

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190419006

http://www.yykxjz.cn/

轩中亚, 姜涛, 刘洪波, 陈修报, 杨健. 基于线粒体 Cyt-b 序列的太湖湖鲚与短颌鲚种群遗传分析. 渔业科学进展, 2020, 41(4): 33-40

Xuan ZY, Jiang T, Liu HB, Chen XB, Yang J. Genetic divergence of *Coilia nasus taihuensis* and *Coilia brachygnathus* populations based on the mitochondrial Cyt-b gene. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(4): 33-40

## 基于线粒体 Cyt-b 序列的太湖湖鲚与短颌鲚种群遗传分析\*

轩中亚<sup>1</sup> 姜涛<sup>2</sup> 刘洪波<sup>2</sup> 陈修报<sup>2</sup> 杨健<sup>1,2①</sup>

(1. 南京农业大学无锡渔业学院 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心  
中国水产科学研究院长江中下游渔业生态环境评价与资源养护重点实验室 无锡 214081)

**摘要** 为了解太湖的湖鲚(*Coilia nasus taihuensis*)与短颌鲚(*Coilia brachygnathus*)的遗传多样性及遗传分化情况,利用线粒体细胞色素 b(Cyt-b)基因,开展了种群遗传学研究。结果显示,47 条序列共有变异位点 26 个,其中,简约信息位点 12 个,共得到 22 个单倍型。两物种间  $F_{st}$  值达 0.703,分化程度较高,种群间的基因流仅为 0.212。湖鲚种群内平均 Kimura 双参数遗传距离为 0.002,短颌鲚种群内为 0.001,而湖鲚与短颌鲚种群间平均 Kimura 双参数遗传距离为 0.005,湖鲚与短颌鲚种群间遗传距离高于湖鲚种群内部遗传距离,也高于短颌鲚种群内部遗传距离。系统发育树和单倍型网络图结果显示,湖鲚与短颌鲚分成 2 个大的类群,但有 1 个湖鲚个体与短颌鲚具有共有单倍型。总体结果显示,湖鲚与短颌鲚之间存在明显的遗传分化,Cyt-b 序列可用于区分湖鲚与短颌鲚个体。

**关键词** 湖鲚; 短颌鲚; Cyt-b; 遗传分化

**中图分类号** Q958.8 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)04-0033-08

鲚属(*Coilia*)隶属于鲱形目、鲱科,是我国常见的经济鱼类。一般认为,我国分布的鲚属鱼类有 4 种,即刀鲚(*C. nasus*)、凤鲚(*C. mystus*)、七丝鲚(*C. grayii*)和短颌鲚(*C. brachygnathus*) (袁传宓等, 1976、1980)。另外,在太湖、巢湖等长江附属湖泊中分布有能自然繁殖的刀鲚定居型群体,袁传宓等(1976)将此群体定为刀鲚的亚种,即太湖湖鲚(*Coilia nasus taihuensis*)。目前,湖鲚为太湖鱼类组成的绝对优势种群(刘恩生等, 2005; 毛志刚等, 2011),关于太湖湖鲚的生长特征(毛志刚等, 2011)、生殖特性(孙雪兴等, 1987)、种群数量变动(刘恩生等, 2005)、食物组成(王银平等, 2016)

等方面已有研究。然而,实际上太湖的鲚属鱼既有上颌骨长度大于头长的个体,也有上颌骨长度小于头长而符合短颌鲚定义(袁传宓等, 1976、1980)的个体,但多数研究者将太湖内的鲚属鱼类都归为太湖湖鲚(唐文乔等, 2007; 许志强等, 2009; 周晓捷等, 2010),只有少数研究者(Yang *et al.*, 2010)在其研究中将太湖中的短颌鲚与湖鲚分别叙述。

基于生化和形态特征(刘文斌等, 1995),线粒体序列(唐文乔等, 2007; 许志强等, 2009; 周晓捷等, 2010; 张凌, 2012),核基因 AFLP 分析(Yang *et al.*, 2010)都得出湖鲚、短颌鲚与刀鲚之间未达到亚种、

\* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2017JBFR02; 2018GH14)和江苏省科技项目(BK20160204)共同资助 [This work was supported by Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund (2017JBFR02; 2018GH14), and Science and Technology Projects of Jiangsu Province (BK20160204)]. 轩中亚, E-mail: 963531709@qq.com

① 通讯作者: 杨健, 研究员, E-mail: jiany@ffrc.cn

收稿日期: 2019-04-19, 收修改稿日期: 2019-05-09

种分化程度的结论,认为湖鲚、短颌鲚都只为刀鲚的淡水生态型。然而,由于湖鲚定义较难界定,在涉及湖鲚的研究中,存在误将太湖中的短颌鲚个体当做湖鲚的可能,进而导致遗传分析结论的客观性存疑。近期,有研究(程方圆等, 2019)开发了可以用来区分短颌鲚与刀鲚、湖鲚与刀鲚的 SNP 位点。然而,对于湖鲚与短颌鲚之间的分化程度和可区分度,仍需进一步研究。

线粒体 DNA(mtDNA)具有母系遗传、结构简单无内含子、缺少重组、进化速率较快的特点(Rosel *et al.*, 2017; DeSalle *et al.*, 2017), 已被广泛用于物种鉴定和遗传多样性研究。其中,线粒体细胞色素 b (Cyt-b) 基因进化速率适中,适合种群水平遗传差异的检测,被广泛应用于水产动物群体遗传多样性和遗传分化研究中(Ma *et al.*, 2011; 李大命等, 2017; 周华兴等, 2019)。本研究室前期的工作中开发了利用鲚属鱼类线粒体序列区分刀鲚、凤鲚、七丝鲚早期生活史个体的方法(孙超等, 2018), 证明了线粒体序列用于判别鲚属鱼类的潜力,为了解湖鲚与短颌鲚之间尤其是共同分布在太湖内的湖鲚与短颌鲚之间的遗传分化程度和可区分度提供了可能。因此,本研究拟通过对太湖区域内同水域存在的湖鲚与短颌鲚 mtDNA Cyt-b 全序列的测定和分析,来尝试评估其遗传多样性,探讨其遗传分化关系,以期为其分化程度的把握、今后资源的区分及相关的保护和开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本采集及 DNA 提取

47 尾活体鲚采自太湖无锡鼋头渚游船码头附近水域渔船的渔获物,立即取少量肌肉组织固定在 95% 的乙醇中,其余鱼体保存在放置了冰盒的便携式采样箱中,带回实验室后均保存在 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱中备用,解剖前测量全长、体重、上颌骨长、头长等数据,并计算上颌骨长/头长的值以区分湖鲚与短颌鲚,上颌骨长/头长低于 1 的为短颌鲚,高于 1 的为湖鲚(袁传宓等, 1976) (表 1)。DNA 提取采用康为世纪生物科技有

限公司的柱式基因提取试剂盒,按照说明书进行操作。提取后的 DNA 溶液在 1.0% 的琼脂糖凝胶上进行电泳,以检测其质量。检测合格后保存在 $-20^{\circ}\text{C}$ 备用。

### 1.2 mtDNA 扩增及测序

参照刀鲚线粒体全基因组序列(Zhao *et al.*, 2016),通过 Primer premier 5.0 软件(Singh *et al.*, 1998)设计引物(F: CAACCAGACCCAAAATCAAT, R: CT TTGGGAGCTAGTGGTGG)用于扩增 Cyt-b 序列,该对引物扩增的区域包括刀鲚 Cyt-b 序列全长及上下游其他基因部分序列,以保证测序结果的准确性。

PCR 扩增反应混合物体系包括: 100 ng DNA 模板, 12.5  $\mu\text{l}$  2 $\times$ Taq Master Mix(康为世纪生物科技有限公司),引物(10 mmol/L)各 0.5  $\mu\text{l}$ ,加蒸馏水至终体积 25  $\mu\text{l}$ 。PCR 反应程序:  $95^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;  $94^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,  $58.1^{\circ}\text{C}$  退火 45 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s,共 30 个循环;最后,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,然后,用上海生工生物工程技术有限公司的 UNIQ-1 柱式 PCR 产物纯化试剂盒进行纯化回收,对产物使用 ABI3730XL 测序仪(天霖生物技术有限公司)进行双向测序。

### 1.3 数据分析

正反序列经过组装后辅以人工校正,得到一致序列,校对后的序列在 GenBank 中进行 BLAST 搜索,确定是目标 Cyt-b 序列。对获得的序列在 BioEdit 软件(<https://bioedit.software.informer.com>)中进行多重比对,检视比对过的结果,手工去除多余的碱基,获得 1141 bp 的 Cyt-b 全序列。从文献中下载刀鲚 Cyt-b 序列(登录号 FJ460629-FJ460640, FJ460669-FJ460680)与本实验获得的湖鲚、短颌鲚共同用于分析系统发育关系。另外,从 GenBank 中下载七丝鲚与凤鲚的 Cyt-b 序列,与本研究所获得的湖鲚与短颌鲚序列进行遗传距离的计算。

由 DnaSP 软件(Rozas *et al.*, 2003)输出单倍型文件,由 Popatr 软件(<http://popart.otago.ac.nz>)构建 median joining network (MJN)以分析单倍型之间的关

表 1 太湖湖鲚与短颌鲚的上颌骨长/头长、全长、体重  
Tab.1 The ratio of the supermaxilla length to head length, total length and body weight in *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus* collected from the Taihu Lake

种类 Species	样本数 Sample size	上颌骨长/头长(范围) Supermaxilla length/head length (range)	全长 Total length (mm)	体重 Body weight (g)
湖鲚 <i>C. nasus taihuensis</i>	33	1.01~1.24	226.56 $\pm$ 19.77	32.25 $\pm$ 11.64
短颌鲚 <i>C. brachygnathus</i>	14	0.90~0.98	242.33 $\pm$ 18.67	40.69 $\pm$ 15.06

系。采用 Arlequin 软件(Excoffier *et al*, 2005)计算两种群间的  $F_{st}$  值, 用以检验种群遗传结构, 通过 10000 次重抽样检验其显著性。MEGA7 软件用于计算基于 Kimura two-parameter(K2P)模型的种间的平均遗传距离和各自种群内部的平均遗传距离(Kumar *et al*, 2016)。通过 DAMBE 软件进行碱基替换的饱和性检验(Xia *et al*, 2001): 基于转换和颠换对 K2P 遗传距离作图分析和指数 ISS 检测, 以检验 Cyt-b 序列是否适合用于分析系统发育关系。以凤鲚、七丝鲚作外类群, 在 MEGA7 软件中计算整体序列的平均遗传距离以判断是否适合邻接法(Neighbor-joining method, NJ)建树, 平均距离计算过程中误差评估采取 Bootstrap 法, 重复次数为 1000 次。基于 K2P 模型采用邻接法构建系统发育树, 各分支的支持率采用 1000 次 Bootstrap 检验。

## 2 结果

测序共得到 47 条序列, 经 BLAST 比对, 确定是目标序列, 比对后使用 BioEdit 软件截取 1141 bp 的 Cyt-b 全序列(序列已提交到 GenBank)。经 DnaSP 软件检测, 共有变异位点 26 个, 其中, 简约信息位点 12 个, 共得到单倍型 22 个。湖鲚具有单倍型 19 个, 其中, 湖鲚特有单倍型 18 个; 短颌鲚中具有单倍型 4 个; 湖鲚与短颌鲚共享 1 个单倍型, 该单倍型对应的 9 个个体中, 有 1 个个体为湖鲚, 其他都是短颌鲚。

根据上颌骨长度与头长之比将样本分为湖鲚与短颌鲚 2 个种群(表 1), 两种群间基于的 Cyt-b 序列的固定指数  $F_{st}$  值达 0.703(表 2), 分化程度较高; 两种群间的基因流仅为 0.212, 显示两种群之间的基因流十分微弱。 $F_{st}$  的值在统计上达到了显著水平( $P < 0.001$ )。

湖鲚和短颌鲚种群内平均 Kimura 双参数遗传距离分别为 0.002 和 0.001, 而湖鲚与短颌鲚种群间平均 Kimura 双参数遗传距离为 0.005, 高于湖鲚和短颌鲚种群内部的平均 Kimura 双参数遗传距离。但湖鲚

与七丝鲚的遗传距离为 0.034, 与凤鲚的遗传距离为 0.086; 短颌鲚与七丝鲚的遗传距离为 0.033, 与凤鲚的遗传距离为 0.085, 远高于湖鲚与短颌鲚之间的遗传距离(表 3)。

表 2 不同种类间的  $F_{st}$  值与基因流  
Tab.2  $F_{st}$  value and gene flow between *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*

	湖鲚 <i>C. nasus taihuensis</i>	短颌鲚 <i>C. brachygnathus</i>
湖鲚 <i>C. nasus taihuensis</i>		0.212
短颌鲚 <i>C. brachygnathus</i>	0.703***	

注: 对角线下方为成对间  $F_{st}$  值, 对角线上方为基因流。  
“\*\*\*”表示  $F_{st}$  的显著水平( $P < 0.001$ )

Note: Under catercorner:  $F_{st}$  between populations; Above catercorner: Gene flow between populations. “\*\*\*” indicates the  $F_{st}$  reaches significant level at  $P < 0.001$

Cyt-b 序列的碱基替代饱和度检验结果显示, 对称的进化树和非对称的进化树其 Iss.c 值均大于 Iss 值, 且差异极显著(双尾检验  $P = 0.0000$ ), 这表明碱基替换未饱和, 适合构建系统进化树。经检验, 整体平均距离为 0.013( $0 < 0.013 < 1$ ), 适合构建 NJ 系统发育树。在 NJ 系统发育树上, 22 个单倍型构成了 2 个大的分支, 其中一个分支的 4 个单倍型中, 3 个为短颌鲚的单倍型, 1 个为湖鲚、短颌鲚的共享单倍型, 另一个分支的 18 个单倍型全部为湖鲚的单倍型(图 1), 两大主要分支之间的支持度达到 100。基于湖鲚与短颌鲚的 Cyt-b 序列构建的单倍型网络图分为截然不同的两部分(图 2), 在 A 部分与 B 部分之间的变异步数较大。A 部分里, 主要是湖鲚的特有单倍型; B 部分里, 1 个湖鲚个体具有该单倍型。从 GenBank 下载的刀鲚单倍型与湖鲚、短颌鲚单倍型共同构建 NJ 系统发育树上, 46 个单倍型仍然构成 2 个大的分支, 其中一个分支上的 4 个单倍型中, 3 个为短颌鲚的单倍型, 1 个为湖鲚、短颌鲚的共享单倍型, 另一个分支上的 42 个单倍型为湖鲚与刀鲚的单倍型, 湖鲚与刀

表 3 湖鲚、短颌鲚与凤鲚种类间及种类内平均 Kimura 双参数遗传距离  
Tab.3 Mean value of the Kimura's two-parameter distance between and within *C. nasus taihuensis*, *C. brachygnathus*, *C. grayii* and *C. mystus*

	湖鲚 <i>C. nasus taihuensis</i>	短颌鲚 <i>C. brachygnathus</i>	七丝鲚 <i>C. grayii</i>	凤鲚 <i>C. mystus</i>
湖鲚 <i>C. nasus taihuensis</i>	0.002±0.001			
短颌鲚 <i>C. brachygnathus</i>	0.005±0.002	0.001±0.000		
七丝鲚 <i>C. grayii</i>	0.034±0.006	0.033±0.006	0.003±0.001	
凤鲚 <i>C. mystus</i>	0.086±0.009	0.085±0.009	0.082±0.009	0.005±0.002

注: 对角线下方为种群间平均遗传距离, 对角线为种群内平均遗传距离

Note: Under catercorner: Genetic distance between populations; On catercorner: Genetic distance within populations

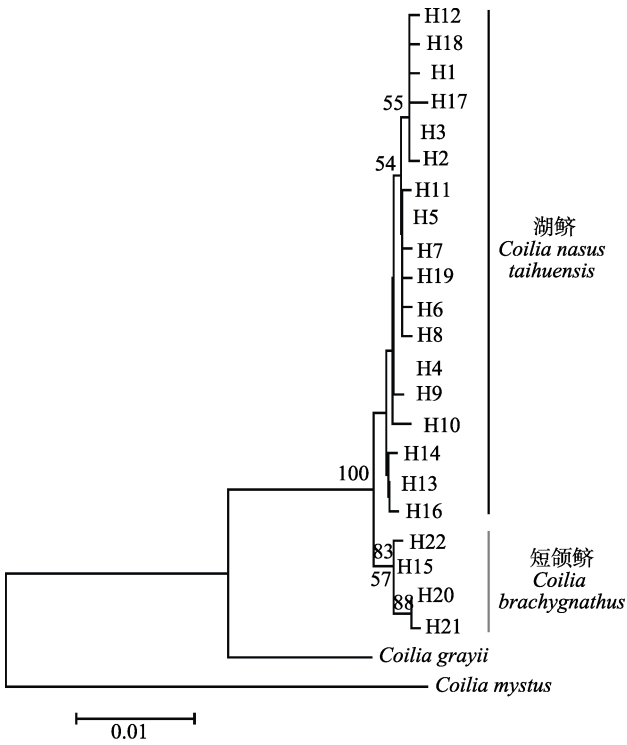


图 1 基于湖鲚、短颌鲚 Cyt-b 基因序列构建的邻接法(NJ)系统进化树

Fig.1 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree of *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus* based on the Cyt-b gene sequences

分支上的数字为自举检验支持率  
Numbers on each branch refer to bootstrap value

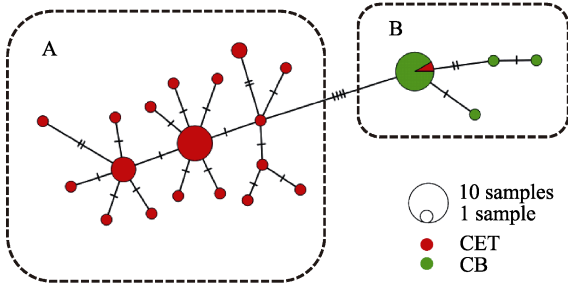


图 2 基于 Cyt-b 单倍型构建的单倍型网络关系图  
Fig.2 The haplotype network diagram constructed based on Cyt-b haplotypes

圆的大小代表单倍型频率，横线代表突变步数  
The size of circles are corresponded to haplotype frequency, the number of vertical bars on the line indicates the steps of substitutions separating two haplotypes

鲚单倍型互相交杂，共同构成一个大的分支(图 3)，两大主要分支之间的支持度达到 99。

### 3 讨论

在本研究中，湖鲚与短颌鲚间的平均遗传距离为

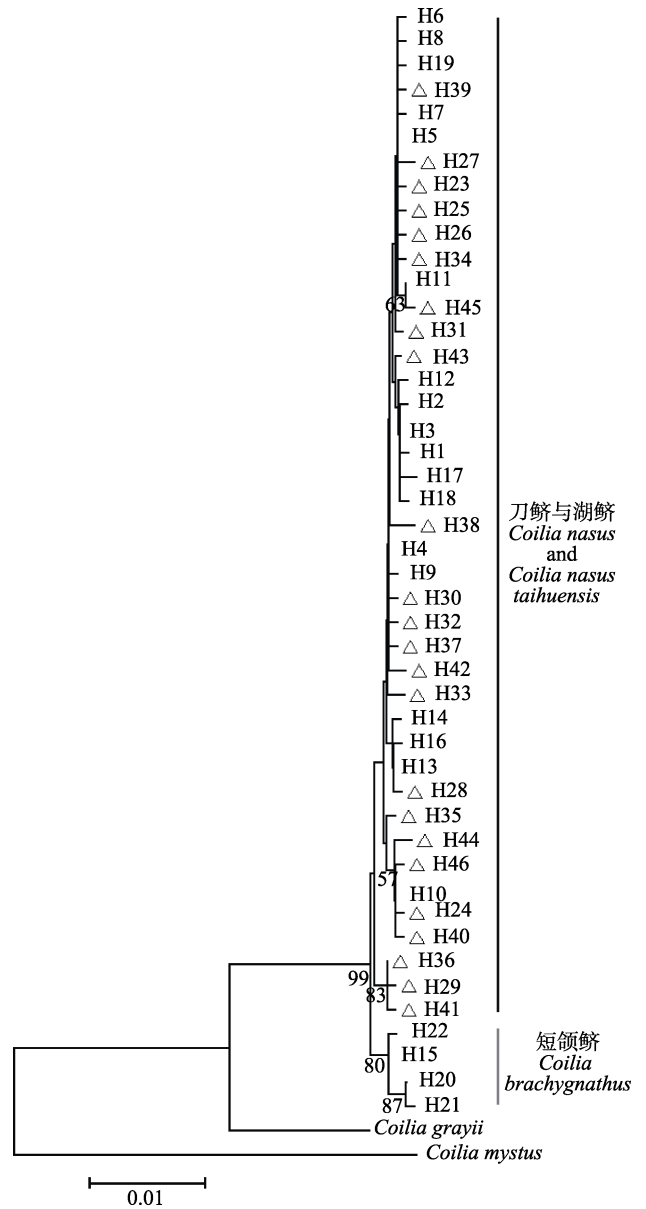


图 3 基于刀鲚、湖鲚、短颌鲚 Cyt-b 基因序列构建的邻接法(NJ)系统进化树

Fig.3 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree of *C. nasus*, *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus* based on the Cyt-b gene sequences

分支上的数字为自举检验支持率，  
△ 表示从 GenBank 上下载的菜鲚 Cyt-b 序列  
Numbers on each branch refer to bootstrap value, △ represents Cyt-b sequences of *C. nasus* downloaded from GenBank

0.005，高于湖鲚、短颌鲚各自内部的平均遗传距离，但远低于湖鲚、短颌鲚分别与凤鲚、七丝鲚之间的遗传距离。这一结果与唐文乔等(2007)、周晓犍等(2010)、张凌(2012)、许志强等(2009)基于线粒体研究得出刀鲚、湖鲚、短颌鲚之间的遗传距离的结果相似。本研究基于 Cyt-b 序列使用 NJ 法得出的系统发生树

及单倍型网络关系图都显示,除1个湖鲚个体具有共享单倍型外,湖鲚与短颌鲚分为截然不同的2个支系,显示了利用该方法进行湖鲚与短颌鲚早期生活史个体区分的潜力。同时,为了进一步验证该方法的可靠性,作者加入了从GenBank上下载到的刀鲚Cyt-b单倍型序列,发现湖鲚与刀鲚构成一个大的支系,且相互混在一起,而短颌鲚构成另一个大的支系(图3),表明了该方法的可靠性。袁传宓等(1976)指出,湖鲚为“定居型刀鲚”,并指出刀鲚上颌骨长超过头长,短颌鲚上颌骨较短一般不超过头长。在本研究中,湖鲚(上颌骨长/头长 $>1$ )与刀鲚的单倍型聚在一起,相互混杂,显示刀鲚与湖鲚之间缺乏遗传分化,为湖鲚是“定居型刀鲚”的观点提供了证据。另外,王倩等(2017)等基于大量单拷贝核基因SNP分析了长江刀鲚与洞庭湖短颌鲚,证明刀鲚、短颌鲚之间具有明显的遗传分化,已经达到了种间分化的程度。那么湖鲚作为定居型的刀鲚,与短颌鲚之间也应该具有遗传分化,而本研究的结果证实了这一点。本研究中,湖鲚与短颌鲚分为截然不同两支系的情况与前人研究有所不同。在唐文乔等(2007)、周晓犊等(2010)、张凌(2012)的研究中,仅指出其研究中湖鲚的采样地点为太湖、巢湖,未对上颌骨长/头长进行描述。许志强等(2009)的研究中报道了湖鲚样本的上颌骨长/头长范围为0.882~1.133,显示这批样本中有部分个体的上颌骨长是小于头长的。同样,袁传宓等(1980)研究也发现,太湖中同时存在上颌骨长/头长 $>1$ 、上颌骨长/头长 $<1$ 两种形态的鲚鱼。那么,在上述的遗传分析中,很可能有将湖中的短颌鲚当作湖鲚分析的情况,由此得出的短颌鲚与湖鲚遗传上不能区分的结果显然不够可靠。本研究在区分上颌骨长/头长比率这一形态差异的基础上进行的遗传分析发现形态差异与遗传差异具有良好对应关系,即上颌骨长/头长 $>1$ 的湖鲚与上颌骨长/头长 $<1$ 的短颌鲚之间是具有明显遗传分化的。因此,建议在今后关于湖鲚的研究中明确湖鲚的定义,即湖鲚为定居型刀鲚,避免将同一湖泊内共存的湖鲚与短颌鲚混淆。同时,湖鲚与短颌鲚的形态型与Cyt-b遗传型之间良好的对应关系,显示了Cyt-b序列在区分形态上难以区分的湖鲚与短颌鲚的卵及仔稚鱼等早期生活史个体方面的应用潜力。

本研究结果显示,湖鲚与短颌鲚之间的固定系数 $F_{st}$ 达0.703,基因流为0.212。Wright(1965)提出的遗传分化范围( $F_{st}<0.05$ ,低度分化; $0.05<F_{st}<0.15$ ,中度分化; $F_{st}>0.15$ ,分化程度较高; $F_{st}>0.25$ ,分化程度极大),在群体遗传研究中得到广泛应用(Bracken *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2018; 黄镇宇等, 2019)。该参数

显示,湖鲚与短颌鲚的分化程度已经达到极大。当不同种群间的基因交流越充分,其遗传分化就越小,当 $N_m<1$ 时,意味着基因流不足以维持遗传匀质化,遗传漂变会导致遗传分化(Slatkin *et al.*, 1987)。本研究得到的湖鲚与短颌鲚间的线粒体基因流为0.212,显示其基因流已不足以维持遗传匀质化,遗传漂变等因素会导致湖鲚与短颌鲚进一步分化。湖鲚与短颌鲚之间遗传距离低于湖鲚与凤鲚、短颌鲚与凤鲚之间的种间遗传距离,这种情况在一些其他属中也比较常见。例如,在北美鲱科(Clupeidae)、西鲱属(*Alosa*)中,*Alosa alabamiae*与*A. sapidissima*之间的净核苷酸差异(0.0042),远小于它们分别与其他西鲱属物种间的差异(0.0329~0.0936)(Bowen *et al.*, 2008);在蝠鲼科(Mobulidae)中*Manta alfredi*和*M. birostris*间的遗传距离(0.00313~0.00681)也远小于它们分别与属内其他物种间的遗传距离(0.02992~0.13198),研究者认为这是由于其分化的时间比起属内其他物种的分化时间短(Kashiwagi *et al.*, 2012)。Nei(2013)提出,在遗传距离较小时,遗传距离与分化时间近似成线性关系。苏思博等(2019)基于Cyt-b序列发现,黑锦蛇(*Elaphe schrenckii*)和赤峰锦蛇(*Elaphe anomala*)各自的少部分群体之间存在 $F_{st}$ 值显示分化极大而遗传距离极小,并认为这可能是由于种群处于分化早期,单倍型之间的关系较近,因此,种群间遗传距离较低,但各种群间单倍型的频率差异造成了 $F_{st}$ 值较高,也可能与所采集样本分布不均匀有关。与之类似,湖鲚与短颌鲚之间遗传距离较低,而 $F_{st}$ 值较高的原因可能就是它们之间的分化时间较短,还没有积累足够多的变异位点,但两种群间的单倍型分布已经有了极大变化,从而导致 $F_{st}$ 值较高。当然,也不能完全排除采样不均的可能性。

本研究中湖鲚与短颌鲚之间存在的共享单倍型应该是不完全谱系分选或渐渗杂交的结果。Avise等(2000)提出,物种形成初期的物种首先形成一个复系的类群,之后会演化成并系的类群,最终形成互为单系的簇,湖鲚、短颌鲚之间尚未达到单系,表明它们之间的分化可能仍处于较早的阶段,相同的祖先单倍型仍残留在不同的种群中,最终可能会在遗传漂变等因素的作用下,共享单倍型在其中一个种群中固定下来,成为其特有单倍型(Funk *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2012),本研究共有单倍型较低的出现频率也暗示了这一点。除了不完全谱系分选,渐渗杂交也可能是共享单倍型出现的原因(Rapson *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2018)。因此,对湖鲚与短颌鲚之间的共有单倍型,另一个可能的解释就是湖鲚与短颌鲚之前已经分化

为 2 个不同的支系,但仍存在杂交的潜力,发生过渐渗杂交。湖鲚与短颌鲚都属于淡水定居生态型,具有类似的形态和生态特征,并且在太湖中处于陆封状态,产卵时间、产卵场所都具有较大重叠(袁传宓等, 1976)。然而,湖鲚与短颌鲚之间较高的遗传分化、较低的基因流显示它们之间的基因交流程度很低。这似乎显示了湖鲚与短颌鲚之间存在生殖隔离,正是这种生殖隔离机制阻止了湖鲚与短颌鲚之间自由交配,维持了形态与谱系之间的对应关系。而对于这种生殖隔离的程度与机制,目前的数据还不能精确得出结论,尚需进一步的研究核基因及其生态特征以获得更多的信息。

本研究结果显示,太湖中同域存在的湖鲚与短颌鲚种群之间具有高度的遗传分化,种群间基因流微弱;除少数共享单倍型外,在系统发育树上形成相互独立的支系。这就相应提示研究者,在今后进行相关研究时,宜注意区别对待湖鲚与短颌鲚个体。同时,也为湖鲚与短颌鲚早期生活史个体的判别提供了一种相对可靠的方法。当然,要更准确全面地了解湖鲚与短颌鲚的精细遗传结构和更准确的判别方法,尚需要进一步扩大采样范围,并应用其他线粒体、微卫星等分子标记,进一步开展深入的分析探索。

## 参 考 文 献

- Avisé JC. Phylogeography: The history and formation of species. Cambridge, Massachusetts, London: Harvard University Press, 2000
- Bowen BR, Kreiser BR, Mickle PF, *et al.* Phylogenetic relationships among North American *Alosa* species (Clupeidae). *Journal of Fish Biology*, 2008, 72(5): 1188–1201
- Bracken FSA, Hoelzel AR, Hume JB, *et al.* Contrasting population genetic structure among freshwater-resident and anadromous lampreys: The role of demographic history, differential dispersal and anthropogenic barriers to movement. *Molecular Ecology*, 2015, 24(6): 1188–1204
- Cheng FY, Tao ZY, Li CH. Species identification of *Coilia brachygnathus*, *C. nasus* and *C. nasus taihuensis* with SNP markers. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(1): 10–18 [程方圆, 陶紫玉, 李晨虹. 应用单核苷酸多态性 (SNP) 标记鉴定短颌鲚、湖鲚和刀鲚. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(1): 10–18]
- DeSalle R, Schierwater B, Hadrys H. MtDNA: The small workhorse of evolutionary studies. *Frontiers in Bioscience, Landmark*, 2017, 22: 873–887
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 2005, 1(4A): 47–50
- Funk DJ, Omland KE. Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2003, 34(1): 397–423
- Huang ZY, Zhang Q, Lu LF, *et al.* Genetic diversity of *Liza affinis* in coastal waters of China deduced from mitochondrial *CO I* sequences. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(1): 46–52 [黄镇宇, 章群, 卢丽锋, 等. 基于线粒体 *CO I* 序列的中国前鳞遗传多样性分析. *渔业科学进展*, 2019, 40(1): 46–52]
- Kashiwagi T, Marshall AD, Bennett MB, *et al.* The genetic signature of recent speciation in manta rays (*Manta alfredi* and *M. birostris*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, 64(1): 212–218
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870
- Li DM, Li K, Zhang TQ, *et al.* Genetic polymorphism analysis of *Cyrb* and *CO I* gene sequences of *Protosalanx hyalocranius* in the Hongze Lake. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(6): 25–31 [李大命, 李康, 张彤晴, 等. 洪泽湖大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*) *Cyrb* 和 *CO I* 基因序列多态性分析. *渔业科学进展*, 2017, 38(6): 25–31]
- Liu ES, Liu ZW, Chen WM, *et al.* A study on the change of lake anchovy (*Coilia ectenes taihuensis* yen et lin) catches and its mutual relationship to the biological environment in Lake Taihu. *Journal of Lake Sciences*, 2005, 17(4): 340–345 [刘恩生, 刘正文, 陈伟民, 等. 太湖湖鲚渔获量变化与生物环境间相互关系. *湖泊科学*, 2005, 17(4): 340–345]
- Liu WB. Biochemical and morphological comparison and interspecific relationships of four species of the genus *Coilia* in China. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1995, 26(5): 558–565 [刘文斌. 中国鲚属 4 种鱼的生化和形态比较及其系统发育的研究. *海洋与湖沼*, 1995, 26(5): 558–565]
- Ma C, Cheng Q, Zhang Q, *et al.* Genetic variation of *Coilia ectenes*, (Clupeiformes: Engraulidae) revealed by the complete cytochrome b, sequences of mitochondrial DNA. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2010, 385(1): 14–19
- Mao ZG, Gu XH, Zeng QF, *et al.* Community structure and diversity of fish in Lake Taihu. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 30(12): 2836–2842 [毛志刚, 谷孝鸿, 曾庆飞, 等. 太湖鱼类群落结构及多样性. *生态学杂志*, 2011, 30(12): 2836–2842]
- Nei M. Genetic distance. In: *Encyclopedia of genetics*. Amsterdam: Academic Press, 2013, 248–250
- Rapson SA, Goldizen AW, Seddon JM. Species boundaries and possible hybridization between the black mongoose (*Galerella nigrata*) and the slender mongoose (*Galerella sanguinea*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, 65(3): 831–839
- Rosel PE, Taylor BL, Hancock-Hanser BL, *et al.* A review of molecular genetic markers and analytical approaches that

- have been used for delimiting marine mammal subspecies and species. *Marine Mammal Science*, 2017, 33(S1): 56–75
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, *et al.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 2003, 19(18): 2496–2497
- Singh VK, Mangalam AK, Dwivedi S, *et al.* Primer premier: Program for design of degenerate primers from a protein sequence. *Biotechniques*, 1998, 24(2): 318–319
- Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 1987, 236(4803): 787–792
- Su SB, Huang S, Dong BJ. Sequence polymorphism and genetic diversity of *Elaphe schrenckii* and *Elaphe anomala* in northeast three provinces based on Cyt b gene. *Journal of Changchun Normal University*, 2019, 38(4): 76–86 [苏思博, 黄松, 董丙君. 东北三省棕黑锦蛇(*Elaphe schrenckii*)与赤峰锦蛇(*Elaphe anomala*)基于 Cyt b 基因的序列多态性及遗传多样性. 长春师范大学学报, 2019, 38(4): 76–86]
- Sun C, Liu HB, Jiang T, *et al.* Comparison of D-loop and cytochrome b sequences among different *Coilia* species and their potential analysis on identification of the species at early life stages. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(5): 27–35 [孙超, 刘洪波, 姜涛, 等. 不同鲚属鱼类 Cyt b 和 D-loop 序列的比较及其判别早期生活史个体的潜力分析. 渔业科学进展, 2018, 39(5): 27–35]
- Sun XX. A study of breeding characteristics of the lake anchovy, *Coilia ectens taihuensis* (yuan et lin) in Taihu Lake. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1987(2): 91–97 [孙雪兴. 太湖湖鲚生殖特性. 海洋湖沼通报, 1987(2): 91–97]
- Tang QY, Liu SQ, Yu D, *et al.* Mitochondrial capture and incomplete lineage sorting in the diversification of balitorine loaches (Cypriniformes, Balitoridae) revealed by mitochondrial and nuclear genes. *Zoologica Scripta*, 2012, 41(3): 233–247
- Tang WQ, Hu XL, Yang JQ. Species validities of *Coilia brachygnathus* and *C. nasus taihuensis* based on sequence variations of complete mtDNA control region. *Biodiversity Science*, 2007, 15(3): 224–231 [唐文乔, 胡雪莲, 杨金权. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性. 生物多样性, 2007, 15(3): 224–231]
- Wang Q, Cheng F Y, Li C H. Developing SNP markers for *Coilia* and its application in species delimitation. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2017, 26(1): 8–16 [王倩, 程方圆, 李晨虹. 鲚属单核苷酸多态性位点(SNPs)标记开发及在物种界定中的应用初探. 上海海洋大学学报, 2017, 26(1): 8–16]
- Wang YP, Gu XH, Zeng QF, *et al.* Seasonal variations in the diet composition of *Coilia ectenes taihuensis* in different ecotypes of Lake Taihu. *Journal of Lake Sciences*, 2016, 28(5): 1078–1085 [王银平, 谷孝鸿, 曾庆飞, 等. 太湖不同生态型湖区湖鲚(*Coilia ectenes taihuensis*)食物组成及其季节变化. 湖泊科学, 2016, 28(5): 1078–1085]
- Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 1965, 19(3): 395–420
- Xia X, Xie Z. DAMBE: Software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity*, 2001, 30(7): 1720–1728
- Xu ZQ, Ge JC, Huang C, *et al.* Taxonomy of shortjaw tapertail anchovy *Coilia brachygnathus* by jaw length and mitochondrial Cytochrome b gene analysis. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(3): 242–246 [许志强, 葛家春, 黄成, 等. 基于颌骨长度和线粒体 Cytb 序列变异探讨短颌鲚的分类地位. 大连海洋大学学报, 2009, 24(3): 242–246]
- Yang QL, Han ZQ, Sun DR, *et al.* Genetics and phylogeny of genus *Coilia* in China based on AFLP markers. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2010, 28(4): 795–801
- Yuan CM, Lin JB, Qin AL, *et al.* On the classification history and status quo of genus *Coilia* in China. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 1976(2): 1–12 [袁传宓, 林金榜, 秦安龄, 等. 关于我国鲚属鱼类分类的历史和现状—兼谈改造旧鱼类分类学的几点体会. 南京大学学报(自然科学版), 1976(2): 1–12]
- Yuan CM, Qin AL, Liu RH, *et al.* On the classification of the anchovies, *Coilia*, from the lower Yangtze River and the southeast coast of China. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 1980(3): 67–82 [袁传宓, 秦安龄, 刘仁华, 等. 关于长江中下游及东南沿海各省的鲚属鱼类种下分类的探讨. 南京大学学报(自然科学版), 1980(3): 67–82]
- Zhang L. The species validity analysis of *Coilia brachygnathus* and *Coilia nasus taihuensis* based on the mitochondrial 12S rRNA genes sequences data. *Journal of Chaohu College*, 2012, 14(6): 55–58 [张凌. 基于线粒体 12S rRNA 基因序列探讨湖鲚、短颌鲚物种有效性. 巢湖学院学报, 2012, 14(6): 55–58]
- Zhang Q, Hu W, Zhou T, *et al.* Interspecies introgressive hybridization in spiny frogs *Quasipaa* (Family Dicroglossidae) revealed by analyses on multiple mitochondrial and nuclear genes. *Ecology and Evolution*, 2018, 8(2): 1260–1270
- Zhao L, Zhao Y, Zhang N, *et al.* The complete mitogenome of *Coilia nasus* (Clupeiformes, Engraulidae) from Poyang Lake. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 2016, 27(3): 1608–1609
- Zhou HX, Hu YT, Duan GQ, *et al.* Population genetic analyses of *Acrossocheilus wenchowensis* in Xin'an Basin based on the mitochondrial DNA cytochrome b gene. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(2): 43–50 [周华兴, 胡玉婷, 段国庆, 等. 基于线粒体细胞色素 b 基因序列的新安江流域温州光唇鱼群体遗传研究. 渔业科学进展, 2019, 40(2): 43–50]
- Zhou XD, Yang JQ, Tang WQ, *et al.* Species validities analyses of Chinese *Coilia* fishes based on mtDNA COI barcoding. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2010, 35(4): 819–826 [周晓捷, 杨金权, 唐文乔, 等. 基于线粒体 COI 基因 DNA 条形码的中国鲚属物种有效性分析. 动物分类学报, 2010, 35(4):

819–826]

Zhou Y, Lei Y, Lu Y, *et al.* Population genetics of a Chinese endemic, *Gymnocypris potanini*, Herzenstein, threatened by

population isolation: Conflicting patterns between microsatellites and mitochondrial DNA. *Hydrobiologia*, 2018, 1–15

(编辑 冯小花)

## Genetic Divergence of *Coilia nasus taihuensis* and *Coilia brachygnathus* Populations Based on the Mitochondrial Cyt-b Gene

XUAN Zhongya<sup>1</sup>, JIANG Tao<sup>2</sup>, LIU Hongbo<sup>2</sup>, CHEN Xiubao<sup>2</sup>, YANG Jian<sup>1,2</sup>①

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081; 2. Key Laboratory of Fishery Eco-Environment Assessment and Resource Conservation in Middle and Lower Reaches of the Yangtze River, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081)

**Abstract** *Coilia nasus taihuensis* has become a dominant species of fish in Taihu Lake, China. However, *C. nasus taihuensis* is often confused with *C. brachygnathus*, and identification problems still exist today. The fish with length ratio of supermaxilla/head > 1 are believed to be the former species, while those with length ratio of supermaxilla/head < 1 are believed to be the latter. As previous studies have classified all of the *Coilia* fish in Taihu Lake as *C. nasus taihuensis*, there are doubts about the accuracy of the results of these studies on genetic differentiation between *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*. In light of the above information, we have used morphological features to distinguish between *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*, determined genetic divergences among the two putative species, and tested whether the Cyt-b sequence can identify unknown individuals at early life stages between *C. brachygnathus* and *C. nasus taihuensis*. In the present study, we have determined the genetic diversity, genetic structure, genetic divergence, and population demographic history between the two phenotypes of *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*, using the mitochondrial Cyt-b gene. A total of 22 haplotypes were found among 47 sequences of the Cyt-b gene, from the 33 individuals of *C. nasus taihuensis* and 14 individuals of *C. brachygnathus*. The results showed that 26 polymorphic nucleotide sites were detected among all of the Cyt-b sequences, including 12 parsimony-informative sites. The value of Kimura's two-parameter distance for *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus* was 0.002 and 0.001, respectively. Moreover, the value of Kimura's two-parameter distance among *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*, was 0.005. This situation means that the genetic divergence among the two putative species was higher than that within each species.  $F_{st}$  analysis showed a significantly higher level of genetic variance among the two putative species ( $F_{st}=0.703$ ,  $P\leq 0.001$ ). The gene flow between the two putative species was 0.212, lower than 1, and suggesting that the two phenotypes had almost no gene exchange. Additionally, two distinct clades were detected by phylogenetic analysis, and they were for *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*, respectively. A haplotype was shared by these phenotypes. Furthermore, the median-joining network produced was similar to the topology of the phylogenetic tree. In summary, mtDNA analysis of this study revealed that there were significant genetic divergences between *C. nasus taihuensis* and *C. brachygnathus*, the gene flow between them was weak, and two distinct clades could be detected by phylogenetic analysis, and the Cyt-b sequence could be used to differentiate at early life stages between *C. brachygnathus* and *C. nasus taihuensis*.

**Key words** *Coilia nasus taihuensis*; *Coilia brachygnathus*; Cyt-b; Genetic divergence

① Corresponding author: YANG Jian, E-mail: jiany@ffrc.cn