



辽宁爪鲉种群的空间遗传结构

李振鑫[#], 贺晨[#], 刘恩志, 周瑜, 杨宝田, 董丙君^{*}

(沈阳师范大学生命科学学院, 沈阳, 110034)

稿件运行过程

收稿日期: 2023-04-27

修回日期: 2023-05-25



关键词: 辽宁爪鲉;
微卫星;
遗传多样性;
空间遗传结构

Key words: *Onychodactylus zhaermii*;
Microsatellite;
Genetic diversity;
Spatial genetic structure

中图分类号: Q953

文献标识码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-01-0110-08

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240114

摘要

利用 13 个微卫星位点对 4 个地理种群的辽宁爪鲉 (*Onychodactylus zhaermii*) 进行遗传多样性及空间遗传结构研究, 结果表明: 230 个样本中共检测到 69 个等位基因, 各种群的差异等位基因数 (N_a) 为 1.538~4.462, 遗传多样性较低。除本溪县新开村种群 (Pop IV) 外, 岫岩县华山村 (Pop I) 种群、辽阳县鸡爪村 (Pop II) 种群、辽阳县韩家村 (Pop III) 种群间无显著遗传分化, 遗传变异主要来源于种群内部。在以水系划分种群时, 表现出一定的遗传差异。在采样位点直线距离小于 500 m 时, 辽宁爪鲉个体间具有较高的遗传相似性。4 个种群之间存在 3 个屏障, 结合地理因素, Pop IV 与其他 3 个种群之间形成了显著的地理阻隔, 建议将各地理种群确立为一个管理单元, 加强栖息地保护, 减少生境片段化对辽宁爪鲉野生资源的影响。

Spatial Genetic Structure of *Onychodactylus zhaermii* Population

LI Zhenxin[#], HE Chen[#], LIU Enzhi,
ZHOU Yu, YANG Baotian, DONG Bingjun^{*}

(College of Life Sciences, Shenyang Normal University,
Shenyang, 110034, China)

Abstract: The genetic diversity and spatial genetic structure of *Onychodactylus zhaermii* from four geographic populations were studied using 13 microsatellite loci. In total of 69 alleles were detected in 230 samples, and the number of differential alleles (N_a) among populations ranged from 1.538 to 4.462, with low genetic diversity. Except for the

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目 (2021-MS-241)

第一作者简介: 李振鑫 (1996—), 男, 硕士研究生; 主要从事分子生态学研究。E-mail: 2298954466@qq.com

[#] 共同第一作者: 李振鑫; 贺晨

^{*} 通信作者: 董丙君, E-mail: dongbingjun@synu.edu.cn

Benxi Xinkai Village population (Pop IV), there was no significant genetic differentiation among the Xiuyan Huashan Village population (Pop I), Liaoyang Jizhua Village population (Pop II) and Liaoyang Hanjia Village population (Pop III), and genetic variation mainly originated from within the populations. There was a linear correlation between genetic distance and geographic distance, but it was not significant. Some genetic differences were observed when populations were divided by water system. Within 500 m distance, there was a high genetic similarity among individuals of *O. zhaermii*. Three barriers existed between the four populations. A significant geographic barrier effect was formed between the Xinkai Village population (Pop IV) and the other three populations (Pop I-III). It is recommended that each geographic population should be established as a management unit and the habitat protection should be strengthened to reduce the impact of habitat fragmentation on wild resources of *O. zhaermii*.

种群的空间遗传结构是指种群遗传变异的空间分布模式^[1], 距离隔离^[2]和环境隔离^[3]是其形成的主要原因。隔离导致种群近交概率提升, 出现近交衰退, 进而导致种群遗传多样性降低及种群对环境适应能力下降。当一个种群内个体间的遗传变异在空间中呈非随机分布时, 则认为该种群内出现了显著的空间遗传结构^[4]。对栖息地间的生态因子进行量化, 探究量化后生态因子影响下的空间遗传变异和基因流^[5], 是目前空间遗传的一个主要研究内容。研究空间遗传结构的统计方法有空间自相关分析法、Mantel's 检验法和聚类分析法等。在实际研究中, 可结合多种空间遗传结构的统计方法, 利用高灵敏度的分子遗传标记和准确的量化数据, 对栖息地的特征值与种群遗传多样性和种群分布格局形成过程之间的相互关系进行研究。

辽宁爪鲵 (*Onychodactylus zhaermii*) 隶属于两栖纲 (Amphibia), 有尾目 (Caudata), 小鲵科 (Hynobiidae), 爪鲵属 (*Onychodactylus*)^[6], 是我国的特有种, 目前仅在辽宁省有分布。由于栖息环境较为单一及人类活动的干扰, 辽宁爪鲵的数量正在日益减少, 在《中国生物多样性红色名录》中被列为极危 (CR) 物种^[7], 2021 年被列为国家一级重点保护野生动物^[8]。辽宁爪鲵具有独特的生物学特性和对环境变化的高度敏感性, 可作为发育生物学、谱系地理学和群体遗传学等方面的研究材料^[9], 具有重要的生态和科学研究价值。本研究以种群生态学理论为指导, 探讨辽宁爪鲵种群空间分布格局形成与种群分化, 为辽宁爪鲵种群遗传学提供基础数据, 进而为辽宁爪鲵保护策略制定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

按照自然地理水系将辽宁爪鲵分布地划分为 4 个区域 (图 1), 对应辽宁爪鲵的 4 个地理种群。在 2010—2018 年共采集 230 个样本, 其中岫岩县华山村 (Pop I) 90 个、辽阳县鸡爪村 (Pop II) 97 个、辽阳县韩家村 (Pop III) 40 个及本溪县新开村 (Pop IV) 3 个。将采集到的每个个体进行体尺测量, 并记录坐标位点、生境特征等信息, 取其尾尖组织 (<1 mm²) 固定在 95% 的乙醇中, 随后立即用抑菌剂处理伤口并将其放生。

1.2 方法

1.2.1 分子生物学实验

使用试剂盒 (TIANGEN DP304) 提取基因组 DNA, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测质量。从已公开发表的爪鲵属物种的 39 个微卫星位点中筛选出 13 个可适用于辽宁爪鲵空间遗传学研究的位点。利用 FAM 荧光染料将所选位点的 F 端合成荧光引物后进行 PCR 扩增, PCR 引物见表 1。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送往生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行纯化和等位基因分型。

1.2.2 数据分析

使用 MICRO-CHECKER^[10] 对是否存在无效等位基因 (null alleles) 或计分错误 (scoring errors) 进行检测。使用 GENEPOP 4.4^[11] 对每个位点进行 Hardy-Weinberg 平衡 (HWE) 检验及各个位点之间是否存在连锁不平衡 (LD) 进行分析, 并利用 Bonferroni 方法^[12] 校正结果。使用 GenAlEx 6.5^[13] 对遗传多样性

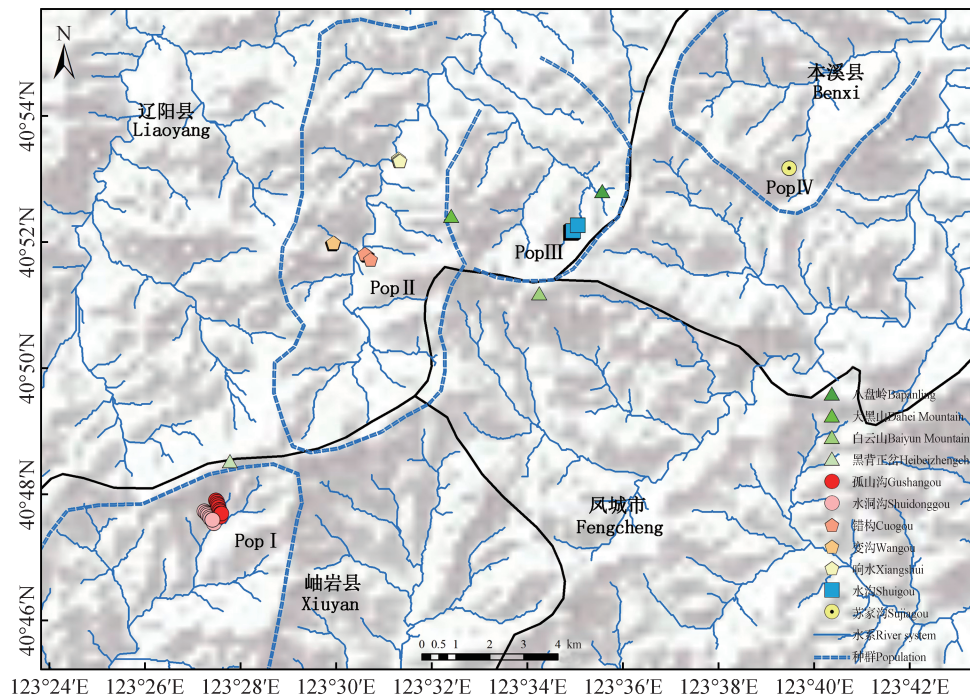


图1 辽宁爪鲰样本采集地点

Fig. 1 Sample collection site of *Onychodactylus zhaormii*

表1 微卫星标记的引物信息

Tab. 1 Primer information of microsatellite labeling

位点 Locus	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	重复单元 Repeat motif	产物长度/bp Product size	退火温度/°C Annealing temperature
OJ112	F: TATGTATTGCCTCCGCCAAG R: GTAACCCCTTAAACCTTGCCC	(AAT) ₁₀	127~176	59
OJ109	F: AGCGGTTCACTCAGCCTATC R: AGCATTACGGCCCAACATTG	(AAT) ₁₁	247~280	58
OJ102	F: CCGGGTCTTAAGCGCCATAC R: TTTCGTGCAAAATCCGTCCAG	(AGAT) ₂₇	240~268	60
OJ93	F: ACCTCCTCCTGAAACCTATCC R: CCTCCGAGACTTACCTACGC	(ACTC) ₆	290~336	59
OJ87	F: TAAACGGGTAGGGGTCTTG R: TGAGCCATGGTGAAGAGGTG	(ACTC) ₆	196~296	60
OJ79	F: GGTAAC T GACTGCGCTATAC R: TGGAACCGTCTGCTGTATG	(AATC) ₇	201~252	59
OJ78	F: GTCAGACAGGCAAACACAGG R: TGGGCTAGAGGGAGATGTAG	(AATAC) ₆	246~271	58
1F8	F: AAAGGCAGCTGCACAATCTT R: CATTGCTTGCTTGCCTTAC	(TC) ₁₈	177~181	53
6B10	F: TCCATGTGTCCAGGTTGCTA R: ATCTTCACTGCCACAATCC	(AGC) ₂ TGC(AGC) ₆	191~199	52
6F10	F: CACAAGCTCACAGTTCGTCAA R: TGCTTCCACTGTTCCACTG	(AGC) ₁₀	185~211	52
6H8	F: CAGCAGCCAGCGATGAAT R: TGTAATCCAGGAAACAGCA	(AGC) ₁₁	160~162	53
1E7	F: TGTGCTGCTTCTGGATTCAA R: AGCTGTTTTTCAGCTCGGTCT	(GA) ₁₅	144~160	52
6C8	F: ATCTCGAAACCAAGCAGCAA R: ACCGCCAATGATCACAAC	(AGC) ₈	143~155	52

参数进行分析,并进行种群遗传结构的分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)。使用CERVUS 3.0^[14]对等位基因多态信息含量(polymorphism information content, PIC)进行计算。使用GENETIX^[15]对种群遗传分化指数(F_{ST})进行评估。采用Mantel test、非模型依赖的空间主成分分析(spatial principal components analysis, sPCA)^[16]、遗传多样性空间分析(spatial pattern analysis of genetic diversity, SPAGeDi)^[17]和空间自相关分析等进行空间遗传结构分析,并应用Barrier v2.2进行种群间地理屏障分析。

2 结果

2.1 遗传多样性

13个微卫星位点在230个样本中共检测到69个等位基因,其中无扩增产物样本(缺失数据)占3.8%。各位点等位基因数介于4~8,显示了较低的

遗传多样性。除OJ109、OJ93、OJ79、1F8、6H8和1E7位点在Pop I中及OJ109和6C8位点在Pop II中偏离Hardy-Weinberg平衡外,其余位点在各群体的检测中均未偏离Hardy-Weinberg平衡。除OJ109&OJ78、OJ112&6C8、OJ78&1F8和OJ109&6C8位点发现连锁不平衡外,其余均为连锁平衡,且这4对连锁不平衡位点在各种群间也非恒定出现。

在各种群的遗传多样性分析中(表2),差异等位基因数(N_a)介于1.538~4.462,平均值为2.788,有效等位基因数(N_e)的平均值为1.592,这意味着遗传多样性不够丰富。香农信息指数(I)和杂合度(H_o 、 H_e 和 uH_e)是衡量遗传多样性的重要参数,4个种群中Pop I的香农信息指数($I=0.622$)和杂合度($H_o=0.520$, $H_e=0.348$, $uH_e=0.350$)的值均最大,这表明与其他种群相比,该种群遗传多样性最高。另外,总体及各种群的 H_e 都低于 H_o ,说明可能存在杂合子过剩,固定指数(F_{IS})均为负值也证明这一点。

表2 4个种群在13个微卫星位点上的种群遗传多样性参数

Tab. 2 Population genetic diversity parameters of four populations at 13 microsatellite loci

种群 Population	N_a	N_e	I	H_o	H_e	uH_e	F_{IS}
Pop I	4.462±0.386	1.708±0.155	0.622±0.093	0.520±0.127	0.348±0.062	0.350±0.062	-0.137±0.187
Pop II	3.154±0.296	1.613±0.166	0.493±0.106	0.457±0.124	0.297±0.069	0.299±0.069	-0.181±0.158
Pop III	2.000±0.277	1.570±0.156	0.418±0.107	0.498±0.138	0.279±0.072	0.282±0.073	-0.521±0.193
Pop IV	1.538±0.144	1.476±0.135	0.350±0.095	0.462±0.134	0.248±0.068	0.297±0.082	-0.814±0.091
总体 Total	2.788±0.212	1.592±0.075	0.471±0.051	0.484±0.063	0.293±0.033	0.307±0.035	-0.346±0.088

注: N_a 为等位基因数; N_e 为有效等位基因数; I 为香农信息指数; H_o 为观测杂合度; H_e 为期望杂合度; uH_e 为无偏期望杂合度; F_{IS} 为固定指数。

Note: N_a is the number of alleles; N_e is the number of effective alleles; I is the Shannon information index; H_o is the observed heterozygosity; H_e is the expected heterozygosity; uH_e is the unbiased expected heterozygosity; F_{IS} is the fixed index.

2.2 种群遗传结构与遗传分化

Nei遗传距离和一致度的分析结果表明,4个种群间的遗传差异很小(0.004~0.088),但相对而言,Pop IV与其他3个种群(0.088, 0.087, 0.079)之间遗传差异较大。 F_{ST} 的分析结果与遗传距离结果类似,除Pop IV与其他3个种群之间表现为中等程度的遗传分歧外,其余各种群之间 F_{ST} (0.006 0~0.017 4)都非常小(表3)。

AMOVA结果表明,来自群体内部的遗传变异占99.09%,而来自群体之间的遗传变异仅占0.91%(表4),说明辽宁爪鲉种群遗传变异主要来源于种群内部。

表3 辽宁爪鲉种群 F_{ST} 值

Tab. 3 F_{ST} values of *Onychodactylus zhaermii* population

种群 Population	Pop I	Pop II	Pop III	Pop IV
Pop I		0*	2.00	2.30
Pop II	0.017 4		0.10	0.70
Pop III	0.006 0	0.009 9		0.20
Pop IV	0.115 3	0.125 7	0.168 5	

注: F_{ST} 估计值为0.017 2; 95%置信区间为0.003 9~0.032 2; 下三角为遗传分化指数,上三角为显著性检验概率。

Note: The F_{ST} is 0.0172; 95% CI is 0.0039~0.0322; The lower triangle is genetic differentiation index, and the upper triangle is significance test probability.

表4 辽宁爪鲵种群分子变异分析

Tab. 4 Molecular variation analysis of *Onychodactylus zhaormii* population

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of square	方差组分 Variance components	变异占比(%) Variation percentage
种群间 Among populations	3	9.585	0.015 5	0.91
种群内 Within populations	456	766.391	1.680 7	99.09
总计 Total	459	775.976	1.696 2	100.00

2.3 空间遗传结构

采用非模型依赖的空间主成分分析(sPCA),结果表明正选择明显大于负选择,且第1~3分量显著大于其他分量(图2)。在此仅选择第1分量进行主成分空间分析。

对第1分量进行主成分空间分析能够依地理空间分成4个聚类簇(图3),显示位于不同地理坐标的辽宁爪鲵种群空间分布格局,同时也反映了依水系划分的种群存在一定的遗传差异。

Mantel's 分析表明,地理距离与遗传距离之间呈现线性关系(图略),但在较大地理尺度下相关系数非常小(0.026 5)。

以SPAGeDi进行个体或种群遗传多样性随空间距离变化而变化的空间自相关分析,依据采样位点的直线距离以m为单位设定10,50,100,500,1000,3000,6000,⋯,22000m不等间距的横坐标,以相关系数为纵坐标作图。由图4可以看出,在500m距离内表现显著的正相关,在>500~3000m也存在正自相关,但不显著($p>0.05$)。随着地理种群间直线

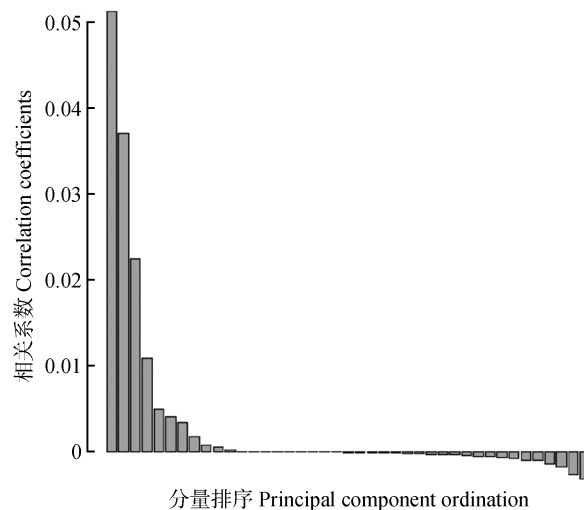
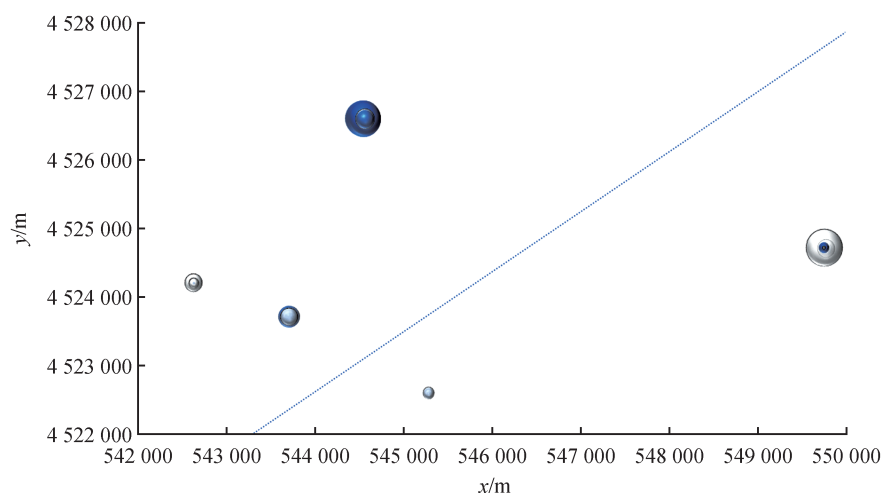


图2 非模型依赖空间主成分(sPCA)相关分量分析

Fig. 2 Non-model dependent spatial principal components analysis (sPCA) for correlation component

距离的增大,自相关系数呈现围绕横坐标升—降—升(正相关—负相关—正相关)的波动模式,浮动的范围基本处于95%置信区间内。



坐标系为通用横墨卡托投影坐标系(UTM)。

This figure shows the universal transverse Mercator projection coordinate system (UTM).

图3 sPCA主成分第1分量空间分布

Fig. 3 Spatial distribution of principal component 1 of sPCA

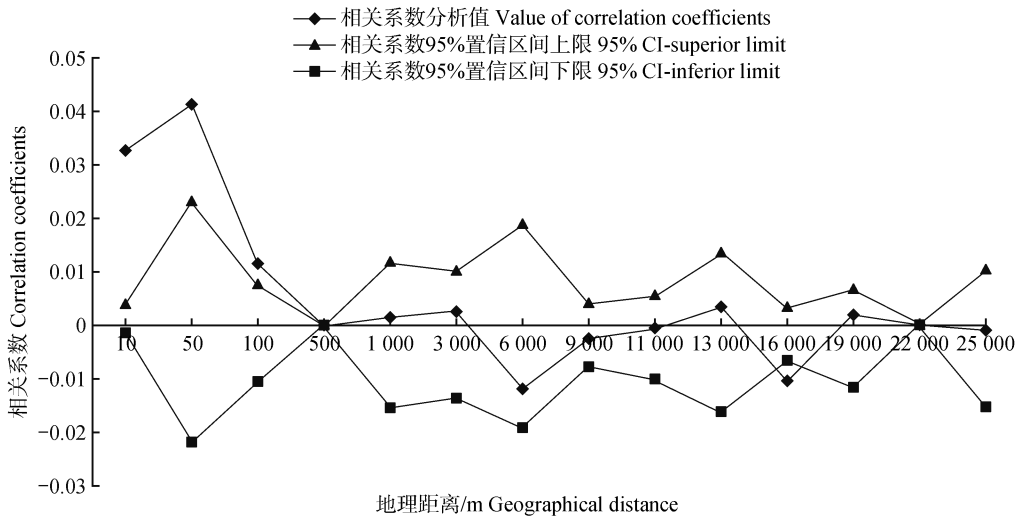


图4 辽宁爪鲵种群空间自相关分析

Fig. 4 Spatial auto-correlation analysis of *Onychodactylus zhaermii* populations

基于遗传距离和地理距离数据进行屏障分析(图5)。第1个遗传距离的障碍(A,a-a)存在于Pop IV与

Pop III之间;第2个屏障(B,b-b)在Pop II与Pop I、Pop III之间;第3个屏障(C,c-c)在Pop I与Pop III之间。

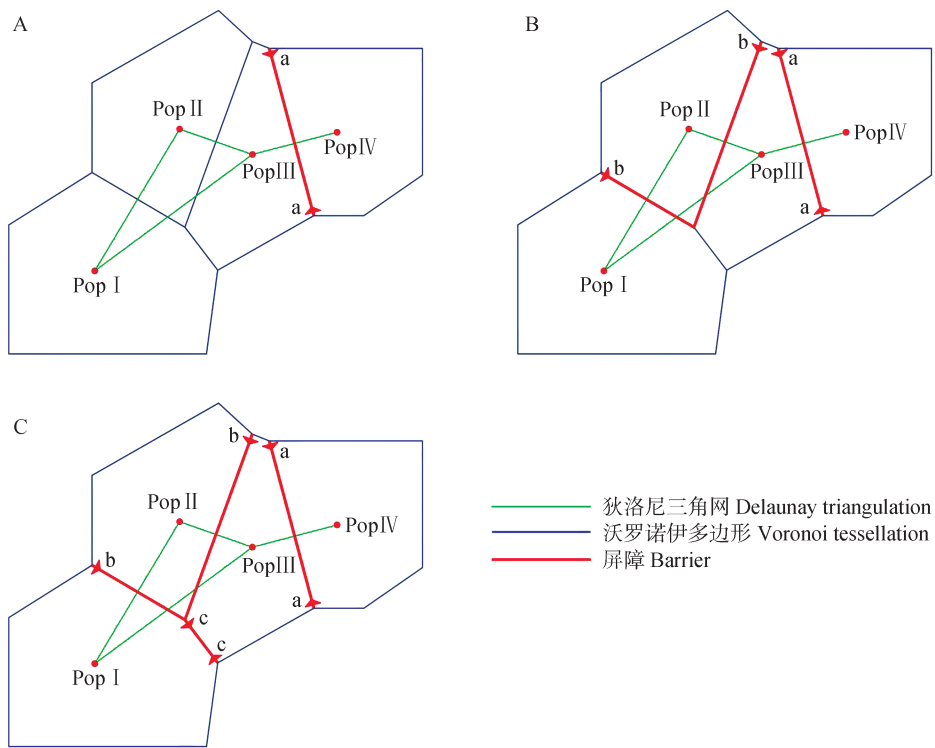


图5 基于遗传距离和地理距离的Barrier分析

Fig. 5 Barrier analysis based on genetic distance and geographical distance

3 讨论

3.1 等位基因多样性

本研究利用13个微卫星位点在230个辽宁爪鲵

样本中检测到69个等位基因,平均每个位点等位基因数为5.3,平均有效等位基因数为1.592,二者都略低于栾东岳^[18]利用6个微卫星位点在73个爪鲵(辽宁爪鲵和吉林爪鲵)样本中的检测结果(6.67和

2.792)。李鸥等^[19]的研究结果表明,样本量与平均等位基因数呈显著正相关。杂合度可以衡量遗传多样性水平及种群内个体的遗传均匀度,本研究结果显示各种群的观测杂合度($H_o=0.457\sim 0.520$,平均 $H_o=0.484$)均大于期望杂合度($H_e=0.248\sim 0.348$,平均 $H_e=0.293$)和无偏期望杂合度($uH_e=0.282\sim 0.350$,平均 $uH_e=0.307$),出现杂合子过剩,说明辽宁爪鲵的4个种群都受到了不同程度的外界因素影响。与栾东岳^[18]对辽宁爪鲵的研究结果($H_o=0.833\sim 0.947$,平均 $H_o=0.890$; $H_e=0.505\sim 0.587$,平均 $H_e=0.541$; $uH_e=0.544\sim 0.590$,平均 $uH_e=0.567$)相比,本研究的杂合度都偏低。两次研究都表明,岫岩地区种群的观测杂合度和期望杂合度均最高,具有相对其他种群较高的遗传多样性。另外,与栾东岳^[18]对吉林爪鲵的研究结果($H_o=0.796\sim 1.000$,平均 $H_o=0.913$; $H_e=0.651\sim 0.689$,平均 $H_e=0.669$; $uH_e=0.680\sim 0.731$,平均 $uH_e=0.700$)相比,辽宁爪鲵的杂合度均明显低于吉林爪鲵的杂合度,说明辽宁爪鲵的遗传多样低于吉林爪鲵。这也与栾东岳^[18]观点一致,同时也验证了前文基于平均等位基因数得出的结论。

3.2 种群遗传结构与遗传分化

种群遗传距离和遗传分化指数能够反映种群间遗传分歧程度和亲缘关系远近,在一定程度上能够反映种群进化潜力和方向。本研究4个辽宁爪鲵种群间的Nei遗传距离都非常小(0.004~0.088),与栾东岳^[18]对辽宁岫岩三家子和辽宁辽阳大黑山两个种群的研究结果(0.091)相近。各种群遗传分化指数(F_{ST})介于0.006 0~0.168 5,除Pop IV外,其余3个种群之间的遗传分化程度很小($F_{ST}=0.006 0\sim 0.017 4$)。其中Pop I与Pop III和栾东岳^[18]研究的辽宁岫岩三家子和辽宁辽阳大黑山种群采样点相近,但本研究结果($F_{ST}=0.006 0$)与其基于微卫星标记的研究结果($F_{ST}=0.052 27$)有所差异,反而与栾东岳基于线粒体标记序列研究的结果($F_{ST}=0.012 19$)得出了相同的结论,即两个种群之间遗传分化程度较小。

AMOVA结果显示,来自群体内部的遗传变异占99.09%,来自群体之间的遗传变异仅占0.91%,说明辽宁爪鲵种群遗传变异主要来源于种群内部,这与Zhou等^[20]的研究结果一致。总体而言,各种群之间的遗传分化程度较小,不存在显著的遗传结构,应将各地理种群作为一个管理单元进行保护。

3.3 空间遗传结构

Mantel's检验结果显示,遗传距离与地理距离之间呈线性关系,但并不显著。这可能与进化速率或栖息地类型有关,辽宁爪鲵普遍栖息于多碎石的山区溪流里,可能存在供其迁徙的地下暗河,所以计算的地理距离可能与实际的有所差异。

多数水生生物的演化与溪流的等级结构有关,小鲵科物种亦是如此,极易形成以水系结构为特点的种群遗传结构^[21]。本研究空间主成分分析也反映出了依水系划分的种群存在一定的遗传差异。

空间自相关分析通过统计一个空间位置上的遗传变异与邻近位置上变异的远近,来判断种群遗传变异是否存在空间自相关性^[22]。本研究结果显示在地理距离500 m范围内表现显著的正相关,可以认为在此距离等级内辽宁爪鲵个体间具有较高的相似性,具有一定程度的非随机分布的空间遗传结构。在>500~3 000 m也存在正自相关,但不显著($p>0.05$),这表明在该尺度内辽宁爪鲵个体间具有较高的遗传相似性。随着地理种群间直线距离的增大,自相关系数呈现围绕横坐标升—降—升(正相关—负相关—正相关)的波动模式,浮动的范围基本处于95%置信区间内部,这可能与基因流受阻有关^[23]。

Barrier分析显示,4个地理种群间共存在3个屏障。以研究地区自然地理格局分析,Pop IV与其他3个种群的距离最远,其间有八盘岭作为屏障,同时其水系相分隔,形成显著的地理阻隔。

3.4 保护建议

遗传多样性的大小可以反映物种或种群对环境变化的适应能力,本研究结果显示辽宁爪鲵遗传多样性较低,且遗传变异主要发生在种群内。依自然水系划分的种群之间尽管存在距离和分隔屏障,但并未形成遗传分化和确定的遗传结构。这些分析结果都与辽宁爪鲵分布区极其狭窄、种群微小相关。本课题组2010—2022年的野外调查结果显示,辽宁爪鲵数量正在逐年下降,建议将爪鲵种群确立为一个管理单元,加强对其已知栖息地的监管与保护。另外,还要加强对其种群资源的调查及保护遗传学、空间遗传学等方面的研究,为潜在种群的预测与保护提供指导。

参考文献:

- [1] EPPERSON B K. Recent advances in correlation studies of spatial

- patterns of genetic variation[M]. HECHT M K, MACINTYRE R J, CLEGG M T. *Evolutionary biology*, Vol. 27. New York: Plenum Press, 1993: 95–155.
- [2] SEXTON J P, HANGARTNER S B, HOFFMANN A A. Genetic isolation by environment or distance: Which pattern of gene flow is most common? [J]. *Evolution*, 2014, 68(1): 1–15.
- [3] LEE C R, MITCHELL-OLDS T. Quantifying effects of environmental and geographical factors on patterns of genetic differentiation[J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(22): 4631–4642.
- [4] CHUNG M Y, NASON J D, CHUNG M G. Spatial genetic structure in populations of the terrestrial orchid *Cephalanthera longibracteata* (Orchidaceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(1): 52–57.
- [5] STORFER A, MURPHY M A, EVANS J S, *et al.* Putting the ‘landscape’ in landscape genetics[J]. *Heredity*, 2007, 98(3): 128–142.
- [6] 费梁, 叶昌媛, 江建平. 中国两栖动物及其分布彩色图鉴[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2012: 64.
- FEI L, YE C Y, JIANG J P. Colored atlas of Chinese amphibians and their distributions[M]. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science & Technology, 2012: 64.
- [7] 江建平, 谢锋, 李成, 等. 中国生物多样性红色名录: 脊椎动物卷: 第4卷: 两栖动物: 上册[M]. 北京: 科学出版社, 2021: 146.
- JIANG J P, XIE F, LI C, *et al.* China’s red list of biodiversity: vertebrates: Vol. IV: amphibians: I [M]. Beijing: Science Press, 2021: 146.
- [8] 国家林业和草原局, 农业农村部. 国家重点保护野生动物名录(2021年2月1日修订) [J]. *野生动物学报*, 2021, 42(2): 605–640.
- National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of national key protected wild animals (revised on February 1, 2021) [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(2): 605–640.
- [9] 李建立. 爪鲵生存环境调查[J]. *大自然*, 2004(5): 27–29.
- LI J L. The living environment investigation of the clawed salamander [J]. *China Nature*, 2004(5): 27–29.
- [10] VAN OOSTERHOUT C, HUTCHINSON W F, WILLS D P M, *et al.* Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4(3): 535–538.
- [11] ROUSSET F. GENEPOP’007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8(1): 103–106.
- [12] RICE W R. Analyzing tables of statistical tests [J]. *Evolution*, 1989, 43(1): 223–225.
- [13] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537–2539.
- [14] KALINOWSKI S T, TAPER M L, MARSHALL T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(5): 1099–1106.
- [15] BELKHIR K, BORSA P, CHIKHI L, *et al.* 1996–2004 GENETIX 4.05, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations [Z/OL]. Montpellier: Laboratoire Génome, Populations, Interactions (2004–05–05)[2023–04–27]. <https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/>.
- [16] JOMBART T. *ade4*: a R package for the multivariate analysis of genetic markers [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(11): 1403–1405.
- [17] HARDY O J, VEKEMANS X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2002, 2(4): 618–620.
- [18] 栾东岳. 中国分布两种爪鲵: 吉林爪鲵 *Onychodactylus zhangyapingi* 和辽宁爪鲵 *O. zhaormii* 的遗传多样性研究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2018.
- LUAN D Y. Genetic diversity of the clawed salamanders (*Onychodactylus zhangyapingi* and *O. zhaormii*) in northeast China [D]. Shenyang: Shenyang Normal University, 2018.
- [19] 李鸥, 赵莹莹, 郭娜, 等. 草鱼种群SSR分析中样本量及标记数量对遗传多度的影响[J]. *动物学研究*, 2009, 30(2): 121–130.
- LI O, ZHAO Y Y, GUO N, *et al.* Effects of sample size and loci number on genetic diversity in wild population of grass carp revealed by SSR [J]. *Zoological Research*, 2009, 30(2): 121–130.
- [20] ZHOU Y, YU B Y, ZHAO J C, *et al.* Mitogenomic conservation genetics of the critically endangered Liaoning clawed salamander [J]. *Asian Herpetological Research*, 2021, 12(4): 337–344.
- [21] MULLEN L B, WOODS H A, SCHWARTZ M K, *et al.* Scale-dependent genetic structure of the Idaho giant salamander (*Dicamptodon aterrimus*) in stream networks [J]. *Molecular Ecology*, 2010, 19(5): 898–909.
- [22] 李昂, 罗毅波, 葛颂. 采用空间自相关分析研究两种兰科植物的群体遗传结构[J]. *生物多样性*, 2002, 10(3): 249–257.
- LI A, LUO Y B, GE S. Spatial autocorrelation study of population genetic structure of two orchid species [J]. *Biodiversity Science*, 2002, 10(3): 249–257.
- [23] EPPERSON B K, HUANG Z, LI T Q. Measures of spatial structure in samples of genotypes for multiallelic loci [J]. *Genetics Research*, 1999, 73(3): 251–261.