三峡库区短颌鲚(*Coilia brachygnathus*)新建种群的年龄结构、生长特征及遗传多样性分析*

陈辙聿[1] 陶怡曦[1] 叶 勤[3] 王 果[1] 王文波[1]
范士琦[1] 何 春[1] 李 云[1, 2①]

(1. 西南大学水产学院 重庆三峡生态渔业产业技术研究院 重庆 400715; 2. 西南大学淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室 重庆市水产科学重点实验室 重庆 400715; 3. 西南大学化学化工学院 重庆 400715)

摘要 2019~2020 年在三峡库区巫山(WS)、万州(WZ)、丰都(FD)、涪陵(FL) 4 个采样点采集到新建短颌鲚(*Coilia brachygnathus*)种群 153 尾个体, 基于鳞片和 10 个微卫星 DNA 标记进行年龄结构、生长特征与遗传多样性分析。结果显示, 短颌鲚种群体长分布范围为 102.1~301.6 mm, 平均体长(196.6±40.0) mm; 体重分布范围为 1.90~79.70 g, 平均体重(17.70±13.06) g。短颌鲚种群年龄组为 1~5 龄, 其中 2 龄和 3 龄为优势年龄组, 占总个体数的 82.35%。体长-体重呈幂函数指数关系, 属于正异速生长类型。微卫星 DNA 标记分析结果显示, 10 个微卫星位点共检测到 82 个等位基因, 各群体平均等位基因数(N_a)为 5.600 0~7.300 0, 平均有效等位基因数(N_e)为 3.541 4~3.831 5, 平均观测杂合度(H_o)为 0.617 7~0.700 0, 平均期望杂合度(H_e)为 0.682 3~0.702 9 之间, 平均多态信息含量(PIC)为 0.628 5~0.648 4。4 个群体的遗传多样性水平均较高, 呈现出由三峡库区下游至上游逐渐减小的特点。遗传结构分析结果显示, 群体间遗传分化水平很低, 遗传变异主要来源于个体内部。结果表明, 三峡库区短颌鲚种群处于快速扩张阶段, 4 个群体均具有较丰富的遗传多样性, 遗传结构未发生显著群体分化, 群体间基因交流频繁。由此提示, 三峡库区短颌鲚很可能来源于三峡大坝下种群扩张迁入三峡库区水域而繁殖建群。

关键词 短颌鲚; 三峡水库; 年龄; 生长; 微卫星 DNA; 遗传多样性; 新建种群
中图分类号 Q953; Q958; S965 doi: 10.11693/hyhz20210900217

短颌鲚(*Coilia brachygnathus*)隶属鲱形目(Clupeiforms)、鳀科(Engraulidae)、鲚属(*Coilia*), 在长江流域主要分布在中下游地区。过去曾将短颌鲚视为洄游型刀鲚的淡水生态型种群(郭弘艺等, 2010; 周晓犊等, 2010), 最近有研究认为两者间分化显著, 互为有效种(Cheng *et al*, 2019; Xuan *et al*, 2021)。在淡水生态系统中, 短颌鲚承接着食物网的上下级, 以浮游动物、虾及小型鱼类为食, 同时又是大型食鱼性鱼类的食物, 对维持生态系统稳定起关键作用(Zhang *et al*, 2013)。2014~2018 年, 课题组在长江上游三峡库区巫山江段采集到 24 尾短颌鲚个体(Yang *et al*, 2019), 2019~2020 年, 我们在三峡库区采集到 153 尾短颌鲚个体。依据历史文献, 长江上游地区无鲚属鱼类分布的记录, 库区发现的短颌鲚群体应该是长江上游的新建种群。短短数年时间, 短颌鲚种群规模不断扩张, 目前已成为三峡水库常见鱼类。

目前, 关于短颌鲚的报道大多集中在物种有效性(Yang *et al*, 2010; 姜涛等, 2020)、生活史(徐钢春等, 2014; 陈婷婷等, 2016)、生理学(范海霞等, 2016)和资源现状(胡茂林等, 2011)上。先前有研究报道了长江水

* 重庆市农业农村委员会增殖放流效果评价项目, JQCG2020-20 号; 重庆市农业农村委员会生态渔产业技术体系岗位专家项目, 4322000101 号。陈辙聿, 硕士研究生, E-mail: czy77777@email.swu.edu.cn
① 通信作者: 李 云, 博士生导师, 教授, E-mail: aquatics@swu.edu.cn
收稿日期: 2021-09-22, 收修改稿日期: 2021-11-29

系短颌鲚种群的年龄组成(王旭歌等, 2016)、生长特征(Qin *et al*, 2017)和遗传参数(汪焕等, 2020; 轩中亚等, 2020)等, 但这些研究的样品均采自长江中下游水域, 无法反映上游新出现短颌鲚种群的种质资源现状。微卫星 DNA 标记(simple sequence repeat, SSR)属共显性标记, 具有多态性高、重复稳定性好等特点, 已被广泛应用于水生野生生物群体间的遗传多样性比较和群体发展趋势研究。马克异等(2011)运用 10 个微卫星位点对钱塘江流域的野生日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)群体进行研究, 发现新安江电站和富春江电站的阻隔已使钱塘江上游和中下游的日本沼虾群体分化为 2 个种群, 且中下游水域日本沼虾的遗传多样性有高于上游的趋势。Zhang 等(2010)通过 11 个微卫星位点对长江干流和支流雅砻江的圆口铜鱼(*Coreius guichenoti*)群体进行研究, 发现二滩水电站、三峡水电站和葛洲坝水电站的阻隔可能加快了圆口铜鱼群体间的分化。

为探究长江上游新建短颌鲚种群的来源, 推测其未来发展趋势, 本研究对三峡库区采集到短颌鲚个体的年龄结构、生长特征进行研究, 通过微卫星 DNA 标记分析三峡库区野生短颌鲚种群的遗传多样性, 探讨种群遗传结构, 以期为三峡库区水生生态系统演变和长江上游短颌鲚资源生物学研究与保护提供基础数据。

1　材料与方法

1.1　样本采集

短颌鲚各采样点详细信息如表 1 所示。2019~2020 年, 在三峡库区共采集到 153 尾短颌鲚个体。使用量鱼板和电子天平分别测量短颌鲚体长 L (精确至 0.1 mm)和体重 W (精确至 0.01 g), 取背鳍基部下方鳞片作为年龄鉴定材料, 并剪取背鳍下方肌肉于 95%乙醇中保存备用。

表 1　四个短颌鲚群体采样信息

Tab.1　*C. brachygnathus* sampling information in four sampling sites

采样点	缩写	纬度(N)	经度(E)	个体数	体长范围/mm
涪陵	FL	29°42′46″	107°24′11″	19	172.1~283.4
丰都	FD	29°53′19″	107°44′35″	14	134.9~235.5
万州	WZ	30°49′07″	108°23′24″	55	102.1~289.0
巫山	WS	31°04′11″	109°52′55″	65	128.5~301.6

1.2　年龄鉴定

鳞片在盛有清水的烧杯中浸泡 12 h 后取出, 用镊子刮除表皮黏膜并洗净, 夹在两块载玻片之间保存。将制备好的载玻片置于 Nikon SMZ800 体式显微镜下观察, 若年轮数为 n, 且年轮外侧无新的环片出现, 则计年龄为 n, 若年轮外侧有新环片出现则计年龄为 n^+。年龄 0^+~1 计为 1 龄鱼, 1^+~2 计为 2 龄鱼, 依此类推。全部鳞片由 2 名观察者分别读数, 若二者读数一致则采用此结果, 否则舍弃该个体。

1.3　DNA 提取

采用传统苯酚-氯仿抽提法对 153 尾短颌鲚的肌肉组织进行基因组 DNA 提取。使用 NanoPhotometer N50 分光光度计检测所提取 DNA 的纯度和浓度, 并使用 1 %琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 随后转入–20 °C 保存备用。

1.4　微卫星 DNA 标记

实验使用的 10 个微卫星 DNA 标记见表 2, 其中标记 DJ41、DJ516、DJ578 来自陈芳(2012)为刀鲚(*Coilia nasus*)设计的引物, 另外 7 个标记来自 Yang 等(2014)为刀鲚(*Coilia nasus*)设计的引物。微卫星 DNA 标记的引物由上海生工生物工程有限公司合成, 所有上游引物的 5′端添加 FAM 或 HEX 荧光修饰合成荧光引物。利用合成的荧光引物和 153 尾短颌鲚的基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 反应体系为 25 μL, 包括 DNA 模板 1 μL (50 ng/μL), 上下游引物各 1 μL (10 μmol/L), 22 μL 1.1×T3 Super PCR Mix (TSINGKE 公司)。PCR 反应程序: 98 °C 预变性 2 min; 98 °C 变性 10 s, 退火 10 s, 72 °C 延伸 10 s, 共计 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 2 min。PCR 产物利用 ABI3730XL 遗传分析系统进行基因型分型, 片段大小内标为 LIZ500。

1.5　数据分析

用 Excel 2016 软件进行数据处理和作图。体长 L (mm)与体重 W (g)关系用幂函数拟合:

$$W=aL^b, \tag{1}$$

式中, a 为生长条件因子, b 为幂函数指数。PopGen32 软件计算各位点等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、Shannon-Weiner 指数(I)和 F-统计量, 以及 Nei's 标准遗传距离(D_s)等指标, 并进行 Hardy-Weinberg 平衡检验; PIC CALC 6.0 软件计算各位点多态信息含量(PIC); Arlequin3.11 软件检验各位点连锁不平衡(LD)状况; GenAlEx 6.51b2 软件进行分子方差分析(AMOVA)确定变异来源; MEGA5.1 软件基于 Nei's 标准遗传距离绘制聚类分析图。

表 2 短颌鲚多态性微卫星引物特征

Tab.2 Characteristics of polymorphic microsatellite primers of *C. brachygnathus*

位点	引物序列(5′~3′)	退火温度/°C	等位基因长度/bp	5′端修饰
DJ41	F: GTGATGTTGTTGAACCTGAG R: CCGTCCTTTACTCTTTGTCT	55	126~186	FAM
DJ516	F: GCTGTCCACAATAGAATTACC R: CTCTGTCTTTGCTGTCCAT	59	124~182	HEX
DJ578	F: TGTCACACCGAGTAATGTC R: AGAGGATGAGAGATAGAAGGA	59	140~198	FAM
Cnas01	F: TGCTATCTGTGATGATGCTACG R: GAATACCTGCCCTTGTTTCTTG	60	127~161	HEX
Cnas04	F: GTATGTTTGTGAGGGTATGGGA R: GTGAGCAAGGAACGGATAGTAA	60	173~207	FAM
Cnas07	F: CATTCTTTCCTCCCATCCCATA R: GACTCCTTCCAAGACCCACTGA	60	247~291	HEX
Cnas10	F: ACTTGGTGAATTACAATGGGAA R: ATGGAAAATAAGAAGCAGGAGA	55	181~227	FAM
Cnas11	F: AGGTGGTAAAAGACCCAAAGAA R: TGTTTTCCCTCAATCCATCATA	55	155~181	HEX
Cnas15	F: TGGTAATGGCACTAATGGTATG R: TAAATCAACCAACCAAGAAACA	55	282~316	FAM
Cnas17	F: GGCCCATATTGACCTCCAGACAGA R: CACAGAGACTGGTGCTGCATTGCT	60	245~279	HEX

2 结果

2.1 体长、体重和年龄结构

153 尾短颌鲚种群体长分布范围为 102.1~301.6 mm, 平均体长(196.6±40.0) mm, 优势体长组为 145.0~234.9 mm, 占总个体数的 77.12% (图 1); 个体体重分布范围 1.90~79.70 g, 平均体重(17.70±13.06) g, 优势体重组为 0.00~29.90 g, 占总个体数的 84.97% (图 2)。

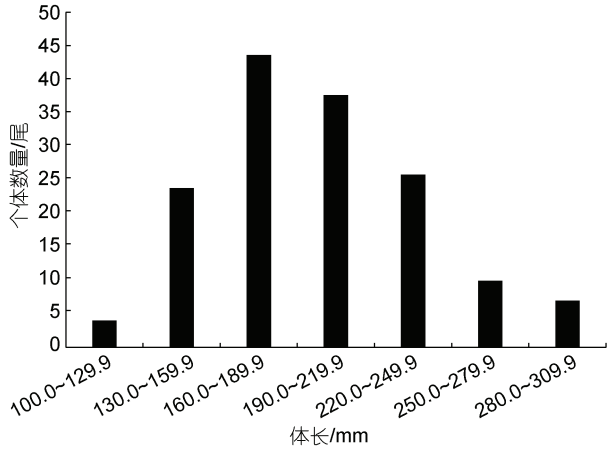


图 1 短颌鲚的体长分布

Fig.1 Distribution of body length of *C. brachygnathus*

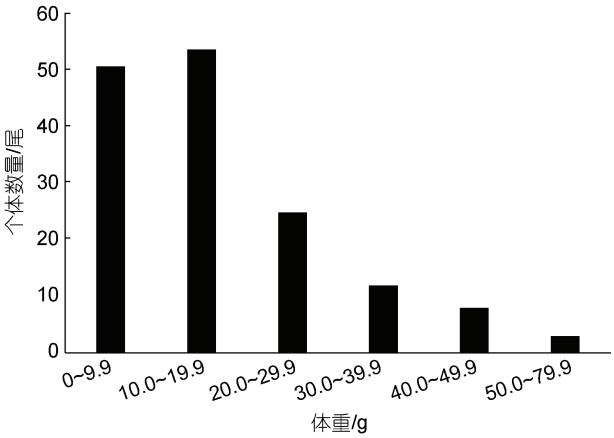


图 2 短颌鲚的体重分布

Fig.2 Distribution of body weight of *C. brachygnathus*

短颌鲚的年龄组成及个体分布见表 3、表 4。个体由 1~5 龄组成, 其中 2 龄和 3 龄为优势年龄组, 占总个体数的 82.35%; 5 龄鱼最少, 仅发现 1 尾。1~4 龄个体的平均体长分别为(148.9±24.9)、(184.4±28.6)、(218.4±36.8)、(242.4±36.1) mm, 平均体重分别为(5.85±2.74)、(13.61±8.55)、(23.93±14.58)、(32.26±13.80) g, 短颌鲚的平均体长和体重随着年龄的增加而逐渐增长。

表 3　三峡库区短颌鲚体长年龄数据
Tab.3　Age and body length data of *C. brachygnathus* from the Three Gorges Reservoir

体长/mm	1 龄	2 龄	3 龄	4 龄	5 龄	总计/尾
100.0~114.9	2	—	—	—	—	2
115.0~129.9	1	1	—	—	—	2
130.0~144.9	3	2	1	—	—	6
145.0~159.9	3	14	1	—	—	18
160.0~174.9	4	12	2	—	—	18
175.0~189.9	1	18	6	1	—	26
190.0~204.9	—	16	8	1	—	25
205.0~219.9	—	3	9	1	—	13
220.0~234.9	—	9	6	3	—	18
235.0~249.9	—	3	4	1	—	8
250.0~264.9	—	1	5	1	1	8
265.0~279.9	—	—	2	—	—	2
280.0~294.9	—	—	2	3	—	5
295.0~309.9	—	—	1	1	—	2
平均体长/mm	148.9	184.4	218.4	242.4	258.5	—
标准差(SD)	24.9	28.6	36.8	36.1	0	—
总计/尾	14	79	47	12	1	—
百分比	9.15%	51.63%	30.72%	7.84%	0.66%	—

表 4　三峡库区短颌鲚体重年龄数据
Tab.4　Age and body weight data of *C. brachygnathus* from the Three Gorges Reservoir

体重/g	1 龄	2 龄	3 龄	4 龄	5 龄	总计/尾
0.00~4.99	7	8	—	—	—	15
5.00~9.99	6	25	5	—	—	36
10.00~14.99	1	17	7	—	—	25
15.00~19.99	—	14	12	3	—	29
20.00~24.99	—	6	4	1	—	11
25.00~29.99	—	5	7	2	—	14
30.00~34.99	—	—	2	2	—	4
35.00~39.99	—	3	4	1	—	8
40.00~44.99	—	1	1	—	1	3
45.00~49.99	—	—	3	2	—	5
50.00~54.99	—	—	1	—	—	1
55.00~59.99	—	—	—	—	—	—
60.00~64.99	—	—	—	1	—	1
65.00~69.99	—	—	—	—	—	—
70.00~74.99	—	—	—	—	—	—
75.00~79.99	—	—	1	—	—	1
平均体重/g	5.85	13.61	23.93	32.26	41.60	—
标准差(SD)	2.74	8.55	14.58	13.80	0	—
总计(尾)	14	79	47	12	1	
百分比	9.15%	51.63%	30.72%	7.84%	0.66%	

2.2　体长和体重的关系

基于样本的体长、体重数据拟合所得体长-体重关系式为:

$$W=2\times10^{-7}\,L^{3.3884}\ (R^2=0.862\ 5,\ n=153), \qquad (2)$$

式中, 幂函数指数 b 值为 3.388 4, 表明库区短颌鲚属正异速生长型, 生长速度较快(图 3)。

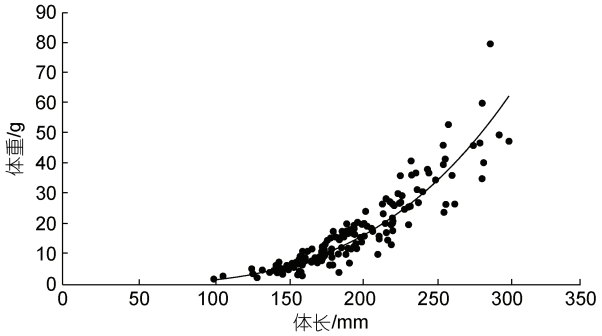


图 3　短颌鲚体长和体重的关系
Fig.3　Relationship between body length and body weight of *C. brachygnathus*

2.3　群体遗传多样性分析

如表 5 所示, 4 个样本群体整体来看, 10 个微卫星位点共检测到 82 个等位基因, 等位基因数(N_a)介于 4~16, 有效等位基因数(N_e)介于 1.802 4~6.851 7, 观测杂合度(H_o)和期望杂合度(H_e)范围分别是 0.451 0~0.849 7 和 0.446 7~0.856 9, 每个位点的多态信息含量(PIC)介于 0.371 1~0.837 3 之间, 除位点 DJ516 和 Cnas04 为中度多态位点外(0.25<PIC<0.5), 其余位点均为高度多态位点(PIC>0.5)。

表 5　短颌鲚 10 个多态微卫星位点的遗传多样性参数
Tab.5　Genetic diversity parameters of 10 polymorphic microsatellite loci of *C. brachygnathus*

位点	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC
DJ41	12	3.968 7	0.756 6	0.750 5	0.710 9
DJ516	4	1.885 5	0.496 7	0.471 2	0.371 1
DJ578	6	2.676 8	0.575 2	0.628 5	0.568 5
Cnas01	5	4.468 2	0.764 7	0.778 7	0.740 7
Cnas04	6	1.802 4	0.451 0	0.446 7	0.405 6
Cnas07	16	6.851 7	0.849 7	0.856 9	0.837 3
Cnas10	8	5.062 5	0.562 1	0.805 1	0.780 7
Cnas11	6	3.192 1	0.692 8	0.689 0	0.633 8
Cnas15	6	3.579 6	0.725 5	0.723 0	0.677 7
Cnas17	13	4.545 4	0.751 6	0.782 6	0.748 9

10 个微卫星位点在 4 个短颌鲚样本群体中的遗传多样性信息见表 6。可以看出, 4 个群体的平均等位

表 6 四个野生短颌鲚群体微卫星遗传多样性参数

Tab.6 Genetic diversity indices in four wild populations of *C. brachygnathus*

位点	参数	群体			
		FL	FD	WS	WZ
DJ41	N_a	6	7	11	9
	N_e	3.628 1	3.500 0	3.856 7	3.940 5
	H_o	0.736 8	0.500 0	0.830 8	0.740 7
	H_e	0.744 0	0.740 7	0.746 5	0.753 2
	PIC	0.677 0	0.681 4	0.701 4	0.708 7
	P	0.248 4	0.074 8	0.976 4	0.913 3
	I	1.437 4	1.540 7	1.633 5	1.583 9
	F_{IS}	–0.017 2	0.300 0	–0.121 6	0.007 4
DJ516	N_a	3	3	3	3
	N_e	1.875 3	1.742 2	1.906 2	1.884 1
	H_o	0.473 7	0.428 6	0.507 7	0.509 1
	H_e	0.479 4	0.441 8	0.479 1	0.473 6
	PIC	0.379 7	0.360 8	0.369 5	0.367 4
	P	0.916 9	0.936 0	0.844 6	0.834 2
	I	0.735 2	0.705 9	0.700 1	0.698 0
	F_{IS}	–0.014 8	–0.006 0	–0.068 0	–0.084 9
DJ578	N_a	4	4	4	5
	N_e	2.292 1	2.992 4	2.681 7	2.654 7
	H_o	0.631 6	0.714 3	0.600 0	0.490 9
	H_e	0.578 9	0.690 5	0.632 0	0.629 0
	PIC	0.510 2	0.608 3	0.563 1	0.568 0
	P	0.760 2	0.000 1**	0.775 5	0.002 9**
	I	1.019 1	1.210 3	1.118 6	1.151 4
	F_{IS}	–0.120 4	–0.072 8	0.043 2	0.212 4
Cnas01	N_a	5	5	5	5
	N_e	4.456 8	3.959 6	4.309 0	4.330 7
	H_o	0.789 5	0.785 7	0.800 0	0.709 1
	H_e	0.799 6	0.775 1	0.773 9	0.776 1
	PIC	0.739 9	0.710 6	0.729 8	0.731 7
	P	0.217 5	0.681 1	0.882 9	0.118 3
	I	1.548 5	1.492 4	1.522 3	1.530 4
	F_{IS}	–0.017 9	–0.051 2	–0.041 8	0.078 0
Cnas04	N_a	5	4	5	4
	N_e	2.867 0	1.979 8	1.787 2	1.689 0
	H_o	0.473 7	0.571 4	0.400 0	0.472 7
	H_e	0.534 9	0.513 2	0.443 9	0.411 7
	PIC	0.479 7	0.452 9	0.401 8	0.367 3
	P	0.751 2	0.969 0	0.000 0**	0.680 3
	I	1.015 5	0.929 1	0.850 2	0.760 5
	F_{IS}	0.090 4	–0.154 6	0.091 9	–0.158 8
Cnas07	N_a	9	8	14	11
	N_e	6.504 5	6.644 1	6.204 1	6.843 9
	H_o	0.947 4	0.642 9	0.923 1	0.781 8

续表

位点	参数	群体			
		FL	FD	WS	WZ
Cnas07	H_e	0.869 1	0.881 0	0.845 3	0.861 7
	PIC	0.827 5	0.831 4	0.819 0	0.837 9
	P	0.523 8	0.000 1**	0.000 0**	0.001 5**
	I	1.986 4	1.970 8	2.036 2	2.099 5
	F_{IS}	–0.119 5	0.243 2	–0.100 5	0.084 4
Cnas10	N_a	7	4	8	8
	N_e	4.813 3	3.111 1	5.732 7	3.883 2
	H_o	0.736 8	0.357 1	0.676 9	0.418 2
	H_e	0.813 7	0.703 7	0.832 0	0.749 3
	PIC	0.765 3	0.613 7	0.805 5	0.716 8
	P	0.092 7	0.035 1*	0.000 0**	0.000 0**
	I	1.732 0	1.197 4	1.907 2	1.677 2
	F_{IS}	0.069 9	0.473 7	0.180 0	0.436 8
Cnas11	N_a	4	4	6	4
	N_e	2.481 1	3.136 0	3.538 5	2.999 5
	H_o	0.684 2	0.928 6	0.692 3	0.636 4
	H_e	0.613 1	0.706 3	0.723 0	0.672 7
	PIC	0.525 0	0.630 3	0.668 5	0.612 2
	P	0.899 4	0.061 3	0.000 0**	0.460 2
	I	1.060 2	1.255 7	1.387 4	1.224 5
	F_{IS}	–0.146 2	–0.363 3	0.035 0	0.045 4
Cnas15	N_a	6	6	6	6
	N_e	3.421 8	4.041 2	3.325 5	3.707 1
	H_o	0.789 5	0.785 7	0.723 1	0.690 9
	H_e	0.726 9	0.780 4	0.704 7	0.736 9
	PIC	0.659 4	0.718 1	0.651 9	0.688 4
	P	0.059 6	0.059 6	0.514 5	0.029 7*
	I	1.429 3	1.560 6	1.419 8	1.502 4
	F_{IS}	–0.115 5	–0.044 1	–0.034 0	0.053 9
Cnas17	N_a	7	8	11	9
	N_e	4.079 1	4.307 7	5.008 9	4.025 3
	H_o	0.736 8	0.857 1	0.753 8	0.727 3
	H_e	0.775 2	0.796 3	0.806 6	0.758 5
	PIC	0.721 6	0.740 2	0.773 5	0.711 1
	P	0.545 4	0.958 7	0.000 0**	0.000 0**
	I	1.603 5	1.721 3	1.850 4	1.598 5
	F_{IS}	0.023 9	–0.116 3	0.058 1	0.032 3
平均	N_a	5.6	5.3	7.3	6.4
	N_e	3.563 9	3.541 4	3.835 0	3.595 8
	H_o	0.700 0	0.657 1	0.690 8	0.617 7
	H_e	0.693 2	0.702 9	0.698 7	0.682 3
	PIC	0.628 5	0.634 7	0.648 4	0.630 9
	I	1.356 2	1.358 4	1.442 6	1.382 6
	F_{IS}	–0.037 1	0.030 5	0.003 7	0.086 3

注: *表示显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡(P<0.05), **表示极显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡(P<0.01)

基因数(N_a)由高到低依次为 WS 群体(7.3)、WZ 群体(6.4)、FL 群体(5.6)、FD 群体(5.3); 平均有效等位基因数(N_e)的顺序与平均等位基因数排序一致。各群体的平均观测杂合度(H_o)和平均期望杂合度(H_e)差异较小, 分别为 0.617 7~0.700 0 和 0.682 3~0.702 9。4 个群体的平均多态信息含量(PIC)介于 0.628 5~0.648 4 之间, 平均香农指数(I)由高到低依次为 WS 群体(1.442 6)、WZ 群体(1.382 6)、FD 群体(1.358 4)、FL 群体(1.356 2), 平均近交系数(F_{IS})分别为 FL 群体(–0.037 1)、FD 群体(0.030 5)、WS 群体(0.003 7)、WZ 群体(0.086 3)。以上结果表明, 4 个短颌鲚群体的遗传多样性较为丰富, 其中 WS 群体的遗传多样性在 4 个群体中最高, 而 FD 群体和 FL 群体较低。

基于 Hardy-Weinberg 平衡定律对 4 个样本群体中每个位点的基因平衡状态进行检测(表 6), 在 WS 群体中, 有 5 个位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 分别为 Cnas04、Cnas07、Cnas10、Cnas11、Cnas17; 在 WZ 群体中, 有 5 个位点显著偏离, 分别为 DJ578、Cnas07、Cnas10、Cnas15、Cnas17; 在 FD 群体中, 有 3 个位点显著偏离, 分别为 DJ578、Cnas07、Cnas10。连锁不平衡检验结果表明, 各位点间无连锁不平衡状况。

2.4 群体遗传结构分析

FD 群体和 FL 群体的个体数量较少, 相距约 50 km, 地理位置相近, 可将二者合并为一个采样群体进行分析。3 个群体间的遗传分化指数(F_{ST})介于 0.000 07~0.003 24, 群体间遗传分化程度很低(F_{ST}<0.05), P 值显著性检验结果表明, 3 个群体间两两比较均无显著分化(P>0.05)。从 Nei's 标准遗传距离来看, FL、FD 合并群体与其他群体间遗传距离较远, WZ 和 WS 群体遗传距离最近(D_s=0.025 6), 说明两群体间亲缘关系较近(表 7)。基于 Nei's 标准遗传距离的 UPGMA 系统树(图 4)显示, WS 群体和 WZ 群体先聚为一类, 然后与 FD 群体和 FL 群体的合并群体聚为一类。分子方差分析(AMOVA)结果显示, 95.44%的遗传变异来自个体内, 群体间的遗传变异仅为 0.09%, 群体间遗传差异极小(表 8)。

3 讨论

3.1 年龄结构和生长特性

体长-体重关系式中的幂函数指数 b 常用于反映鱼类在不同阶段环境中的生长状况, 若 b=3 表明鱼类等速生长, b>3 表明鱼类正异速生长, b<3 则为负异速生长。本研究的幂函数指数 b 值(3.388 4)高于鄱阳湖短颌鲚群体(b=3.022) (吴斌等, 2015)和长湖短颌鲚群体(b=2.855) (王旭歌等, 2016), 表明三峡水库广阔的水域和丰富的营养沉积为短颌鲚生长提供了充足的饵料, 生长速度较快。

表 7 短颌鲚群体间遗传分化指数(F_{ST}, 对角线上)和遗传距离(D_s, 对角线下)

Tab.7 Pairwise genetic differentiation (F_{ST}, above diagonal) and genetic distance (D_s, below diagonal) among populations of *C. brachygnathus*

群体	FL & FD	WS	WZ
FL & FD	—	0.000 07	0.000 34
WS	0.026 20	—	0.003 24
WZ	0.027 10	0.025 60	—

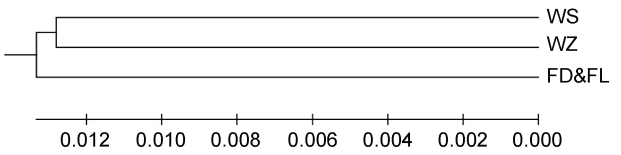


图 4 三个短颌鲚群体 UPGMA 聚类图

Fig.4 The UPGMA clustering tree of *C. brachygnathus* among three populations

表 8 三峡库区短颌鲚群体的分子方差分析(AMOVA)

Tab.8 AMOVA analysis of *C. brachygnathus* in the Three Gorges Reservoir area

变异来源	自由度(d*f*)	方差(SS)	平方和(MS)	变异组成/%	遗传分化指数(F_{ST})
群体间	3	11.533	3.844	0.09	0.000 9
群体内	149	539.594	3.621	4.47	
个体内	153	506.500	3.310	95.44	
总变异	305	1 057.627	10.775	100.00	

20 世纪 70 年代, 袁传宓等(1978)曾对包括长颌鲚(*Coilia nasus*)、短颌鲚和湖鲚(*Coilia nasus taihuensis*)在内的长江流域刀鲚资源状况进行调查, 发现长江刀鲚中存在 6 龄鱼个体, 并认为长江流域刀鲚以 3~4 龄鱼为主。万全等(2009)对长江下游地区刀鲚生殖洄游群体的研究结果表明, 该群体仍存在 5~6 龄个体。本研究采样过程中仅发现 1 尾 5 龄鱼个体, 且 1~3 龄鱼占总个体数的 91.5%。根据文献报道, 短颌鲚属 r 选择生活史类型, 三峡库区短颌鲚种群增长模式与湖北长湖短颌鲚群体相似, 种群扩散能力强(王旭歌, 2016), 年龄组成表明该种群处于快速增长期。三峡库区建成蓄水后, 原有的生境发生改变, 圆口铜鱼、长鳍吻鮈(*Rhinogobio ventralis*)等喜急流鱼类离开库区静水江段向上游流水江段迁移, 库区生态位出现空缺(杨志等, 2012)。短颌鲚作为三峡库区的

新建种群, 处于快速增长期, 填补库区空缺的生态位, 因此呈现出低龄鱼个体较多, 高龄鱼数量较少的年龄结构特点。

3.2　群体遗传多样性分析

多态信息含量(PIC)是反映微卫星 DNA 变异程度高低的指标, PIC>0.5 为高度多态性, 0.25<PIC<0.5 为中度多态性, PIC<0.25 表示多态性低(Botstein *et al*, 1980)。本研究中短颌鲚群体的平均多态信息含量在 0.628 5~0.648 4 之间, 表明三峡库区短颌鲚具有较高的遗传多样性。根据微卫星位点的选择标准(Barker, 1994), 等位基因数(N_a)>4 时位点才能较好的反映出群体的遗传变异水平。本研究中 4 个样本群体的平均 N_a 在 5.3~7.3 之间, 等位基因保存较好, 其原因可能是库区广阔的水域为坝下短颌鲚的大量迁入提供了条件, 迁入库区的建群群体保留了坝下群体较高的遗传多样性。

期望杂合度(H_e)的数值与样本量大小无显著相关性, 相比观测杂合度(H_o)能够更准确的反映群体遗传多样性, 常将其视为衡量群体变异的最适参数(闫路娜等, 2004)。本研究中 4 个样本群体的平均 H_o 为 0.617 7~0.700 0, 平均 H_e 为 0.682 3~0.702 9, 与马春艳(2010)调查的长江中游武汉短颌鲚群体多样性相近(H_o=0.665 5; H_e=0.676 3)。从等位基因数(N_a)和有效等位基因数(N_e)来看, 4 个样本群体的遗传多样性依次为: WS>WZ>FL>FD; 从 Shannon-Weiner 指数(I)反映的遗传多样性来看, 4 个群体的多样性依次为: WS>WZ>FD>FL。这与 N_a 和 N_e 反映的结果基本一致, 均呈现出由下游至上游遗传多样性逐渐降低的趋势。根据 Yang 等(2019)的报道, 作为三峡库区的新建种群, 短颌鲚最早出现在巫山水域。我们近几年的调查数据显示, 短颌鲚在建群时间最早的巫山水域的渔获物中占比最高, 在丰都、涪陵水域的渔获物中占比较低, 在渔获物中的数量由库区下游至上游逐渐减少。水坝修建对鱼类的影响主要来源于河流生境"湖泊化"发展和地理隔离两方面(Neraas *et al*, 2001)。水库建成后的蓄水倒灌使库区生境发生显著改变(Taylor *et al*, 2001), 同时大坝造成的地理隔离也阻碍了鱼类的产卵和进食, 导致鱼类数量锐减(Barthem *et al*, 1991; Nehlsen *et al*, 1991)。短颌鲚开始在三峡库区建群之际, 库区蓄水后的"湖泊化"生境迫使喜急流鱼类向上游迁移, 原有鱼类的繁殖和摄食也同样受到影响, 造成库区生态位空缺, 为短颌鲚的迁入和扩张创造了有利条件。然而近年来水库万州以下江段生态系统逐渐恢复, 食物网已得到重建, 同时由于库区水位提升, 水库中营养物质含量增加, 鱼类的生物量也得以恢复(杨志等, 2012; He *et al*, 2020)。受三峡库区下游生态系统恢复和建群时间的综合作用, 库区短颌鲚群体的遗传多样性呈现出由下游至上游逐渐减小的特点, 各采样点的个体数量也呈现从下游向上游逐渐减少的趋势, 同时库区短颌鲚的遗传多样性与长江中游短颌鲚群体相近, 综合以上结果提示, 三峡库区的群体很可能是坝下短颌鲚通过三峡大坝船闸迁入库区水域而繁殖建群。在生态系统中, 鲚属鱼类作为顶级捕食者通常占据较高的生态位(胡忠军等, 2019), 我们推测溯河而上的短颌鲚会改变整个地区的营养级结构, 逐渐成为三峡库区的优势种, 而且有逐渐向库区上游扩散的趋势。

本研究使用遗传分化指数(F_{ST})作为评价种群分化程度的指标。根据 Balloux 等(2002)提出的标准, F_{ST}<0.05 表示群体间分化程度较小。本研究短颌鲚群体间的遗传分化指数为 0.000 07~0.003 24, 远低于 0.05, 说明 4 个样本群体间分化水平微弱。分子方差分析(AMOVA)结果显示, 群体间的遗传变异主要源于个体内部(95.44%), 群体间变异程度很低(0.09%), 与近年来长江上游圆筒吻鮈(*Rhinogobio cylindricus*)(蒲艳等, 2019)和中华金沙鳅(*Jinshaia sinensis*) (龙安雨等, 2020)的报道结果相近。本研究结果表明, FL、FD 合并群体和 WZ 群体的遗传距离最大(0.027 1), WS 群体和 WZ 群体的遗传距离最小(0.025 6), 群体间的遗传距离相近且并未随地理距离的增大而增加, 说明样本群体间存在较强的基因交流, 由此提示, 在三峡水库不同采样点所采集的个体来源于同一种群。

4　结论

综上所述, 本研究表明长江上游三峡水库短颌鲚新建种群处于快速增长期, 微卫星遗传多样性水平较高, 与中游短颌鲚群体相近, 且各样本群体呈现出从三峡水库下游至上游多样性逐渐下降的趋势。结果提示, 三峡库区的短颌鲚群体很可能来源于三峡大坝下游种群过坝扩散而来, 而且其种群可能发展为三峡库区优势种并且有进一步向库区上游扩散的趋势。本研究结果可为三峡库区鱼类群落结构演变和长江上游短颌鲚资源现状和保护提供基础数据。

参　考　文　献

万全, 赖年悦, 李飞, 等, 2009. 安徽无为长江段刀鲚生殖洄游群体年龄结构的变化分析[J]. 水生态学杂志, 30(4):

60-65.
马克异, 冯建彬, 谢楠, 等, 2011. 钱塘江日本沼虾野生群体遗传变异的 SSR 分析[J]. 动物学研究, 32(4): 363-370.
马春艳, 2010. 鳀科鱼类分子系统进化及凤鲚、刀鲚遗传多样性研究[D]. 上海: 华东师范大学: 84-85.
王旭歌, 2016. 长湖短颌鲚种群生态学及遗传多样性[D]. 上海: 上海海洋大学: 31.
王旭歌, 何勇凤, 李昊成, 等, 2016. 长湖短颌鲚的年龄与生长特性[J]. 淡水渔业, 46(3): 29-33.
龙安雨, 田辉伍, 汪登强, 等, 2020. 长江上游中华金沙鳅和短身金沙鳅线粒体遗传多样性研究[J]. 淡水渔业, 50(3): 34-41.
闫路娜, 张德兴, 2004. 种群微卫星 DNA 分析中样本量对各种遗传多样性度量指标的影响[J]. 动物学报, 50(2): 279-290.
杨志, 陶江平, 唐会元, 等, 2012. 三峡水库运行后库区鱼类资源变化及保护研究[J]. 人民长江, 43(10): 62-67.
轩中亚, 姜涛, 刘洪波, 等, 2020. 基于线粒体 Cyt-b 序列的太湖湖鲚与短颌鲚种群遗传分析[J]. 渔业科学进展, 41(4): 33-40.
吴斌, 方春林, 傅培峰, 等, 2015. 鄱阳湖通江水道短颌鲚生长特性初探[J]. 水生态学杂志, 36(3): 51-55.
汪焕, 胡玉婷, 江河, 等, 2020. 安徽省淮河水系短颌鲚群体遗传多样性[J]. 动物学杂志, 55(6): 760-767.
陈芳, 2012. 刀鲚和凤鲚遗传多样性的微卫星分析[D]. 上海: 上海海洋大学: 19-21.
陈婷婷, 姜涛, 卢明杰, 等, 2016. 基于耳石微化学的长江靖江段长颌鲚与短颌鲚生境履历重建[J]. 湖泊科学, 28(1): 149-155.
范海霞, 刘遂飞, 胡茂林, 2016. 鄱阳湖短颌鲚营养成分分析[J]. 水产科学, 35(1): 77-80.
周晓犊, 杨金权, 唐文乔, 等, 2010. 基于线粒体 CO Ⅰ基因 DNA 条形码的中国鲚属物种有效性分析[J]. 动物分类学报, 35(4): 819-826.
胡茂林, 吴志强, 刘引兰, 2011. 鄱阳湖湖口水域鲚鱼的物种属性及资源现状[J]. 水产科技情报, 38(5): 223-226.
胡忠军, 史先鹤, 吴昊, 等, 2019. 上海青草沙水库食物网结构特征分析[J]. 水生态学杂志, 40(2): 47-54.
姜涛, 刘洪波, 轩中亚, 等, 2020. 长江中下游流域刀鲚(*Coilia nasus*)生态表型的划分[J]. 湖泊科学, 32(2): 518-527.
袁传宓, 林金榜, 刘仁华, 等, 1978. 刀鲚的年龄和生长[J]. 水生生物学集刊, 6(3): 285-298.
徐钢春, 顾若波, 刘洪波, 等, 2014. 长江短颌鲚耳石 Sr/Ca 值变化特征及其江海洄游履历[J]. 水产学报, 38(7): 939-945.
郭弘艺, 魏凯, 唐文乔, 等, 2010. 基于矢耳石形态特征的中国鲚属鱼类种类识别[J]. 动物分类学报, 35(1): 127-134.
蒲艳, 田辉伍, 陈大庆, 等, 2019. 长江中上游圆筒吻鮈群体线粒体 Cyt b 遗传多样性分析[J]. 淡水渔业, 49(1): 14-19.
BALLOUX F, LUGON-MOULIN N, 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. Molecular Ecology, 11(2): 155-165.
BARKER J S F, 1994. Sequential gel electrophoretic analysis of esterase-2 in two populations of *Drosophila buzzatii* [J]. Genetica, 92(3): 165-175.
BARTHEM R B, DE BRITO RIBEIRO M C L, PETRERE M JR, 1991. Life strategies of some long-distance migratory catfish in relation to hydroelectric dams in the Amazon Basin [J]. Biological Conservation, 55(3): 339-345.
BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, *et al*, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 32(3): 314-331.
CHENG F Y, WANG Q, DELSER P M, *et al*, 2019. Multiple freshwater invasions of the tapertail anchovy (Clupeiformes: Engraulidae) of the Yangtze River [J]. Ecology and Evolution, 9(21): 12202-12215.
HE C, DENG H T, BA J W, *et al*, 2020. Food chain length associated with environmental factors affected by large dam along the Yangtze River [J]. Water, 12(11): 3157.
NEHLSEN W, WILLIAMS J E, LICHATOWICH J A, 1991. Pacific salmon at the crossroads: stocks at risk from California, Oregon, Idaho, and Washington [J]. Fisheries, 16(2): 4-21.
NERAAS L P, SPRUELL P, 2001. Fragmentation of riverine systems: the genetic effects of dams on bull trout (*Salvelinus confluentus*) in the Clark Fork River system [J]. Molecular Ecology, 10(5): 1153-1164.
QIN X C, WANG T, LIN P C, *et al*, 2017. Age, growth, mortality and movement patterns of shortjaw tapertail anchovy, *Coilia brachygnathus*, in the channel connecting Dongting Lake and the Yangtze River in central China [J]. Aquatic Living Resources, 31: 3.
TAYLOR C A, KNOUFT J H, HILAND T M, 2001. Consequences of stream impoundment on fish communities in a small North American drainage [J]. Regulated Rivers: Research & Management, 17(6): 687-698.
XUAN Z Y, JIANG T, LIU H B, *et al*, 2021. Mitochondrial DNA and microsatellite analyses reveal strong genetic differentiation between two types of estuarine tapertail anchovies (*Coilia*) in Yangtze River Basin, China [J]. Hydrobiologia, 848(6): 1409-1431.
YANG Q L, GAO T X, LIU J X, 2014. Development and characterization of 17 microsatellite loci in an anadromous fish *Coilia nasus* [J]. Conservation Genetics Resources, 6(2): 357-359.
YANG Q L, HAN Z Q, SUN D R, *et al*, 2010. Genetics and phylogeny of genus *Coilia* in China based on AFLP markers [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 28(4): 795-801.
YANG F, TAO Y X, DUAN B C, *et al*, 2019. Complete mitochondrial genome of the Yangtze grenadier anchovy, *Coilia brachygnathus* (Clupeiformes: Engraulidae) from the upper Yangtze River [J]. Mitochondrial DNA Part B, 4(1): 1140-1141.
ZHANG F T, TAN D Q, 2010. Genetic diversity in population of largemouth bronze gudgeon (*Coreius guichenoti* Sauvage *et* Dabry) from Yangtze River determined by microsatellite DNA analysis [J]. Genes & Genetic Systems, 85(5): 351-357.
ZHANG H, WU G G, 2013. Role of body size and temporal hydrology in the dietary shifts of shortjaw tapertail anchovy *Coilia brachygnathus* (Actinopterygii, Engraulidae) in a large floodplain lake [J]. Hydrobiologia, 703(1): 247-256.

AGE STRUCTURE, GROWTH CHARACTERISTICS AND GENETIC DIVERSITY OF NEWLY-ESTABLISHED POPULATION OF SHORTJAW ANCHOVY (*COILIA BRACHYGNATHUS*) IN THE THREE GORGES RESERVOIR AREA

CHEN Zhe-Yu[1], TAO Yi-Xi[1], YE Qin[3], WANG Guo[1], WANG Wen-Bo[1], FAN Shi-Qi[1], HE Chun[1], LI Yun[1, 2]

(1. *College of Fisheries*, *Institute of Three Gorges Ecological Fisheries of Chongqing*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*; 2. *Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development* (*Ministry of Education*), *Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*; 3. *School of Chemistry and Chemical Engineering*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*)

Abstract From 2019 to 2020, 153 individuals of newly-established shortjaw anchovy (*Coilia brachygnathus*) population were collected from four sampling sites in Wushan (WS), Wanzhou (WZ), Fengdu (FD), and Fuling (FL) in the Three Gorges Reservoir. The age structure, growth characteristics, and genetic diversity were analyzed based on the scales and 10 microsatellite DNA markers. Results show that the body length of the *C. brachygnathus* populations ranged 102.1~301.6 mm on average of (196.6±40.0) mm; the body weight 1.90~79.70 g on average of (17.70±13.06) g; and the age group was 1~5-year-old, mostly (82.35%) 2~3-year-old. The relationship between body length and body weight can be described by a power function exponential relation showing positive allometric growth of the fish. The microsatellite DNA marker analysis revealed 82 alleles at 10 microsatellite loci. In each group, the average number of alleles (N_a) ranged from 5.600 0 to 7.300 0, the average effective number of alleles (N_e) ranged from 3.541 4 to 3.831 5, the average observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.617 7 to 0.700 0, the average expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.682 3 to 0.702 9, and the average polymorphic information content (PIC) ranged from 0.628 5 to 0.648 4. The four groups showed a high level of genetic diversity, and the diversity gradually decreased from downstream to upstream. Genetic structure analysis showed that the level of genetic differentiation among groups was very low, and the genetic variation was mainly from within-individuals. The *C. brachygnathus* population in the Three Gorges reservoir was in the stage of rapid expansion and genetically diversified in the four groups with no significant population differentiation in genetic structure, and gene exchange was frequent among populations. It is suggested that *C. brachygnathus* in the Three Gorges reservoir may originate from the population expansion downstream of the Three Gorges Dam and migrate into the Three Gorges reservoir for breeding and developing.

Key words shortjaw anchovy (*Coilia brachygnathus*); Three Gorges Reservoir; age; growth; microsatellite DNA; genetic diversity; newly-established population