

文章编号: 1004-2490(2020)03-0277-10

基于线粒体 *COI* 基因序列的江苏省 4 个太湖新银鱼群体遗传多样性分析

李大命, 唐晟凯, 刘燕山, 谷先坤, 刘小维,
殷稼雯, 王 彬, 马 昊, 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, 南京 210097)

摘 要: 为了解江苏省主要湖泊内太湖新银鱼(*Neosalanx taihuensis*)的遗传背景, 利用 PCR 扩增江苏省太湖、高邮湖、洪泽湖和骆马湖 4 个群体 153 尾样本的 *COI* 基因序列, 并进行测序和分析。经比对获得 630 bp 的基因序列片段, 检出 7 个变异位点, 其中简约位点 3 个, 单一位点 4 个。153 尾个体共定义 9 个单倍型, 单倍型多样性为 0.580 ± 0.022 ($0.050 \pm 0.047 \sim 0.361 \pm 0.103$), 核苷酸多样性为 0.00106 ± 0.00007 ($0.00008 \pm 0.00007 \sim 0.00062 \pm 0.00020$), 呈现出较低的单倍型多样性和核苷酸多样性的特点。4 个群体间的遗传距离为 $0.00012 \sim 0.00183$ 。AMOVA 分子方差分析表明, 太湖新银鱼群体间的遗传差异 (76.84%) 大于群体内遗传差异 (23.16%), 遗传变异主要来自群体间。种群间遗传分化系数统计检验表明, 太湖和洪泽湖群体及高邮湖和骆马湖群体之间差异不显著。中性检验和歧点分布分析表明, 4 个太湖新银鱼种群偏离中性进化, 历史上经历过种群扩张。研究可为太湖新银鱼种质资源科学保护和合理利用提供理论依据。

关键词: 太湖新银鱼; *COI* 基因; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: Q 349

文献标志码: A

太湖新银鱼 (*Neosalanx taihuensis* Chen, 1956) 隶属于鲑形目 (Salmoniformes) 银鱼科 (Salangidae) 新银鱼属, 为 1 年生小型鱼类, 具有很高的营养价值, 主要分布在我国黄河、淮河和长江中下游及其附属湖泊, 是我国重要的经济鱼类^[1]。太湖新银鱼生活周期短、生长快、世代离散, 对环境变化敏感, 种群波动显著, 是典型的 r-对策生物^[2]。多年来, 受围湖造田、过度捕捞、环境污染和生境破碎化等多种因素的影响, 我国的太湖新银鱼天然资源持续衰退, 分布范围显著缩小, 保护和恢复太湖新银鱼种质资源成为亟待解决的问题^[2]。

遗传多样性是生物多样性的核心和重要组成部分, 了解和掌握生物的遗传多样性是制定物种保护策略的前提。只有在了解种群的遗传背

景和现有的遗传格局及成因的基础上, 才能为制定物种保护策略提供科学依据^[3-4]。线粒体 DNA 具有结构简单、母系遗传、进化速率快、几乎不发生重组等特点, 成为研究种群遗传多样性的常用分子标记之一^[5]。其中, 细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome oxidase subunit I, *COI*) 序列长度适宜, 进化速度较快, 密码子的保守性高且引物的通用性强, 其不仅适合于种群水平遗传多样性的检测, 也可用于种间分析, 被广泛应用于鱼类的分子系统学和种群遗传学研究^[6-8]。

江苏省位于长江、淮河下游, 湖泊众多, 是我国银鱼资源的重要分布区域。太湖、洪泽湖、高邮湖和骆马湖是江苏省的四大淡水湖泊。历史上, 四大淡水湖泊银鱼资源丰富, 不仅是湖泊渔业生产的重要捕捞对象, 也曾是出口创汇的重要

收稿日期: 2019-07-25

基金项目: 江苏省水生生物资源重大专项 (ZYHB16-3); 江苏省内陆省管渔业水域渔业资源监测

作者简介: 李大命 (1981—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事渔业资源与环境研究。E-mail: ldm8212@126.com

通信作者: 潘建林, 研究员, E-mail: Jianlinpan2006@126.com; 张彤晴, 研究员, E-mail: zhtq3@126.com

水产品,但近年来银鱼资源逐渐趋于枯竭^[9]。我国在包括太湖新银鱼在内的银鱼科鱼类的形态学、个体生物学及生态学方面已进行了广泛的研究^[1-2],但相关的遗传学资料较少。已有文献报道利用线粒体 *Cytb*、*COI* 等分子标记分析我国太湖新银鱼的遗传多样性和遗传结构^[10-11]。目前,太湖、洪泽湖的银鱼遗传多样性已有报道^[12-15],但尚未见有关高邮湖和骆马湖的银鱼遗传多样性研究。本文选用 *COI* 基因作为分子标记,利用 PCR 扩增和测序技术,全面分析和比较江苏省太湖新银鱼种群的遗传多样性水平,探究太湖新银鱼种群的遗传结构特征。研究结果一方面有利于丰富太湖新银鱼的遗传学资料,掌握太湖新银鱼遗传资源现状;另一方面可以为太湖新银鱼种质资源管理保护和开发利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

2018 年 8 月至 12 月利用拖网采集太湖、高邮湖、洪泽湖和骆马湖的太湖新银鱼野生群体,其中太湖群体 38 尾样本,高邮湖群体 40 尾样本,

洪泽湖群体 40 尾样本,骆马湖群体 35 尾样本,共 153 尾样本(图 1)。剪取太湖新银鱼肌肉组织,放入 1.5 mL 离心管中,加入无水乙醇保存,带回实验室备用。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增与测序

采用 Takara 公司的基因组 DNA 提取试剂盒提取太湖新银鱼基因组 DNA,将 DNA 溶于 TE 溶液中。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测所提取 DNA 的完整性,用核酸蛋白定量仪检测其浓度。

扩增 *COI* 序列的正向引物为: F1 (5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'), 反向引物为: R1 (5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAA TCA-3')^[16]。PCR 扩增体系为 50 μ L, *Taq* 酶混合液 25 μ L,上下游引物各 2 μ L (10 μ mol), DNA 模板 (40 ng $\cdot$ μ L⁻¹) 2 μ L, 用 ddH₂O 补足至 50 μ L。PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 最后延伸 10 min。

用 1.5% 的琼脂糖凝胶检测 PCR 产物,凝胶成像系统拍照。PCR 产物送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序,测序采用与 PCR 反应相同的引物。

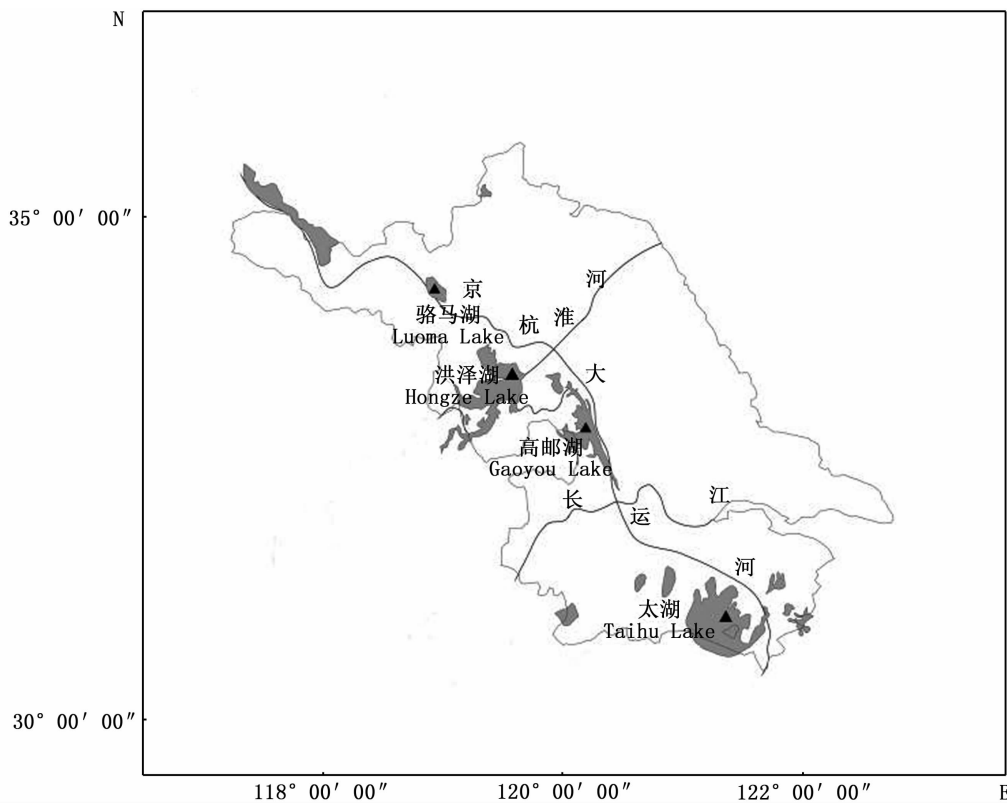


图 1 样本采集地点

Fig. 1 Map of sampling locations

1.3 数据分析

采用 BioEdit 7.0 软件^[17] 对测序结果进行编辑和同源比对。采用 DnaSP 5.0 软件^[18] 统计核苷酸变异位点、单倍型数目、单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数。

利用 MEGA 7.0 软件^[19] 统计序列的碱基组成,计算群体间的 Kimura 双参数模型(Kimura 2 parameter, K2P)遗传距离,基于邻接法(neighbor-joining, NJ)构建单倍型进化树。采用 Network 4.6.1.0 软件^[20] 构建单倍型的简约中介(reduced-median, MJ)网络图。

使用 Arlequin3.1 软件^[121] 计算两两群体间的遗传分化指数(F_{st}),并采用 AMOVA 来分析群体内及群体间的遗传结构和分子方差,并通过 1 000 次重抽样来检验 F_{st} 值的显著性。采用 Tajima's D 检验^[22] 和 Fu's F_s 检验^[23] 和核苷酸不配对分布(mismatch distribution)分析来检验太湖新银鱼群体的历史动态,以确定是否存在瓶颈效应或群体扩张。

2 结果与分析

2.1 *COI* 基因序列变异和群体遗传多样性

本研究共得到 153 条太湖新银鱼的 *COI* 基因序列片段,长度为 630 bp。153 条 *COI* 基因序列共检测到 7 个变异位点,其中单一信息位点有

4 个,简约信息位点 3 个,没有插入或缺失位点。全部序列中碱基 A、C、T、G 的平均含量分别为 19.6%、34.3%、25.3% 和 20.8%,其中碱基 A 的含量最低,碱基 C 的含量最高,表现出很强的碱基组成偏向性。

整体来看,太湖新银鱼群体的单倍型多样性为 0.580 ± 0.022 ,核苷酸多样性为 $0.001\ 06 \pm 0.000\ 07$ (表 1)。4 个群体中,洪泽湖群体的遗传多样性最低,其单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.050 ± 0.047 和 $0.000\ 08 \pm 0.000\ 07$;骆马湖群体的遗传多样性最高,其单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.361 ± 0.103 和 $0.000\ 62 \pm 0.000\ 20$,但均表现为较低的单倍型多样性和核苷酸多样性特点。

2.2 单倍型分布及遗传关系

4 个群体共定义了 9 个单倍型(Hap1 ~ Hap9)(表 2),其中太湖和洪泽湖群体各拥有 2 个单倍型,高邮湖群体拥有 3 个单倍型,骆马湖群体拥有 6 个单倍型。9 个单倍型中有 3 个是共享单倍型,其中 Hap1 被太湖、洪泽湖和骆马湖群体共享,Hap3 和 Hap4 被高邮湖和骆马湖群体共享;6 个是群体特有单倍型,其中 Hap2 是洪泽湖群体特有单倍型,Hap5 是太湖群体特有单倍型,Hap6 是高邮湖群体特有单倍型,Hap7、Hap8 和 Hap9 是骆马湖群体特有单倍型。

表 1 太湖新银鱼遗传多样性参数
Tab.1 Genetic diversity parameters of four *N. taihuensis* populations

群体 Population	样本数 Sample size	多态位点数 Number of polymorphic sites	单倍型数量 Number of haplotypes	单倍型多样性(h) Haplotype diversity	核苷酸多样性(π) Nucleotide diversity
太湖 Taihu Lake	38	1	2	0.102 ± 0.065	$0.000\ 16 \pm 0.000\ 10$
高邮湖 Gaoyou Lake	40	2	3	0.232 ± 0.085	$0.000\ 38 \pm 0.000\ 14$
洪泽湖 Hongze Lake	40	1	2	0.050 ± 0.047	$0.000\ 08 \pm 0.000\ 07$
骆马湖 Luoma Lake	35	5	6	0.361 ± 0.103	$0.000\ 62 \pm 0.000\ 20$
总体 Total	153	7	9	0.580 ± 0.022	$0.001\ 06 \pm 0.000\ 07$

表 2 *COI* 基因单倍型在太湖新银鱼各群体中的分布及数量
Tab.2 Distribution and number of mtDNA *COI* haplotypes in each population of *N. taihuensis*

单倍型 Haplotype	太湖 Taihu Lake	高邮湖 Gaoyou Lake	洪泽湖 Hongze Lake	骆马湖 Luoma Lake	合计 Total
Hap1	36		39	2	77
Hap2			1		1
Hap3		35		28	63
Hap4		2		2	4
Hap5	2				2
Hap6		3			3
Hap7				1	1
Hap8				1	1
Hap9				1	1

利用 Mega 7.0 软件计算 9 个单倍型之间的 Kimura 双参数遗传距离为 0.001 6~0.004 8。采用邻接法 (neighbor-joining, NJ) 构建单倍型分子系统发育树 (图 2)。从图 2 可以看出, NJ 进化树由 3 个谱系分支构成: 单倍型 Hap3、Hap6、Hap7、Hap8 和 Hap9 组成一支 (谱系 I), 单倍型 Hap4 和 Hap5 组成一支 (谱系 II), 单倍型 Hap1 和 Hap2 组成一支 (谱系 III), 但分支支持率较低。4 个群体的单倍型相互混杂分布, 没有表现出明显的地理聚群。

2.3 群体遗传结构

利用 Mega7.0 软件计算 4 个太湖新银鱼群体间的遗传距离 (表 3), 结果显示, 4 个群体间的遗传距离均较小, 其中太湖群体和洪泽湖群体之间的遗传距离最小, 为 0.000 12; 太湖群体和高邮湖群体之间的遗传距离最大, 为 0.001 86。

AMOVA 分子变异方差分析结果显示 (表 4), 群体间分子变异占 76.84%, 群体内分子变异占 23.16%, 分子变异主要发生在群体间。总的遗传分化系数 $F_{st}=0.768\ 43$, 且统计检验具有极显著性 ($P=0.000\ 0$), 说明群体间出现了极显著

的遗传分化。进一步比较两两群体间的遗传分化系数 (表 3), 结果显示, 太湖和洪泽湖群体之间及高邮湖与骆马湖群体之间的 F_{st} 统计检验均不显著 ($P>0.05$), 而太湖和洪泽湖群体与高邮湖和骆马湖群体之间的 F_{st} 统计检验均极显著 ($P<0.001$)。

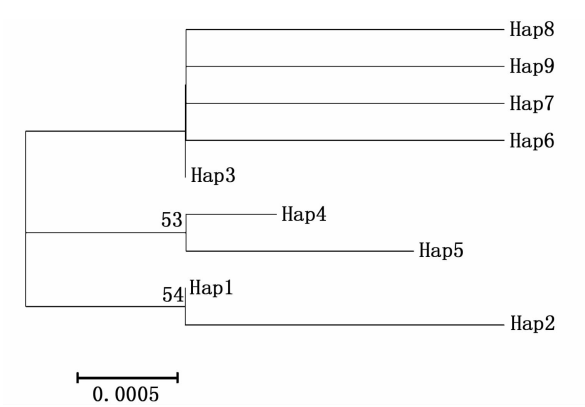


图 2 基于 COI 基因构建的太湖新银鱼单倍型邻接树
Fig.2 Neighbor-joining tree of 9 haplotypes from four *N. taihuensis* populations based on COI gene

表 3 太湖新银鱼群体间遗传距离 (对角线下) 和遗传分化系数 (对角线上)

Tab.3 Genetic distances (below diagonal) and fixation index (above diagonal) among populations of *N. taihuensis*

群体 Population	太湖 Taihu Lake	高邮湖 Gaoyou Lake	洪泽湖 Hongze Lake	骆马湖 Luoma Lake
太湖 Taihu Lake	—	0.852 75 ***	0.018 93	0.785 44 ***
高邮湖 Gaoyou Lake	0.001 86	—	0.874 02 ***	0.009 71
洪泽湖 Hongze Lake	0.000 12	0.001 83	—	0.809 12 ***
骆马湖 Luoma Lake	0.001 80	0.000 51	0.001 77	—

注: *** 表示 $P<0.001$
Note: *** indicates $P<0.001$

表 4 太湖新银鱼群体分子方差分析结果

Tab.4 Results of molecular variances analysis (AMOVA) of *N. taihuensis* populations

变异来源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of square	变异组分 Variance components	变异百分比 Percentage of variation
群体间 Among populations	3	36.619	0.316 93 Va	76.84
群体内 Within populations	149	14.230	0.095 51 Vb	23.16
总计 Total	152	50.850	0.412 43	100.00
F_{st}		0.768 43 ($P=0.000\ 0$)		

注: Va; 群体间方差组分; Vb; 群体内方差组分
Note: Va; variance components among populations; Vb; variance components within populations

采用 Network 4.6.1.0 软件构建单倍型之间最小网络进化关系图(图3),结果显示,太湖和洪泽湖群体的单倍型遗传关系较近,组成一个进化单元;高邮湖和骆马湖群体的单倍型遗传关系较近,组成一个进化单元。单倍型最小网络进化关系图进一步支持了分子变异方差分析结果。

2.4 群体历史动态

对4个太湖新银鱼群体进行中性检验(表5)和歧点分布图分析(图4),结果显示,中性检测 F_u 's F_s 及 Tajima's D 的值均为负值,且洪泽湖和骆马湖群体的检验统计结果具有显著性($P < 0.05$);另外,4个群体的歧点分布图呈单峰形,表明4个太湖新银鱼群体进化过程偏离中性,经

历了种群扩张。

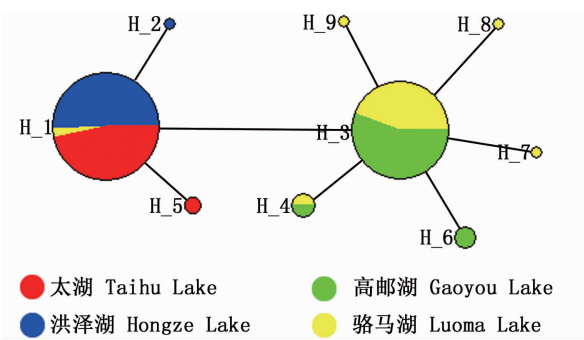


图3 太湖新银鱼单倍型最小网络进化关系图
Fig.3 The minimum spanning network for *N. taihuensis* haplotypes

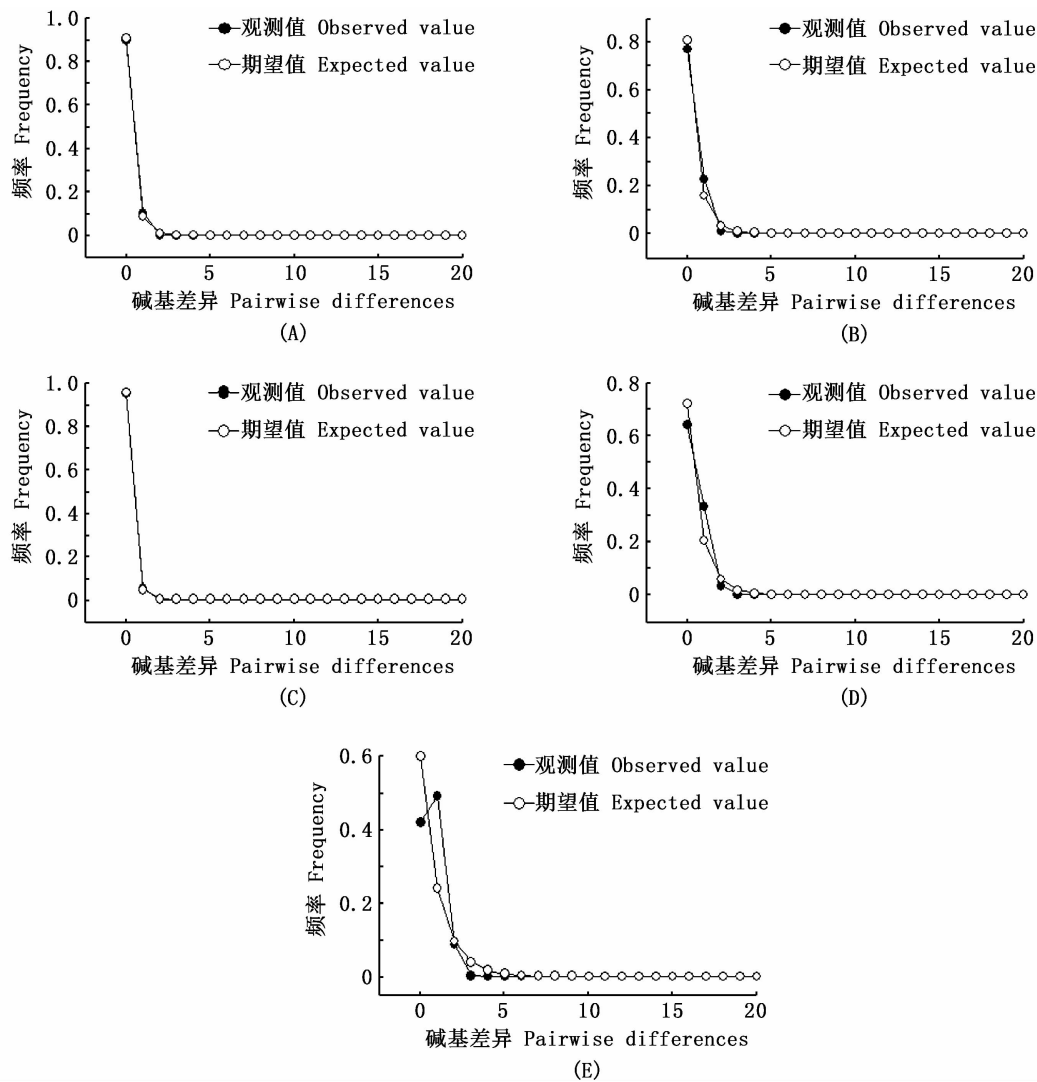


图4 太湖新银鱼歧点分布图
Fig.4 Mismatch distribution of four *N. taihuensis* populations

注:A. 太湖群体;B. 高邮湖群体;C. 洪泽湖群体;D. 骆马湖群体;E. 整个群体
Note: A. Taihu Lake population; B. Gaoyou Lake population; C. Hongze Lake population; D. Luoma Lake population; E. the whole population

表 5 基于 *COI* 基因的太湖新银鱼种群中性检验
Tab.5 Neutrality tests of *N. taihuensis* populations based on *COI* gene

中性检测 Neutrality test	太湖 Taihu Lake	高邮湖 Gaoyou Lake	洪泽湖 Hongze Lake	骆马湖 Luoma Lake	整体 Whole
Tajima's D	-0.825 51	-0.925 44	-1.124 11	-1.775 07	-1.022 52
P value	0.186 00	0.183 00	0.027 00	0.014 00	0.150 00
Fu's F_s	-0.643 66	-1.150 34	-1.450 12	-4.603 18	-4.363 15
P value	0.081 00	0.145 00	0.047 00	0.000 00	0.044 00

3 讨论

3.1 太湖新银鱼种群的遗传多样性

物种遗传多样性水平的高低与其适应能力、生存能力和进化潜力存在密切的相关性,遗传多样性的降低必将给物种种质资源保护和利用带来不利影响^[24]。通常认为单倍型多样性指数(h)和核苷酸多样性指数(π)是衡量一个物种群体多样性水平的两个重要指标,与种群大小、年龄结构、近缘物种基因渐渗、群体的突变和选择有着密切的关系^[25]。本研究结果显示,基于 *COI* 序列的 4 个太湖新银鱼群体的单倍型多样性为 $0.050 \pm 0.047 \sim 0.361 \pm 0.103$,核苷酸多样性为 $0.000\ 08 \pm 0.000\ 07 \sim 0.000\ 62 \pm 0.000\ 20$ (表 1)。GRANT 和 BOWEN^[26]提出单倍型多样性和核苷酸多样性大小的标准,其中单倍型多样性以 0.5 为临界值,核苷酸多样性以 0.005 为临界值,两个值越大,物种的遗传多样性就越高。比较发现,江苏省 4 个太湖新银鱼群体的单倍型多样性均小于 0.5,核苷酸多样性均小于 0.005,表明太湖新银鱼群体的遗传多样性处于较低水平。近几十年来,由于过度捕捞、环境污染、栖息地破坏等不利因素的影响,太湖新银鱼天然资源急剧衰减,种群数量明显减少,个体组成向小型化、低龄化发展^[2,9],导致了太湖新银鱼种群遗传多样性丧失。本实验室对江苏省五大淡水湖泊渔业资源开展了近十年的连续监测,结果也显示太湖新银鱼资源量不断减少,目前已处于极度匮乏状态^①。另有文献报道了基于 *COI* 基因的长江中下游太湖新银鱼不同地理群体的遗传多样性水平,结果表明,除巢湖($h: 0.667 \pm 0.113$, $\pi: 0.001\ 60 \pm 0.001\ 91$)群体外,洞庭湖($h: 0.125 \pm 0.106$, $\pi: 0.000\ 40 \pm 0.000\ 96$)、梁子湖($h: 0$, $\pi: 0$)、鄱阳湖($h: 0.468 \pm 0.101$, $\pi: 0.000\ 81 \pm 0.001\ 22$)、

泊湖($h: 0.233 \pm 0.126$, $\pi: 0.000\ 37 \pm 0.000\ 48$)及南漪湖($h: 0.458 \pm 0.095$, $\pi: 0.000\ 73 \pm 0.000\ 48$)群体的遗传多样性均呈现出较低水平,本研究结果与之相似^[11]。同时,与基于 *COI* 基因的太湖大银鱼(*Protosalanx chinensis*)($h: 0.577$, $\pi: 0.001\ 05$)和洪泽湖大银鱼(*P. hyalocronius*)($h: 0.660$, $\pi: 0.001\ 54$)^[14]及基于 *Cytb* 基因的乔什新银鱼(*N. jordani*)($h: 0.590 \pm 0.047$, $\pi: 0.000\ 88 \pm 0.000\ 11$)^[12]遗传多样性相比,太湖新银鱼的遗传多样性较低。由此可以推测,我国太湖新银鱼遗传多样性较低是一个普遍现象,应引起足够重视。

3.2 太湖新银鱼种群的历史动态

一般来说,物种的遗传多样性模式与其进化历史密切相关。当 h 大于或等于 0.5、 π 小于 0.005 时,是受瓶颈效应后种群数量的迅速扩张导致;当 h 大于或等于 0.5、 π 大于或等于 0.005 时,表示种群稳定,具有比较悠久的进化历史;当 h 小于 0.5、 π 大于或等于 0.005 时,种群经历了轻微的瓶颈效应,几乎没有影响到核苷酸变异;当 h 小于 0.5、 π 小于 0.005 时,表明种群近期经历了瓶颈效应^[26]。本研究中的 4 个湖泊群体单倍型多样性均小于 0.5,核苷酸多样性均小于 0.005,表明太湖新银鱼最近可能经历了严重的瓶颈效应。

种群历史演化通常通过两种方法来检测:其一是碱基不配对分析,该方法是基于无限位点模式(infinite-site model)对样本中两两序列进行差异分析,个体间碱基不配对分布曲线呈明显的单峰形被认为种群历史有扩张现象;其二是通过 Tajima's D 和 Fu's F_s 中性检验, D 和 F_s 呈负值和差异显著的 P 值被认为种群在历史上有扩张迹象。中性检验结果显示,4 个湖泊种群的 D 和 F_s 均为负值,但只有洪泽湖和骆马湖种群的中性

① 实验室内部资料,未公开发表数据。

检测统计检验有显著性差异(表5)。另外,碱基不配对分布曲线呈单峰形,均说明太湖新银鱼在历史上可能发生种群扩张。

3.3 太湖新银鱼种群遗传结构

种群遗传结构的研究不仅可以用于评价物种群体间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]。遗传分化系数 F_{st} 是群体间遗传分化的重要参数之一,其值大小能反映群体间分化程度, F_{st} 值为 0 ~ 0.05 时无分化,0.05 ~ 0.15 为中度分化,0.15 ~ 0.25 为高度分化^[28]。本研究分子方差分析结果显示,群体间遗传分化系数 $F_{st} = 0.768\ 43$ ($P = 0.000\ 0$),表明在整个遗传变异中群体间占 76.84%,其余的遗传变异来自于群体内,群体间具有程度较高的遗传分化。进一步比较两两群体间的遗传分化系数,结果表明,太湖和洪泽湖群体间及高邮湖和骆马湖群体间遗传分化较小,遗传分化不显著;太湖和洪泽湖群体与高邮湖和骆马湖群体间遗传分化较大,遗传分化显著。单倍型最小网络进化图也显示太湖和洪泽湖群体聚为一个进化单元,高邮湖和骆马湖群体聚为一个进化单元。

一般来说,鱼类的遗传分化格局往往与其分布的水系格局和地理距离密切相关^[29-30]。从水系分布来看,太湖属于长江水系,高邮湖、洪泽湖和骆马湖则属于淮河水系;从地理位置来看,太湖、高邮湖、洪泽湖和骆马湖从南向北依次分布。由此可以得出,4个湖泊群体的遗传结构关系与水系分布及地理距离不相符合。同样,基于线粒体 *Cytb* 基因序列的太湖新银鱼和乔什新银鱼遗传分布格局也得到类似结果,并且发现银鱼的遗传格局与进化历史有密切关系^[9, 12]。同样,本研究中4个太湖新银鱼群体遗传格局可能更多受进化历史的影响。研究表明,银鱼起源于第三纪中期,进化过程中经历了第四纪冰期和间冰期气候的交替变化,导致银鱼栖息地数度隔离和连接,从而对银鱼的进化分化过程造成了重大影响^[31]。基于 *Cytb* 基因的长江流域和淮河流域太湖新银鱼种群扩张分别发生在 2.21 万年前和 1.90 万年前^[12],均早于发生在约 1.8 万年前第四纪冰期最后一次大冰期^[32]。因此可以推测,最后一次大冰期对太湖新银鱼种群产生很大影响,冰期期间太湖新银鱼生活在某个避难所内,随着最后一次冰

期结束,气候变暖,海平面上升,太湖新银鱼种群向外扩散。在随后的进化过程中逐渐产生不同的周单倍型,形成现今的遗传结构模式。

3.4 太湖新银鱼种质资源保护

太湖新银鱼是我国特有的银鱼种类,具有较高的经济价值和营养价值,曾是我国重要的渔业捕捞对象和出口创汇水产品。太湖新银鱼属于典型的 r-策略生物,生命周期只有 1 年,对环境变化比较敏感,种群易于波动。近年来,受过度捕捞、环境污染、栖息地破坏等多种不利因素的影响,太湖新银鱼资源已趋于枯竭,可持续发展受到严重威胁,因此,必须加强对太湖新银鱼资源的保护和管理。本研究基于 *COI* 基因序列,调查了江苏省4个湖泊太湖新银鱼群体的遗传多样性水平,分析了它们的遗传结构关系,为制定相关的保护和管理措施提供了依据。根据研究结果,建议将太湖和洪泽湖种群及高邮湖和骆马湖种群分别作为一个整体进行管理和保护;将提高太湖新银鱼遗传多样性作为重点。为了恢复太湖新银鱼资源,可以采取以下措施:1) 控制水环境污染,保护栖息环境,为太湖新银鱼生活和繁殖提供良好的生态环境;2) 严格控制捕捞强度,严禁使用带有毁灭性破坏的电鱼、炸鱼等捕捞方法,禁止产卵期捕鱼;3) 加强太湖新银鱼人工繁殖技术研究,大力开展人工增殖放流,减少捕捞量;4) 加强渔业资源和生态环境监测,掌握太湖新银鱼种群动态变化。

致谢: 江苏省太湖渔业管理委员会办公室、江苏省高宝-邵伯湖渔业管理委员会办公室、江苏省洪泽湖渔业管理委员会办公室及江苏省骆马湖渔业管理委员会办公室在采样过程中给予很大的帮助,一并表示感谢!

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 C, LEI G C. Biodiversity of

- Chinese icefishes (Salangidae) and their conserving strategies[J]. Biodiversity Science, 2002, 10(4): 416–424.
- [3] AVISE J C. A role for molecular genetics in the recognition and conservation of endangered species[J]. Trends in Ecology and Evolution, 1989, 4(9): 279–281.
- [4] WAITS L. Mitochondrial DNA phylogeography of the North American brown bear and implications for conservation[J]. Conservation Biology, 1998, 12(2): 408–417.
- [5] XIAO W H, ZHANG Y P. Genetics and evolution of mitochondrial DNA in fish[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, 24(4): 384–391.
- [6] 林少珍, 王丹丽, 王亚军, 等. 基于 *COI* 序列分析东海区四指马鲛 (*Eleutheronema tetradactylum*) 的种群遗传结构[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(6): 1261–1265.
- LIN S Z, WANG D L, WANG Y J, et al. Population genetic structure of (*Eleutheronema tetradactylum*) (Shaw) in East China Sea based on sequence analysis of *COI* gene[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2012, 43(6): 1261–1265.
- [7] 唐楚林, 肖 林, 章 群, 等. 基于 *COI* 基因的中国及邻近海域部分笛鲷属鱼类 DNA 条形码研究[J]. 海洋渔业, 2019, 41(2): 129–137.
- TANG C L, XIAO L, ZHANG Q, et al. DNA barcoding of some *Lutjanus* species in China and its adjacent sea area based on *COI* gene[J]. Marine Fisheries, 2019, 41(2): 129–137.
- [8] 沙 航, 罗相忠, 李 忠, 等. 基于 *COI* 序列的长江中上游鲢 6 个地理群体遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 783–792.
- SHA H, LUO X Z, LI Z, et al. Genetic diversity of six silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) geographical populations based on mitochondrial *COI* sequences[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 783–792.
- [9] 倪 勇, 伍汉霖. 江苏鱼类志[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 32–38.
- NI Y, WU H L. Fishes of Jiangsu Province[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 32–38.
- [10] 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(5): 201.
- [11] 张 迪, 雷光春, 龚 成, 等. 基于 *COI* 基因序列的太湖新银鱼遗传多样性[J]. 湖泊科学, 2012, 24(2): 299–306.
- ZHANG D, LEI G C, GONG C, et al. Genetic diversity of *Neosalanx taihuensis* based on mitochondrial *COI* sequences[J]. Journal of Lake Sciences, 2012, 24(2): 299–306.
- [12] 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.
- [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] 赵 琳, 张敏莹, 徐东坡, 等. 2 个地理种群大银鱼 *COI* 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 *COI* gene in two geographical populations of ice fish *Protosalanx hyalocranius*[J]. Journal of Dalin Ocean University, 2016, 31(3): 285–289.
- [15] 李大命, 李 康, 张彤晴, 等. 洪泽湖大银鱼 (*Protosalanx hyalocranius*) *Cytb* 和 *COI* 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 *COI* gene sequences of *Protosalanx hyalocranius* in the Hongze Lake[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(6): 25–31.
- [16] WARD R D, ZEMLAK T S, INNES B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 2005, 360(1462): 1847–1857.
- [17] HALL T A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT[J]. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, 41: 95–98.

- [18] LIORADO P, ROZAS J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451–1452.
- [19] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K, *et al.* MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870–1874.
- [20] BANDELT H J, FORSTER P, RÖHL A A. Median-joining network for inferring intraspecific phylogenies [J]. *Molecular Biology & Evolution*, 1999, 16(1): 37–48.
- [21] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010 (10): 564–567.
- [22] HICKERSON M J, MEYER C P. Testing comparative phylogeographic models of marine vicariance and dispersal using a hierarchical Bayesian approach [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 8(3): 322–340.
- [23] FU Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, 1997, 147(2): 915–925.
- [24] 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.
- [25] GOODALL-COPESTAKE W P, TARLING G A, MURPHY E J. On the comparison of population-level estimates of haplotype and nucleotide diversity: A case study using the gene COX1 in animals [J]. *Heredity*, 2012, 109(1): 50–56.
- [26] 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.
- [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] WRIGHT S. *Evolution and the genetics of populations* [M]. Chicago: University of Chicago Press. 1978, 580.
- [29] 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.
- [30] CASSEL A, TAMMARU T. Allozyme variability in central, peripheral and isolated populations of the scarce heath (*Coenonympha hero*: Lepidoptera, Nymphalidae): Implications for conservation [J]. *Conservation Genetics*, 2003, 4(1): 83–93.
- [31] 张广学. 系统进化动物学论文集(第二集) [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993, 65–67.
- ZHANG G X. *Scientific treatise on systematic and evolutionary zoology (Vol 2)* [M]. Beijing: China Science and Technology Press, 1993: 65–67.
- [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 analysis of four *Neosalanx taihuensis* populations in Jiangsu Province based on mitochondrial *COI* gene sequences

LI Daming, TANG Shengkai, LIU Yanshan, GU Xiankun, LIU Xiaowei,
YIN Jiawen, WANG Bin, MA Hao, ZHANG Tongqing, PAN Jianlin
(Key Laboratory of Fisheries Resources in Inland Water of Jiangsu Province, Freshwater
Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China)

Abstract: *Neosalanx taihuensis* is an important economic fish widely distributed in the freshwater lakes of China. In the recent decades, the natural resource of *N. taihuensis* has sharply decreased. In order to understand the genetic background and population structure of *N. taihuensis* in Jiangsu Province, the mitochondrial *COI* gene fragments of 153 *Neosalanx taihuensis* individuals from four wild populations (Taihu Lake, Gaoyou Lake, Hongze Lake, Luoma Lake) were amplified with PCR, and the PCR products were sequenced and analyzed. Results showed that there were 7 variable sites in total 630bp sites, which included 3 parsimony-informative sites and 4 singleton sites. 9 haplotypes were defined among four populations. The haplotype diversity of the four populations ranged from 0.050 ± 0.047 to 0.361 ± 0.103 , and the total haplotype diversity was 0.580 ± 0.022 . The nucleotide diversity of the four populations ranged from 0.00008 ± 0.00007 to 0.00062 ± 0.00020 , and the total nucleotide diversity was 0.00106 ± 0.00007 . The genetic diversity of four populations showed low haplotype diversity and low nucleotide diversity patterns. The genetic distance ranged from 0.00012 to 0.00183. The pairwise fixation index (F_{st}) value of the total populations was 0.76843 ($P = 0.0000$), and it varied from 0.00971 to 0.87402 among the four populations. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that genetic variation among populations (76.84%) was larger than that within populations (23.16%), indicating that genetic divergence was mainly distributed among populations. The pairwise fixation index revealed no significant difference between the populations of Taihu Lake and Hongze Lake, between the populations of Gaoyou Lake and Luoma Lake. Neutrality test (Tajima's D and Fu's F_s) and mismatch distribution analysis map both suggested that all four *N. taihuensis* populations were not at equilibrium and had undergone a population expansion in the evolutionary history. This study can provide a theoretical basis for *Neosalanx taihuensis* germplasm resource conservation and utilization.

Keywords: *Neosalanx taihuensis*; cytochrome oxidase I; genetic diversity; genetic structure