

台灣石鱚 (*Acrossocheilus paradoxus*) 之族群遺傳結構

許桂菁^{1*} 王建平¹ 李信徹² 蔣鎮宇¹

¹國立成功大學生物系

²中央研究院動物所

摘要

本研究係利用粒線體DNA控制區域探討台灣石鱚之族群遺傳結構。共檢測台灣三大地理區中十一條主要河川採取樣本，11個族群42個個體，結果顯示十一條河川的族群及個體間分子序列有相當之差異，且族群間 ($\Phi_{ST} = 0.5680$) 及地理區間 ($\Phi_{CT} = 0.4110$) 已有顯著的遺傳分化。族群間之核苷酸歧異度 (0.0112) 及序列單型歧異度 (0.97) 均高。族群間的基因交流值 (Nm) 由0.28到40.00，基因交流值和地理距離呈現負相關 (即isolation by distance)。由MEGA重建之族群樹型圖 (neighbor joining tree) 得知，台灣石鱚族群在地理區階級具分化現象，可分為：北部、東北部 (蘭陽溪、北勢溪、景美溪及內雙溪) 一群；中部 (頭前溪、後龍溪、大甲溪及濁水溪) 一群；南部 (曾文溪、高屏溪及東港溪) 一群。經minimum spanning network分析發現，濁水溪族群可能擁有台灣石鱚較為古老的基因型，台灣石鱚的遷徙路徑可能由中部地理區分別進入北部及南部。

關鍵詞：台灣石鱚、族群分化、距離隔離、最小距離網

緒言

台灣石鱚 (*Acrossocheilus paradoxus*) 在分類地位上，屬硬骨魚綱 (Osteichthyes)、鯉目 (Cypriniformes)、鯉科 (Cyprinidae)、鱚亞科 (Barbinae)、石鱚屬 (光唇魚屬：*Acrossocheilus*)，為台灣特有初級性淡水魚之一 (戴永提，1995)，分布於台灣東北部、北部、中部及南部之水系中。

物種族群遺傳結構的分析主要是檢測物種基因庫中的遺傳變異情形 (Hedrick, 1984; Hamrick, 1982)，遺傳變異的分佈受基因流轉 (gene flow) 的影響很大，基因流轉是指族群間或族群內遺傳物質的交

流。一般而言，初級性淡水魚的遷徙及擴散，是藉著河川水系間的交流，而水系間的交流常只發生於河川襲奪時，大部分的時間應少有交流的機會，因此初級性淡水魚族群間的遺傳分化程度，應較海水魚類及降海型魚類為高 (Menezes *et al.*, 1990)。由於台灣的地形，使得各河川均是直接由海岸線出海，彼此間並不交會，因此，除相近的河川在大水時期，可能造成初級性淡水魚類族群遷徙外，大多數的初級性淡水魚類族群應該已有相當時間及程度的隔離。

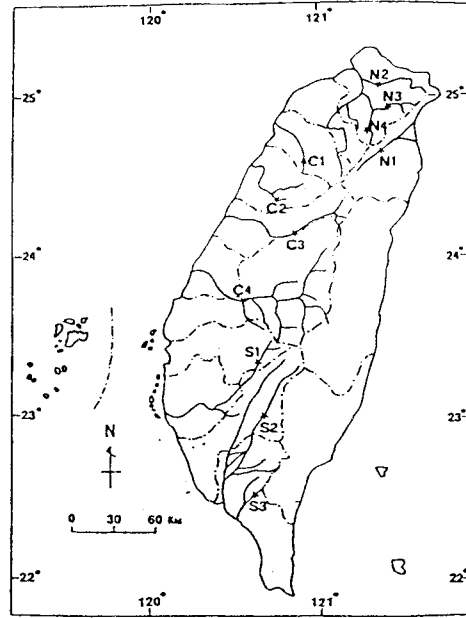
台灣魚類分子系統分類及族群遺傳的研究，已被學術界重視，其中粒線體DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 的

* 通信作者 (corresponding author)：許桂菁 (Kui-Ching Hsu)；FAX: 886-2-2742583；E-mail: 15888106@ccmail.ncku.edu.tw

序列常被作為研究分析的依據 (Philips and Oakley, 1997; Prager *et al.*, 1998; Bermingham and Martin, 1998)。粒線體DNA屬母系遺傳，基因組成 (arrangement) 十分保守，因其DNA為單套，所以很少有重組 (recombination) 的現象；而由於缺少修補系統 (repair system)，所以突變率較高，演化速率比核DNA快約5-10倍 (Avise, 1994; Futuyma, 1997)，所以常被用來分析族群結構、生物地理、基因交流、親緣關係及族群的分群狀況 (Wenink *et al.*, 1993; Besansky *et al.*, 1997; Aars *et al.*, 1998; Bagley and Gall 1998; Bowen *et al.*, 1998; McGuigan *et al.*, 1998; Refseth *et al.*, 1998; Mannen *et al.*, 1998)。粒線體DNA不同片段演化速率不同，其中的控制區域 (control region)，為粒線體DNA複製的起點，被認為是粒線體DNA中演化速率最快的一部份，所以適於偵測族群間及族群內的變異。

本研究之目的即以粒線體DNA控制區段基因建立台灣固有種台灣石鱚的親緣關係，並估算族群內及族群間的基因流轉，以測驗溪流與溪流間初級性淡水魚類族群遺傳分隔的假說。親緣關係的重建將借分歧分類學原理，利用MEGA (Version 1.01, Kumar *et al.*, 1993) 程式，以Neighbor-Joining的方法，重建一親緣關係樹型圖，重建族群間的演化關係，來探討地理隔離與台灣石鱚的族群遺傳結構及遺傳變異效應。

材料與方法



圖一、台灣石鱚在台灣各主要河川的採集地。

Figure 1. Collection localities of *Acrossocheilus paradoxus* at the major streams in Taiwan.

本研究材料的採集點於台灣東北部及西部11條主要河川，每一河川為一族群 (圖一、表一)，以釣取法及手撈網撈捕得樣本，置於水箱帶回實驗室。將魚的肝臟取出，於液態氮中研磨至粉末狀，採用Blin and Stafford (1976) 發表的方法進行DNA萃取。DNA定量後，利用合成引子 (primers) Loop1及Loop2進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)，複製出粒線體DNA控制區域基因片段。PCR產物以Agarose Gel DNA Extraction Kit (Promega) 純化，純化後之PCR產物進行基因cloning。最後萃取質體DNA，以雙去氧核苷鏈停止法 (dideoxynucleotide chain termination) 進行DNA定序。

DNA分子序列的資料以Clustal V (Higgins *et al.*, 1992) 程式完成比對及排列 (alignment)。先比較彼此間鹼基對替

表一、每個地理區的採樣點、樣本數、序列單型歧異度、核苷酸歧異度及Fu and Li's test。"—"表示無法進行測驗。

Table 1. Localities sampled within each geographical region, the number of individuals sampled, sequenced haplotype diversity, nucleotide diversity, and Fu and Li's neutrality test.

採樣點	族群編號	樣本數	序列單型歧異度	核苷酸歧異度	Fu and Li's test
北部 (N)					
蘭陽溪	N1	2	1	0.0110	—
內雙溪	N2	6	1	0.0087	-0.23888 (p>0.1)
景美溪	N3	4	1	0.0070	-0.73266 (p>0.1)
北勢溪	N4	4	1	0.0110	-0.36402 (p>0.1)
中部 (C)					
頭前溪	C1	3	1	0.0135	—
後龍溪	C2	2	1	0.0099	—
大甲溪	C3	5	1	0.0105	-0.35688 (p>0.1)
濁水溪	C4	5	1	0.0153	-1.60055 (p>0.1)
南部 (S)					
曾文溪	S1	4	1	0.0192	-1.06491 (p>0.1)
荖濃溪	S2	3	1	0.0106	—
東港溪	S3	4	1	0.0078	-1.77459 (p>0.1)
合計		42	1	0.0112	

換 (transition; 兩個嘌呤或嘧啶間的突變, A/G 或 T/C 突變) 及鹼基對顛換 (transversion; 嘌呤與嘧啶間的突變, T.C/A.G 突變) 的發生頻率及比值, 來計算台灣石鱸彼此的序列變化。再以 Kimura 雙參數模式 (two-parameter model) 的方法 (Kimura, 1980) 計算鹼基替代率及遺傳距離, 假設序列中鹼基對替換與鹼基對顛換不同的比例加權來計算遺傳距離。再以 MEGA 程式, 以 Neighbor-Joining 的方法, 重建一親緣關係樹型圖, 以重複一千次 bootstrap 分析計算可信度 (Felsenstein, 1985)。同時亦以 maximum likelihood method 及 minimum spanning network 來分析各族群之親緣關係。族群遺傳分析方面 (population genetic analysis) 以 DnaSP (Version 2.0, Rozas and Rozas, 1997) 計算族群內、族群間及地理區間的 genetic diversity。以 haplotype diversity (H) (Nei and Tajima,

1983) 來顯示族群內的 genetic diversity, 同時以 nucleotide divergence (d_{ij}) (Jukes and Cantor, 1969) 來顯示族群內、族群間及地理區間的 genetic diversity。並預測族群間及地理區間的基因交流 (Nm) 情形, 根據 $F_{ST} = 1 / (1 + 2Nm)$ 的公式, 估計遺傳分化程度, 其中 N 中表示族群中雌個體的有效族群量, m 表示雌個體的遷徙能力 (Slatkin, 1993; Gonzalez *et al.*, 1998), 因此 F_{ST} 值愈高, 顯示遺傳分化程度愈大。也以 AMOVA vs. 1.55 (Excoffier *et al.*, 1992; Excoffier, 1993) 測試族群間及地理區間的遺傳分化程度, Φ_{CT} 為地理區間的分化程度, Φ_{ST} 為族群間的分化程度, Φ_{SC} 為地理區內族群間的分化程度 (Stepien and Faber, 1998)。同時, 測試 Nm 值與地理距離間的相關, 用以測驗 isolation by distance, 並以 SPSS 統計程式中之 F test 測試其可信度。最後以 D^* statistic 測試族群

是否受天擇影響，測驗結果以Fu & Li's test (Fu and Li, 1993) 呈現。

結 果

研究中，定序的DNA控制區片段包括一小部份的Cyt B、完整的tRNA^{Thr}、tRNA^{Pro}、D-loop、tRNA^{Phe}及一部份的12SrRNA。在不同個體其同一段序列的大小不同，範圍在1822~1833個鹼基對之間，彼此間有一些插入 (insertion) 或缺失 (deletion) 的變化，經排列比對後共有1852個鹼基對位子。台灣石鱚的粒線體DNA的控制區是一段以A/T為主的序列，A平均所佔的比例約32.5%，T佔約27.7%，C佔約23.2%，G佔約16.6%，為A > T > C > G。由於A/T是雙鍵鍵結，而G/C是三鍵鍵結，基於能量的原則，證實此段DNA的演化速率較快。其中D-loop含有一段短的AT repeat，這個現象也出現在魚類 (Faber and Stepien, 1997) 及鳥類 (Baker and Marshall, 1997) 中。

在定序的42個個體中，其haplotype diversity相當的高 (=1)，族群間及族群內沒有共用的haplotype。地理區間的nucleotide diversity (平均為0.0169) 較族群間 (平均為0.0112) 為高 (表一、表二)。南、北兩地理區間的nucleotide diversity (0.0174) 較北部與中部 (0.0169) 及南部與中部 (0.0165) 高。利用AMOVA (表二) 所估計的序列分化程度指出，在不同地理區間的分化程度 $\Phi_{CT} = 0.4110$ ，相對的族群間的分化程度 ($\Phi_{ST} = 0.5680$) 為高，而在地理區內族群間的分化程度 ($\Phi_{SC} = 0.2680$) 最低，

且結果均顯著的。

在以DnaSP對基因交流及遺傳分化的測驗 (表三) 指出，同一地理區的族群間其遺傳分化較低 ($F_{ST} = 0.0120 \sim 0.1973$)，而不同地理區的族群間較高 ($F_{ST} = 0.2137 \sim 0.6448$)。北部與中部的 F_{ST} (= 0.3981) 較南部與中部 ($F_{ST} = 0.2203$) 高。同一地理區族群間的 Nm 值為1.21~40.00， $Nm > 1$ ，表示族群的基因交流順暢，不受阻隔，相對的，不同地理區族群間的 Nm 值 (= 0.32~1.84) 較低，若以整個地理區為一群來看，南部與中部 ($Nm = 1.77$) 的基因交流較中部與北部 ($Nm = 0.76$) 及南部與北部 ($Nm = 0.71$) 頻繁。以11個族群間的 Nm 值與地理距離做一線性相關迴歸分後，發現 Nm 值與地理距離呈負相關 (圖二, $r = -0.41$, $p=0.007$)，表示族群間的地理距離愈遠基因交流愈不易，遺傳分化愈顯著，即符合isolation by distance (Slatkin, 1993)。利用MEGA，以Neighbor-Joining (NJ) 方法重建一親緣關係樹型圖 (圖三)，從圖中可將台灣石鱚分為三大群，北 (N)、中 (C)、南 (S)，但中部這個大族群並為未被顯著支持 (bootstrap = 37) (Hillis and Bull, 1993)，而且有兩隻屬中部濁水溪 (C402 & C405) 的個體與北部族群呈現較近的親緣關係。經以MINSPEENT (Excoffier and Smouse, 1994)，根據各haplotype間變異的鹼基位子，構築minimum spanning network (圖四)，結果大致與NJ tree相同，且從minimum spanning network發現，濁水溪 (C4) 的族群應為較古老的基因型。由D* statistic所測驗的Fu & Li's test (表一)，得知，台灣石鱚的mtDNA控制區

表二、族群間及地理區間的核苷酸歧異度 (斜角線上方) 及 Φ_{ST} 的測驗值 (斜角線下方)。

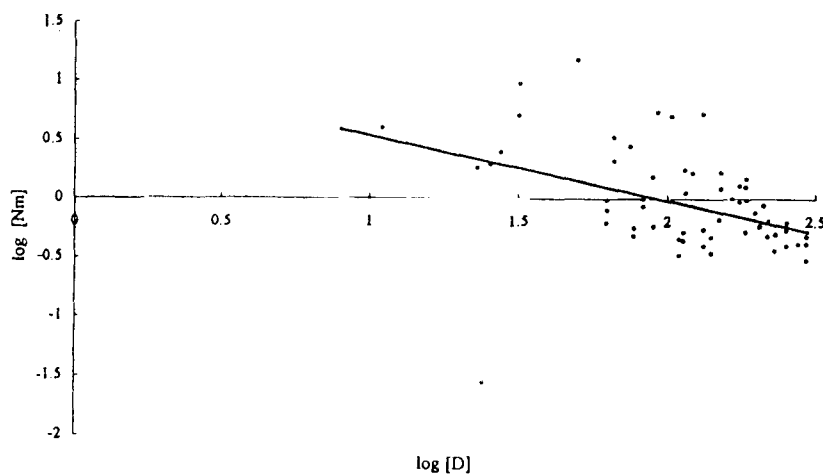
Table 2. Pairwise nucleotide diversity (above the diagonal), and Φ_{ST} estimates (below the diagonal) distributed among geographical regions and populations.

	N1	N2	N3	N4	N	C1	C2	C3	C4	C	S1	S2	S3	S
N1		0.0105	0.0085	0.0110		0.0190	0.0187	0.0155	0.0167		0.0225	0.0170	0.0156	
N2	0.2811		0.0092	0.0108		0.0174	0.0163	0.0180	0.0154		0.0216	0.0162	0.0163	
N3	0.0409	0.1579		0.0096		0.0161	0.0150	0.0158	0.0150		0.0208	0.0152	0.0151	
N4	0.2074	0.1408	0.0529			0.0182	0.0175	0.0168	0.0160		0.0220	0.0163	0.0162	
N										0.0169				0.0174
C1	0.5583	0.5599	0.6113	0.6095			0.0155	0.0150	0.0162		0.0215	0.0160	0.0155	
C2	0.7099	0.6599	0.7029	0.6903		0.4061		0.0175	0.0155		0.0218	0.0160	0.0148	
C3	0.6846	0.6500	0.7015	0.6869		0.5062	0.5886		0.0149		0.0172	0.0122	0.0125	
C4	0.3001	0.3641	0.3885	0.4087		0.1535	0.1106	0.1879			0.0195	0.0154	0.0149	
C					0.5804									0.0165
S1	0.5369	0.5590	0.6141	0.6150		0.4342	0.5119	0.4078	0.2606			0.0169	0.0168	
S2	0.7135	0.6188	0.6966	0.6395		0.4952	0.7212	0.4246	0.1605		0.1915		0.0102	
S3	0.7625	0.6822	0.7457	0.6879		0.6168	0.7714	0.5888	0.3331		0.4436	0.3629		
S					0.6559					0.4776				
Overall	Φ_{CT}	Φ_{ST}	Φ_{SC}	族群內										
	0.4110**	0.5680**	0.2680**	0.2580**										
	(p<0.001)	(p<0.001)	(p<0.001)	(p<0.001)										

表三、族群間與地理區間的 Nm 值 (斜角線上方) 及 F_{ST} 值 (斜角線下方)。

Table 3. Pairwise Nm (above diagonal) and F_{ST} (below diagonal) among geographical regions and populations.

	N1	N2	N3	N4	N	C1	C2	C3	C4	C	S1	S2	S3	S
N1		20.12	12.25	40.00		0.58	0.42	0.52	1.39		0.58	0.49	0.38	
N2	0.1907		2.03	2.88		0.60	0.43	0.50	1.56		0.69	0.63	0.47	
N3	0.0392	0.1973		4.90		0.45	0.32	0.37	1.01		0.48	0.38	0.28	
N4	0.0120	0.1480	0.0926			0.57	0.41	0.56	1.37		0.64	0.53	0.40	
N										0.76				0.71
C1	0.4640	0.4557	0.5280	0.4677			1.05	1.02	6.48		0.98	0.93	0.60	
C2	0.5422	0.5373	0.6093	0.5476		0.3228		0.78	6.20		0.66	0.51	0.36	
C3	0.4882	0.4999	0.5768	0.4929		0.3281	0.3900		3.26		1.56	1.64	0.81	
C4	0.2652	0.2427	0.3306	0.2670		0.0716	0.0746	0.1330			1.66	1.84	1.06	
C					0.3981									1.77
S1	0.4620	0.4202	0.5112	0.4388		0.3377	0.4294	0.2431	0.2371			3.20	1.21	
S2	0.5043	0.4430	0.5714	0.4865		0.3487	0.4954	0.2334	0.2137		0.1353		2.30	
S3	0.5708	0.5160	0.6448	0.5541		0.4558	0.5822	0.3809	0.3140		0.2927	0.1789		
S					0.4143					0.2203				



圖二、11個族群的 Nm 值與地理距離的線性迴歸分析圖 ($r = -0.41, p = 0.007$)。

Figure 2. Scatterplot of logarithmic scales of Nm and geographical distance between 11 populations. Regression statistics: $r = -0.41, p = 0.0007$.

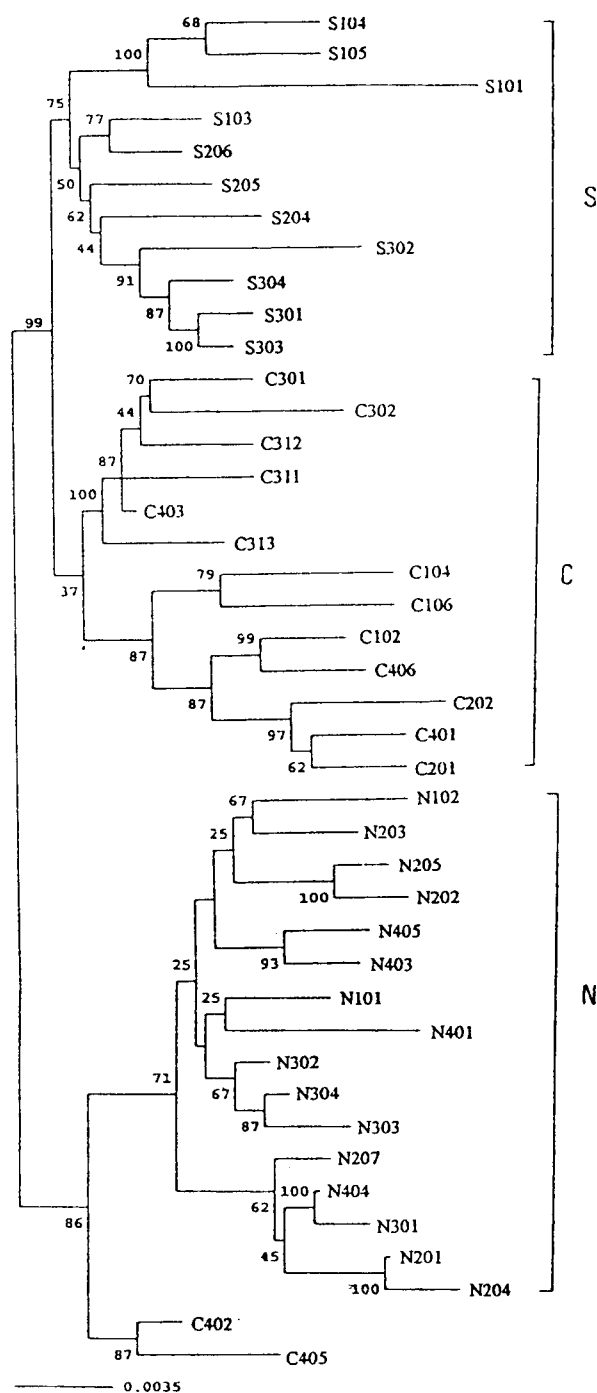
域是不受天擇壓力影響的。

討 論

在許多研究中顯示，粒線體DNA控制區域的長度變異大，而在魚類中通常比較長，如在慈鯛科約1000個鹼基對，太平洋鱒為1003個鹼基對 (Digby *et al.*, 1992)，鮡鱸科約900~1200個鹼基對，而在鯨豚類約400個鹼基對，在海膽只有121個鹼基對，在青蛙有2134個鹼基對。雖然在各種生物間粒線體DNA的長度差異甚大，但都有一共同特徵，在兩端為較易變的片段，而中間的區域較保守 (Baker and Marshall, 1997)。但，在台灣石鱸的粒線體DNA控制區域，卻發現不只於兩端的鹼基對位子易變，中間的區域有會有變化，這是和之前學者的研究結果所不同地方。

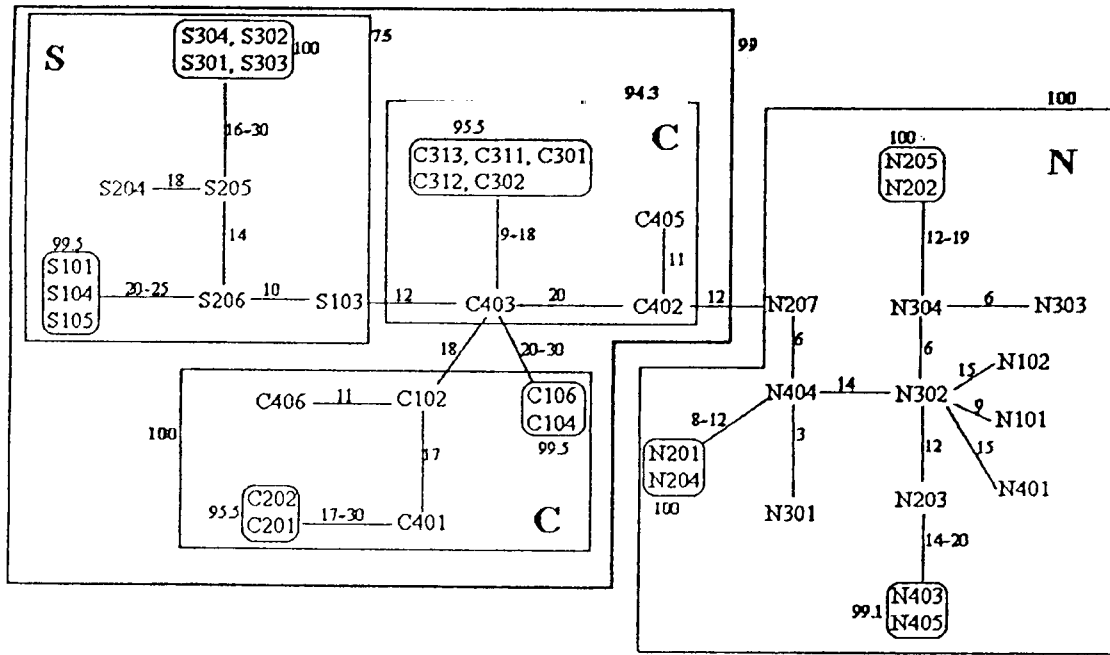
結果中，台灣石鱸的 haplotype diversity 及 nucleotide diversity 高的原因，可能是其野外族群量甚大以及其廣泛分佈在台灣各主要河川。中部及南部地理區的 nucleotide diversity (0.0157及0.0146) 較北部地理區 (0.0099) 為高，可能是因北部族群曾受瓶頸效應 (bottleneck) 的影響 (Frank *et al.*, 1998)，或是其棲地破碎化 (habitat fragment)，使其族群的 diversity 較低。

在實驗結果中，台灣石鱸在台灣島上各水系分布的族群間呈現北、中、南分群分化的現象。從 DnaSP 所計算的 F_{ST} 值及 Nm 值中可推論台灣石鱸的遺傳分化，可能是因不同地理區間族群的遷徙受到地理環境的阻隔，此結果也由 Nm 值與地理距



圖三、以MEGA重建之Neighbor-joining親緣關係圖。Nodes上的數值為bootstrap的測試值。

Figure 3. Neighbor-joining tree of the populations of *Acrossocheilus paradoxus* inferred from sequence variation of the mtDNA control region. Numbers at nodes indicate the bootstrap values.



圖四、Minimum spanning network，連線上的數值為兩DNA序列的有效變異數，框線內的數值為bootstrap的測試值。

Figure 4. Minimum spanning network generated using method of Excoffier & Smouse (1994) for mtDNA control region sequence of populations of *Acrossocheilus paradoxus*. Numbers at nodes indicate number of nucleotide changes between haplotypes. Numbers at frames indicate the bootstrap values of each nested clade.

離做一線性相關迴歸分析 (圖二)、NJ tree (圖三) 及 minimum spanning network (圖四) 所支持。可能的造成原因為：在更新世以前，台灣是大陸的一部份。大陸河川是由台灣中部 (濁水溪) 注入，也就是說大陸水系是於濁水溪與台灣水系相連，之後向台灣南北兩側分出支流，魚類便沿著這樣的水系，分布到台灣島上。當冰河消退，台灣與大陸分離 (20,000年前) (Lin, 1966)，島上又因中央山脈的不斷隆起，使得各河川獨立出海，加上各河川的地理環境互異，以及南北氣候型態不同，各水系間聯絡困難，使得各魚類族群間的基因交流並不順暢，進而造成各水系間的魚類族群有分群分化現象 (Wu *et al.*, 1999)。

Tzeng (1986) 依據淡水魚類的分布情形，將台灣島分為三個動物地理區：(1) 東部地區：包括中央山脈以東之卑南、秀姑巒、花蓮和立霧等河流域。(2) 南部地區：包括中央山脈以西，濁水溪 (不含) 以南之曾文及高屏河流域。(3) 北、中部地區：包括中央山脈以西，濁水溪以北之區域。本區域可再分為二個亞區：(i) 北部地區：包括蘭陽溪、後龍溪等流域。(ii) 中部地區：包括大安溪、大甲溪、大肚溪及濁水溪等流域。而在本實驗中，台灣石鱚的族群遺傳結構也可劃分為：(I) 北部、東北部：包括蘭陽溪、北勢溪、景美溪及內雙溪；(II) 中部：包括頭前溪、後龍溪、大甲溪及濁水溪；(III) 南部：包括曾文溪、

高屏溪及東港溪。且由network的分析所得之結果，濁水溪族群可能為台灣石鱸較為古老的基因型，且經由分子時鐘的原理（Zuckerandl and Pauling, 1965; Wu and Li, 1985）估計出，台灣石鱸族群的分化是在20,000年前（Wu *et al.*, 1999），也符合上述之地質歷史。

致 謝

本實驗研究承農委會、國科會補助經費，僅此申謝。曾美珍同學於標本採集與實驗室工作上的協助，於此一並致謝。並感謝不知名的審查委員們，對本文的指正。

參 考 文 獻

- Aars, J., R. A. Ims, H. P. Liu, M. Mulvey, and M. H. Smith. 1998. Bank voles in linear habitats show restricted gene flow as revealed by mitochondrial DNA (mtDNA). *Mol. Ecol.* 7: 1383-1389.
- Awise, J. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York, NY.
- Bagley, M. J. and A. E. Gall. 1998. Mitochondrial and nuclear DNA sequence variability among population of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol. Ecol.* 7: 945-961.
- Baker, A. J. and H. D. Marshall. 1997. Mitochondrial control region sequences as tools for understanding evolution. In: *Avian Molecular Evolution and Systematics* (Ed Mindell DP). Pp. 51-83. Academic Press, New York.
- Bermingham, E. and A. P. Martin. 1998. Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower Central America. *Mol. Ecol.* 7: 499-519.
- Besanaky, N. J., T. Lehmann, G. H. Fahey, D. Fontenille, E. O. Braack, W. A. Hawley, and F. H. Collins. 1997. Patterns of mitochondrial variation within and between African malaria vectors, *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis*, suggest extensive gene flow. *Genetics* 147: 1817-1828.
- Blin, N. and D. W. Stafford. 1976. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nuclear Acids Res.* 3: 2303-2308.
- Bowen, B. W., A. M. Clark, F. A. Abreu-Grobois, A. Chaves, H. A. Reichar, R. J. Ferl. 1998. Global phylogeography of the ridley sea turtles (*Lepidochelys spp.*) as inferred from mitochondrial DNA sequences. *Genetics* 101: 179-189.
- Digby, T. J., M. W. Gray, and C. B. Lazier. 1992. Rainbow trout mitochondrial DNA: Sequence and structural characteristics of the non-coding control region and flanking tRNA genes. *Gene* 113: 197-204.
- Excoffier, L. 1993. Analysis of Molecular

- Variance. Version 1.55. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.
- Excoffier, L., P. E. Smouse. 1994. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. *Genetics* 136: 343-359.
- Excoffier, L., P. E. Smouse, and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA data. *Genetics* 131: 479-491.
- Faber, J. E. and C. A. Stepien. 1997. The utility of mitochondrial DNA control region sequences for analyzing phylogenetic relationships among populations, species, and genera of the Percidae. In: *Molecular Systematics of Fishes* (eds Kocher TD, Stepien CA), pp. 129-144. Academic Press, San Diego, CA.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fu, Y. X. and W. H. Li. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133: 693-704.
- Franck, P., L. Garnery, Solignac, and J. M. Cornuet. 1998. The origin of west European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution* 52: 1119-1134.
- Futuyma, D. J. 1997. *Evolutionary Biology*. USA. 3rd ed. pp. 627.
- Gonzales, S., J. E. Maldonado, J. Q. Leonard, C. Vila, J. M. barbanti Duarte, M. Merino, N. Brum-Zorrilla, and R. K. Wayne. 1998. Conservation genetics of the endangered Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Mol. Ecol.* 7: 47-56.
- Hamrick, J. L. 1982. Plant population genetics and evolution. *Amer. J. Bot.* 69(10): 1685-1693.
- Hedrick, P. W. 1984. *Population Biology*. Jones and Bartlett Publishers, Inc.
- Higgins, D. G., A. J. Bleasby, R. Fuchs. 1992. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *CABIOS* 8: 189-191.
- Hillis, D. M. and J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method assessing confidence in phylogenetic analysis. *Sys. Biol.* 41: 182-192.
- Jukes, T. H. and C. R. Cantor. 1969. Evolution of protein molecules. In: *Mammalian Protein Metabolism* (ed Munroled HN), pp. 31-132. Academic Press, New York.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Kumar, P. S., K. Tamura, and M. Nei. 1993. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version 1.01. The Pennsylvania State University, PA.

- Lin, C. C. 1966. An outline of Taiwan's Quaternary geohistory with a special discussion of the relation between natural history and cultural history in Taiwan. *The Bulletin of the Department of Archaeology and Anthropology* 23: 7-44.
- Mannen, H., S. Tsuji, R. T. Loftus, and D. G. Bradley. 1998. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese black cattle (*Bos taurus*). *Genetics* 150: 1169-1175.
- Menezes, M. R., N. Taniguchi, and S. Seki. 1990. Degree of intraspecific genetic divergence and variability in three sciaenid species. *Jap. J. Ichthyol.* 37: 39-48.
- McGuigan, K., K. McDonald, K. Parris, and C. Moritz. 1998. Mitochondrial DNA diversity and historical biogeography of a wet forest-restricted frog (*Litoria pearsoniana*) from mid-east Australia. *Mol. Ecol.* 7: 175-186.
- Nei, M. and F. Tajima. 1983. Maximum likelihood estimation of number of nucleotide substitution from restriction site data. *Genetics* 105: 207-217.
- Phillips, R. B. and T. H. Oaskley. 1997. Phylogenetic relationships among the Salmoninae based on nuclear and mitochondrial DNA sequence. In: *Molecular Systematics of Fishes* (Eds Kocher TD, Stepien CA), pp. 145-162. Academic press, New York.
- Prager, E. M., C. Orrego, and R. D. Sage. 1998. Genetic variation and phylogeography of central Asian and other house mice, including a major new mitochondrial lineage in Yemen. *Genetics* 150: 835-861.
- Refseth, U. H., C. L. Nesbo, J. E. Stacy, L. A. Vollestad, E. Fjeld, and K. S. Jakobsen. 1998. Genetic evidence for different migration routes of freshwater fish into Norway revealed by analysis of current perch (*Perca fluviatilis*) population in Scandinavia. *Mol. Ecol.* 7: 1015-1027.
- Rozas, J. and R. Rozas. 1997. DnaSP version 2.0: a novel software package for extensive molecular population genetics analysis. *Comput. Applic. Biosci.* 13: 307-331.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium population. *Evolution* 47: 264-279.
- Stepien, C. A. and J. E. Faber. 1998. Population genetic structure, phylogeography and spawning philopatry in walleye (*Stizostedion vitreum*) from mitochondrial DNA control region sequences. *Mol. Ecol.* 7: 1757-1769.
- Tzeng, C. S. 1986. Distribution of the freshwater fishes of Taiwan. *J. Taiwan Museum* 39: 127-146.
- Wenink, P. W., A. J. Baker, and M. G. J. Taianus. 1993. Hypervariable-control-region sequences reveal global population structuring in a long-distance migrant shorebirds, the Dunlin (*Calidris alpina*). *Proceedings of National Academic Sciences, USA*, 90:

- 94-98.
- Wu, C. I. and W. H. Li. 1985. Evidence for higher rates of nucleotide substitution in rodents than in man. *Proceedings of National Academic Science, USA*, 82: 1741-1745.
- Wu, W. L., J. P. Wang, M. J. Tseng, and T. Y. Chiang. 1999. Cloning and genetic variability of HindIII repetitive DNA in *Acrossocheilus paradoxus* (Cyprinidae). *Genome* 42: 780-788.
- Zuckermandl, E. and L. Pauling. 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins. In: *Evolving Genes and Proteins* (Eds Bryson V, Vogel HJ), pp. 97-166. Academic Press, New York.
- 戴永提 1995. 台灣石鱚 (*Acrossocheilus paradoxus*) 之生物學研究。國立海洋博物館籌備處。
- (接受日期：2000.2.27)

The Population Genetic Structure of *Acrossocheilus paradoxus* (Cyprinidae)

Kui-Ching Hsu^{1*}, Jiang-Ping Wang¹, Sin-Che Lee², Tzen-Yuh Chiang¹

¹Department of Biology, National Cheng Kung University
Tainan, Taiwan

²Institute of Zoology, Academia Sinica, Nankang
Taipei, Taiwan

ABSTRACT

Mitochondrial DNA control region sequences were used to assess the genetic structure of *Acrossocheilus paradoxus* populations. An hierarchical examination of populations in 11 major streams from three geographical regions using an analysis of molecular variance (AMOVA) indicated high genetic differentiation both among populations ($\Phi_{ST} = 0.5680$) and among regions ($\Phi_{CT} = 0.4110$). Limited migration largely contributed to the genetic differentiation. High nucleotide diversity (0.0112) and haplotype diversity (0.97) were detected among populations. The degree of gene flow was correlated with geographical distance between populations, a result consistent with limited dispersal being the primary determinant of genetic differentiation between populations. A Neighbor-Joining tree recovered by MEGA supported the pattern of isolation by distance and revealed a closer relationship between populations of central and south regions. A minimum spanning network based on nucleotide substitutions reflected migration routes from populations of central region to the north and south regions respectively.

Keywords: *Acrossocheilus paradoxus*, Cyprinidae, Genetic differentiation, Isolation by distance, migration, Minimum spanning network, mtDNA

* 通信作者 (corresponding author)：許桂菁 (Kui-Ching Hsu)；FAX: 886-2-2742583；E-mail: 15888106@ccmail.ncku.edu.tw