

DOI: 10.12264/JFSC2023-0250

基于微卫星分析大银鱼移植群体的遗传多样性和遗传结构

郑义^{1,2}, 鲁翠云^{1,2}, 郑先虎^{1,2}, 那荣滨², 唐富江²

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 农业农村部黑龙江流域渔业资源环境科学观测实验站, 淡水鱼类育种国家地方联合工程实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070

摘要: 为研究移植大银鱼(*Protosalanx chinensis*)群体的遗传多样性和遗传结构, 本研究从大银鱼基因组中筛选了 18 对多态微卫星引物, 对 2016—2020 年采集的 4 个水系(8 个水体)大银鱼共计 281 个样本进行群体遗传学分析。共得到 172 个等位基因, 其中等位基因数(N_a)为 3~24, 平均值为 9.600; 有效等位基因数(N_e)为 1.039~4.595, 平均值为 2.384; 期望杂合度(H_e)为 0.035~0.804, 平均值为 0.507; 多态信息含量(PIC)为 0.034~0.775, 平均值为 0.469, 其中 10 个位点属于高度多态位点(PIC>0.5)。群体平均等位基因数(N_a)为 3.389~5.389, 多态信息含量(PIC)为 0.373~0.479, 8 个水体的群体均处于中度多态水平($0.25 < \text{PIC} < 0.5$)。分子方差分析(AMOVA)结果发现, 大银鱼总变异中的 84.54%来自群体内, 15.46%来自群体间。主成分分析(PCA)和 Structure 分析结果均显示 8 个水体群体最有可能分为 3 个亚群; 依据 Nei 氏遗传距离的 UPGMA 聚类树将 8 个水体分为 2 个大支; 连环湖的 5 个相对独立的水体群体均为一大支, 但群体间出现较大的分化, 那什代(NS)和他拉红(TL)聚为一支后与二八股子(EB)聚为一支, 大龙湖(DL)和阿木塔(AM)聚为一支; 兴凯湖(XK)与新立城水库(XLC)聚为一支后与太湖(TH)聚为一支。研究表明, 移植的大银鱼北方群体保持了较好的遗传多样性水平, 不同水系群体间存在高度的遗传分化($F_{st}=0.1867 > 0.15$)。为防止群体遗传衰退, 建议将南方和北方作为不同群体进行保护, 连环湖作为大银鱼的主要产地, 应当进行重点保护。

关键词: 大银鱼; 微卫星; 移植群体; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)12-1417-12

大银鱼(*Protosalanx chinensis*), 隶属于鲑形目(Salmoniformes)、胡瓜鱼亚目(Osmeoidei)、银鱼科(Salangidae)、大银鱼属(*Protosalanx*)^[1], 是东亚特有的一年生小型经济鱼类, 主要分布于我国东海、黄海、渤海近岸河口及与之相同的诸河流和湖泊中^[2-3]。自 1985 年始, 我国在全国范围内广泛开展大银鱼移植增殖, 先后在 21 个省都成功移植了大银鱼, 特别是在北方地区创造了巨大的经济效益和社会效益^[4]。例如, 大庆市杜尔伯特蒙古族自治县以其湖群年产至少 1500 吨的大银鱼, 成为“中国大银鱼第一县”^[5]。大银鱼移植不仅带

来了巨大的经济效益, 也对大银鱼资源起到了迁地保护的作用^[6]。

关于大银鱼基础生物学^[4,7]、种群生态学^[8-9]和移植增殖技术^[10]等方面的研究逐渐向纵深发展。在分子遗传学方面, 主要集中在在线粒体 DNA 标记分析, 李大命等^[11]使用了线粒体 Cyt *b* 基因测定了江苏省的大银鱼的遗传结构。鲁翠云等^[12]运用 Cyt *b* 基因分析松嫩平原区湖泊水库大银鱼遗传多样性。赵琳等^[13]使用 CO I 基因序列, 比较了洪泽湖和太湖的遗传变异和遗传分化。Tang 等^[14]使用线粒体 DNA 发现连环湖移植群体与太湖

收稿日期: 2023-10-14; 修订日期: 2023-12-15.

基金项目: 黑龙江省应用技术与开发计划项目(GA20B202); 农业农村部政府购买服务项目(A120401); 国家水产种质资源平台项目(FGRC18537).

作者简介: 郑义(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类群体遗传学. E-mail: w15142324@163.com

通信作者: 唐富江, 副研究员, 研究方向为鱼类生态学. E-mail: rivery2008@163.com

土著群体之间存在明显的遗传分化, 连环湖大银鱼群体较原产地群体表现出生长快、耐寒耐碱等特点。相对于呈母系遗传的线粒体标记, 微卫星标记(microsatellite marker)在群体遗传中具有更多的优势, 例如多态性高、呈共显性遗传、可重复性好等, 已经用于草鱼^[15]、大口黑鲈^[16]等鱼类的遗传研究。唐雪梅等^[17]用测序的方法开发了 14 对多态性较好的大银鱼微卫星标记, 分析了大银鱼基因组中微卫星的特征, 选取了洄游型、陆封型和移植的群体进行了遗传多样性和遗传结构分析, 发现大银鱼不同种群存在明显的遗传结构差异。Xing 等^[18]使用微卫星比较了中国南方洪泽湖、巢湖、太湖和中国北方鸭绿江口、辽河口、黑龙江大银鱼的遗传多样性和遗传结构, 发现河口的种群遗传多样性较低, 黑龙江群体来源于多个地方。目前已开发的微卫星标记主要在土著群体内进行应用, 对于移植群体的群体遗传学分析鲜有报道。近年来在连环湖群体内观察到产量不稳定的现象, 推测可能是由于遗传多样性低造成的。连环湖水系从 1995 年开始多年从太湖移植大银鱼, 新立城水库和兴凯湖大银鱼来源尚未明确。为了更细致地分析连环湖水域等东北地区大银鱼群体遗传资源特征, 本研究通过筛选的新的 18 个 SSR 标记, 对包括嫩江连环湖、乌苏里江、第二松花江和长江 4 个水系 8 个水体大银鱼群体进行遗传多样性、遗传结构分析, 旨在进一步补充和完善我国大银鱼群体的种质资源信息, 为大银鱼资源保护与利用提供遗传数据。

1 材料方法

1.1 实验材料与 DNA 提取

选取 2016 年—2020 年采集的 4 个水系 8 个水体共 281 个大银鱼样本作为分析对象(图 1), 采样点分别涉及嫩江水系、乌苏里江水系、第二松花江水系及长江水系, 具体采样点信息见表 1, 样本使用开船挂网采集, 取鳍条放置到装有 95% 无水乙醇的离心管中保存在-20 ℃冰箱, 采用传统的酚、氯仿抽提法从大银鱼鳍条组织中提取基因组 DNA^[19], 使用 NanoDrop™ 8000 分光光度计检测所提取 DNA 的浓度及纯度, 调至 50 ng/μL, -20 ℃保存备用。

1.2 数据来源与引物设计

从 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载大银鱼基因组信息(GenBank 登录号: GCA_010882115.1), 大小为 444.9 Mb^[20]。基于 MISA 的脚本(<http://pgrc.ipkgatersleben.de/misa/>)对其进行 SSR 筛选, 设置微卫星位点核苷酸重复次数识别标准分别为单核苷酸重复≥14 次, 二核苷酸重复≥6 次, 三核苷酸重复≥5 次, 四、五、六重复≥5 次。利用 Primer Premier 6.0 进行引物设计。设计原则为 GC 含量 45%~55%, 引物长度 18~24 bp, 退火温度 50~60 ℃, PCR 产物长度为 100~250 bp。

1.3 引物筛选

引物的合成由上海皓昂生物科技有限公司完成。从 8 个大银鱼采样点随机选择 10 个样本, 对引物进行通用性检验, 从中筛选出 18 对条带清

表 1 大银鱼 4 个水系采样点
Tab. 1 Sampling sites of *Protosalanx chinensis* in 4 different river basins

群体 population	水系 river basins	采样时间 sample time	简称 abbreviation	数量 no.	经纬度 latitude and longitude
那什代 Nashidai	嫩江, 连环湖 Nen River, Lianhuan Lake	2020.6	NS	37	124°9'37"E; 46°38'19"N
他拉红 Talahong	嫩江, 连环湖 Nen River, Lianhuan Lake	2020.6	TL	36	124°11'30"E; 46°45'48"N
二八股子 Erbaguzi	嫩江, 连环湖 Nen River, Lianhuan Lake	2020.12	EB	35	124°1'36"E; 46°43'33"N
大龙湖 Dalong Lake	嫩江, 连环湖 Nen River, Lianhuan Lake	2020.12	DL	36	124°19'3"E; 46°43'23"N
阿木塔 Amuta	嫩江, 连环湖 Nen River, Lianhuan Lake	2020.12	AM	36	124°2'43"E; 46°34'58"N
兴凯湖 Xingkai Lake	乌苏里江 Ussuri River	2016.12	XK	37	132°12'53"E; 45°18'36"N
新立城水库 Xinlicheng Reservoir	第二松花江 Di'er songhua jiang	2019.6	XLC	28	125°22'14"E; 43°41'1"N
太湖 Taihu Lake	长江 Yangtze	2018.6	TH	36	120°5'10"E; 31°18'16"N

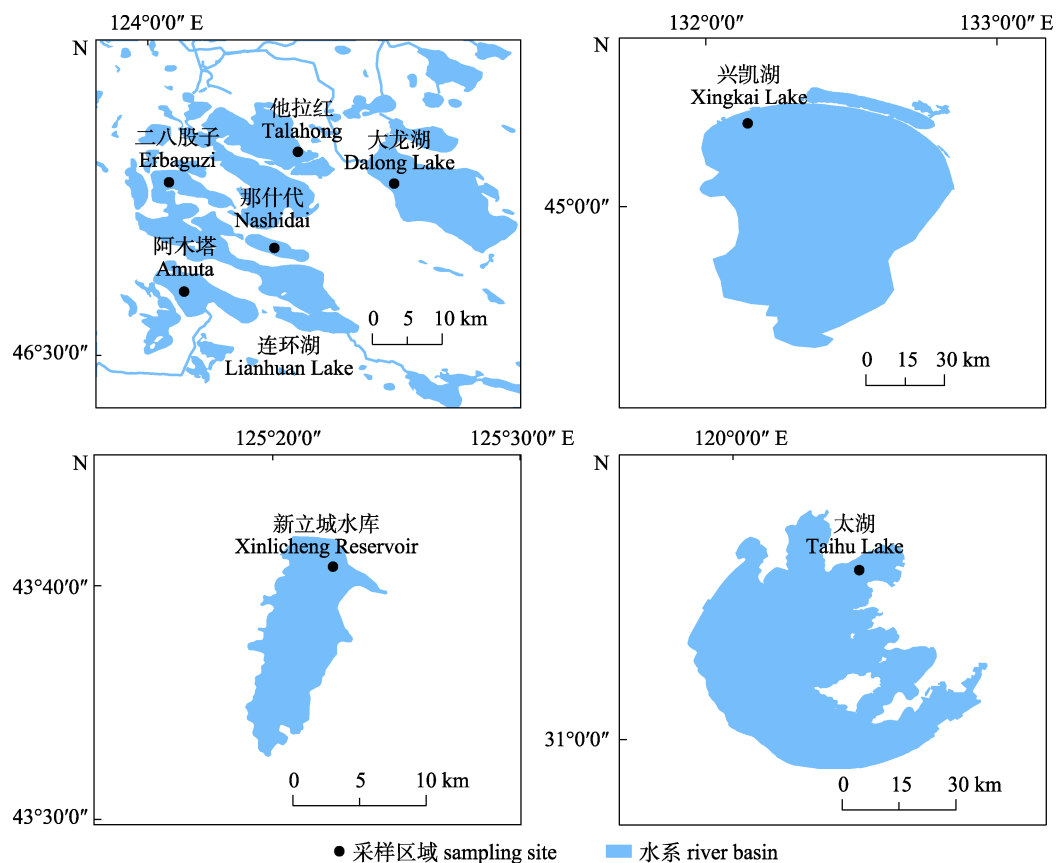


图 1 大银鱼 4 个水系群体采样地点

Fig. 1 Sampling sites of *Protosalanx chinensis* in 4 different river systems populations

晰、扩增稳定的引物用于全部样本的遗传分析, 具体的引物信息见表 2。PCR 反应体系包括 1 μL DNA 模板, 7.5 μL 2 $\times$ PCR MIX (湖南艾科瑞生物科技有限公司), 0.3 μL 正向引物(10 $\mu\text{mol/L}$), 0.3 μL 反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$), 5.9 μL ddH₂O。PCR 循环条件包括 95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 退火温度 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 反应 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。

取 1 μL 产物加 9 μL 上样 HiDi, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 3 min, 立即冰水浴, 上测序仪 ABI3730XL 进行电泳检测。用 GeneMarker 软件对 18 个 SSR 数据进行分析, 得到的片段数值统计到 Excel 中。

1.4 SSR 数据分析

利用 PopGene 32 软件计算等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)和 Nei 氏遗传距离、Shannon's 多样性指数(H); 利用 Cervus 3.0.7^[21]软件计算每个位点的观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态信息含

量(PIC); GenAlEx6.5^[22]进行 Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验, 通过 Bonferroni 校正确定显著性阈值。使用 Arlequin 3.5.2.2^[23]软件评估各群体的遗传分化指数(F_{st})和分子方差分析(AMOVA); 采用 Mega 6.0^[24]软件利用非加权组平均法(UPGMA)法构建群体间聚类图。使用软件 Structure 2.3.4^[25], 预测最适亚群数量, 亚群数量 K 值设置为 2~8, 重复运行 15 次, 利用 StructureHarveste.py^[26]脚本计算 ΔK , 基于 ΔK 指标分析群体遗传结构并得到最合适 K 值, 并根据集成的 CLUMPAK^[27]程序生成结果图。使用 R 语言 poppr^[28]包进行主成分分析, 使用 ggplot2^[29]包进行 PCA 图绘制。遗传瓶颈分析使用 BOTTLENECK 1.2.0.2^[30]基于 Wilcoxon's test 方法, 软件运行在 TPM 模型下包含 95%单步突变(SMM), 5%的多步突变(IAM), variance 值为 12。对取样位点运行 10000 次重复来测定不同群体是否经历了瓶颈效应。

表 2 大银鱼 18 对引物信息

Tab. 2 The information of 18 pairs of primers of *Protosalanx chinensis*

位点 locus	重复序列 repeat sequence	产物大小/bp produce size	正向引物(5'-3') forward primer sequence (5'-3')	反向引物(5'-3') reverse primer sequence (5'-3')	退火温度/℃ annealing temperature
HLJDYY201	AC ₍₁₀₎	158	ATGTCTTTCTACCCAGGGC	ACTGAGAGCAGAAAGACTGGG	56
HLJDYY203	AA ₍₉₎	135	CTGCCTTGCTGTGTGATGG	AGCTCTGACAACACAGCAGG	56
HLJDYY207	AC ₍₁₄₎	103	AGAATGTGTTCAAGCTCGC	AACACACTCCCTCTGTCACC	55
HLJDYY209	AG ₍₈₎	139	AAATCTGCTCCCGGAGATCG	ACAAGCCTCAATCAGCTCCC	56
HLJDYY211	AC ₍₁₀₎	182	CCTGTACAGTGAAATGGCGG	AAAGAACCACAGAGGGAGCC	56
HLJDYY214	AGC ₍₆₎	157	GCTTTCTCCGTCACATTCATCC	CAGAGACATGAGCGTGAAAGC	56
HLJDYY215	AGG ₍₅₎	100	CATGTTGGTGTGAGGTCGC	CTACATCTTTGTACCCGCGG	57
HLJDYY216	AGG ₍₅₎	123	GAAGTGTGTTGTCGGCGATGG	AACGACATCACTTCCTGGCC	56
HLJDYY217	AAG ₍₅₎	135	TGACCGGCAGAATCTGAAGC	GACACAACATCGCATAGCCG	56
HLJDYY218	AGAGGG ₍₁₀₎	218	GGGTTTACTAGCGTTTTTCTGCC	AAGGTCTGAACACATGGGCC	55
HLJDYY226	ATAGAG ₍₁₀₎	148	CAACCAGCAACAGGAACAGC	AGAGAGAGCGAAAAGGGACG	60
HLJDYY259	AATCCC ₍₉₎	187	ATTCCTCCCCTTATGCCAGC	ACACCCGGAGAGAAAATCACC	56
HLJDYY264	ATACG ₍₆₎	155	CTAAGGACAAGTGAGGCGGG	TGTGCAATGCTGTGCTATGC	54
HLJDYY265	ATCCG ₍₆₎	176	CACGGAGCTCAAAGGAGACC	CTTAGTGAGAGGCAGCCAGG	56
HLJDYY275	ATCTC ₍₇₎	200	TGGGCGTCAGTTTAGTCTGC	CAAGGTCATGTTGGCACAGC	56
HLJDYY282	AATCT ₍₈₎	181	ACAGTAGTTTTATGGCTTGCTCC	TACCCTGCAACTCTGTGTGC	56
HLJDYY285	AATCT ₍₈₎	187	TCATCATTTGGCGAAGTGGC	TACCCTGCAACTCTGTGTGC	58
HLJDYY289	ATATC ₍₉₎	223	CGTGACATTCGTTGCCATGG	AGTCTGATTGGGGTTCGTGC	56

注：“()”内表示重复次数。
Note: The number of repetitions is indicated in "()".

2 结果与分析

2.1 位点多态性与群体遗传多样性

利用 Primer 6 软件对 554609 个微卫星位点进行引物设计,排除掉连续碱基互补、易形成二聚体或发卡结构的引物序列,选取了 200 个重复序列较长的位点进行引物合成,能扩增出清晰稳定条带的引物有 125 对,其中 78 对具有多态性。从中选取 18 对多态性较好的 SSR 引物对 8 个大银鱼水体群体进行 PCR 扩增和毛细电泳,共得到 172 个等位基因(表 3)。每个位点等位基因数(N_a)为 3~24 个,平均值为 9.600 个;有效等位基因数(N_e)为 1.039~4.595,平均值为 2.384; Shannon's 多样性指数(I)为 0.071~1.705,平均值为 0.895;观测杂合度(H_o)为 0.000~0.659,平均值为 0.342;期望杂合度(H_e) 在 0.035 和 0.804 之间,平均值为 0.507;多态信息含量 (PIC)在 0.034 和 0.775 之间,平均值为 0.469,其中 10 个位点 HLJDYY (207、211、215、218、226、259、264、265、275、289)属于高度多态位点(PIC>0.5),4 个位点 HLJDYY (203、216、282、285)为中度多态

位点(0.5>PIC>0.25)。

8 个大银鱼群体中,群体多态位点比例为 83.3%~100%,其中 TH 群体多态位点最多,占 100%,而部分群体在 HLJDYY209、HLJDYY214 和 HLJDYY217 位点表现为纯合基因型(表 4)。4 个水系中,长江 TH 群体 N_a 、 N_e 、 I 、 H_e 、PIC 均高于其他水系群体,遗传多样性最高。乌苏里江 XK 群体 N_a 、 N_e 、 I 、 H_e 、PIC 均低于其他水系群体,遗传多样性最低。嫩江连环湖(LHL)水系群体平均多样性要高于乌苏里江 XK 群体,低于其他两个水系群体。在移植水体群体中,AM 群体遗传多样性最低,NS 群体遗传多样性最高。

2.2 Hardy-Weinberg 平衡估算

对 8 个水体群体通过 18 个标记进行 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 检验,在检测的 144 个数据中,有 63 个表现为极显著偏离平衡($P_{HWE}<0.001$),占所有数据的 43.75%,为极显著杂合子缺失,5 个表现为显著偏离平衡($P_{HWE}<0.003$),占所有数据 3.47% (表 5),为显著杂合子缺失。TH 群体杂合子缺失位点最多(11 个),AM 群体最低(6 个)。

表 3 大银鱼 18 个微卫星标记分析 8 个群体遗传多样性

Tab. 3 Genetic diversity indices of 18 microsatellite DNA markers for the eight populations of *Protosalanx chinensis*

位点 locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Shannon's 指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC
HLJDYY201	7	1.147	0.269	0.117	0.129	0.124
HLJDYY203	9	1.932	0.890	0.427	0.473	0.438
HLJDYY207	14	3.315	1.409	0.652	0.721	0.687
HLJDYY209	3	1.052	0.103	0.013	0.054	0.053
HLJDYY211	8	2.280	0.849	0.406	0.531	0.500
HLJDYY214	3	1.148	0.176	0.011	0.124	0.118
HLJDYY215	5	2.452	0.915	0.000	0.609	0.569
HLJDYY216	5	1.552	0.545	0.000	0.430	0.354
HLJDYY217	2	1.039	0.071	0.000	0.035	0.034
HLJDYY218	7	2.432	0.959	0.399	0.696	0.660
HLJDYY226	20	4.595	1.705	0.416	0.796	0.768
HLJDYY259	12	3.566	1.458	0.409	0.804	0.775
HLJDYY264	13	2.840	1.220	0.380	0.659	0.614
HLJDYY265	12	2.555	1.057	0.500	0.598	0.523
HLJDYY275	9	3.072	1.239	0.635	0.660	0.597
HLJDYY282	10	2.032	0.882	0.525	0.518	0.450
HLJDYY285	9	2.297	0.900	0.659	0.566	0.470
HLJDYY289	24	3.600	1.463	0.603	0.727	0.713
平均 mean	9.6	2.384	0.895	0.342	0.507	0.469

表 4 大银鱼 8 个群体多态性参数

Tab. 4 Genetic diversity parameters of the 8 populations of *Protosalanx chinensis*

群体 population	多态位点比例/% polymorphic site scale	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Shannon's 指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC
那什代 NS	94.4	4.722	2.545	0.947	0.306	0.487	0.440
他拉红 TL	88.9	4.222	2.242	0.859	0.357	0.455	0.409
二八股子 EB	94.4	4.444	2.206	0.877	0.320	0.456	0.413
大龙湖 DL	88.9	4.111	2.349	0.875	0.348	0.460	0.417
阿木塔 AM	83.3	3.389	2.098	0.763	0.323	0.418	0.373
连环湖 LHL	90.8	4.178	2.288	0.864	0.331	0.455	0.410
兴凯湖 XK	88.9	4.056	2.247	0.814	0.328	0.420	0.382
新立城水库 XLC	88.9	4.667	2.612	0.961	0.370	0.471	0.438
太湖 TH	100	5.389	2.770	1.063	0.328	0.508	0.479
平均 mean	91.03	4.375	2.384	0.895	0.335	0.459	0.419

Note: NS: Nashidai; TL: Talahong; EB: Erbaguzi; DL: Dalonghu; AM: Amuta; LHL: Lianhuan Lake; XK: Xingkai Lake; XLC: Xinlicheng Reservoir; TH: Taihu Lake.

2.3 群体间遗传距离与遗传分化

8 个水体种群遗传距离的范围为 0.0251~0.1867 (表 6), 移植群体 XLC 与土著群体 TH 遗传距离最近(0.0593), NS 与 TH 遗传距离最远(0.1867)。移植群体间 TL 和 NS 遗传距离最近(0.0251), XK 和 NS 遗传距离最远(0.1867)。连环湖不同水体群体间 AM 和 NS 遗传距离最远(0.1336)。

群体间遗传分化指数在 0.023~0.273 之间。TH 与 5 个移植水体群体间为中等以上程度的遗传分化($F_{st}>0.05$), 与 XLC 遗传分化很小($F_{st}=0.026<0.05$), 与 TL 群体遗传分化较大($F_{st}=0.190>0.15$)。移植群体中 XLC 和 XK 具有较低的遗传分化($F_{st}=0.023<0.05$), TL 和 NS 具有较低的遗传分化($F_{st}=0.018<0.05$), 其他群体具有中度程度以上的遗传分化。在连环湖不同水体群体间, NS、TL 和

EB 分化程度较低; DL 和 AM 分化程度较低。群体间遗传变异占 15.46%。群体间遗传分化系数分子方差分析(AMOVA)结果表明, 大银鱼群 (F_{st}) 为 0.1546, 具有较大且显著的遗传分化体遗传变异的主要来源为群体内变异(84.54%), ($F_{st}>0.15$)(表 7)。

表 5 大银鱼群体的 Hardy-Weinberg 平衡卡方检验
Tab. 5 Hardy-Weinberg equilibrium chi-square test in *Protosalanx chinensis* populations

位点 locus	群体 population													
	那什代 NS	他拉红 TL	二八股子 EB	大龙虎 DL	阿木塔 AM	兴凯湖 XK	新立城水库 XLC	太湖 TH						
HLJDYY201	0.866	0.003*	0.976	0.585	0.585	0.000**	0.923	0.000**						
HLJDYY203	0.009	0.371	0.990	0.508	0.451	0.239	0.023	0.526						
HLJDYY207	0.489	0.173	0.838	0.001**	0.653	0.000**	0.010	0.000**						
HLJDYY209	0.000**	—	0.000**	0.000**	—	—	—	0.906						
HLJDYY211	0.866	0.230	0.445	0.000**	0.333	0.000**	0.000**	0.000**						
HLJDYY214	0.000**	0.000**	0.000**	—	—	—	—	0.794						
HLJDYY215	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**						
HLJDYY216	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**						
HLJDYY217	—	—	—	—	—	0.000**	0.000**	0.000**						
HLJDYY218	0.376	0.696	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**						
HLJDYY226	0.000**	0.000**	0.000**	0.097	0.000**	0.037	0.000**	0.000**						
HLJDYY259	0.008	0.047	0.008	0.000**	0.000**	0.003*	0.005	0.045						
HLJDYY264	0.000**	0.001**	0.000**	0.001**	0.000**	0.613	0.457	0.511						
HLJDYY265	0.000**	0.998	0.719	0.517	0.398	0.563	0.050	0.000**						
HLJDYY275	0.894	0.470	0.000**	0.849	0.218	0.517	0.046	0.147						
HLJDYY282	0.096	0.000**	0.078	0.584	0.897	0.073	0.994	0.903						
HLJDYY285	0.000**	0.940	0.001**	0.198	0.228	0.000**	0.002*	0.002*						
HLJDYY289	0.000**	0.000**	0.019*	0.190	0.925	0.724	0.711	0.001**						

注: *表示显著偏离平衡($P<0.003$); **表示极显著偏离平衡($P<0.001$); 无标识表示符合平衡; —表示该位点只有 1 个等位基因。
Notes: *. indicates a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.003$); **. indicates very significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.001$); No identification indicates insignificant differences; ‘—’ indicates that there is only one allele at this locus. NS: Nashidai; TL: Talahong; EB: Erbaguzi; DL: Dalonghu; AM: Amuta; LHL: Lianhuan Lake; XK: Xingkai Lake; XLC: Xinlicheng Reservoir; TH: Taihu Lake.

表 6 大银鱼群体间的遗传分化指数和遗传距离
Tab. 6 Matrix of pairwise F_{st} values (above diagonal) and Nei’s genetic distance (below diagonal) between *Protosalanx chinensis* populations

群体 population	那什代 NS	他拉红 TL	二八股子 EB	大龙虎 DL	阿木塔 AM	兴凯湖 XK	新立城水库 XLC	太湖 TH
那什代 NS	****	0.018	0.056	0.141	0.251	0.243	0.232	0.175
他拉红 TL	0.0251	****	0.061	0.144	0.263	0.273	0.256	0.190
二八股子 EB	0.0367	0.0408	****	0.061	0.194	0.214	0.174	0.103
大龙湖 DL	0.0886	0.0825	0.0552	****	0.059	0.164	0.107	0.051
阿木塔 AM	0.1336	0.1267	0.1015	0.0399	****	0.257	0.205	0.144
连环湖 LHL	0.1867	0.1822	0.1685	0.1153	0.1468	****	0.023	0.078
兴凯湖 XK	0.1810	0.1804	0.1400	0.0726	0.1210	0.0469	****	0.026
新立城水库 XLC	0.1841	0.1686	0.1363	0.0806	0.1111	0.0815	0.0593	****

注: 对角线上方为遗传分化指数 F_{st} , 下方为 Nei 氏遗传距离。
Notes: above diagonal. genetic differentiation index F_{st} ; below diagonal. Nei’s genetic distance. NS: Nashidai; TL: Talahong; EB: Erbaguzi; DL: Dalonghu; AM: Amuta; LHL: Lianhuan Lake; XK: Xingkai Lake; XLC: Xinlicheng Reservoir; TH: Taihu Lake.

表 7 基于 18 个微卫星标记分子方差分析结果
Tab. 7 Result of AMOVA based on 18 microsatellites markers

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	总变异百分比/% percentage of variation
群体间 among populations	7	146.683	0.27697V _a	15.46
群体内 within populations	554	838.986	1.51442V _b	84.54
总数 total	561	985.669	1.79139	

2.4 遗传结构分析

对 8 个大银鱼群体进行主成分分析(PCA), 各群体有重叠也有差异, 所有个体大致分为 3 个亚群(图 2): TH 群体、XLC 群体和 XK 群体为一类; DL 和 AM 为一类; NS、TL 和 EB 为一类。依据 Nei 氏遗传距离的 UPGMA 聚类树(图 3), NS 和 TL 聚为一支后与 EB 聚为一支, DL 和 AM 聚为一支, 然后在与前面 3 个群体聚为一大支, XK 与 XLC 聚为一支后与 TH 聚为一支。聚类结果与 PCA 结果基本吻合。

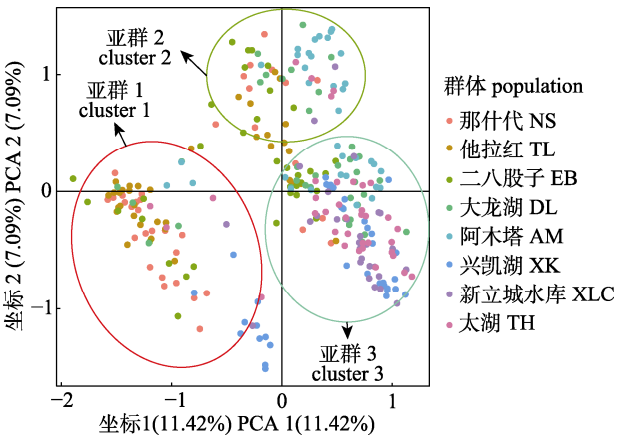


图 2 大银鱼 8 个群体主成分分析图聚类图
Fig. 2 Cluster diagram of principal coordinates analysis for 8 populations of *Protosalanx chinensis*

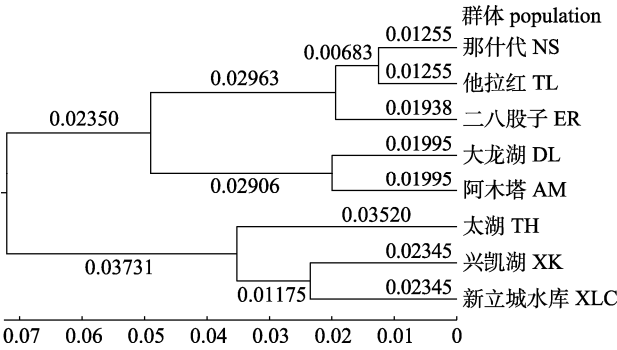


图 3 大银鱼群体基于 Nei 氏遗传距离构建的 UPGMA 聚类图
Fig. 3 UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance among *Protosalanx chinensis* populations

在大银鱼 Structure 分析中, ΔK 随着亚群数 K 的增加而变动, $K=3$ 时, 出现 ΔK 最大值(图 4)。笔者认为 8 个水体群体最有可能分为 3 个亚群。XK 和 XLC 与 TH 群体相似度较高, 推测其主要来自太湖; 连环湖的群体间有交流, 但是也分为两个亚群, NS、TA 和 ER 红色、蓝色均有一定占比, 为一个亚群, 而 DL 和 AM 蓝色占比较高, 为另一个亚群。

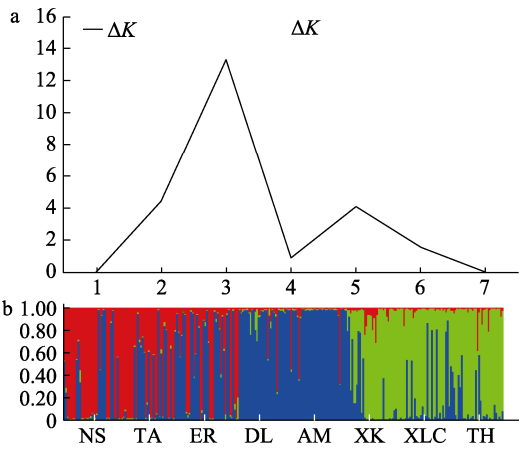


图 4 在 $K=3$ 下, 大银鱼 8 个群体中个体的遗传结构分析
a. ΔK 评估值; b. 当 $K=3$ 时, 8 个大银鱼群体的遗传结构图.
NS: 那什代; TL: 他拉红; EB: 二八股子; DL: 大龙湖;
AM: 阿木塔; LHL: 连环湖; XK: 兴凯湖;
XLC: 新立城水库; TH: 太湖.

Fig. 4 STRUCTURE analysis of individuals from the 8 groups of *Protosalanx chinensis* under $K=3$
a. Evaluation value of ΔK ; b. Under $K=3$, the genetic structure diagram of 8 populations of *P. chinensis*
NS: Nashidai; TL: Talahong; EB: Erbaguzi; DL: Dalonghu;
AM: Amuta; LHL: Lianhuan Lake; XK: Xingkai Lake;
XLC: Xinlicheng Reservoir; TH: Taihu Lake.

2.5 遗传瓶颈分析

根据 BOTTLENECK 分析中的模型偏移指数(表 8), 发现在 TPM 模型下 DL 杂合过量概率($0.0145<0.05$)和 Wilcoxon 检验概率($0.0289<0.05$)均表现为显著水平, AM 杂合过量概率($0.0017<0.01$)和 Wilcoxon 检验概率($0.0034<0.01$)均表现为

表 8 基于 Wilcoxon's 符号秩检验大银鱼群体遗传瓶颈分析

Tab. 8 Genetic bottleneck analysis of *Protosalanx chinensis* population based on Wilcoxon's signed-rank test

	群体 population							
	那什代 NS	他拉红 TL	二八股子 EB	大龙湖 DL	阿木塔 AM	兴凯湖 XK	新立城水库 XLC	太湖 TH
杂合缺失概率 H deficiency	0.9747	0.8388	0.8355	0.9875	0.9987	0.5100	0.3718	0.4493
杂合过量概率 H excess	0.0284*	0.1742	0.1764	0.0145*	0.0017**	0.5100	0.6471	0.5675
Wilcoxon 检验概率 H excess or deficiency	0.0569	0.3484	0.3529	0.0289*	0.0034**	1.0000	0.7436	0.8986

注: *表示具有显著性差异($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$).

Notes: * indicates a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$); ** indicates very significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.01$). NS: Nashidai; TL: Talahong; EB: Erbaguzi; DL: Dalonghu; AM: Amuta; LHL: Lianhuan Lake; XK: Xingkai Lake; XLC: Xinlicheng Reservoir; TH: Taihu Lake.

极显著水平,明显偏离突变-漂移平衡,表明 DL 和 AM 可能经历了最近的遗传瓶颈。

3 讨论

3.1 大银鱼遗传多样性分析

Botstein 等^[31]将 PIC 分为低度多态性位点 ($PIC<0.25$)、中度多态性位点($0.25<PIC\leq 0.5$)和高度多态性位点,本研究所使用的 18 对微卫星引物 PIC 在 0.034~0.775 之间,高度多态性位点($PIC\geq 0.5$)比率为 55.56% (表 3),中度多态性位点比率为 22.22%,说明这些微卫星位点适用于大银鱼群体遗传学研究,多态性高于唐雪梅等^[17]使用的微卫星标记。

H_a 、 H_o 、 H_e 和 I 等参数是反映群体遗传多样性的重要指标^[32-33]。在本研究中,利用 18 个微卫星标记对大银鱼群体的遗传多样性研究表明,所采区域大银鱼整体上呈现中等的遗传多样性水平,与唐雪梅等^[17]报道的连环湖群体结果一致。土著太湖群体杂合度和 Xing 等^[18]结果一致,大银鱼具有较强的环境适应能力,通过人为大范围的移植,使其群体得到了扩张^[4]。本研究中,4 个水系群体多样性由大到小排布为,为长江水系太湖群体、第二松花江水系新立城群体、嫩江水系连环湖群体、乌苏里江水系兴凯湖群体。其中长江水系群体的遗传多样性明显高于其他水系,可能是由于其为土著群体,有更大的栖息地、较大的群体规模和更适宜的生存环境,而移植群体由于奠基者效应导致多样性低于土著群体。嫩江连环湖水系群体多样性要高于乌苏里江兴凯湖群体,低

于松花江新立城水库群体,与鲁翠云等^[12]使用 Cyt b 结果一致。兴凯湖移植大银鱼非直接移植,是由于小兴凯湖泄洪,移植大银鱼部分转移到兴凯湖中^[34]。但转移到兴凯湖中只是移植群体的小部分,而且没有再人为移植,所以兴凯湖大银鱼多样性较低。新立城水库大银鱼移植于太湖,为了保障移植群体保持多样性,新立城水库会引入其他水域受精卵,使得其遗传多样性在移植群体中最高^[35]。连环湖各水体虽然有沟渠连通,但各个水体之间还有闸门控制,因此每个水体都保持相对独立性,导致不同水体大银鱼的遗传多样性不同。Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验结果显示,平衡偏离常数发生较多偏离,可能还是由于奠基者效应引起的。

3.2 基于微卫星的大银鱼群体遗传结构

AMOVA 结果发现,大银鱼群体遗传变异的主要来源为群体内变异(84.54%),群体间遗传变异占 15.46%。群体间遗传分化系数(F_{st})为 0.1546,根据 Wright^[36]提出的遗传分化水平,具有较大显著的遗传分化($F_{st}>0.15$)(表 7)。不同流域之间的遗传分化均较显著,表明大银鱼流域之间的遗传分化表现出较高水平。遗传分化指数反映了基因交流程度,TH 与 XLC 分化程度最低($F_{st}=0.0593$),基因交流最频繁,说明 XLC 种源来自于 TH,人为的频繁引种为基因交流创造了条件。其次 DL 与 TH ($F_{st}=0.0806$),XK 和 TH ($F_{st}=0.0815$)分化较轻,都说明 DL 和 XK 与 TH 交流也较密切。连环湖区域大银鱼整体上呈现出流域分化的格局,连环湖

内部群体 NS、TL 和 EB 分化程度低, 基因交流频繁, 是因为这 3 个水体都位于连环湖上游, 水路联通渠道多, 更易发生基因交流, 且属于一家公司经营, 存在共享受精卵的情况。AM 群体与连环湖上游 3 个水体差异大, 但与 DL 群体差异小, 因为 DL 虽与连环湖水体不连通, 但 DL 和 AM 两湖经营公司间合作紧密, 系互相交换受精卵所致^[37-38]。

基于 PCA 分析结果和基于采样区域间的遗传距离的 UPGMA 聚类分析结果显示, 本研究中大银鱼分化为 3 个亚群: 太湖、新立城水库和兴凯湖组成族群, 那什代、他拉红和二八股子组成族群, 大龙湖和阿木塔组成族群。Structure 分析 8 个水体群体最有可能分为 3 个亚群, 与聚类树与 PCA 结果一致, TH、XLC 和 XK 遗传结构相似, 推测 XLC 和 XK 群体主要来源于 TH; 连环湖中 DL 和 AM 结构有一小部分来源于 TH, 主要来源于中国其他地区某未知种群; NS、TL 和 EB 结构相似, 为两个未知来源大银鱼种群杂交得到, 也有小部分 TH 群体参杂其中。

3.3 基于微卫星的大银鱼群体历史动态

本研究仅用 BOTTLENECK 软件中的 TPM 模型分析大银鱼群体历史动态分析, 因为 TPM 模型更适合分析微卫星位点, 目前已被广泛应用在群体瓶颈效应的检验^[39-40]。李大命等^[11]通过 Cyt b 基因分析江苏地区大银鱼历史动态时发现太湖群体 Tajima's D 和 Fu's Fs 的检测统计检验不显著, 说明种群可能趋于稳定, 高邮湖群体 Tajima's D 和 Fu's Fs 的检测为负值并且统计检验显著, 同时歧点分布检验呈现单峰分布, 可能经历过遗传瓶颈后种群发生迅速扩张。

本研究发现 TH 群体未检测到杂合度过量, 说明群体整体趋于稳定。NS、DL 和 AM 群体检测到杂合度过量。先前的研究表明, 杂合度过量作为群体数量下降的短暂表现, 同时 Wilcoxon 检验显示, DL 和 AM 群体显著突变-漂移平衡, 综上揭示了大银鱼 DL 和 AM 群体可能经历过遗传瓶颈。对于大银鱼移植群体来说移植时间只有 40 年, 历史动态一般反映的都是移植地区原群体状态。DL 和 AM 群体移植地区经历过遗传瓶颈, 根据薛

丹^[41]研究发现土著群体鸭绿江、辽河口和长江口洄游群体经历过遗传瓶颈, 可能引自于这 3 个地区群体。

3.4 基于微卫星的大银鱼群体资源保护策略

大银鱼不仅是我国重要的经济鱼类, 其特殊的机体结构也作为研究鱼类骨骼发育、鱼类适应性进化的研究动物^[42], 具有重要的资源价值。但大银鱼多年来面临巨大的捕捞和环境胁迫压力^[17], 土著大银鱼种群均面临资源衰退的问题。为了防止大银鱼遗传资源衰退, 需要对其种质资源进行保护。大银鱼的两个分支中, 土著组群具有更高的遗传多样性, 移植种群有相对低的遗传多样性, 二者间存在很大的差异。因此, 在对大银鱼种质资源保护时, 应该将土著群体和移植群体定义为两个组群, 作为不同的群体进行保护, 而且嫩江连环湖作为大银鱼的主要产地, 需要更加重点地保护。连环湖地区大银鱼遗传多样性偏低, 但群体内分化较大, 可以在不同水体间引种杂交来增加多样性。同时大银鱼作为环境检测生物, 应该持续监控水体控制水体污染。对于土著群体应该加强栖息地保护, 控制捕捞量, 控制水体污染, 减少人为因素负面影响。

4 结论

本研究采用 SSR 标记对 8 个大银鱼群体的遗传多样性进行分析, 结果表明, 移植的北方群体保持了较好的遗传多样性水平, 并且不同水系群体间存在较显著遗传分化。为防止群体遗传衰退, 需将南方水系土著群体和北方水系移植群体作为不同群体进行保护。连环湖作为大银鱼的主要产地, 需要重点保护。

参考文献:

- [1] Nelson J S. Fishes of the World[M]. The 4th edition. New York: John Wiley and Sons, 2006: 601.
- [2] Zhang J. Biodiversity and conservation of Salangids[J]. Bulletin of Biology, 2008, 43(6): 4-6. [张洁. 银鱼科鱼类及其物种多样性保护[J]. 生物学通报, 2008, 43(6): 4-6.]
- [3] Xie Y H, Xie H. Classification, distribution, and population ecology of Salangidae Fishes[J]. Chinese Journal of Fisheries, 1997, 10(2): 11-19. [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.]

- [4] Tang F J, Gao W Y, Li H Q, et al. Biology and fishery ecology of *Protosalanx chinensis*: A review[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(12): 2100-2111. [唐富江, 高文燕, 李慧琴, 等. 大银鱼生物学与渔业生态学研究进展[J]. 水产学报, 2020, 44(12): 2100-2111.]
- [5] Lu Y L. Research on the industrial development of ethnical autonomous areas from the perspective of rural revitalization[D]. Lanzhou: Northwest Minzu University, 2023. [路楹隆. 乡村振兴视域下杜尔伯特蒙古族自治县产业发展研究[D]. 兰州: 西北民族大学, 2023.]
- [6] Tang F J, Li Z, Li P L. *Protosalanx chinensis* Resources, Ecology, and Fisheries Technology[M]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 2021: 3-4. [唐富江, 李喆, 李培伦. 大银鱼资源、生态与渔业技术[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2021: 3-4.]
- [7] Zeng H Y, Tang F J, Lu W Q, et al. Study on individual fecundity of *Protosalanx chinensis* in Dalong Lake in the lower Nenjiang River[J]. Wetland Science, 2023, 21(3): 449-455. [曾皓宇, 唐富江, 鲁万桥, 等. 嫩江下游大龙湖大银鱼个体繁殖力研究[J]. 湿地科学, 2023, 21(3): 449-455.]
- [8] Tang F J, Liu W, Wang J L, et al. Life-history traits and intra-cohort divergence of clearhead icefish (*Protosalanx chinensis*), indicating cannibalism increased fitness[J]. PeerJ, 2020, 8: e9900.
- [9] Li P L, Lu W Q, Tang F J. Principal component and path analysis of morphological factors of *Protosalanx chinensis* in Dalong Lake, Heilongjiang Province[J]. Wetland Science, 2022, 20(1): 86-93. [李培伦, 鲁万桥, 唐富江. 黑龙江省大龙湖大银鱼形态性状因子主成分和通径分析[J]. 湿地科学, 2022, 20(1): 86-93.]
- [10] Wang Y H, Chen J, Wang H C, et al. Transplantation and proliferation technology of *Protosalanx chinensis* in small and medium-sized reservoirs[J]. Journal of Aquaculture, 2021, 42(9): 56-58. [王煜恒, 陈军, 王会聪, 等. 中小型水库大银鱼移植增殖技术[J]. 水产养殖, 2021, 42(9): 56-58.]
- [11] Li D M, Tang S K, Liu Y S, et al. Genetic diversity and population structure of *Protosalanx hyalocranius* in Jiangsu Province based on *Cyt b* gene sequences[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30(3): 416-425. [李大命, 唐晟凯, 刘燕山, 等. 基于 *Cyt b* 基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(3): 416-425.]
- [12] Lu C Y, Chen X, Na R B, et al. Genetic diversity of clearhead icefish (*Protosalanx hyalocranius*) in lakes and reservoirs of Songnen Plain by *Cyt b* gene[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2020, 33(5): 1-6. [鲁翠云, 陈昕, 那荣滨, 等. 用 *Cyt b* 基因分析松嫩平原湖区湖泊水库大银鱼的遗传多样性[J]. 水产学杂志, 2020, 33(5): 1-6.]
- [13] 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 Dalian Ocean University, 2016, 31(3): 285-289. [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.]
- [14] 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, 2018, 20(10): 2329-2334.
- [15] Yu C C, Zhang W, Xu X Y, et al. Genetic variations among different generations of a breeding population of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) using microsatellite markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(8): 1109-1118. [余成晨, 张伟, 徐晓雁, 等. 草鱼选育群体不同世代遗传变异的微卫星分析[J]. 中国水产科学, 2022, 29(8): 1109-1118.]
- [16] Zhang D, Qiang J, Fu J J, et al. Genetic analysis of five stocks of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) with microsatellite and mitochondrial D-loop sequences[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(9): 1277-1289. [张帝, 强俊, 傅建军, 等. 基于微卫星标记和线粒体 D-loop 序列的 5 个大口黑鲈群体遗传变异分析[J]. 中国水产科学, 2022, 29(9): 1277-1289.]
- [17] Tang X M, Zhou Y F, Fang D A, et al. Development of whole-genome simple sequence repeat markers in *Protosalanx chinensis* and their test in different ecological populations[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2023, 49(3): 413-423. [唐雪梅, 周彦锋, 方弟安, 等. 大银鱼全基因组简单重复序列标记开发及在不同生态型群体中的检验[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2023, 49(3): 413-423.]
- [18] Xing T F, Li Y L, Liu J X. Anthropogenic influences on genetic diversity and differentiation of the clearhead icefish (*Protosalanx hyalocranius*), as revealed by mitochondrial and microsatellite DNA markers[J]. Regional Studies in Marine Science, 2022, 55: 102547.
- [19] Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (volume 2)[M]. The 3rd edition. Huang P T, translated. Beijing: Science Press, 2002: 463-470. [(美)萨姆布鲁克. 分子克隆实验指南(下册)[M]. 第三版. 黄培堂, 译. 北京: 科学出版社, 2002: 463-470.]
- [20] Liu K, Xu D, Li J, et al. Whole genome sequencing of Chinese clearhead icefish, *Protosalanx hyalocranius*[J]. GigaScience, 2017, 6(4): 1-6.
- [21] 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 Eco-

- logy, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [22] 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.
- [23] Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [24] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [25] Hubisz M J, Falush D, Stephens M, et al. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information[J]. Molecular Ecology Resources, 2009, 9(5): 1322-1332.
- [26] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study[J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [27] Jakobsson M, Rosenberg N A. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure[J]. Bioinformatics, 2007, 23(14): 1801-1806.
- [28] Kamvar Z N, Tabima J F, Grünwald N J. Poppr: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction[J]. PeerJ, 2014, 2: e281.
- [29] Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis[M]. New York: Springer, 2009.
- [30] Piry S, Luikart G, Cornuet J M. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data[J]. Journal of Heredity, 1999, 90(4): 502-503.
- [31] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [32] Shete S, Tiwari H, Elston R C. On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value[J]. Theoretical Population Biology, 2000, 57(3): 265-271.
- [33] Waples R S, Gaggiotti O. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity[J]. Molecular Ecology, 2006, 15(6): 1419-1439.
- [34] Lu W Q, Wang J L, Li P L, et al. Current situation and rational utilization of *Protosalanx chinensis* population resources in small Xingkai Lake[J]. Wetland Science, 2020, 18(5): 532-536. [鲁万桥, 王继隆, 李培伦, 等. 小兴凯湖大银鱼种群资源现状与合理利用[J]. 湿地科学, 2020, 18(5): 532-536.]
- [35] Yang Z N, Xia C G, Li Z, et al. Analysis of the development status and prospect of Jilin *Protosalanx chinensis* industry[J]. China Fisheries, 2023, 570(5): 51-53. [杨质楠, 夏长革, 李壮, 等. 吉林大银鱼产业发展现状及前景分析[J]. 中国水产, 2023, 570(5): 51-53.]
- [36] Wright S. Genetical structure of populations[J]. Nature, 1950, 166(4215): 247-249.
- [37] Kong L J, Zou M. Current situation and development suggestions of *Protosalanx chinensis* industry in Heilongjiang Province[J]. Northern Chinese Fisheries, 2013(6): 1-2. [孔令杰, 邹民. 黑龙江省大银鱼产业现状及发展建议[J]. 黑龙江水产, 2013(6): 1-2.]
- [38] Su Y H. Large and medium-sized water ecological fishery development measures of Daqing area[J]. Northern Chinese Fisheries, 2020, 39(6): 5-7. [苏云和. 大庆地区大中型水面生态渔业发展措施[J]. 黑龙江水产, 2020, 39(6): 5-7.]
- [39] Cornuet J M, Luikart G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data[J]. Genetics, 1996, 144(4): 2001-2014.
- [40] Noreña-Silva K L, Rodríguez-Canul R, Améndola-Pimenta M, et al. Microsatellite and mitochondrial DNA based evidence reveals a single horseshoe crab (*Limulus polyphemus*) population on the northern Yucatan Peninsula, Mexico[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2023, 292: 108466.
- [41] Xue D. Genetic diversity of 9 populations of *Protosalanx hyalocranius* in China based on Cyt *b* sequences[D]. Guangzhou: Jinan University, 2015. [薛丹. 基于细胞色素 *b* 的中国 9 个大银鱼群体遗传多样性研究[D]. 广州: 暨南大学, 2015.]
- [42] Zhang J, Qi J W, Shi F L, et al. Insights into the evolution of neoteny from the genome of the Asian icefish *Protosalanx chinensis*[J]. iScience, 2020, 23(7): 101267

Genetic diversity and genetic structure analysis of introduced clearhead icefish (*Protosalanx chinensis*) populations using microsatellite markers

ZHENG Yi^{1,2}, LU Cuiyun^{1,2}, ZHENG Xianhu^{1,2}, NA Rongbin², TANG Fujiang²

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Heilongjiang River Basin, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National and Local Joint Engineering Laboratory of Freshwater Fish Breeding, Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China

Abstract: This study aimed to investigate the genetic structure and variability within the clearhead icefish (*Protosalanx chinensis*) population by developing 18 microsatellite (simple repeat sequence, SSR) primers for population genetic analyses. In total, 281 samples of *P. chinensis* were collected from four water systems and eight water bodies since 2016. The results were as follows: 172 alleles were detected, with an average of 9.6 alleles (N_a) ranging from 3 to 24; the number of effective alleles (N_e) ranged from 1.039 to 4.595, with an average of 2.384; the expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.035 to 0.804, with an average value of 0.507; and the polymorphic information content (PIC) ranged from 0.034 to 0.775, with an average of 0.469. Notably, 10 of these loci exhibited high polymorphism with PIC values exceeding 0.5. Regarding population-level statistics, the average allele number (N_a) of the eight water populations was 3.389–5.389 and the average value was 4.375. The polymorphic information content (PIC) was 0.373–0.479, with an average value of 0.419. Analysis of Molecular Variance (AMOVA) showed that 84.54% of the total variation in *P. chinensis* came from within populations and 15.46% from genetic variation among populations. Additionally, a Principal Component Analysis (PCA) was conducted on eight geographic populations of *P. chinensis*, and all individuals were divided into three subgroups. Nei's genetic distance was employed to construct a UPGMA cluster tree, which classified the eight water bodies into two major branches. Among these, the five water groups of Lianhuan Lake displayed considerable diversity, with Nashidai (NS) and Talahong (TL) forming clusters that subsequently merged with Erbaguzi (EB). Similarly, Dalonghu (DL) and Amuta (AM) grouped, indicating that these five water bodies constituted independent entities within the Lianhuan Lake. Moreover, Xingkai Lake (XK) and Xinlicheng Reservoir (XLC) were grouped, followed by their combination with Taihu Lake (TH) as another unit. Research has shown that the northern population of *P. chinensis* maintains a high level of genetic diversity and exhibits significant genetic differentiation from populations in different water bodies. To safeguard and preserve population diversity, it is imperative to recognize and protect the distinct statuses of both the southern and northern water system populations. In particular, the preservation of Lianhuan Lake, which serves as the primary source of *P. chinensis*, is of paramount importance.

Key words: *Protosalanx chinensis*; Microsatellite; Transplant population; Genetic diversity; Genetic structure

Corresponding author: TANG Fujiang, E-mail: rivery2008@163.com.