

基于*Cytb*基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析

李大命, 唐晟凯, 刘燕山, 谷先坤, 刘小维, 殷稼雯, 张彤晴, 潘建林

Genetic diversity and population structure of *Protosalanx hyalocranius* in Jiangsu Province based on *Cytb* gene sequences

LI Daming, TANG Shengkai, LIU Yanshan, GU Xiankun, LIU Xiaowei, YIN Jiawen, ZHANG Tongqing, PAN Jianlin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20190702720>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[江苏省4个太湖新银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析](#)

Genetic Diversity and Population Structure of Four *Neosalanx taihuensis* Populations in Jiangsu Province

渔业科学进展. 2020, 41(5): 52 <https://doi.org/10.19663/j.issn2095-9869.20190611001>

[高邮湖大银鱼、太湖新银鱼*Cytb*和*CO I*基因序列多态性分析](#)

Genetic Polymorphism Analysis of *Cytb* and *CO I* Gene Sequences of Icefish *Protosalanx hyalocranius* and *Neosalanx taihuensis* in Lake Gaoyou

水产科学. 2020, 39(2): 258 <https://doi.org/10.16378/j.cnki.1003-1111.2020.02.014>

[洪泽湖大银鱼\(*Protosalanx hyalocranius*\)*Cytb*和*CO I*基因序列多态性分析](#)

Genetic Polymorphism Analysis of *Cytb* and *CO I* Gene Sequences of *Protosalanx hyalocranius* in the Hongze Lake

渔业科学进展. 2017, 38(6): 25 <https://doi.org/10.11758/ykxjz.20160808001>

[基于*Cytb*和D-Loop基因对中国少鳞鳊种群遗传多样性的分析](#)

Analysis of Genetic Diversity of Little Scale Mandarinfish *Coreoperca whiteheadi* Population Based on *Cytb* and D-Loop Genes

水产科学. 2020, 39(6): 894 <https://doi.org/10.16378/j.cnki.1003-1111.2020.06.014>

[基于*Cytb*和D-Loop的日本囊对虾遗传多样性分析](#)

Analysis of Genetic Diversity of Kuruma Prawn *Marsupenaeus japonicus* Based on Mitochondrial *Cytb* and D-Loop Sequences

水产科学. 2020, 39(4): 524 <https://doi.org/10.16378/j.cnki.1003-1111.2020.04.008>

[基于mtDNA*Cytb*基因序列的我国不同水系野生鲂种群遗传多样性与种群历史分析](#)

Genetic diversity and population history among geographic populations of *Silurus asotus* in different water systems in China based on mtDNA *Cytb* gene sequences

水产学报. 2017, 41(10): 1489 <https://doi.org/10.11964/jfc.20161010572>

文章编号: 1674-5566(2021)03-0416-10

DOI:10.12024/j.sou.20190702720

基于 *Cytb* 基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析

李大命, 唐晟凯, 刘燕山, 谷先坤, 刘小维, 殷稼雯, 张彤晴, 潘建林

(江苏省淡水水产研究所 江苏省内陆水域渔业资源重点实验室, 江苏 南京 210017)

摘要: 为了解江苏省湖泊大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)种群遗传多样性及遗传结构,基于 PCR 扩增与测序技术对太湖、高邮湖、洪泽湖和骆马湖等 4 个群体共 160 尾大银鱼的线粒体 *Cytb* 基因序列进行分析。结果显示,160 条 *Cytb* 基因序列共发现 25 个变异位点,其中单一信息位点 11 个,简约信息位点 14 个。4 个群体中共检测到 23 个单倍型,单倍型和核苷酸多样性分别为 0.878 ± 0.014 和 0.0021 ± 0.0001 ,呈现出高单倍型多样性和低核苷酸多样性模式。4 个群体中,高邮湖群体的单倍型多样性最高(0.871 ± 0.031),太湖群体的核苷酸多样性最高(0.0029 ± 0.0001)。洪泽湖群体的单倍型和核苷酸多样性均最低,分别为 0.755 ± 0.455 和 0.0013 ± 0.0001 。分子方差分析结果显示,大银鱼群体间的遗传变异占 15.13%,群体内的遗传变异占 84.87%,遗传变异主要发生在群体内。遗传分化指数 F_{st} 值统计表明:高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体之间无显著性差异,但均与太湖群体存在显著性差异,应将太湖群体与其他 3 个群体作为不同的进化单元进行管理和保护。核苷酸不配对分布和中性检验结果均显示大银鱼经历了近期的群体扩张事件,推测扩张时间在 10.3 万~4.1 万年前,属于更新世晚期。虽然江苏省 4 个湖泊大银鱼种群的遗传多样性较高,但其资源量已经呈现出明显衰退迹象,应加强相应的渔业管理和保护措施,合理开发和利用大银鱼资源,做到可持续发展。

关键词: 大银鱼; 细胞色素 *b* 基因; 遗传多样性; 种群结构

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)胡瓜鱼目(Osmeriformes)银鱼科(Salangidae)大银鱼亚科(Protosalanginae)大银鱼属(*Protosalanx* Regan)^[1],主要分布于东海、黄海、渤海海域和长江、淮河中下游河道及湖泊水库,是中国银鱼科中分布广泛、产量较高的鱼类,且具有较高的营养价值和经济价值。大银鱼生命周期为 1 年,个体小、生长快、世代离散,种群易波动,对环境变化较为敏感,是典型的 *r*-对策者^[2]。多年来,受环境污染、过度捕捞、水利工程以及生境破碎化等多种不利因素的影响,银鱼分布范围缩小,种群数量急剧下降,天然资源已趋于枯竭^[2]。目前,关于大银鱼的研究主要集中在营养^[3]、生物学特性^[4]、种群生态^[5-6]和移植增殖^[7]等方面,而在分子生物学方面的研究较少^[8-10]。

物种遗传多样性是生物多样性的组成

部分,遗传多样性不仅是形成生物多样性的基础,也是物种进化潜能的保证^[11]。了解物种遗传背景对于物种科学保护和合理利用至关重要。分子标记作为检测物种遗传多样性和遗传结构的一种有效手段,已在鱼类和其他生物中广泛应用。鱼类线粒 DNA 因其具有严格遵守母系遗传、几乎不发生重组、进化速度快等特征,是探讨种间和种内遗传分化程度及系统演化研究的良好分子标记^[12]。细胞色素 *b* (cytochrome *b*, *Cytb*) 基因是线粒体 DNA 中的蛋白质编码基因之一,对其结构和功能了解得最为清楚,且该基因具有进化速度较快、易扩增等优点,被广泛用于鱼类遗传多样性及遗传结构研究^[13-15]。

江苏省位于长江和淮河下游,湖泊众多,是我国银鱼资源的重要分布区域。长期以来,大银鱼都是江苏省湖泊渔业重要的捕捞对象,也是出口创汇的重要水产品之一。目前,大银鱼在湖泊

收稿日期: 2019-07-04 修回日期: 2020-03-05

基金项目: 江苏省水生生物资源重大专项(ZYHB16-3)

作者简介: 李大命(1981—),男,博士,副研究员,研究方向为渔业资源与环境。E-mail: ldm8212@126.com

通信作者: 张彤晴, E-mail: zhtq3@126.com

中已无法形成渔汛,资源趋于枯竭,开展大银鱼种质资源保护刻不容缓^[16]。以线粒体 *Cytb* 基因序列作为分子标记,分析江苏省 4 个湖泊(太湖、高邮湖、洪泽湖和骆马湖)大银鱼种群的遗传多样性及遗传结构,以期为科学保护和合理利用大银鱼种质资源提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

2015—2018 年,共采集了江苏省太湖(TL)、高邮湖(GYL)、洪泽湖(HZL)和骆马湖(LML)等 4 个湖泊野生大银鱼群体样本,每个群体均采集 40 尾样本,共 160 尾样本。剪取样本肌肉组织用无水乙醇固定,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱低温保存。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增与测序

基因组 DNA 采用广谱性基因组 DNA 抽提试剂盒(TaKaRa, 宝日生物技术有限公司)提取,使用核酸蛋白定量仪(Eppendorf, BioPhotometer Plus, 德国)检测所提 DNA 浓度与质量,并用 1% 琼脂糖电泳检测其完整性。DNA 样品稀释成 40 ng/mL 的终浓度,保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。

Cytb 扩增和测序引物为 L14321 (5'-CCAGTGAAGTGGAAAACCCACCG-3')、H15634 (5'-CTTAGCTTTGGGAGTTAAGGGT-3')^[17]。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 扩增体系为 50 μL , 包括 10 \times PCR buffer (含 Mg^{2+}) 5 μL 、dNTPs (10 mmol/L) 4 μL 、*Taq* 酶 (5 U/ μL) 0.5 μL 、上游及下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 各 2.0 μL 、模板 DNA (40 ng/ μL) 2.0 μL , 补充无菌水至 50 μL 。PCR 扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 50 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s, 反应 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。为保证所测序列的准确性,所有样品均采用双向测序,测序引物与扩增引物相同。

1.3 序列整理与数据处理

采用 BioEdit 7.0 软件和 Clustal X 1.81 软件对测序结果进行编辑和同源比对。群体序列遗传多样性参数,包括多态性位点数、单倍型数、单倍型多样性 (H_d) 和核苷酸多样性 (π) 等由 DnaSP 5.0 软件获得。

利用 MEGA 7.0 软件统计序列碱基组成,计算群体间的 Kimura 双参数模型遗传距离。以太湖新银鱼(*Neosalanx taihuensis*, GenBank 登录号: MH348204.1) 作为外群,采用邻接法 (neighbor-joining, NJ) 构建系统发育进化树,系统发育树分支的置信度用自展法重复检测 1 000 次。利用 Network 5.0 软件构建单倍型的简约中介 (reduced-median, MJ) 网络图,用以检测单倍型之间的进化关系。

采用 Arlequin 3.11 中的分子变异分析 (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-statistics, F_{st}), 并用排列测验法 (permutation test) 检验 F_{st} 的显著性 (重复次数为 1 000)。联合使用 Tajima's D 检验、Fu's F_s 检验和核苷酸不配对分布 (mismatch distribution) 推断群体是否发生扩张的历史。对于不能拒绝种群扩张模型而且错配分布呈现光滑单峰的种群,用公式 $\tau = 2ut$ 估算种群扩张时间^[18], τ 为 Tau, 是种群扩张参数,由 Arlequin 软件计算得到, t 为每个世代种群的扩张时间, u 为每个世代每条序列的变异速率; 另根据公式 $u = 2\mu k$ 计算 u , μ 为每个碱基的变异速率,参照大银鱼近缘物种太湖新银鱼的碱基突变速率,采用 1% per Myr (1×10^8)^[19], k 表示序列长度 (bp)。扩张时间 $T = t \times$ 世代时间,由于大银鱼生活周期为 1 年,这里取世代时间为 1。

2 结果

2.1 序列变异及遗传多样性

经 PCR 扩增、测序与分析,获得 160 尾大银鱼 *Cytb* 基因全序列长度为 1 141 bp。160 条序列中共检测到 25 个变异位点,变异比例为 2.19%。其中,单一信息位点有 11 个,简约信息位点为 14 个。变异均为转换或颠换,转换与颠换的比为 37.5,没有插入或缺失位点。4 个种群所有个体序列中的碱基平均含量分别为 T (29.3%)、C (32.3%)、A (21.7%) 和 G (16.7%), A + T 含量 (51.0%) 略高于 G + C 含量 (49.0%), 其中碱基 G 的含量最低,显示出明显的反 G 偏倚特点。

160 尾大银鱼个体共检测到 25 个变异位点,定义了 23 个单倍型,单倍型和核苷酸多样性分别为 0.878 ± 0.014 和 0.0021 ± 0.0001 (表 1)。高邮湖群体的单倍型多样性最高,为 $0.871 \pm$

0.031;太湖群体的核苷酸多样性最高,为 0.0029 ± 0.0001 ;洪泽湖群体的单倍型多样性和核苷酸多样性均最低,分别为 0.755 ± 0.455 和

0.0013 ± 0.0001 。4个群体的遗传多样性均呈现出高单倍型多样性和低核苷酸多样性特点。

表1 大银鱼群体的遗传多样性参数

Tab.1 Genetic diversity parameters of four *Protosalanx hyalocranius* populations

群体 Population	多态位点数 Numbers of Variable sites	单倍型数 Numbers of Haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity
太湖 TL	13	12	0.869 ± 0.034	0.0029 ± 0.0001
高邮湖 GYL	14	12	0.871 ± 0.031	0.0017 ± 0.0002
洪泽湖 HZL	6	7	0.755 ± 0.455	0.0013 ± 0.0001
骆马湖 LML	9	8	0.813 ± 0.038	0.0015 ± 0.0002
整体 All	25	23	0.878 ± 0.014	0.0021 ± 0.0001

2.2 大银鱼群体单倍型组成及系统发育

4个群体共定义23个单倍型(H1-H23,表2),其中H1、H13和H21为优势单倍型,分别占个体数的12.5%、25.6%和15.0%。单倍型H1、H3、H5、H8、H10、H13、H17、H19和H21被2至4个群体共享,其中:H1是分布最广泛的单倍型,在4个群体中都有分布;单倍型H5、H13、H17、H19和H21则为高邮湖、洪泽湖和骆马湖3个群

体共享。其他14个单倍型为各群体特有单倍型,其中太湖群体拥有8个特有单倍型,高邮湖群体拥有5个特有单倍型,洪泽湖群体拥有1个特有单倍型。太湖和高邮湖群体单倍型比例均为30.0%,表现了较为丰富的单倍型数;洪泽湖和骆马湖群体单倍型比例分别为17.5%和20.0%,表现了较为贫瘠的单倍型数。

表2 大银鱼群体单倍型组成及分布

Tab.2 The composition and distribution of haplotypes in *Protosalanx hyalocranius*

单倍型 Haplotype	群体 Population				数量 Number
	太湖 TL	高邮湖 GYL	洪泽湖 HZL	骆马湖 LML	
H1	4	6	3	7	20
H2	1				1
H3	12			3	15
H4	1				1
H5		2	3	6	11
H6	3				3
H7	1				1
H8	4	2			6
H9	5				5
H10	5			1	6
H11	2				2
H12	1				1
H13		11	16	14	41
H14			1		1
H15		1			1
H16	1				1
H17		4	5	1	10
H18		1			1
H19		2	1	2	5
H20		2			2
H21		7	11	6	24
H22		1			1
H23		1			1

以太湖新银鱼 (*N. taihuensis*) 为外类群,采用邻接法构建单倍型分子系统树(图 1)。结果表明,不同群体的单倍型混杂分布,聚集为一支,没有表现出与其地理位置分布相对应的遗传结构关系。利用 Network 5.0 软件构建大银鱼单倍型进化网络图(图 2),结果显示,最小网络图整体呈星状,单倍型 H1 位于网络图中心,其他单倍型均由其进化而来,说明 H1 是祖先单倍型。大多数单倍型之间只有 1 步突变,各单倍型相互散布在不同的地理种群中,未形成明显的系统地理格局,进一步支持了系统发育树的分析。

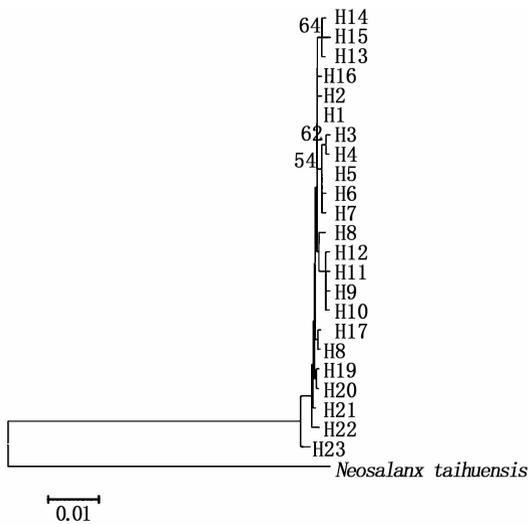


图 1 大银鱼单倍型 NJ 系统进化树
Fig.1 Phylogenetic tree of haplotypes by NJ analysis based on *Cytb* sequences

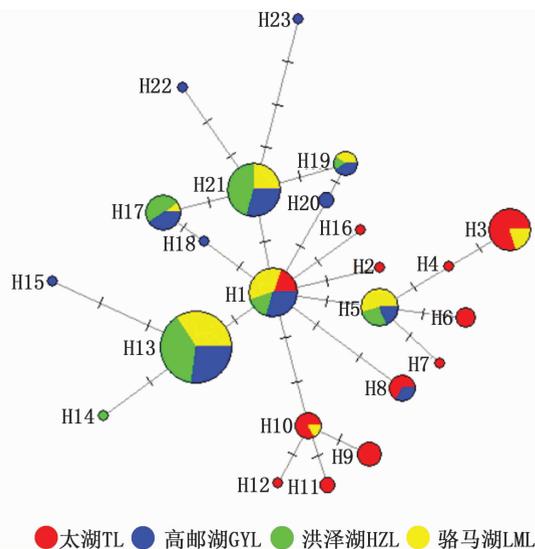


图 2 大银鱼单倍型最小网络进化关系图
Fig.2 Haplotypes minimum spanning network for *Protosalanx hyalocranius*

2.3 群体遗传结构

利用 MEGA 7.0 软件计算群体内和群体间的遗传距离(表 3)。结果表明:太湖群体内的遗传距离为 0.003,高邮湖和骆马湖群体内的遗传距离均为 0.002,洪泽湖群体内的遗传距离为 0.001。太湖群体与其他群体间的遗传距离为 0.003,高邮湖与洪泽湖群体间的遗传距离为 0.001,与骆马湖群体间的遗传距离为 0.002,洪泽湖与骆马湖群体间的遗传距离为 0.001。

AMOVA 结果(表 4)显示,群体间的分子变异占比为 15.13%,群体内的分子变异占比为 84.87%,群体间的遗传分化指数 F_{st} 为 0.153 5,达到极显著性水平($P = 0.000 0$)。两两群体间的 F_{st} 值及其统计结果(表 3)显示,高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间没有显著性差异,但均与太湖群体有显著性差异。太湖与洪泽湖群体间的 F_{st} 值最大,高邮湖与洪泽湖群体间的 F_{st} 值最小。SAMOVA 结果(表 4)显示,将太湖群体单独分为一组,其他 3 个群体分为一组时,组间遗传分化指数 F_{ct} 为 0.251 1,达到极显著水平($P = 0.000 0$),表明两组群体间存在显著遗传差异。

2.4 群体历史动态

中性检测结果显示,4 个大银鱼群体的 $F_u'F_s$ 值均为负值,且高邮湖群体的统计检验达到显著水平。高邮湖和骆马湖群体的 Tajima's D 值为负值,太湖群体和洪泽湖群体的 Tajima's D 值为正值,但统计检验均未达到显著水平。将 4 个大银鱼群体作为一个整体进行中性检验分析,结果表明 $F_u'F_s$ 和 Tajima's D 值均为负值,且 $F_u'F_s$ 值统计检验达到极显著差异(表 5)。歧点分布图(图 3)分析表明,4 个大银鱼群体和大银鱼整体的歧点分布图呈现单峰型,且 SSD 和 Raggedness 指数 2 个参数的统计检验均不显著($P > 0.05$),说明未显著偏离群体扩张模型。综合中性检验和歧点分布分析结果可以得出,大银鱼群体进化偏离中性检验,经历了种群扩张。根据大银鱼群体的扩张参数值,估算出大银鱼种群扩张事件发生在第四纪更新世晚期(距今 10.3 万 ~ 4.1 万年前)。

表3 大银鱼群体内遗传距离(对角线)及群体间遗传距离(对角线下)和遗传分化指数(对角线线上)
Tab.3 Genetic distances within population (diagonal), and pairwise genetic distance (below diagonal) and fixation index (above diagonal) among populations of *Protosalanx hyalocranius*

群体 Population	太湖 TL	高邮湖 GYL	洪泽湖 HZL	骆马湖 LML
太湖 TL	0.003 0	0.227 6 *	0.273 6 *	0.165 6 *
高邮湖 GYL	0.003 0	0.002 0	-0.005 0	0.023 4
洪泽湖 HZL	0.003 0	0.001 0	0.001 0	0.031 7
骆马湖 LML	0.003 0	0.002 0	0.001 0	0.002 0

注: * 表示 $P < 0.001$ 。
 Notes: * indicated $P < 0.001$.

表4 大银鱼群体内和群体间的 AMOVA 和 SAMOVA 分析结果
Tab.4 Results of AMOVA and SAMOVA analysis among and within *Protosalanx hyalocranius* populations

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/%	遗传分化指数 Fixation index
AMOVA					
群体间 Among populations	3	25.775	0.188 4 Va	15.13	$F_{st} = 0.153 5$
群体内 Within populations	156	164.800	1.056 4 Vb	84.87	
SAMOVA					
组间 Among populations	1	22.892	0.357 5 Va	25.11	$F_{ct} = 0.251 1$
组内群体间 Populations within groups	2	2.883	0.009 6 Vb	0.68	$F_{sc} = 0.009 0$
群体内 Within populations	156	164.800	1.056 4 Vc	74.21	$F_{st} = 0.257 9$

注: Va. 组间变异组分; Vb. 群体间变异组分; Vc. 群体内变异组分。
 Notes: Va. Variance components among groups; Vb. Variance components among populations; Vc. Variance components within population.

表5 大银鱼群体历史动态分析结果
Tab.5 Results of neutral tests and mismatch distribution tests

群体 Population	中性检测 Neutral test				歧点分布检验 Mismatch distribution test				
	F_u/F_s	P	Tajima's D	P	SSD	P	Raggedness index	P	Tau
太湖 TL	-1.815 8	0.222 0	0.254 04	0.643 0	0.014 5	0.130 0	0.052 8	0.220 0	4.718 7
高邮湖 GYL	-4.509 2	0.012 0	-1.273 8	0.098 0	0.004 1	0.310 0	0.052 7	0.340 0	2.064 4
洪泽湖 HZL	-0.991 6	0.314 0	0.110 9	0.611 0	0.023 0	0.100 0	0.084 9	0.230 0	1.910 1
骆马湖 LML	-1.311 8	0.263 0	-0.554 9	0.301 0	0.005 7	0.270 0	0.051 5	0.400 0	1.875 0
整体 All	-9.458 7	0.008 0	-1.296 3	0.074 0	0.003 0	0.400 0	0.025 3	0.730 0	2.789 0

3 讨论

3.1 大银鱼群体遗传多样性分析

物种的遗传多样性是生物长期进化的产物,遗传多样性的高低与物种的生存能力和进化潜力有密切的相关性。对物种遗传多样性水平、形成机制及分布格局的研究,不仅可以了解物种的进化历史,也可以为分析物种的进化潜力和预测物种发展动向提供重要依据。单倍型多样性(H_d)和核苷酸多样性(π)则是衡量遗传多样性的2个重要指标^[20]。根据 GRANT 和 BOWEN 提出鱼类遗传多样性标准,单倍型多样性以 0.5 为临界值,核苷酸多样性以 0.005 为临界值,二者的值越大,群体的遗传多样性程度越高^[21]。江苏省 4 个湖泊大银鱼群体的单倍型多样性为 0.755 ±

0.455 ~ 0.871 ± 0.031, 核苷酸多样性为 0.001 3 ± 0.000 1 ~ 0.002 9 ± 0.000 1, 表明 4 个大银鱼群体的单倍型多样性较高,而核苷酸多样性较低。整体来看,大银鱼群体的单倍型多样性为 0.878 ± 0.014, 核苷酸多样性为 0.002 1 ± 0.000 1, 也显示出较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性特点。这种高单倍型多样性低核苷酸多样性的模式可能是群体受到瓶颈效应后种群迅速扩张所导致的结果,由于核苷酸多样性所需时间比积累单倍型所需的时间漫长,这说明 4 个湖泊大银鱼群体是从一个有效种群数量较小的种群,经快速扩张而来的,但是仍然没有达到积累核苷酸变异所需要的时间。这一推测将在后续的历史动态分析中进一步证实。

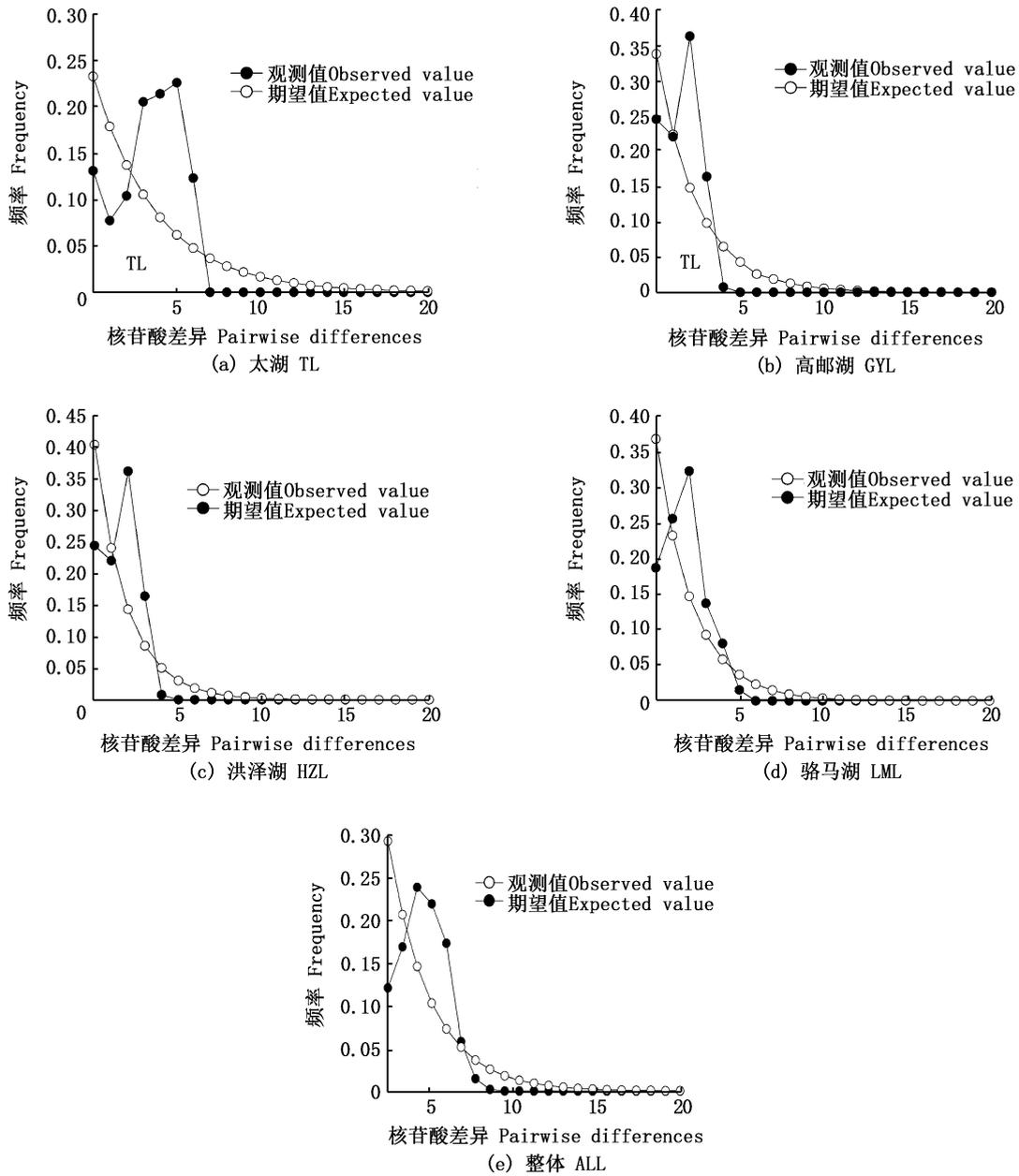


图3 大银鱼种群的歧点分布图

Fig. 3 Mismatch-distribution analysis of *Protosalanx hyalocranius* population

4 个大银鱼群体的遗传多样性高低存在差异,其中太湖群体和高邮湖群体的遗传多样性相对较高,而洪泽湖群体和骆马湖群体的遗传多样性相对较低,这可能与湖泊生态环境、捕捞强度及渔业管理模式等多种因素有关。与其他大银鱼地理群体遗传多样性相比较,如三峡库区群体 ($H_d: 0.804 \pm 0.032$, $\pi: 0.0015 \pm 0.0001$)^[22]、黑龙江群体 ($H_d: 0.827 \pm 0.038$, $\pi: 0.0020 \pm 0.0003$)、松花江群体 ($H_d: 0.876 \pm 0.038$, $\pi:$

0.0019 ± 0.0002)、兴凯湖群体 ($H_d: 0.667 \pm 0.041$, $\pi: 0.0019 \pm 0.0003$) 和莲花湖群体 ($H_d: 0.823 \pm 0.026$, $\pi: 0.0014 \pm 0.0001$)^[23], 可以得出江苏省湖泊大银鱼群体的遗传多样性较高。与其他种类的银鱼,如太湖新银鱼 ($H_d: 0.713 \pm 0.022$, $\pi: 0.0022 \pm 0.0001$, $H_d: 0.671 \pm 0.061$, $\pi: 0.0023 \pm 0.0002$)^[19, 22]、乔什新银鱼 ($H_d: 0.590 \pm 0.047$, $\pi: 0.0009 \pm 0.0001$)^[24]、短吻间银鱼 ($H_d: 0.385 \pm 0.149$,

$\pi: 0.0007 \pm 0.0003$)^[22]、白肌银鱼(*Leucosoma chinensis*, $H_d: 0.888$, $\pi: 0.0990$)^[25]和居氏银鱼(*Salanx curvieri*, $H_d: 0.967$, $\pi: 0.0060$)^[26]相比较,可以得出大银鱼的遗传多样性高于太湖新银鱼、乔什新银鱼及短吻间银鱼的遗传多样性,而低于白肌银鱼和居氏银鱼的遗传多样性。因此,大银鱼种群的遗传多样性还有待进一步提高。

3.2 大银鱼群体遗传结构分析

研究群体遗传结构不仅可以用于评价物种群体的变异水平和不同地理群体之间的关系,还可以确定群体中的进化显著单元和管理单元,以及制定资源的保护和管理策略^[27]。遗传分化指数 F_{st} 是用于评价亚群间遗传分化程度的重要指标:若 F_{st} 小于 0.05,表明群体间遗传分化较小; F_{st} 为 0.05~0.15,表明群体间存在中等分化; F_{st} 大于 0.15,表明群体间高度分化^[28]。总体来看,4个大银鱼群体间的 F_{st} 为 0.1535,且具有显著性差异($P < 0.01$,表4),表明大银鱼群体间存在高度遗传分化。其中:太湖群体与高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间的 F_{st} 均大于 0.15,且具有显著性遗传差异($P < 0.01$);而高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间的 F_{st} 均小于 0.05,且差异不显著($P > 0.05$,表3)。这说明太湖群体与高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间具有显著遗传分化,而高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间没有显著遗传差异,这可能与群体分布流域和地理隔离等因素有关。一般来说,鱼类在不同水系之间存在明显的地理障碍,通常在流域之间存在明显的种群分化,同一流域内的种群通常分化不明显或没有遗传分化^[29-30]。从分布流域来看,太湖属于长江水系,位于长江南面,而高邮湖、洪泽湖和骆马湖则属于淮河水系,位于长江北面。同时,由于大量水利工程存在,阻碍了水系间鱼类自由交流的通道。从单倍型组成来看,太湖群体拥有8个特有单倍型,与高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体之间仅有1个共享单倍型,而高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体之间拥有6个共享单倍型,说明太湖群体与高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间的基因交流较弱,而高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间存在广泛的基因交流。已有研究者^[31]基于线粒体 *CO I* 序列研究了太湖和洪泽湖大银鱼群体间的遗传差异,结果显示两群体间遗传分化系数为 0.2018,表明两群体间存在高度遗传分化,与本研究结果具有一致

性。

3.3 大银鱼群体历史动态研究

利用中性检验和核苷酸歧点分布可推测种群经过的历史。若 Tajima's D 和 Fu's F_s 的检测呈负值且歧点分布分析图谱呈泊松状分布的单峰,说明种群可能发生了瓶颈效应或者种群扩张。4个大银鱼群体 Fu's F_s 和 Tajima's D 值呈负值(表5),暗示其偏离中性进化,且歧点分布图均呈明显的单峰形(图3),均说明4个大银鱼群体在历史上出现过扩张。另外核酸不配对分布检验中,SSD和Raggedness指数两个参数的统计检验均不显著,也说明未显著偏离群体扩张模型。经推算,4个群体扩张时间为10.3万~4.1万年前,属于第四纪更新世晚期大理亚冰期,早于发生约1.8万年前的最后一次大冰期^[32]。因此可以推测,随着最后一次冰期结束,气候变暖,海平面上升,大银鱼可能由其避难所向外扩散发生重新殖化事件,形成高单倍型多样性和低核苷酸多样性的遗传多样性模式。

3.4 大银鱼种质资源保护与管理

本研究对江苏省4个湖泊大银鱼种群遗传多样性及遗传结构进行了分析,整体来看,大银鱼种群遗传多样性较高,群体间存在显著的遗传分化。由于太湖群体与高邮湖、洪泽湖和骆马湖群体间存在高度的遗传分化,建议将他们作为两个不同的管理单元分别进行保护,尤其应对太湖群体采取重点保护。另外,作为一年生“ r -对策”生物,大银鱼种群对生境变化较为敏感,因此要把栖息地保护、水污染控制置于优先考虑的地位。同时,要严格控制捕捞强度,禁止在产卵期捕鱼,并对捕捞工具和网目大小作出规定,保证大银鱼的生殖繁衍和种质资源恢复,进而提高其遗传多样性。

参考文献:

- [1] 解玉浩,解涵. 银鱼科鱼类的分类分布和种群生态[J]. 水产学杂志,1997,10(2):11-19.
XIE Y H, XIE H. Classification, distribution, and population ecology of Salangidae fishes[J]. Chinese Journal of Fisheries, 1997, 10(2): 11-19.
- [2] 王忠锁,傅萃长,雷光春. 中国银鱼的多样性及其保护对策[J]. 生物多样性,2002,10(4):416-424.
WANG Z S, FU C Z, LEI G C. Biodiversity of Chinese icefishes (Salangidae) and their conserving strategies[J]. Biodiversity Science, 2002, 10(4): 416-424.

- [3] 周彦锋,徐东坡,单俊峰,等. 3个地理群体大银鱼营养成分的分析与评价[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(5): 734-740.
ZHOU Y F, XU D P, SHAN J F, et al. An analysis and evaluation of nutritional components of *Protosalanx hyalocranius* Abbott from three wild populations[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(5): 734-740.
- [4] 林长虹. 大银鱼生物学特性及移植技术[J]. 水利渔业, 1993(5): 15-17.
LIN C H. Biological characteristics of *Protosalanx hyalocranius* and its transplantation techniques[J]. Reservoir Fisheries, 1993(5): 15-17.
- [5] 薛以平,吴建广. 水库大银鱼种群生态演变规律及增殖利用初探[J]. 淡水渔业, 2004, 34(3): 57-59.
XUE Y P, WU J G. Preliminary study on the population ecological evolution and proliferation and utilization of *Protosalanx hyalocranius* in reservoir [J]. Freshwater Fisheries, 2004, 34(3): 57-59.
- [6] 赵丽爽,程飞,张磊,等. 洪泽湖大银鱼和太湖新银鱼的生长、死亡参数及资源利用状况[J]. 水生生物学报, 2018, 42(2): 240-249.
ZHAO L S, CHENG F, ZHANG L, et al. Growth, mortality and evaluation of resource utilization for two salangidae, *Protosalanx hyalocranius* and *Neosalanx taihuensis* in Hongze Lake[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2018, 42(2): 240-249.
- [7] 戈志强,沈其璋,喻叔英. 大银鱼移植、增殖放流技术的探讨[J]. 淡水渔业, 1999, 29(1): 11-13.
GE Z Q, SHEN Q Z, YU S Y. Techniques for transplantation enhancement and releasing of large icefish (*Protosalanx hyalocranius* Abbott) [J]. Freshwater Fisheries, 1999, 29(1): 11-13.
- [8] 夏德全,曹莹,吴婷婷,等. 太湖中大银鱼、太湖新银鱼和寡齿新银鱼群体的遗传结构[J]. 水产学报, 1999, 23(3): 254-260.
XIA D Q, CAO Y, WU T T, et al. Genetic structures of population of *Protosalanx chinensis*, *Neosalanx taihuensis* and *Neosalanx oligodontis* in Lake Taihu[J]. Journal of Fisheries of China, 1999, 23(3): 254-260.
- [9] 夏德全,曹莹,吴婷婷,等. 用 RAPD 方法分析太湖大银鱼、太湖新银鱼和寡齿新银鱼的亲缘关系[J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 12-15.
XIA D Q, CAO Y, WU T T, et al. Study on lineages of *Protosalanx chinensis*, *Neosalanx taihuensis* and *N. oligodontis* in Taihu Lake with RAPD technique[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2000, 7(1): 12-15.
- [10] 高天翔,陈省平,韩志强,等. 大银鱼和小齿日本银鱼线粒体细胞色素 *b* 和 16S rRNA 基因部分序列分析[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(5): 791-794.
GAO T X, CHEN S P, HAN Z Q, et al. Partial sequence analysis of mitochondrial cytochrome *b* and 16S rRNA genes of *Protosalanx hyalocranius* and *Salangichthys microdon*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2004, 34(5): 791-794.
- [11] 李延梅,牛栋,张志强,等. 国际生物多样性研究科学计划与热点述评[J]. 生态学报, 2009, 29(4): 2115-2122.
LI Y M, NIU D, ZHANG Z Q, et al. Review of international scientific programmes and frontiers of biodiversity research [J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 2115-2122.
- [12] 肖武汉,张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报, 2000, 24(4): 384-391.
XIAO W H, ZHANG Y P. Genetics and evolution of mitochondrial DNA in fish[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, 24(4): 384-391.
- [13] 李大命,张彤晴,唐晟凯,等. 太湖大银鱼(*Protosalanx chinensis*)细胞色素 *b* 基因序列多态性分析[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(4): 840-845.
LI D M, ZHANG T Q, TANG S K, et al. Genetic polymorphism of mitochondrial DNA cytochrome *b* (*cytb*) sequences of *Protosalanx chinensis* in Lake Taihu[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2015, 31(4): 840-845.
- [14] 李大命,李康,张彤晴,等. 洪泽湖大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*) *Cytb* 和 *CO I* 基因序列多态性分析[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(6): 25-31.
LI D M, LI K, ZHANG T Q, et al. Genetic polymorphism analysis of *Cytb* and *CO I* Gene Sequences of *Protosalanx hyalocranius* in the Hongze Lake [J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(6): 25-31.
- [15] 蓝昭军,李强,舒璇,等. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因的光倒刺鲃遗传多样性与遗传结构研究[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(6): 1158-1165.
LAN Z J, LI Q, SHU H, et al. Genetic diversity and structure of *Spinibarbus hollandi* based on nucleotide sequences of mtDNA cytochrome *b* gene[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2016, 47(6): 1158-1165.
- [16] 倪勇,伍汉霖. 江苏鱼类志[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 35-36.
NI Y, WU H L. Fishes of Jiangsu Province[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 35-36.
- [17] ZHANG J, LI M, XU M Q, et al. Molecular phylogeny of icefish Salangidae based on complete mtDNA cytochrome *b* sequences, with comments on estuarine fish evolution[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2007, 91(2): 325-340.
- [18] ROGERS A R, HARPENDING H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences[J]. Molecular Biology and Evolution, 1992, 9(3): 552-569.
- [19] ZHAO L, ZHANG J, LIU Z J, et al. Complex population genetic and demographic history of the Salangid, *Neosalanx taihuensis*, based on cytochrome *b* sequences [J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8: 201.
- [20] FÉRAL J P. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 268

- (2): 121-145.
- [21] GRANT W A S, BOWEN B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. *Journal of Heredity*, 1998, 89(5): 415-426.
- [22] 罗宏伟, 段辛斌, 王珂, 等. 三峡库区 3 种银鱼线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因序列多态性分析[J]. *淡水渔业*, 2009, 39(6): 16-21.
- LUO H W, DUAN X B, WANG K, et al. Genetic polymorphism analysis of mitochondrial DNA cytochrome *b* sequences of three species of salangids in the Three Gorges Reservoir[J]. *Freshwater Fisheries*, 2009, 39(6): 16-21.
- [23] TANG F J, LI D M, LIU W, et al. Evolutionary tendency of clearhead icefish *Protosalanx hyalocranius* inferring Mitochondrial DNA variation analyses in Amur (Heilongjiang) River catchment, China [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2008, 20(10): 2329-2334.
- [24] 赵亮, 张洁, 刘志瑾, 等. 乔氏新银鱼基于细胞色素 *b* 序列的种群遗传结构和种群历史[J]. *生物多样性*, 2010, 18(3): 251-261.
- ZHAO L, ZHANG J, LIU Z J, et al. Population genetic structure and demographic history of *Neosalanx jordani* based on cytochrome *b* sequences[J]. *Biodiversity Science*, 2010, 18(3): 251-261.
- [25] 黄小彧, 章群, 司从利, 等. 基于细胞色素 *b* 基因的白肌银鱼遗传多样性[J]. *江苏农业科学*, 2012, 40(4): 45-48.
- HUANG X Y, ZHANG Q, SI C L, et al. Genetic diversity analysis of *Leucosoma chinensis* based on mtDNA *Cytb* gene sequences[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2012, 40(4): 45-48.
- [26] 司从利, 章群, 黄小彧, 等. 基于细胞色素 *b* 基因序列分析的华南居氏银鱼遗传多样性研究[J]. *海洋渔业*, 2012, 34(1): 1-6.
- SI C L, ZHANG Q, HUANG X Y, et al. Genetic diversity of *Salanx curvieri* in south China inferred from mtDNA *cytb* sequences[J]. *Marine Fisheries*, 2012, 34(1): 1-6.
- [27] O' BRIEN S J. A role for molecular genetics in biological conservation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(13): 5748-5755.
- [28] BALLOUX F, LUGON-MOULIN N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(2): 155-165.
- [29] PERDICES A, SAYANDA D, COELHO M M. Mitochondrial diversity of *Opsariichthys bidens* (Teleostei, Cyprinidae) in three Chinese drainages [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, 37(3): 920-927.
- [30] XIA Y Z, CHEN Y Y, SHENG Y. Phylogeographic structure of lenok (*Brachymystax lenok* Pallas) (Salmoninae, Salmonidae) populations in water systems of eastern China, inferred from mitochondrial DNA sequences [J]. *Zoological Studies*, 2006, 45(2): 190-200.
- [31] 赵琳, 张敏莹, 徐东坡, 等. 2 个地理种群大银鱼 *CO I* 基因序列变异与遗传分化[J]. *大连海洋大学学报*, 2016, 31(3): 285-289.
- ZHAO L, ZHANG M Y, XU D P, et al. Sequence variations and genetic differentiations in *CO I* gene in two geographical populations of ice fish *Protosalanx hyalocranius* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2016, 31(3): 285-289.
- [32] LAMBECK K, ESAT T M, POTTER E K. Links between climate and sea levels for the past three million years [J]. *Nature*, 2002, 419(6903): 199-206.

Genetic diversity and population structure of *Protosalanx hyalocranius* in Jiangsu Province based on *Cytb* gene sequences

LI Daming, TANG Shengkai, LIU Yanshan, GU Xiankun, LIU Xiaowei, YIN Jiawen, ZHANG Tongqing, PAN Jianlin

(Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Key Laboratory of Fisheries Resources in Inland Water of Jiangsu Province, Nanjing 210017, Jiangsu, China)

Abstract: The genetic diversity and structure of *Protosalanx hyalocranius* in four freshwater lakes in Jiangsu Province were assessed. Based on PCR amplification and sequencing technologies, the mitochondrial *Cytb* gene sequences from 160 individuals of four freshwater lake populations (Taihu Lake, Gaoyou Lake, Hongze Lake and Luoma Lake) were analyzed. The results showed that 25 variable sites were detected in 160 *Cytb* gene sequences, containing 11 singleton mutation and 14 parsimony informative sites. A total of 23 haplotypes were defined in all 4 populations and overall haplotype diversity (H_d) and nucleotide diversity (π) were 0.878 ± 0.014 and 0.0021 ± 0.0001 , respectively. Therefore, the genetic diversity of *P. hyalocranius* showed the pattern of high haplotype diversity and low nucleotide diversity. In the four populations, the Gaoyou Lake and Taihu Lake populations had the highest haplotype diversity (0.871 ± 0.031) and nucleotide diversity (0.0029 ± 0.0001), respectively, and the Hongze Lake population had the lowest haplotype diversity (0.755 ± 0.455) and nucleotide diversity (0.0013 ± 0.0001). The result of AMOVA showed that 15.13% molecular variation was among populations and 84.87% within populations, and most molecular variation occurred within populations. The pairwise fixation index (F_{st}) revealed that there were significant differences between Taihu Lake population and Gaohu Lake, Hongze Lake and Luoma Lake populations, but there were no significant differences among Gaohu Lake, Hongze Lake and Luoma Lake populations. It is concluded that the Taihu Lake population and the other three lake populations should be managed and protected as different evolutionary units. Both the mismatch distribution analysis and the neutrality tests indicated that there was a recent population expansion in *P. hyalocranius*, which might have occurred 103 000–41 000 years ago during the late Pleistocene. Despite the high genetic diversity, *P. hyalocranius* already showed obvious signs of decline. More attentions should be paid to the management of fisheries in order to protect the germplasm resources of *P. hyalocranius* and to maintain the sustainable development.

Key words: *Protosalanx hyalocranius*; *Cytb* gene; genetic diversity; population structure