

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.18057

新疆赛里木湖 3 种引进白鲑鱼类的 DNA 条形码分析

常玉梅¹, 孙博¹, 苏宝锋¹, 梁利群¹, 侯玉军²

1. 淡水鱼类育种国家地方联合工程实验室, 农业农村部淡水水产生物技术与遗传育种重点实验室, 中国水产科学研究院特殊生境鱼类种质特性与抗逆育种重点实验室, 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;
2. 新疆赛湖渔业科技开发有限公司, 新疆 博乐 833400

摘要: 本研究采用 DNA 条形码技术对新疆赛里木湖引进种贝加尔凹目白鲑(*Coregonus migratorius*)、高白鲑(*Coregonus peled*)和宽鼻白鲑(*Coregonus nasus*)进行了种质鉴定和遗传多样性分析。单倍型检测发现, 3 种白鲑共检测到 15 种单倍型, 其中贝加尔凹目白鲑独享 5 种, 宽鼻白鲑 7 种, 高白鲑 5 种, 后二者共享 2 种单倍型为高白鲑特有单倍型, 表明二者存在不同程度的基因交流, 高白鲑可能将其基因通过杂交渐渗到宽鼻白鲑群体内。系统发育分析显示, 15 种单倍型分成 3 组分别聚类在 3 个不同分支上, 每个分支所属白鲑分别与其发表序列聚在一起, 表明赛里木湖引进的 3 种白鲑仍保持着原种良好的种源特性; 而贝加尔凹目白鲑的近缘种秋白鲑(*Coregonus autumnalis*)则单独聚为一支, 与贝加尔凹目白鲑的遗传距离最大(0.027), 支持将二者划分为两个独立种。遗传多样性分析显示, 3 种白鲑的遗传多样性适中, 但由于宽鼻白鲑存在杂交的可能性, 因而其遗传多样性高于贝加尔凹目白鲑和高白鲑。建议赛里木湖渔业生产部门继续在繁殖、捕鱼等生产方式上进行科学规划, 引进先进的种质鉴定技术, 避免人工杂交造成的种质污染; 同时维持和提高白鲑属鱼类的遗传多样性, 保证湖区特色渔业的可持续发展。

关键词: 赛里木湖; 白鲑属; DNA 条形码; 种质鉴定; 遗传多样性

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)04-0819-08

白鲑属鱼类(*Coregonus*)隶属于鲑科(*Salmonidae*)、白鲑亚科(*Coregoninae*), 世界上约有 30 余种, 广泛分布于北半球寒冷地区的淡水水域, 绝大多数集中于俄罗斯, 少数分布于加拿大和美国等国家^[1]。中国黑龙江也有分布, 如乌苏里白鲑(*Coregonus ussuriensis*)和卡达白鲑(*C. chadary*)^[2]。该属鱼类性情温和, 均以浮游动物或底栖动物为食, 具有适应能力强、生长速度快、生长期长等养殖特性, 非常适宜大水面的增养殖。正是因为这种生物学特性, 我国从 1998 年开始, 大规模从俄罗斯引进白鲑属鱼类, 目前引进的种类有高白鲑(*C. peled*)、贝加尔凹目白鲑(*C. migratorius*)、

宽鼻白鲑(*C. nasus*)、湖白鲑(*C. artedii*)和图冈白鲑(*C. tugun*)等^[3]。

白鲑鱼类具有很强的生态适应性, 一旦移植到新环境, 能够改变其形态、生活史、遗传结构等达到对新环境的适应^[1, 4]。据报道, 移植 2 年后的湖白鲑的生命周期及生长速度远高于其原种, 且形体和大小相关参数发生显著性变化^[4]; 移植 92 年的欧白鲑(*C. albula*)在 10 个同工酶多态位点中有 8 个位点与原种存在显著差异^[5]。此外, 很多研究发现白鲑鱼类易杂交, 同水域不宜引进多种白鲑, 以免造成种质混杂^[6-7]。相较而言, 我国对土著种乌苏里白鲑在群体结构、生物学特性、

收稿日期: 2018-02-07; 修订日期: 2018-05-29.

基金项目: 科技部科技基础性工作专项(2013FY110700); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2014A11JC04).

作者简介: 常玉梅(1978-), 女, 博士, 从事鱼类分子生物学和抗逆育种研究. E-mail: changyumei@hrfri.ac.cn

通信作者: 梁利群, 研究员, 从事鱼类分子生物技术研究. E-mail: liangliqun@hrfri.ac.cn

生化和遗传等方面都开展了比较系统的研究^[8-12],而对引进种白鲢的相关研究则很少,目前仅对部分引进种的形态及线粒体 DNA (mtDNA)部分区域的序列进行了分析和比较^[13-14]。

赛里木湖作为我国最大的白鲢属鱼类增养殖水体,已先后从俄罗斯国家渔业中心引进了高白鲢、贝加尔凹目白鲢和宽鼻白鲢。虽然近期开展了 3 种白鲢的多变量形态分析^[14],但对其适应新生态环境后的种源特性和遗传多样性未进行系统研究。mtDNA 具有无重组、进化速率快、不同区域进化速度存在差异等特点,是进化和群体学研究常用的分子标记^[15],其母系遗传特性更能指明物种的杂交方向,也是杂种起源研究的重要技术手段^[16]。鉴于移植白鲢鱼类在形态、生态、遗传结构的可塑性,本研究选用保守性更强的 COI 基因对来自于赛里木湖 3 种白鲢进行种质鉴定和遗传多样性分析,以期对赛里木湖渔业的健康、持久发展提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

3 种白鲢鳍条样品均采自新疆赛里木湖,由新疆赛里木湖渔业科技开发有限公司提供。贝加尔凹目白鲢 16 尾,宽鼻白鲢 30 尾,高白鲢 29 尾。所有样本鳍条于 95%乙醇中保存备用。

1.2 基因组 DNA 的提取

剪取少量 95%乙醇保存的鳍条,滤纸吸干乙醇,放入 2 mL 离心管中加入 600 μ L DNA 提取裂解液(成分: 1 mol/L Tris pH 8.0、5 mol/L NaCl、0.5 mol/L EDTA pH 8.0、10% SDS 和 200 μ g/mL Protein K)于 55℃ 过夜消化;次日加入等体积的酚/氯仿混合液(1:1)抽提 1 次,12000 rpm 室温离心 10 min,吸取上清(约 550 mL)加入 1 mL 无水乙醇沉淀,12000 rpm 室温离心 10 min,70%酒精洗涤 1 次,室温干燥 10 min,加入 0.1 $\times$ TE 溶解。采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性, Nano-drop 8000 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)测定 DNA 浓度后稀释至 10 ng/ μ L, 4℃ 保存备用。

1.3 COI 基因的引物来源及 PCR 扩增

线粒体 COI 引物参照 Prasanna 等^[17]报道的通

用引物(COI-F: 5'-TCAACCAACCACAAAGAC-ATTGGCAC-3'; COI-R: 5'-TAGACTTCTGGGTG-GCCAAAGAATCA-3')。PCR 反应总体积体系为 25 μ L,其中包含自制 PCR buffer mix 18 μ L (50 mmol/L KCl、10 mmol/L Tris-HCl、0.10% Triton X-100、1.5 mmol/L MgCl₂、0.10% NP-40、0.01% gelatin 和 200 μ mol/L dNTP mix),浓度 10 μ mol/L 的上下游引物各 1 μ L, Taq DNA 聚合酶 0.2 μ L (Fermentas, 5 U/ μ L),模板 DNA 2 μ L,去离子灭菌水补至总体积 25 μ L。反应程序为 95℃ 预变性 3 min; 35 个循环包括 95℃ 15 s, 57.7℃ 30 s, 72℃ 30 s; 最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 扩增产物用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测合格后,送至北京诺赛基因公司进行双向测序。

1.4 序列处理及分析

将测序得到的序列文件用 DNASTAR Laser-gene 7.1 中的 EditSeq 模块转换成 fasta 格式,采用 ClustalX 1.83 对 COI 基因序列进行多重比对,获得对齐后的同源序列,采用 NCBI 网站提供的 Bankit 提交到 GenBank 数据库中。利用 DNAsp 5.10.01 计算多态位点数(S)、单倍型数(H)、单倍型多样性(H_d)、核苷酸多样性(P_i)、平均核苷酸差异数(K);使用 MEGA7.0 计算所得单倍型的碱基组成、单倍型间的转换/颠换 R 值及序列分歧度;于 2018 年 1 月 25 日从 GenBank 数据库中下载已发表的高白鲢(HQ960660~HQ960663, JX960896)、宽鼻白鲢(KT630722、KT630724、KU867881、KU867882、EU523973、EU523976、EU523979、JQ390058、JX960893)、贝加尔凹目白鲢(JX960891)及其近缘种秋白鲢(*C. autumnalis*) (KX958407、KX958408、EU523946~EU523951、EU202649)的 COI 序列共计 24 条,与本研究测得的序列进行同源比对后,利用 MEGA7.0 采用基于 Kimura 双参数模型(Kimura's 2-parameter, K2P)的邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育进化树,并经 1000 次自展(bootstrap)检验,选用虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) COI 基因片段(GenBank 登录号: LC050735)作为系统进化分析的外类群。基于 K2P 模型估算各类群内及各类群间的平均遗传距离。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性分析

序列经比对处理后得到 COI 有效序列长度为 631 bp。75 条有效序列共检测到 15 种单倍型(图 1), 单倍型序列编辑后提交到 GenBank 数据库中(GenBank 登录号: MF632312~MF632325)。其中贝加尔凹目白鲑独享 5 种单倍型(Hap1~Hap5), 高白鲑有 5 种单倍型(Hap11~Hap15), 宽鼻白鲑共

有 7 种单倍型(Hap6~Hap10、Hap13、Hap15), 宽鼻白鲑和高白鲑共享 2 种单倍型(表 1)。单倍型碱基组成分析显示, A、T、C、G 4 种碱基所占比例比较恒定, 平均含量分别为 21.2%、29.4%、30.1%和 19.3%, A + T 含量(50.6%)略高于 C + G 含量(49.4%)。平均碱基交换/颠换 R 值为 7.03。遗传多样性参数分析表明, 宽鼻白鲑的遗传多样性高于贝加尔凹目白鲑, 高白鲑最低(表 2)。

Hap_1 CAACTTACACAGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCACATCCATGAACCCCAATTCGGGAGCTTCTTCGCCTACACCATTCAGTCCCAGATAGGCCGTACT
Hap_2 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCACATCCATGAACCCCAATTCGGGAGCTTCTTCGCCTACACCATTCAGTCCCAGATAGGCCGTACT
Hap_3 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCACATCCATGAACCCCAATTCGGGAGCTTCTTCGCCTACACCATTCAGTCCCAGATAGGCCGTACT
Hap_4 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCACATCCATGAACCCCAATTCGGGAGCTTCTTCGCCTACACCGTTTCAATCCCAGATAGGCCGTACT
Hap_5 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCACATCCATGAACCTCCGTTTCGGGAGCTTCTTCGCCTACACCGTTTCAATCCCAGATAGGCCGTACT
Hap_6 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCACATCCACGAACCTCCGTTTCGGGAGCTTCTTCGCTACAGCGTTTCAATCCCAGTAGGCCGTACT
Hap_7 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCGCATCCACGAACCTCCGTTTCGGGAGCTTCTTCGCCTACAGCGTTTCAATCCCAGTAGGCCGTACT
Hap_8 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCCGTGTGCCTGCGCGTCCACGAACCTCCGTTTCAGGAGCTTCTTCGCCTACACCGTTTAAATCCCAGTAGGCCGTACT
Hap_9 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCCGTGTGCCTGCGCGTCCACGAACCTCCGTTTCAGGAGCTTCTTCGCCTACACCGTTTCAATCCCAGTAGGCCGTACT
Hap_10 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCCGTGTGCCTGCGCGTCCACGAACCTCCGTTTCGGGAGCTTCTTCGCCTACACCGTTTCAATCCCAGTAGGCCGTACT
Hap_11 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCATGTGCCTGCGCATCCACGAGCCTCCGTTTCAGGAGCCTCTTTACCTACACCGTTTCAATCCCAGACAGACCGTACT
Hap_12 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCGCATCCACGAGCCTCCGTTTCGGGAGCCTCTTTACCTACACCGTTTCAATCCCAGACAGACCGTGTCT
Hap_13 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCGCATCCACGAGCCTCCGTTTCAGGAGCCTCTTTACCTACACCGTTTCAATCCCAGACAGACCGTGTCT
Hap_14 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCGTGTGCCTGCGCATCCACGAGCCTCCGTTTCAGGAGCCTCTTTACCTACACCGTTTCAATCCCAGACAGACCGTGTCT
Hap_15 CAACTTACAAACGTGTAGCTGTACACTGCCTCATGTGCCTGCGCATCCACGAGCCTCCGTTTCAGGAGCCTCTTTACCTACACCGTTTCAATCCCAGACAGACCGTGTCT

图 1 COI 基因在 3 种白鲑中的 15 个单倍型的序列信息
Fig. 1 Sequences of 15 haplotypes of COI gene found in three whitefish species

表 1 COI 基因的 15 种单倍型在 3 种白鲑群体中的分布
Tab. 1 Distribution of 15 haplotypes of COI gene in three *Coregonus* species

单倍型 haplotype	贝加尔凹目白鲑 <i>C. migratorius</i>	高体白鲑 <i>C. peled</i>	宽鼻白鲑 <i>C. nasus</i>
H1	1		
H2	1		
H3	1		
H4	10		
H5	3		
H6			1
H7			2
H8			2
H9			7
H10			10
H11		7	
H12		3	
H13		4	3
H14		1	
H15		14	5
总个体数 total number	16	29	30

表 2 3 种白鲑的遗传多样性参数
Tab. 2 Genetic parameters of three *Coregonus* species

物种 species	样本 数 N	多态 性位 点 S	单倍 型数 目 H	单倍型 多样性 H_d	核苷酸 多样性 P_i	平均核 苷酸差 异数 K
贝加尔凹目白鲑 <i>C. migratorius</i>	16	5	5	0.600	0.00211	1.333
高白鲑 <i>C. peled</i>	29	3	5	0.680	0.00155	0.976
宽鼻白鲑 <i>C. nasus</i>	30	16	7	0.826	0.0089	5.359

2.2 亲缘关系分析

以 Kimura 双参数为模型计算了 3 种白鲑 15 种单倍型间的序列分歧度(表 3)。从单倍型在不同群体的分布来看: 贝加尔凹目白鲑独享 5 种单倍型 Hap1~Hap5, 其序列分歧度为 0.002~0.008; 宽鼻白鲑共有 7 种单倍型, 除与高白鲑共享的 2 种外, 其独享 5 种单倍型 Hap6~Hap10 的序列分歧度也只有 0.002~0.011; 高白鲑 5 种单倍型 Hap11~Hap15 的序列分歧度为 0.002~0.005。按单倍型顺序可以将 Hap1~Hap5、Hap6~Hap10 和 Hap11~

表 3 15 种单倍型间的序列分歧度
Tab. 3 Sequence divergences between 15 haplotypes

	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap5	Hap6	Hap7	Hap8	Hap9	Hap10	Hap11	Hap12	Hap13	Hap14	Hap15
Hap1		0.001	0.002	0.003	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
Hap2	0.002		0.001	0.003	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
Hap3	0.003	0.002		0.002	0.003	0.004	0.004	0.005	0.004	0.004	0.006	0.005	0.006	0.006	0.006
Hap4	0.006	0.005	0.003		0.002	0.004	0.003	0.004	0.004	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Hap5	0.008	0.006	0.005	0.002		0.003	0.003	0.004	0.003	0.003	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005
Hap6	0.016	0.014	0.013	0.010	0.008		0.002	0.004	0.004	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Hap7	0.014	0.013	0.011	0.008	0.006	0.002		0.004	0.003	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Hap8	0.018	0.016	0.014	0.011	0.010	0.011	0.010		0.002	0.002	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Hap9	0.016	0.014	0.013	0.010	0.008	0.010	0.008	0.002		0.002	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Hap10	0.014	0.013	0.011	0.008	0.006	0.008	0.006	0.003	0.002		0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Hap11	0.024	0.023	0.021	0.018	0.016	0.018	0.016	0.016	0.014	0.016		0.003	0.002	0.003	0.002
Hap12	0.023	0.021	0.019	0.016	0.014	0.016	0.014	0.018	0.016	0.014	0.005		0.002	0.002	0.002
Hap13	0.024	0.023	0.021	0.018	0.016	0.018	0.016	0.016	0.014	0.016	0.003	0.002		0.002	0.002
Hap14	0.026	0.024	0.023	0.019	0.018	0.019	0.018	0.018	0.016	0.018	0.005	0.003	0.002		0.002
Hap15	0.026	0.024	0.023	0.019	0.018	0.019	0.018	0.018	0.016	0.018	0.002	0.003	0.002	0.003	

注：对角线下方是序列间的分歧度，对角线上方是 1000 次 bootstrap 得到的相应的标准误差。
Notes: The sequence divergence between haplotypes is below the diagonal; the corresponding standard error obtained by the 1000 bootstrap is above the diagonal.

Hap15 分为 3 组。从表 3 可以看出，组间分歧度有所增加，其中组 1 (Hap1~Hap5)和组 2 (Hap6~Hap10)的分歧度为 0.006~0.018，其次为组 2 (Hap6~Hap10)和组 3 (Hap11~Hap15), 0.014~ 0.019，最高的是组 1 和组 3，其分歧度为 0.0014~ 0.026。即，贝加尔凹目白鲑和宽鼻白鲑亲缘关系最近，其次为宽鼻白鲑和高白鲑，而贝加尔凹目白鲑和高白鲑亲缘关系最远。

2.3 赛里木湖 3 种白鲑的的系统进化分析

将 GenBank 数据库中下载的 3 种白鲑及秋白鲑的 COI 基因序列与本研究单倍型数据进行同源比对后，采用 MEGA7.0 软件中的邻接法构建了系统发育进化树(图 2)。由图 2 可以看出，进化树很明显地划分为 4 个小分支，秋白鲑所有发表序列单独聚为一支，其余 3 个分支所属白鲑分别由本研究获得的单倍型与其相应的已发表序列组成，表明本研究获得的 3 种白鲑的单倍型数据是正确的。各类群内和类群间的平均 K2P 遗传距离如表 4 所示。由表 4 可以看出，贝加尔凹目白鲑和宽鼻白鲑的遗传距离最近，次之为宽鼻白鲑和高白鲑，而贝加尔凹目白鲑和高白鲑遗传距离最远。该结果与基于单倍型序列分歧度分析的结果是一致的。

表 4 白鲑各类群间和各类群内平均遗传距离
Tab. 4 The mean genetic distance between groups and within each group in *Coregonus* species

类群 group	类群间平均遗传距离 mean distance between groups			类群内平均 遗传距离 mean dis- tance within group
	贝加尔凹 目白鲑 <i>C. migratorius</i>	秋白鲑 <i>C. autumnalis</i>	高白鲑 <i>C. peled</i>	
贝加尔凹目白鲑 <i>C. migratorius</i>				0.004
秋白鲑 <i>C. autumnalis</i>	0.027			0.000
高白鲑 <i>C. peled</i>	0.023	0.02		0.003
宽鼻白鲑 <i>C. nasus</i>	0.014	0.022	0.019	0.004

3 讨论

3.1 贝加尔凹目白鲑的分类地位

目前有 40 种鲑科鱼类发表了线粒体全基因组序列，系统发育研究发现白鲑亚科最早分化，是鲑科鱼类进化的鼻祖^[18]。因此，白鲑鱼类在形态、生态、基因等方面存在较大的遗传分歧，这些差异可能导致白鲑属鱼类种间界限不清晰，种内结构复杂^[1]。如真白鲑(*C. lavaretus*)复合体，大

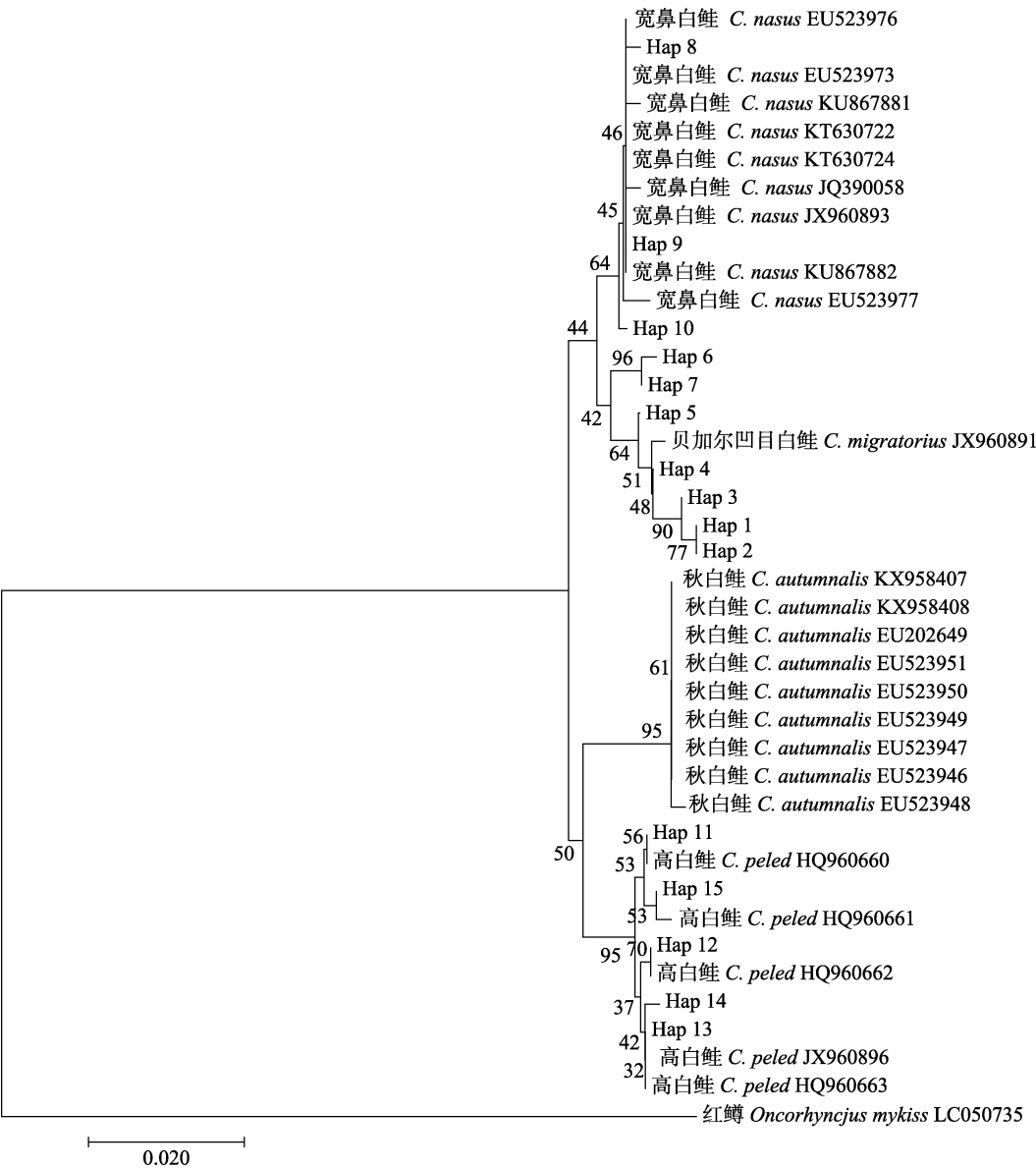


图 2 白鲑鱼类的系统发育进化 NJ 树
节点上数字显示 1000 次重复的 bootstrap 验证结果, 标尺代表序列分歧度。
Fig. 2 Neighbor-joining tree of *Coregonus* species
Bootstrap values in 1000 replications are shown on branches; the scale bar represents the sequence divergence.

部分研究发现同水域种群或类型存在显著的形态差异, 但却具有相似的 mtDNA 谱系, 因而在系统进化和分类上存有很大争议^[19-20]; 相反地, 一些土著西伯利亚白鲑则形态相似而 mtDNA 起源不同, 具有不同的系统类群^[19]。如贝加尔凹目白鲑和秋白鲑的分类学地位, 早期有些学者根据栖息生境和形态特征的相似性, 将凹目白鲑视为秋白鲑的亚种(*C. autumnalis migratorius*)^[21]; 但是, 随着分子标记的发展, 众多证据表明贝加尔凹目白

鲑与秋白鲑的亲缘关系较远。Politov 等^[22]利用 15 个同工酶的 38 个编码区分析发现, 二者在等位基因组成和频率存在显著不同, 认为贝加尔凹目白鲑应从秋白鲑中单独划分出来; 随后, Sukhanova 等^[23-24]借助于线粒体 Cyt b、D-loop 及 rDNA ITS1 分子标记技术构建的分子系统进化树发现, 贝加尔凹目白鲑其实属于许多真白鲑复合体的一员, 支持其为一个独立种。我国学者通过比较赛里木湖贝加尔凹目白鲑和 GenBank 上该物种已发表的

Cyt *b* 基因序列发现二者完全相同, 表明我国引进的确为贝加尔凹目白鲑^[13]。COI 基因是物种鉴定的有效基因, 主要基于该基因在种间的遗传变异显著大于种内的遗传变异^[25]。大量研究表明, 利用 COI 基因鉴定, 种内遗传距离不超过 2%^[25-26]。由表 4 可以看出, 各类群内的遗传距离均小于 1%, 而贝加尔凹目白鲑和秋白鲑的遗传距离为 0.027, 从本研究白鲑鱼类的系统进化树(图 2)也可以看出, 贝加尔凹目白鲑与秋白鲑分别单独聚类, 支持二者为两个独立种, 这与前人的研究结果是一致的。

3.2 赛里木湖 3 种白鲑的种源特性及遗传多样性

据报道, 栖息在大型湖泊中的白鲑是源于其产地较远的后代, 这种移植会加剧其生态-形态类型的转变, 并且分化成适于当地的新形式。因此, 同水域或相邻水域不同类型的白鲑呈现出生殖隔离的程度也不同^[1]。例如, 在贝加尔湖发现贝加尔凹目白鲑和高白鲑存在杂交, 而在其他湖泊未发现^[1, 7]; 在芬兰和奥地利的一些高山湖泊也发现高白鲑、波罗的海白鲑(*C. sp.*)和真白鲑存在广泛的杂交和回交^[6, 27]。从本研究的系统聚类图可以看出, 移植到赛里木湖的高白鲑和贝加尔凹目白鲑未发生杂交, 和产地原种相比, mtDNA 遗传组成亦未发生显著变化, 依然保持着原种良好的种源特性(图 2)。然而, 从 3 种白鲑的单倍型分布来看(表 1), 宽鼻白鲑与高白鲑共享 2 种单倍型, 其共享单倍型属于高白鲑特有单倍型(图 2), 表明二者可能存在不同程度的基因交流, 高白鲑可能将其基因通过杂交渐渗到宽鼻白鲑群体内。当然, 这还需要其他方面的证据证实, 如核基因。建议湖区今后应提高不同种的表型鉴定准确率, 或者辅以基因检测, 避免繁殖期人工杂交的发生, 以保持不同种的种源特性。

引进种很容易由于引进数量少而发生奠基者效应造成种质衰退。如大鳞鲃(*Barbus capito*), 引进数量不足百尾, 最后用于生产的个体只有十几尾, 累代繁殖导致的种质衰退现象十分明显: 体色分化、生长缓慢、病害频发^[28]。赛里木湖作为白鲑商品鱼最大的养殖基地, 为避免种质衰退, 采取了积极地保种措施, 如每隔 3~4 年引进新的

发眼卵, 同时每年保持繁殖群体数量 2000 尾以上。从本研究的数据也可以看出, 高白鲑和贝加尔凹目白鲑的遗传多样性适中, 但由于宽鼻白鲑群体存在杂交的可能性, 因而其遗传多样性高于前两种。建议赛里木湖渔业生产部门继续在繁殖、捕鱼等生产方式上进行科学规划, 同时引进先进的种质检测技术, 维持和提高白鲑属鱼类的遗传多样性, 保证湖区特色渔业的可持续发展。

参考文献:

- [1] Yakhnenko V M, Mamontov A M, Luczynski M. East-Siberian coregonid fishes: their occurrence, evolution and present status[J]. *Environmental Biotechnology*, 2008, 4(2): 41-53.
- [2] Dong C Z, Jiang Z F. Fishery Resources of Inland Cold Water Fishes in China[J]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 2008. [董崇智, 姜作发. 中国内陆冷水性鱼类渔业资源[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2008.]
- [3] Li G, Zhang D L, Gu Q, et al. Domestic status of *Coregonus* fish aquaculture[J]. *Contemporary Aquaculture*, 2005, 30(2): 33-34. [李刚, 张德隆, 顾权, 等. 白鲑属鱼类国内增殖现状[J]. 当代水产, 2005, 30(2): 33-34.]
- [4] Shields B A, Underhill J C. Phenotypic plasticity of a transplanted population of dwarf cisco, *Coregonus artedii*[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1993, 37(1): 9-23.
- [5] Vuorinen J, Næsje T F, Sandlund O T. Genetic changes in a vendace *Coregonus albula* (L.) population, 92 years after introduction[J]. *Journal of Fish Biology*, 1991, 39(Supplement A): 193-201.
- [6] Popović D, Szczepkowski M, Heese T, et al. Introgression of peled (*Coregonus peled*) into European whitefish (*C. lavaretus*) in Poland[J]. *Conservation Genetics*, 2015, 17(2): 503-508.
- [7] Dulmaa A, Slynko Y V, Gordon N Y, et al. *Coregonus peled*, (Gmelin) transplanted into Ulaagchny Khar lake (western Mongolia) showed no evidence of hybridization with other introduced *Coregonus* species[J]. *Contemporary Problems of Ecology*, 2016, 9(2): 172-176.
- [8] Dong C Z, Tang F J, Zhao C G, et al. The structure of captured population of *Coregonus ussuensis* Berg during migration in the middle section of Heilongjiang River[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2005, 36(2): 204-209. [董崇智, 唐富江, 赵春刚, 等. 黑龙江中游乌苏里白鲑捕捞群体结构研究[J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(2): 204-209.]
- [9] Li P L. Preliminary study on productive biology in migratory

- population of *Coregonus ussuensis*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015. [李培伦. 乌苏里白鲑洄游群体繁殖生物学初步研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.]
- [10] Li H J, Han Y. The investigation report on the biological characteristics of *Coregonus ussuensis*[J]. Fisheries of Heilongjiang, 2017(1): 17-20. [李虹娇, 韩英. 乌苏里白鲑生物学特征调查报告[J]. 黑龙江水产, 2017(1): 17-20.]
- [11] Ma B, Shi L Y, Dong C Z. Biochemical genetic structure in *Coregonus ussuensis* Berg[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2003, 10(3): 195-200. [马波, 石连玉, 董崇智. 乌苏里白鲑的生化遗传结构[J]. 中国水产科学, 2003, 10(3): 195-200.]
- [12] Liang L Q, Chang Y M, Dong C Z. Analysis of genetic diversity for *Coregonus ussuensis* Berg in Heilongjiang River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(6): 501-505. [梁利群, 常玉梅, 董崇智. 黑龙江乌苏里白鲑遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 501-505.]
- [13] Zhang J L, Gao T X, Han Z Q, et al. Sequence analysis of partial cytochrome *b* and 16S rRNA gene of three *Coregonus* species[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 8-14. [张俊丽, 高天翔, 韩志强, 等. 3种白鲑线粒体细胞色素 *b* 和 16S rRNA 基因片段序列分析[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 8-14.]
- [14] Zhu G H, Li S Z, Hou Y J. Multivariate morphological analysis of three *Coregonus* species[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2015, 43(8): 192-195. [朱光辉, 李胜忠, 侯玉军. 3种白鲑的多变量形态分析[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(8): 192-195.]
- [15] Tataronkov A, Avise J C. Rapid concerted evolution in animal mitochondrial DNA[J]. Proceedings of the Royal Society B, 2007, 274(1619): 1795-1798.
- [16] Ward T J, Bielawski J P, Davis S K, et al. Identification of domestic cattle hybrids in wild cattle and bison species: a general approach using mtDNA markers and the parametric bootstrap[J]. Animal Conservation, 2010, 2(1): 51-57.
- [17] Kumar C P, John B A, Khan S A, et al. Efficiency of universal barcode gene (Coxi) on morphologically cryptic Mugilidae fishes delineation[J]. Trends in Applied Sciences Research, 2011, 6(9): 1028-1036.
- [18] Li Y Y, Liu Y G, Liu L X, et al. Mitochondrial genome characteristics and phylogenetic analysis of Salmonidae fishes family[J]. Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering Edition), 2016, 29(4): 271-279. [李瑶瑶, 刘云国, 刘凌霄, 等. 鲑科鱼类线粒体全基因组序列结构特征及其系统发育信息分析[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2016, 29(4): 271-279.]
- [19] Bochkarev N A, Zuykova E I, Abramov S A, et al. Morphological, ecological and mtDNA sequence variation in coregonid fish from the Baunt Lake system (the Vitim River basin)[J]. Advances in Limnology, 2013, 64: 257-277.
- [20] Østbye K, Bernatchez L, Næsje T F, et al. Evolutionary history of the European whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) species complex as inferred from mtDNA phylogeography and gill-raker numbers[J]. Molecular Ecology, 2005, 14(14): 4371-4387.
- [21] Gaikalov I V, Ilyina O V, Kirilchik S V, et al. Description of three microsatellite loci of the Baikal omul *Coregonus migratorius* (Georgi)[J]. Russian Journal of Genetics, 2008, 44(3): 365-368.
- [22] Politov D V, Gordon N Y, Makhrov A A. Genetic identification and taxonomic relationships of six Siberian species of *Coregonus*[J]. Advances in Limnology, 2002, 57: 21-34.
- [23] Sukhanova L V, Smirnov V V, Smirnova-Zalumi N S, et al. The taxonomic position of the Lake Baikal omul *Coregonus autumnalis migratorius* (Georgi) as revealed by sequence analysis of mtDNA cytochrome *b* and control region[J]. Archiv für Hydrobiologie, Special Issues—Advances in Limnology, 2002, 57: 97-106.
- [24] Sukhanova L V, Smirnov V V, Smirnova-Zalumi N S, et al. Grouping of Baikal omul *Coregonus autumnalis migratorius* Georgi within the *C. lavaretus* complex confirmed by using a nuclear DNA marker[J]. Annales Zoologici Fennici, 2004, 41(1): 41-49.
- [25] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biology Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.
- [26] Cheng L, Chang Y M, Lu C Y, et al. DNA barcoding and species and subspecies classification within genus *Carassius*[J]. Zoological Research, 2012, 33(5): 463-472. [程磊, 常玉梅, 鲁翠云, 等. 鲫属鱼类 DNA 条码及种与亚种划分[J]. 动物学研究, 2012, 33(5): 463-472.]
- [27] Winkler K A, Pamminer-Lahnsteiner B, Wanzenböck J, et al. Hybridization and restricted gene flow between native and introduced stocks of Alpine whitefish (*Coregonus* sp.) across multiple environments[J]. Molecular Ecology, 2011, 20(3): 456-472.
- [28] Chang Y M, Lu C Y, Miao J F, et al. Microsatellite marker analysis of disease mortality of F₃ individuals in cultured Barbel *Barbus capito*[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2017, 30(5): 1-6. [常玉梅, 鲁翠云, 苗建发, 等. 养殖大鳞鲃发病死亡 F₃ 个体的微卫星标记分析[J]. 水产学杂志, 2017, 30(5): 1-6.]

DNA barcoding analysis of three *Coregonus* species in the Sayram Lake of Xinjiang

CHANG Yumei¹, SUN Bo¹, SU Baofeng¹, LIANG Liquan¹, HOU Yujun²

1. National & Local United Engineering Laboratory of Freshwater Fish Breeding; Key Laboratory of Freshwater Aquatic Biotechnology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Key Laboratory of Fish Stress Resistance Breeding and Germplasm Characteristics on Special Habitats, Chinese Academy of Fishery Sciences; Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;
2. Xinjiang Saihu Fishery Technological Development Co. Ltd., Bole 833400, China

Abstract: The germplasm and genetic diversity of three *Coregonus* species introduced in the Sayram Lake of the Xinjiang Province, Baikal omul (*Coregonus migratorius*), peled (*Coregonus peled*) and broad whitefish (*Coregonus nasus*), were characterized using DNA barcoding of the CO I gene. A total of 15 haplotypes were found in the three species of interest, of which five haplotypes were identified for the Baikal omul, seven for broad whitefish, and five for peled; the latter two shared two common haplotypes, indicative of gene introgression from *C. peled* to *C. nasus*, based on the haplotype analysis. Construction of a phylogenetic tree using the neighbor-joining method showed that 15 haplotypes were divided into three different branches, and each branch was respectively clustered with the published sequences, which indicated that the *Coregonus* species introduced to the Sayram Lake had still been maintaining good provenance characteristics; *C. autumnalis*, which had the largest genetic distance (0.027) to its close species *C. migratorius*, had clustered independently. Genetic diversity of the three species is moderate, and *C. nasus* had a higher genetic diversity than *C. migratorius* and *C. peled* because of the possibility of hybridization between *C. peled* and *C. nasus*. We recommend that the fishery production department in the Sayram Lake continue planning the breeding, fishing, and other production activities scientifically, and importing advanced germplasm identification technology to avoid germplasm contamination caused by artificial hybridization. Meanwhile, it is necessary to improve and maintain the genetic diversity of the *Coregonus* species, thus, ensuring the sustainable development of fishery in the lake.

Key words: Sayram Lake; *Coregonus* genus; DNA barcoding; germplasm identification; genetic diversity

Corresponding author: LIANG Liquan. E-mail: liangliquan@hrfri.ac.cn