱基组成较为均等。但是不同序列的碱基组成不存在偏向性($\chi^2 = 50.0336, df = 243, P = 1.00$)。

在所分析的 161 个个体中发现 66 种单倍型(表 1)。除了花斑裸鲤, 黄河裸裂尻 *S. pylzovi*, 纳木错裸鲤 *G. namensis*, 温泉裸裂尻 *S. thermalis* 和拉萨裸裂尻 *S. younghusbandi younghasbandi* 之外, 共享单倍型均发生在同一地理群体不同个体之间。来自黄河和柴达木盆地内陆水系的花斑裸鲤以及黄河裸裂尻多个地理群体存在共享单倍型(表 2 和 3)。黄河裸裂尻与极边扁咽齿鱼存在共享单倍型(AY608658, GenBank 下载序列)。另外, 来自藏北高原内陆湖泊纳木错裸鲤与怒江的温泉裸裂尻以及怒江的温泉裸裂尻与雅鲁藏布江支流扎木河的拉萨裸裂尻两个物种之间存在共享单倍型(表 2 和 3)。所分析的裂腹鱼类中, 最大的遗传分支为 14.30% (双须叶须鱼 *Ptychobarbus dipogon* 与全裸重唇鱼 *Gymnodiptychus integrigymnatus* 之

间)。外类群和内类群之间的遗传分支在 10.09% (黄斑裸鲤和全裸重唇鱼)到 13.51% (骨唇黄河鱼与中甸叶须鱼 *P. chungtienensis chungtienensis*)之间。高度特化等级裂腹鱼类内最大的遗传分支为 10.61%(花斑裸鲤和尖裸鲤 *O. stewartii*)。

所有的位点中, 颠换和转换数与成对遗传距离均呈线性关系(未显示), 表明序列间变异没有达到饱和, 所以在系统发育分析中采用了所有的位点。

2.2 系统发育

图 2 显示了贝叶斯法构建的多数原则合意树。ML 分析与 BI 分析构建的系统发育树基本一致。MP (Tv:Ti = 6:1)分析得到 80 个等价的简约树(树长 = 1323, CI = 0.6432, RI = 0.9041)。MP 严格合意树的拓扑结构也与 BI 树相似, 不同加权值(1:1, 2:1)的 MP 分析也得到相似的严格一致树。图 2 同时给出了各节点的 MP(Tv:Ti = 6:1)分析自展支持率(BP)和 BI 分析后验概率(BBP)。当叶须鱼属和全裸重唇鱼作为外类群时, 所分析的高度特化裂腹鱼类没有形成一个单系群, 全裸重唇鱼嵌入到高度特化裂腹鱼类分支中。全裸重唇鱼与除尖裸鲤以外的高度特化裂腹鱼类为一对姐妹群关系, 并得到很高的统计支持(BP = 100, BBP=1.00)。而分布于雅鲁藏布江的尖裸鲤单独形成一支(分支 1), 也得到很高的支持(BP = 95, BBP = 1.00)。但是, 对高度特化裂腹鱼类单系约束时, SH 检验表明, 单系约束的 ML 树(-lnL = 5533.9657)与无单系约束的 ML 树(-lnL = 5530.8291)没有显著差异($P = 0.66$)。除尖裸鲤以外, 其他高度特化裂腹鱼类形成两个主要的分支(图 2)。其中裸鲤属的花斑裸鲤、青海湖裸鲤、松潘裸鲤 *G. potanini potanini* 与骨唇黄河鱼形成一支(分支 3), 并得到较高的支持(BP = 95, BBP

表 2 高度特化裂腹鱼类不同物种和地理群体之间共享单倍型的分布

单倍型	地理种群					
	格尔木	温泉	香日德	都兰	玛多	玛曲
<i>G. eckloni</i> WQ	4	2			4	
<i>S. pylzovi</i> WQ	3	3				
<i>S. pylzovi</i> DL		3	2	4	4	3

表 3 高度特化裂腹鱼类不同物种和地理群体之间共享单倍型的分布

单倍型	地理种群和物种					
	纳木错 <i>G. namensis</i>	色林错 <i>G. namensis</i>	那曲 <i>S. thermalis</i>	查龙 <i>S. thermalis</i>	八宿 <i>S. thermalis</i>	波密 <i>S. y. younghasbandi</i>
<i>G. namensis</i> NMC1	1	2				
<i>S. thermalis</i> NQ1		3	1	1		
<i>S. y. younghasbandi</i> BM2				1	2	3

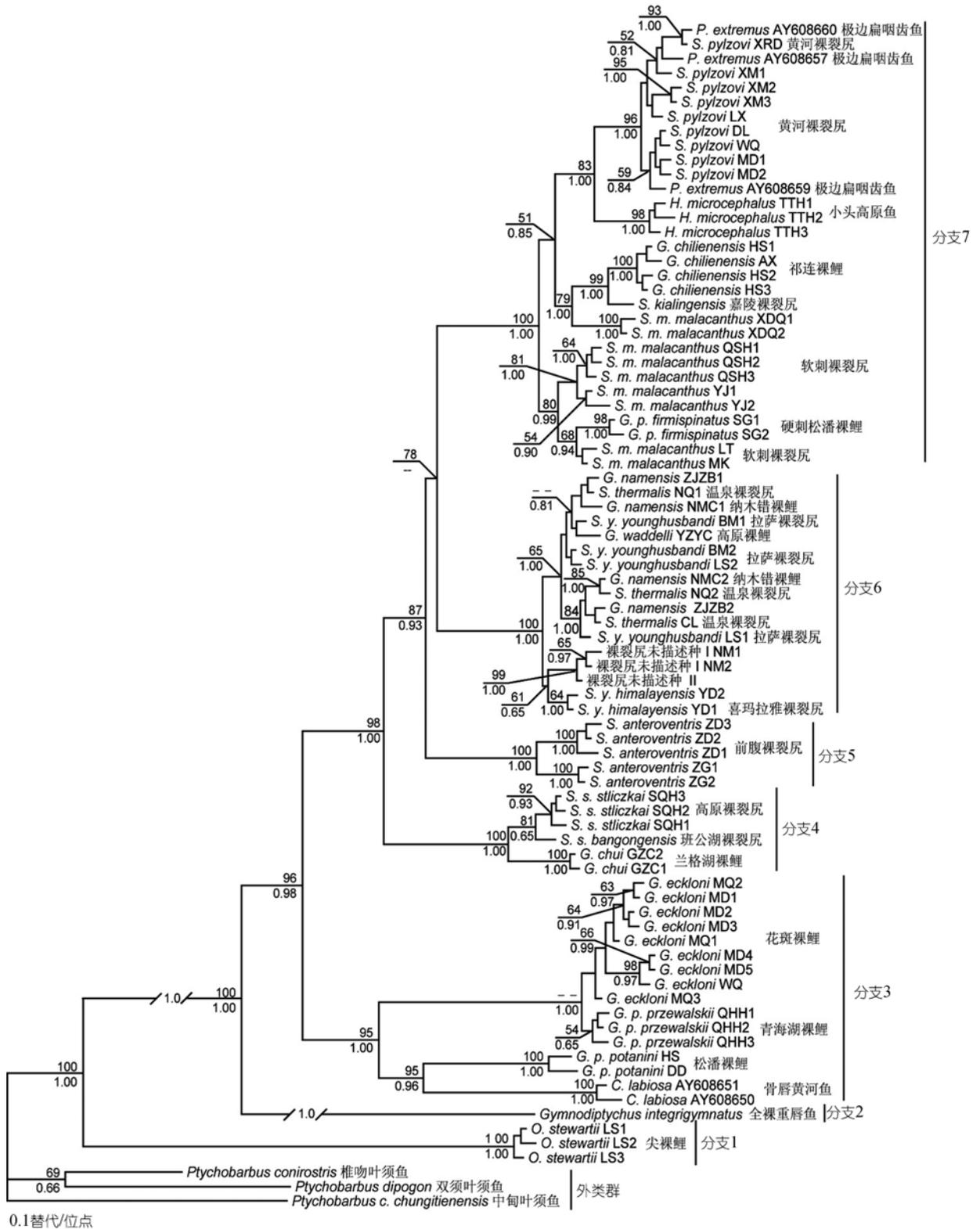


图 2 基于 cytb 基因序列构建的高度特化裂腹鱼类 Bayesian 50% 主要原则合意树

节点的数字为贝叶斯分析大于 0.50 后验概率(下, GTR + I + J, 代数 = 2000000, Burnin = 600)和 MP 分析大于 50% 的自展支持率(上, Tv = Ts = 6 : 1 加权, 1000 次重复)。种名后面的字母为单倍型编号(表 1)

=1.00)。而祁连裸鲤 *G. chilenensis*, 硬刺松潘裸鲤 *G. p. firmispinatus*, 高原裸鲤 *G. waddelli*, 纳木错裸鲤 *G. namensis* 和朱氏裸鲤 *G. chui* 与裸裂尻属、高原鱼属和扁咽齿鱼属一起形成一支(分支 4~7), 也得到很高的支持(BP=98, BBP=1.00)。所分析的裸鲤属和裸裂尻属的物种没有形成一个各自的单系群。对裸鲤属和裸裂尻属的物种单系约束时, SH 检验表明单系约束的 ML 树(裸鲤属: $-\ln L = 5868.9477$; 裸裂尻属: $-\ln L = 5916.9696$)与无单系约束的 ML 树具有显著差异($P = 0.00$), 表明裸鲤属和裸裂尻属的单系性被拒绝。

虽然线粒体 DNA 序列揭示的系统发育关系与形态学的研究不一致, 但是很好地反映了水系间地理和历史的联系。总体上相近水系的物种具有更近的亲缘关系。例如, 分支 3 的物种分布于柴达木盆地、青海湖、黄河上游以及岷江、大渡河; 分支 4 分布于高原西部水系; 分支 5 分布于澜沧江和怒江; 分支 6 分布于高原中部内陆水系、怒江、雅鲁藏布江和藏南水系; 分支 7 分布于高原东部水系(长江上游干支流、黄河上游、柴达木盆地、河西走廊)(图 3), 显示了区域水系之间的联系。

2.3 进化速率和分支时间估计

对受分子钟约束和无分子钟约束 ML 树 hLRT 检验发现分子钟被拒绝(无分子钟约束 $-\ln L = 5681.3985$, 分子钟约束 $-\ln L = 5788.2195$, $\chi^2 = 213.6420$, $df = 80$, $P = 0.00$)。全裸重唇鱼比其他裂腹鱼展现了更长的分支。由于不同分支间进化速率存在差异, 我们采用 NPRS 方法构建线形树, 并且根据分布于长江源头的小头高原鱼与分布于柴达木盆地-黄河上游的黄河裸裂尻的分支时间(1.1 Ma BP)作为校正点来计算主要分支发生时间。估计的主要分支发生时间为: (高度特化裂腹鱼类 + 全裸重唇鱼)在上新世初起源, 尖裸鲤与(全裸重唇鱼 + 裸鲤属 + 裸裂尻属 + 扁咽齿鱼属 + 黄河鱼属 + 高原鱼属)分支发生在 4.94 ~ 4.75 Ma BP, 全裸重唇鱼与(裸鲤属 + 裸裂尻属 + 扁咽齿鱼属 + 黄河鱼属 + 高原鱼属)分支发生在 4.12 ~ 3.95 Ma BP, 高度特化裂腹鱼类两个主要的分支发生在 3.71 ~ 3.59 Ma BP。主要的种化事件发生在更新世(图 3)。图 4 是高度特化裂腹鱼类所有大于 0.7 Ma 的分支事件的分布频率, 可以看出高度特化裂腹鱼类的主要分支事件发生在 3.6 ~ 3.5, 3.0 ~ 2.9, 2.7 ~ 2.4, 1.7 ~ 1.6, 1.3 ~ 0.9 Ma BP 几个时期(图 4)。

3 讨论

3.1 系统发育

曹文宣等人^[2]、武云飞^[14]、陈毅峰^[15]根据形态特征, 对裂腹鱼亚科各属的系统发育关系进行了分析。这些形态学研究都得出基本相近的结论: () 特化等级裂腹鱼类和高度特化等级裂腹鱼都是一个单系群; () 裸鲤属和尖裸鲤属各自为单系群, 它们组成了一对姐妹群。线粒体 DNA 数据并不完全支持形态学的研究结果。属于特化等级的全裸重唇鱼被嵌入到高度特化类群中, 而且裸鲤属和裸裂尻属也不是单系群。这种形态学和分子研究结果的不一致可能是由于: () 传统的形态学分类采用了某些对环境的适应性特征, 而这些特征无法反映类群的演化历史。研究发现, 在鲤科鱼类中, 推测系统发育关系的形态特征常常是没有信息的, 特别是在种和种下阶元中显得更为突出^[8,27]。() 低水平的序列分支和祖先多态性可能导致无法区分物种之间的关系。由于序列间分支较低, 缺少足够的共同衍征建立可靠的姐妹群关系, 因而很难重建物种水平的系统发育关系。这在我们的分析中表现得比较突出。除尖裸鲤外, 高度特化类群不同物种之间的序列分支都小于 7.72%。模拟分析表明, 重建树的准确性随着序列的替代率的降低而快速降低^[28]。() 高度特化类群可能经历快速的演化、扩张和种化过程, 没有足够的时间允许新的突变出现和固定。地质学的研究表明, 青藏高原在 3.6 Ma BP 左右开始, 经历了快速的抬升和环境巨变^[29,30]。这种气候环境的巨变促使高原鱼类快速演化, 而且高原水体相对“宽松”的生态位, 促使种群分化, 但是形态上的快速分化没有同步体现在分子变异中。() 不同种类之间可能存在杂交和基因渗透, 限制了采用线粒体数据揭示系统发育关系。物种之间的自然杂交现象在鲤科鱼中非常普遍^[5,31]。裂腹鱼类可能经历了由于水系多次联系导致的基因渗透事件, 同样在其他淡水鱼中也发现这种现象^[32-34]。高原水系从晚中新世开始, 经历了大规模调整和袭夺^[35,36]。水系的变迁促使水系间鱼类扩散和交流。在雅砻江、黄河和格尔木河中, 系统学分析发现由于水系间袭夺和临时联系可能存在的基因渗透现象。例如, 雅砻江理塘和金沙江芒康的软刺裸裂尻 *S. malacanthus malacanthus* 为一对姐妹群, 而雅砻江新渡桥(紧邻大渡河)的软刺裸裂尻与大渡河及岷江水系的裸裂尻关系较近。同样的现象出现在黄河和

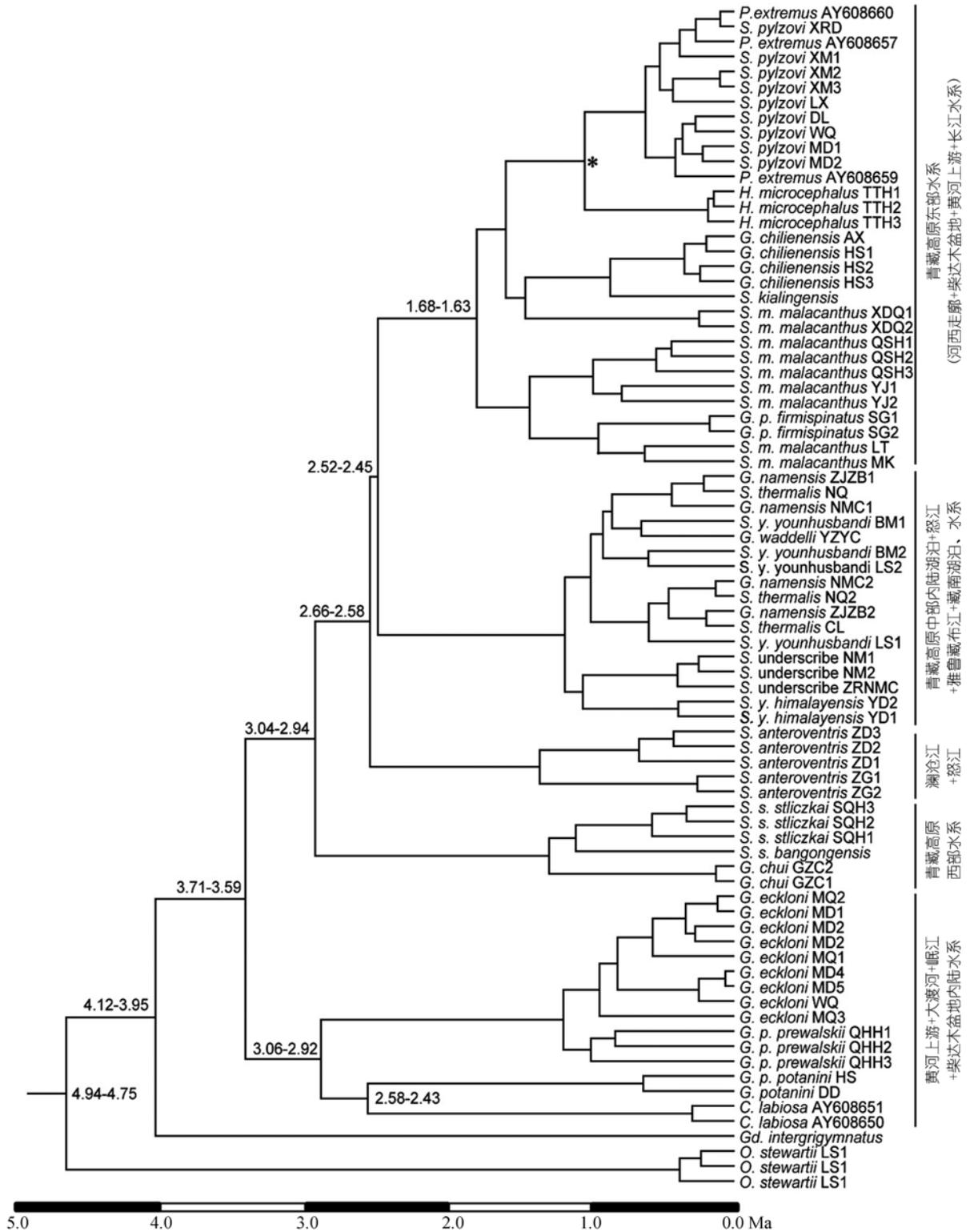


图 3 根据非参数率平滑(NPRS)转换支长的高度特化裂腹鱼类超度量 ML 树
分支时间的校正采用固定校正点(*)校正

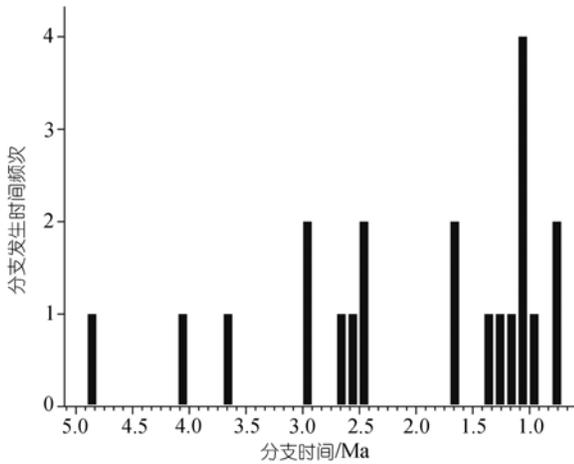


图4 高度特化裂腹鱼大于0.70 Ma的主要分支分歧时间的分布频率

柴达木盆地的裸鲤^[24]和裸裂尻鱼类中。

全裸重唇鱼主要依据其具有1对颌须而划归为裸重唇鱼属^[37]，然而其形态和地理分布比较特殊。对另外两个基因DNA序列(D-loop和S7，数据未发表)的分析也表明其序列明显不同于裸重唇鱼属另外两个物种：厚唇裸重唇鱼*Gd. pachycheilus*和新疆裸重唇鱼*Gd. dybowskii*。分子数据表明，全裸重唇鱼与高度特化等级裂腹鱼类有更近的亲缘关系，虽然不完全排除全裸重唇鱼与其他两种裸重唇鱼属鱼类有更近亲缘关系的可能。我们推测，全裸重唇鱼可能代表了特化类群向高度特化类群演化的一个过渡类群，或者是演化的旁支。这一点从全裸重唇鱼的形态和地理分布上可以得到体现。全裸重唇鱼须极细小、个体小、下唇不发达、腹膜灰黑色、鳃耙退化等，这明显有别于另外两种裸重唇鱼属鱼类，而且全裸重唇鱼只分布于青藏高原边缘伊洛瓦底江水系的陇川江上游，另外两种则分布于青藏高原东部和中亚地区。

Chu^[38]以小头裸裂尻*S. microcephalus* (Herzenstein, 1891)作为模式种建立高原鱼属。武云飞等人^[39]则认为，本种的主要鉴别特征，如咽齿结构和齿式以及下颌角质等性状具有很大的变异性，因此依据局部地区标本的局部特征而建立的高原鱼属不成立，而将高原鱼属归属到裸裂尻属。武云飞等人进一步认为，小头裸裂尻包括小头裸裂尻*S. microcephalus microcephalus*，纳木错小头裸裂尻*S. m. namensis*在内的一个多型种。分子数据不支持高原鱼属的有效性，但分布于沱沱河和藏北高原的裸裂尻应视为不同的物种。分布于沱沱河的小头高原鱼与黄河裸裂

尻具有更近的亲缘关系。

3.2 生物地理学和青藏高原水系演化

硬骨鱼类mtDNA编码蛋白基因，通过化石或其他可靠的校正，序列进化率一般被认为是在0.5%~1.3%/Ma之间^[6,8,40-43]，在鲤科鱼类中Cyt b通常采用的进化率为0.76%^[6]，0.66%^[42]，0.91%^[10]和1.0%^[8]。进化率的估计受到研究类群、采用的标记和替代模型影响，很难采用一致的标准。我们采用发生在昆仑山垭口的地质事件^[25]来校正分支时间。昆仑山垭口地区在距今1.1~0.7 Ma间发生了一次先是大面积抬升，后是突发性断块隆起与沉陷的构造运动，被命名为“昆仑-黄河运动”。我们推测这次地质事件隔离了分布于沱沱河的小头高原鱼与分布柴达木盆地和黄河上游的黄河裸裂尻的联系。这两个物种之间的平均成对序列分支为1.85%，对应的进化率1.68%/Ma，与可靠地质事件校正的欧洲理科鱼类的cyt b进化率非常一致(1.64%/Ma)^[6]，这个替代率也广泛地用来估计淡水鱼类的分支时间^[44-47]。

高度特化等级裂腹鱼类的主要分支发生事件与青藏高原近晚地质时期的强烈隆起阶段有很好的—致性。地质研究表明，青藏高原从3.6 Ma BP开始进入了一个快速的隆起阶段，其强烈隆起时期在可分为3个大的阶段：早期被命名为“青藏运动”，时间为3.6~1.7 Ma BP，包括A、B和C 3个阶段(3.6, 2.5和1.7 Ma BP)^[48]；中期被命名为“昆仑-黄河运动”^[25]，发生在1.1~0.7 Ma BP，也包括3个阶段(1.1, 0.8和0.6 Ma BP)；晚期被命名为“共和运动”，发生在0.15 Ma BP以来^[48]。分子估计的高度特化等级裂腹鱼类的主要分支事件也发生在这几个时期(3.6~3.5, 3.0~2.9, 2.7~2.4, 1.7~1.6和1.3~0.9 Ma BP，图4)，进一步证明了裂腹鱼类的起源和演化与青藏高原阶段性隆起导致的环境变化密切相关^[2]。形成现生高度特化裂腹鱼类分布格局的根本原因就是高原强烈抬升引起的环境条件的改变和高原水系的变迁。

高度特化等级裂腹鱼类两个主要的分支发生在3.71~3.59 Ma BP。特化等级裂腹鱼类新疆裸重唇鱼和厚唇裸重唇鱼也在这一时期发生分支(3.54 ± 0.39 Ma BP)^[10]。青藏高原的另一个重要类群高原鳅属*Triplophysa*，分布于新疆与高原东部水系的两个分支也在这一时期发生分离^[49]。高原特有植物毛冠菊属*Nannoglottis*的两个类群也在这一时期发生分离^[50]。不同类群分支发生的同时性表明它们可能是对一个

共同地质事件的反映,即高原在 3.6 Ma BP 后进入了大范围的抬升,导致上新世中晚期形成的高原夷平面解体,引发高原中部环境发生巨大的变化。

与发生于 3.6 Ma BP 的分支事件不同,发生于 3.0 ~ 2.4 Ma BP 分支事件主要表现为不同水系鱼类之间的分离,反映了高原水系之间的历史联系和演化过程。在这一时期,高原统一的夷平面开始解体。在一个较短的时期,高原西部水系(班公湖、狮泉河、玛旁雍错)(3.04 ~ 2.94 Ma BP)、怒江-澜沧江水系(2.66 ~ 2.58 Ma BP)、高原中部水系(藏北高原湖泊、雅鲁藏布江、怒江和藏南水系)和青藏高原东部水系(河西走廊水系、柴达木盆地水系、黄河上游、长江水系)(2.45 ~ 2.52 Ma BP)相继发生隔离。不同区域之间鱼类的隔离表明青藏高原进一步整体隆升,高原内部发生差异升降,高原各主要水系(不包括雅鲁藏布江)强烈溯源侵袭,导致高原地区 4 大区域水系之间发生隔离。但是直到昆仑-黄河运动前(1.1 ~ 0.7 Ma BP),4 大区内不同水系之间的鱼类都曾存在交流,这可能是区域水系之间在更新世冰期和间冰期曾经发生联系以及河流溯源时序差异的结果。在高原西部,班公错、公珠错-玛旁雍错-拉昂错都曾是流向印度河的外流湖泊^[51]。在高原中部,由于高原隆起导致季风增强,高原中部降水增加^[52],高原内部普遍出现高湖面,这些湖泊在也都曾是怒江或雅鲁藏布江外流湖泊。澜沧江和怒江水系在早、中更新世可能存在联系。陈宜瑜^[37]和褚新洛等人^[53]对横断山区水系间的相互关系的研究都表明澜沧江和怒江之间关系极为密切。在青藏高原东部,黄河上游和长江水系、黄河上游和柴达木盆地水系有密切的关系。黄河水系的发育开始于 1.6 Ma BP,其后经过多次构造事件,自下而上地通过一级级河流袭夺才贯通的^[48]。在黄河切入诺尔盖盆地之前,玛曲以上的黄河上游地区的地面汇水,最早可能通过诺尔盖盆地溢入四川盆地的长江水系,而柴达木盆地水系强烈地溯源侵蚀黄河水系。

值得注意的是,分布于河西走廊的祁连裸鲤和嘉陵裸裂尻具有很近的亲缘关系,两者的分支时间大约在 0.75 ~ 0.72 Ma BP。陈宜瑜^[37]对横断山区 11 个主要的水系间鱼类组成相似程度分析时也发现,当分析高原鳅类和全部鱼类时,黄河上游和嘉陵江具有最近的关系。我们的解释是,在更新世最大冰期时期,青藏高原东部水系河源区可能通过山岳冰川相连,间冰期冰川融水使水系之间存在暂时性的联

系,导致相邻水系之间鱼类存在交流。现生裂腹鱼类和高原鳅的地理分布格局也支持这种假设。例如,厚唇裸重唇鱼仅分布于黄河和长江的雅砻江水系,拟硬鳍高原鳅 *T. pseudoscleroptera* 分布于青藏高原东部的柴达木盆地、黄河和四川西部长江水系。

参 考 文 献

- Nelson G, Platnick N. Biogeography. Carolina Bio Readers, 1984, 119: 1—20
- 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
- 陈毅峰, 曹文宣. 裂腹鱼亚科. 见: 乐佩琦, 主编. 中国动物志: 硬骨鱼纲鲤形目(下卷). 北京: 科学出版社, 2000. 273—390
- Zardoya R, Meyer A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Mol Biol Evol*, 1996, 13: 933—942
- Briolay J, Galtier N, Brito R M, et al. Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome *b* DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 1998, 9: 100—108[DOI]
- Zardoya R, Doadrio I. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *J Mol Evol*, 1999, 49: 227—237[DOI]
- Tsigenopoulos C S, Berrebi P. Molecular phylogeny of North Mediterranean freshwater barbs (Genus *Barbus*: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences: Biogeographic and systematic implications. *Mol Phylogenet Evol*, 2000, 14(2): 165—179[DOI]
- Durand J, Tsigenopoulos C, Ünlü E, et al. Phylogeny and biogeography of the family Cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome *b* DNA—evolutionary significance of this region. *Mol Phylogenet Evol*, 2002, 22: 91—100[DOI]
- 何舜平, 刘焕章, 陈宜瑜, 等. 基于细胞色素 *b* 基因序列的鲤科鱼类系统发育研究(鱼纲: 鲤形目). *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2004, 34(1): 96—102
- 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
- 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W, 著. 黄培堂, 等译. 分子克隆实验室指南(第 3 版). 北京: 科学出版社, 2002. 463—618
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 4876—4882[DOI]
- Swofford D L. PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. Massachusetts: Sinauer Associates, 2002
- 武云飞. 中国裂腹鱼亚科鱼类的系统分类研究. *高原生物学集刊*, 1984, 3: 119—140
- 陈毅峰. 裂腹鱼类系统发育和分布格局的研究. *系统发育. 动物分类学报*, 1998, 23(增刊): 17—25
- Posada D, Crandall K A. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 1998, 14: 817—818[DOI]

- 17 Yang Z H. Estimating the pattern of nucleotide substitution. *J Mol Evol*, 1994, 39(1): 105—111
- 18 Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 1985, 39: 783—791[DOI]
- 19 Huelsenbeck J P, Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 2001, 17(8): 754—755[DOI]
- 20 Shimodaira H, Hasegawa M. Multiple comparisons of loglikelihoods with applications to phylogenetic inference. *Mol Biol Evol*, 1999, 16(8): 1114—1116
- 21 Huelsenbeck J P, Rannala B. Phylogenetic methods come of age: Testing hypotheses in an evolutionary context. *Science*, 1997, 276(11): 227—232[DOI]
- 22 Sanderson M. A nonparametric approach to estimate divergence times in the absence of rate constancy. *Mol Biol Evol*, 1997, 14: 1218—1231
- 23 Rambaut A, Charleston M. TreeEdit. Version 1.0. London: University of Oxford, 2001
- 24 赵凯, 李俊兵, 杨公社, 等. 青海湖及其相邻水系特有裸鲤属鱼类的分子系统发育. *科学通报*, 2005, 50(13): 1348—1355
- 25 崔之久, 伍永秋, 刘耕年, 等. 关于“昆仑-黄河运动”. *中国科学 D 辑: 地球科学*, 1998, 28(1): 53—59
- 26 Iwin D M, Kocher T D, Wilson A C. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *J Mol Evol*, 1991, 32: 128—144[DOI]
- 27 Ketmaier V, Bianco P G, Cobolli M, et al. Molecular phylogeny of two lineages of Leuciscinae cyprinids (*Telestes* and *Scardinius*) from the peri-Mediterranean area based on cytochrome *b* data. *Mol Phylogenet Evol*, 2004, 32: 1061—1071[DOI]
- 28 Yang Z. On the best evolutionary rate for phylogenetic analysis. *Syst Biol*, 1998, 47: 125—133[DOI]
- 29 李吉均, 方小敏. 青藏高原隆起与环境变化研究. *科学通报*, 1998, 43(15): 1569—1574
- 30 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*, 21(5): 381—39
- 31 Berrebi P. Speciation of the genus *Barbus* in the north Mediterranean basin: Recent advances from biochemical genetics. *Biol Conserv*, 1995, 72: 237—249[DOI]
- 32 Brito R M, Briolay J, Galtier N, et al. Phylogenetic relationships within genus *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) in Portuguese freshwaters, based on mitochondrial DNA cytochrome *b* sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 1997, 8: 435—442[DOI]
- 33 Kotlik P, Berrebi P. Phylogeography of the barbell (*Barbus barbus*) assessed by mitochondrial DNA variation. *Mol Ecol*, 2001, 10: 2177—2185[DOI]
- 34 Mateos M, Sanjur O I, Vrijenhoek R C. Historical biogeography of the livebearing fish genus *Poeciliopsis* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes). *Evolution*, 2002, 56(5): 972—984[DOI]
- 35 Brookfield M E. The evolution of the great river systems of southern Asia during the Cenozoic India-Asia collision: rivers draining southwards. *Geomorphology*, 1998, 22: 285—312[DOI]
- 36 Clark M K, Schoenbohm L M, Royden L H, et al. Surface uplift, tectonics, and erosion of eastern Tibet from largescale drainage patterns. *Tectonics*, 2004, 23, TC106, doi:10.1029/2002TC001402
- 37 陈宜瑜, 主编. 横断山区鱼类. 北京: 科学出版社, 1998
- 38 Chu Y T. Comparative studies on the scales and on the pharyngeals and their teeth in Chinese Cyprinids, with particular reference to taxonomy and evolution. *Biol Bull St John's Univ*, 1935, 2: 1—255
- 39 武云飞, 吴翠珍. 青藏高原鱼类. 成都: 四川科学技术出版社, 1992
- 40 Martin A P, Palumbi S R. Body size, metabolic rate, generation time and the molecular clock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 4087—4091[DOI]
- 41 Bermingham E, McCafferty S S, Martin A P. Fish biogeography and molecular clocks: Perspectives from the Panamanian Isthmus. In: Kocher T D, Stepien C A, eds. *Molecular Systematics of Fishes*. San Diego: Academic Press, 1997. 113—128
- 42 Machordom A, Doadrio I. Evidence of a Cenozoic Betic-Kabilian connection based on freshwater fish phylogeography (*Luciobarbus*, Cyprinidae). *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 18: 252—263[DOI]
- 43 Perdices A, Doadrio I. The molecular systematics and biogeography of the European cobitids based on mitochondrial DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 19: 468—478[DOI]
- 44 Sanjur O I, Carmona J A, Doadrio I. Evolutionary and biogeographical patterns within Iberian populations of the genus *Squalius* inferred from molecular data. *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 29: 20—30[DOI]
- 45 Perdices A, Bermingham E, Montilla A, et al. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. *Mol Phylogenet Evol*, 2002, 25: 172—189[DOI]
- 46 Perdices A, Doadrio I, Economidis P S, et al. Pleistocene effects on the European freshwater fish fauna: double origin of the cobitid genus *Sabanejewia* in the Danube basin (Osteichthyes: Cobitidae). *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 26: 289—299[DOI]
- 47 Hrbek T, Stölting K N, Bardakci F, et al. Molecular Plate tectonics and biogeographical patterns of the *Pseudophoxinus* (Pisces: Cypriniformes) species complex of central Anatolia, Turkey. *Mol Phylogenet Evol*, 2004, 32: 297—308[DOI]
- 48 李吉均, 方小敏, 马海洲. 晚生代黄河上游地貌演化与青藏高原隆起. *中国科学 D 辑: 地球科学*, 1996, 26(4): 316—322
- 49 何德奎, 陈咏霞, 陈毅峰. 高原鳅属 *Triplophysa* 鱼类分子系统发育和生物地理学研究. *自然科学进展*, 2006, 16(11): 1395—1404
- 50 Liu J Q, Gao T G, Chen Z D, et al. Molecular phylogeny and biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Nannoglottis* (Asteraceae). *Mol Phylogenet Evol*, 2002, 23: 307—325[DOI]
- 51 陈志明. 从青藏高原隆起探讨西藏湖泊生态环境的变迁. *海洋与湖沼*, 1981, 12(5): 402—411.
- 52 沈吉, 吕厚远, 王苏民, 等. 错鄂孔深钻揭示的青藏高原中部 2.8 MaBP 以来环境演化及其对构造事件的响应. *中国科学 D 辑: 地球科学*, 2004, 34(4): 359—366
- 53 褚新洛, 陈银瑞. 云南鱼类志(下册). 北京: 科学出版社, 1989