

文章编号: 1674-5566(2024)02-0285-12

DOI: 10.12024/jsou.20230404158

我国苏南地区美洲鲟7个养殖群体的遗传多样性分析

李玉林¹, 罗明坤², 冯冰冰³, 朱文彬², 傅建军², 梁政远^{1,4}, 解旭东⁵, 缪凌鸿², 董在杰^{1,2}

(1. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业农村部淡水渔业与种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081; 3. 江苏省渔业技术推广中心, 江苏 南京 210036; 4. 无锡瑞顺水产养殖科技有限公司, 江苏 无锡 214001; 5. 镇江欣润农业发展有限公司, 江苏 镇江 212115)

摘要: 为探讨苏南地区美洲鲟养殖群体的种质资源现状及遗传多样性水平, 采用15个微卫星标记和线粒体D-loop序列, 对7个不同群体: 镇江丹徒(Dtq)、镇江扬中(Yzq)、苏州张家港(Zjg)、苏州相城(Xcq)、南通中洋(Zyq)、常州溧湖(Ghq)和常州武进(Czq)共计210尾个体进行群体多样性分析。结果显示, 15个SSR位点中除Asa-12外, 其余位点均表现为高度多态性(PIC > 0.5)。其中, 7个群体期望杂合度(H_e)为0.615~0.758, 多态信息含量(PIC)为0.568~0.723, 两者均以Zjg群体最高。D-loop序列共检测到32个变异位点, 定义了20个单倍型, 其中Zjg群体单倍型最多(11个)。7个群体的单倍型多样性、核苷酸多样性指数分别为0.618~0.945、0.003~0.008。基于SSR和D-loop序列的遗传距离分析, 发现Ghq群体和Zyq群体的Nei's遗传距离(0.058)和K2P遗传距离(0.003)最近, 低于其他群体间的遗传距离(分别为0.073~0.397和0.003~0.006)。综合分析, 发现7个美洲鲟群体的遗传多样性较为丰富, 而群体间遗传变异程度不高, 基因流 $N_m > 1$ 和镶嵌式排列的个体进化树也证实7个群体的亲缘关系较近。基于本研究, 可初步了解苏南地区鲟的种质现状, 为后续进一步开展育种工作奠定理论基础。

关键词: 美洲鲟; 微卫星; D-loop区; 遗传多样性

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

美洲鲟(*Alosa sapidissima*), 又名美洲西鲱, 隶属鲱形目(Clupeiformes)鲱科(Clupeidae)西鲱属(*Alosa*)^[1]。其广泛分布于北美洲大西洋西岸、太平洋海岸及亚洲东南部地区, 为典型的生殖性洄游鱼类, 是一种重要的经济鱼类^[2]。因其鲜嫩肥美, 营养价值高, 且在口感和风味上能与我国濒临灭绝的长江鲟(*Tenualosa reevesii*)媲美, 遂于20世纪90年代末开始, 由上海市水产研究所率先将其引种至我国养殖^[3-4]。在养殖初期, 由于受精孵化和育苗技术较为薄弱, 苗种的生产主要依赖于从美国进口^[5]。自繁育技术相对成熟后, 养殖面积开始逐年扩大。据不完全统计, 2022年江苏省美洲鲟养殖面积约1 667 hm², 年苗种供给量200~300万尾, 苗种产量占全国85%以上; 其中又以苏

南地区的苗种生产和养殖规模最大, 占全省的80%; 这与苏南地区地处亚热带季风气候区, 水源充沛的优越自然条件息息相关^[6]。但与此同时, 伴随着养殖规模的扩大, 美洲鲟养殖生产中也逐渐暴露出如生产性能退化、病害频发和良种匮乏等问题, 尤其是优良种群的稀缺严重制约了该产业的发展^[7]。基于此, 有必要对美洲鲟主产区的群体特征、结构及多样性进行分析, 摸清其大致的种质资源现状, 从而为后续进一步开展良种选育提供理论参考。

近年来, 分子标记技术不断发展, 已成为鱼类群体遗传分析的主要工具, 常见的有微卫星和线粒体DNA标记^[8]。在对水产动物的种质结构及多样性分析中, 这些技术已得到广泛应用。如

收稿日期: 2023-04-17 修回日期: 2023-08-22

基金项目: 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(JBGS[2021]131); 江苏现代农业产业技术体系建设项目(JATS[2022]370)

作者简介: 李玉林(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物遗传与育种。E-mail: lylhxx@163.com

通信作者: 董在杰, E-mail: dongzj@ffrc.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

ZHOU 等^[9]利用 10 个 SSR 位点对野生和养殖青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 进行了遗传多样性分析, 结果发现野生群体比养殖群体具更丰富的遗传多样性。张帝等^[10]基于 D-loop 和 SSR 标记研究了 5 个加州鲈 (*Micropterus salmonides*) 群体的遗传多样性, 结果发现引进的北方亚种具更高的选育潜力。傅建军等^[11]结合 SSR 和 D-loop 技术, 对泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*)、大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) 和台湾大泥鳅 (*P. dabryanus* var. *taiwan*) 进行了分析, 发现台湾大泥鳅为非有效物种, 可能是大鳞副泥鳅的遗传改良物种。张显波等^[12]基于 D-loop 和 SSR 标记分析了从江田鱼与 6 个鲤 (*Cyprinus carpio*) 群体的遗传多样性水平, 发现从江田鱼保留了较高的遗传多样性, 可用于后续进一步选育。

我国围绕鲟的研究主要集中在人工繁殖、性腺及胚胎发育和养殖技术等方面^[13-15]。对鲟的遗传多样性分析也有报道, 如张德康^[16]通过 D-loop 技术对来自缅甸和孟加拉国的鲟群体进行了遗传多样性分析, 结果发现孟加拉国鲟群体存在衰退的风险。然而, 围绕美洲鲟养殖生产过程中, 种质遗传多样性相关的信息还未见报道。因此, 本研究拟利用 SSR 和 D-loop 技术, 对我国美洲鲟主养区 (苏南地区) 不同群体进行分析, 旨在进一步了解不同群体的遗传特征和关系, 初步摸清苏南地区美洲鲟种质的现状; 研究结果可为美洲鲟种质资源开发提供基础数据, 也可为后续遗传改良工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本收集及 DNA 提取

2021 年 5 月至 2022 年 9 月, 分别在镇江丹徒 (Dtq)、镇江扬中 (Yzq)、苏州张家港 (Zjg)、苏州相城 (Xcq)、南通中洋 (Zyq)、常州溧湖 (Ghq) 和常州武进 (Czq) 共 7 个地区采集 210 尾美洲鲟繁育后苗种样本 (表 1), 剪取尾鳍, 编号保存于 95% 的乙醇中。

使用天根生化科技 (北京) 有限公司海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (货号: DP324-02) 提取 DNA。通过 NanoDrop 微量分光光度计检测 DNA 浓度及 OD 值, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。最后用灭菌的 ddH₂O 将 DNA 样本稀释至 60 ng/μL, -20 °C 保存备用。

表 1 美洲鲟样本信息

Tab. 1 Sampling information of *A. sapidissima*

群体 Population	编号 Identifier	样本数 Amount	采样时间 Time
镇江丹徒	Dtq	30	2021 年 5 月 30 日
镇江扬中	Yzq	30	2022 年 6 月 7 日
苏州张家港	Zjg	30	2022 年 6 月 22 日
苏州相城	Xcq	30	2022 年 6 月 23 日
南通中洋	Zyq	30	2022 年 7 月 17 日
常州溧湖	Ghq	30	2022 年 7 月 20 日
常州武进	Czq	30	2022 年 9 月 9 日

1.2 分子标记扩增及检测

1.2.1 微卫星引物扩增及分型

采用的 15 对微卫星引物引用自文献 [17-18], 由上海翼和应用生物技术有限公司合成, 并在上游引物 5' 端用 FAM 或 HEX 荧光基团标记 (表 2)。

聚合酶链式反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 扩增体系为 10 μL, 其组成为 5.4 μL 的 ddH₂O, 2.1 μL 的 *Taq* 酶体系 (含有 10×Buffer、dNTP、*Taq* 酶), DNA 模板 (60 ng/μL) 1.5 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL。扩增程序为 95 °C 预变性 2 min, 40 个循环扩增 (94 °C 变性 30 s, 退火 90 s, 72 °C 延伸 1 min), 72 °C 延伸 10 min, 结束后 4 °C 保存。SSR 基因分型检测委托翼和应用生物技术有限公司 (上海) 完成。

1.2.2 D-loop 序列扩增和测序

通过 NCBI 获取美洲鲟线粒体 D-loop 全序列 (序列号: NC_014690.1), 使用 Primer Premier 5.0 设计引物。上游引物 F: 5'-TAATGTAGTGAGAACCGACCAA-3'; 下游引物 R: 5'-CACGTAACAGAACTCGTTG-3'; 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

PCR 反应试剂购自南京诺唯赞生物科技有限公司。反应总体体系为 20 μL, 其组成为 10 μL 的 2×*Taq* Plus Master Mix (含有 *Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、标准 *Taq* 酶反应缓冲液、酶稳定剂和溴酚蓝染料), 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL, DNA 模板 (60 ng/μL) 1 μL, ddH₂O 8 μL。扩增程序为 95 °C 预变性 3 min, 30 个循环扩增 (95 °C 变性 15 s, 51 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 1 min), 72 °C 延伸 5 min, 结束后 4 °C 保存。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 条带清晰明亮、单一且长度正确后, 送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行双向测序。

表2 美洲鲥 SSR 引物序列
Tab. 2 SSR primer sequence of *A. sapidissima*

引物名称 Primer name	正向引物序列 Forward primer sequence (5'-3')	反向引物序列 Reverse primer sequence (5'-3')	退火温度 Annealing temperature/°C
Asa-1	GCATTATGATGGTCATGTGTATG	GAAATCCTATGTCTTGGAAATGG	59
Asa-2	AATAATGTTGTGCTGGATTGTG	TTTATTGTTATTGTGATGGAGGG	65
Asa-3	CTCTCTCCCCATCACTCTTC	CAAAGCCCTCGTTTACTTATTC	56
Asa-4	TTCTGATATTTCTTGTGAGGG	ATTTCTGTGAAACCTTTTGG	59
Asa-5	CATTACTCCAAGTTGCTTTTATTT	GAGATGACAGAAGAATTGAAGAGA	58
Asa-6	ACCTTCTGTCTGTTCACCTG	TTCACTGTAATGCAATGTAATGTT	62
Asa-7	TCCATTCCATTACGTAGAGCACT	CCGGCAGGGCACAGAAC	62
Asa-8	GGGAATAAGGGATGTAGCCAAGAT	AGGAGAAGGAAAGGGGACTGAGAG	60
Asa-9	GAGAAGAGGGCATTCCG	ATTTAGTGTGTGCCCAGC	65
Asa-10	GCTGTAATGCCCGTCCG	CAGTGTGCAGACCAGCC	62
Asa-11	AGGATACATAGTCTCCC	CAAGTTGGAGTGTACCG	62
Asa-12	AATGGACATATCTGCTGG	ATGGAGGGCCATATTTCCG	53
Asa-13	ATGAAGGCATTGACACAGTTAG	TGACAAGGTTTAAAGACACAG	59
Asa-14	TAAACATACTGCTCCTTCACCC	ATGTGCTCTTGTTCATGATG	60
Asa-15	CTTGGACTTACAATGCTTTTGG	AGCAAGTGTGGAGTCACTCG	58

1.3 数据处理及分析

1.3.1 微卫星标记

使用 Genalex 6.5 软件^[19]分析单个 SSR 位点在样本整体的等位基因数(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's 多样性指数(I)、基因流(N_m)、群体间遗传距离(D_a)、遗传相似度(S)、各位点近交系数(F_{IS})和遗传分化系数(F-statistics, F_{ST})。应用 Powermarker 3.0 软件^[20]计算各位点的多态性信息含量(PIC)。基于等位基因频率的 Nei's 遗传距离,利用 MEGA 7 软件^[21]构建群体间和个体间 UPGMA 聚类树。使用 Arlequin 3.5 软件^[22]分析分子遗传变异方差(AMOVA),再利用 STRUCTURE 2.0 软件^[23]进行遗传图谱绘制。

1.3.2 D-loop 序列

利用 BioEdit 7.0 软件^[24]对测序序列进行编辑,通过 Clustalx 1.81 软件对序列进行对位排序。利用 DnaSP 5.0 软件^[25]对核苷酸多样性(π)、平均核苷酸差异数(k)、单倍型数(H)、单倍型多样性(H_d)、Tajima's D 值以及多态性位点(S)进行统计。通过 Arlequin 3.5 软件分析分子方差(AMOVA)和遗传分化指数(F-statistics, F_{ST})。使用 MEGA 7 软件计算群体间 K2P (Kimura 2 Parameter)遗传距离和序列碱基含量,并构建群

体间 UPGMA 进化树。

2 结果

2.1 遗传变异特征

SSR 分析共扩增出 142 个等位基因, N_a 值为 4~18 (表 3)。其中,Asa-5 等位基因最多(18),Asa-12 等位基因最少(4);平均 N_a 和 N_e 为 9.467 和 3.607,平均 H_o 和 H_e 为 0.661 和 0.687。参考 BOTSTEIN 等^[26]通过 PIC 指数衡量基因变异程度的标准,平均 PIC 为 0.701,呈高度多态性($PIC > 0.5$);Asa-5 标记的 PIC 指数最高(0.844),Asa-12 最低(0.490)。遗传分化指数 F_{ST} 的平均值为 0.066, N_m 的平均值为 3.815($N_m > 1$)。在 7 个美洲鲥群体中,苏州张家港(Zjg)的 N_a (7.400)、 N_e (4.536)、 H_e (0.758)和 PIC(0.723)高于镇江扬中(Yzq);镇江扬中(Yzq)的 N_a (6.733)、 N_e (4.233)、 H_e (0.727)和 PIC(0.689)均高于其他 5 个群体(表 4)。D-loop 序列分析表明,各群体的单倍型多样性(H_d)为 0.618~0.945,镇江丹徒(Dtq)的核苷酸多样性最高($H_d = 0.876$, $\pi = 0.008$)。中性检验显示,常州溇湖(Ghq)的 Tajima's D 为正值,其他群体均为负值,其中镇江扬中(Yzq)和镇江丹徒(Dtq)表现为显著($P < 0.05$)偏离中性(表 4)。

表3 基于15个SSR位点对7个美洲鲟群体遗传多样性的检测结果
Tab. 3 Genetic diversity of seven *A. sapidissima* populations detected by 15 microsatellite loci

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	基因流 N_m	遗传分化系数 F_{ST}	多态信息 含量 PIC
Asa-1	11	4.228	1.587	0.784	0.759	4.197	0.056	0.779
Asa-2	12	3.649	1.491	0.694	0.697	6.252	0.038	0.696
Asa-3	10	4.020	1.496	0.738	0.741	3.402	0.068	0.765
Asa-4	14	4.331	1.594	0.814	0.758	4.497	0.053	0.774
Asa-5	18	5.653	1.884	0.776	0.818	4.914	0.048	0.844
Asa-6	7	3.490	1.350	0.733	0.688	5.179	0.046	0.679
Asa-7	6	2.777	1.131	0.600	0.620	2.808	0.082	0.621
Asa-8	12	3.864	1.422	0.686	0.679	3.084	0.075	0.696
Asa-9	9	4.196	1.535	0.514	0.733	2.612	0.087	0.776
Asa-10	7	3.022	1.268	0.643	0.646	2.126	0.105	0.683
Asa-11	8	2.336	1.031	0.540	0.541	3.581	0.065	0.550
Asa-12	4	2.110	0.875	0.519	0.521	4.423	0.053	0.490
Asa-13	6	3.282	1.313	0.438	0.692	2.951	0.078	0.707
Asa-14	9	3.339	1.340	0.690	0.684	2.874	0.080	0.704
Asa-15	9	3.809	1.507	0.743	0.733	4.316	0.055	0.751
Mean	9.467	3.607	1.388	0.661	0.687	3.815	0.066	0.701

注: N_m 为根据 $N_m = 0.25(1-F_{ST})/F_{ST}$ 估算的基因流量。
Notes: N_m is gene flow, which is estimated from $N_m = 0.25(1-F_{ST})/F_{ST}$.

表4 美洲鲟微卫星标记和D-loop序列的遗传多态性参数
Tab. 4 Genetic diversity parameters of microsatellite markers and D-loop sequences in seven *A. sapidissima* populations

分子标记 Molecular markers	多样性参数 Diversity parameter	镇江 丹徒 Dtq	镇江 扬中 Yzq	苏州 张家港 Zjg	苏州 相城 Xcq	南通 中洋 Zyq	常州 溧湖 Ghq	常州 武进 Czq
微卫星标记 Microsatellite markers	等位基因数 N_a	5.400	6.733	7.400	5.400	5.467	5.733	5.133
	有效等位基因 数 N_e	3.446	4.233	4.536	3.054	3.108	3.420	3.454
	Shannon's 指数 I	1.361	1.536	1.641	1.200	1.274	1.352	1.352
	观察杂合度 H_o	0.709	0.749	0.696	0.586	0.584	0.640	0.662
	期望杂合度 H_e	0.691	0.727	0.758	0.615	0.643	0.682	0.697
D-loop 序列 D-loop sequence	多态信息含量 PIC	0.643	0.689	0.723	0.568	0.598	0.634	0.648
	多态性位点数 S	33	18	11	7	11	7	8
	平均核苷酸差 异数 K	3.853	1.830	2.074	1.623	1.563	2.600	1.989
	核苷酸多样性 π	0.008	0.004	0.005	0.004	0.003	0.005	0.004
	单倍型数 H	14	5	13	10	8	16	14
	单倍型多样性 H_d	0.876	0.618	0.887	0.816	0.722	0.945	0.860
	Tajima's D	-2.059*	-2.057*	-0.815	-0.241	-1.406	0.873	-0.672

注: *表示 Tajima's D 中性检验达到显著性水平 ($P < 0.05$)。
Notes: * indicates statistical significance level for Tajima's D test ($P < 0.05$).

此外,4种碱基在各群体间差异较小,平均含量 A 为 28.1%、T 为 29.9%、C 为 25.9%、G 为 16.1%,其中(A+T)含量为 58%、(C+G)含量为 42%。在不计插入和缺失位点的情况下,共检测到 32 个核苷酸变异位点(单核苷酸变异 22 个,简

约信息 10 个)。共定义到 20 个单倍型(表 5),包括 14 个共享及 6 个特有单倍型。其中,单倍型 Hap3 被鉴定到 66 次,频率最高(占个体数 31.4%),且被 6 个群体共享。

表 5 美洲鲥 7 个群体中单倍型分布情况
Tab. 5 Distribution of the haplotypes in seven *A. sapidissima* populations

单倍型 Haplotype	各群体中不同单倍型个体数 Number of haplotypes for each population						
	镇江丹徒 Dtq	镇江扬中 Yzq	苏州张家港 Zjg	苏州相城 Xcq	南通中洋 Zyq	常州溧湖 Ghq	常州武进 Czq
Hap1	-	2	-	2	-	1	-
Hap2	7	11	8	-	-	4	3
Hap3	16	16	7	1	-	4	22
Hap4	-	1	-	-	-	-	-
Hap5	1	-	1	8	9	6	-
Hap6	1	-	1	-	1	-	1
Hap7	1	-	1	-	-	-	-
Hap8	1	-	-	-	-	-	-
Hap9	2	-	1	-	-	1	-
Hap10	1	-	5	11	14	9	3
Hap11	-	-	-	2	-	2	-
Hap12	-	-	-	2	1	-	-
Hap13	-	-	-	2	-	-	-
Hap14	-	-	-	1	-	-	-
Hap15	-	-	-	1	-	-	-
Hap16	-	-	3	-	-	-	1
Hap17	-	-	1	-	2	1	-
Hap18	-	-	1	-	1	1	-
Hap19	-	-	-	-	2	1	-
Hap20	-	-	1	-	-	-	-

2.2 群体间遗传分化与遗传结构

微卫星标记分析表明,7个美洲鲥群体间的 Nei's 遗传距离为 0.058~0.397,遗传相似度为 0.672~0.944(表 6)。常州溧湖(Ghq)和南通中洋(Zyq)具最高的遗传相似度(0.944)和最近的遗传距离(0.058),镇江扬中(Yzq)和南通中洋(Zyq)之间的遗传相似度最低(0.672),遗传距离最大(0.397)。UPGMA 聚类树显示 7 个美洲鲥群体被明显分为两支:镇江扬中(Yzq)和苏州张家港(Zjg)聚为一支;镇江丹徒(Dtq)、苏州相城(Xcq)、常州武进(Czq)、常州溧湖(Ghq)和南通中洋(Zyq)聚为一支(图 1)。然而,基于 Nei's 遗传距离对 210 尾个体单独进行 NJ 聚类分析,发现 7 个群体呈镶嵌式分布,未出现明显的群体分支(图 2)。对 7 个群体进行遗传结构分析,结果发现

$K = 2$ 时, $\Delta K = 400$, 出现峰值, 推测 7 个美洲鲥群体分为 2 个亚群为最佳(图 3); 其中镇江扬中(Yzq)和苏州张家港(Zjg)群体聚为亚群 1, 其余 5 个群体聚为亚群 2。

D-loop 序列分析显示 7 个群体间的 K2P 遗传距离为 0.003 ~ 0.006, 其中镇江丹徒(Dtq)和苏州相城(Xcq)、常州溧湖(Ghq)、南通中洋(Zyq)的遗传距离最远(0.006), 见表 7。南通中洋(Zyq)和常州武进(Czq)间的 F_{ST} 最高(0.479, $P < 0.01$), 此外, 镇江扬中(Yzq)与苏州相城(Xcq)、南通中洋(Zyq), 镇江丹徒(Dtq)与苏州相城(Xcq)、南通中洋(Zyq), 常州武进(Czq)与常州溧湖(Ghq)、苏州相城(Xcq)、南通中洋(Zyq), 南通中洋(Zyq)与苏州张家港(Zjg)之间 F_{ST} 指数均表现为极显著差异($P < 0.01$)。UPGMA 聚类树显示 7 个群体聚为两

大支,常州溧湖(Ghq)与南通中洋(Zyq)聚类后与苏州相城(Xcq)聚组,再与常州武进(Czq)、苏州张家港(Zjg)和镇江扬中(Yzq)聚为一支,镇江丹徒(Dtq)独聚一支。基于D-loop和SSR分析的聚

类树均显示常州溧湖(Ghq)和南通中洋(Zyq)亲缘关系最近,苏州张家港(Zjg)和镇江扬中(Yzq)亲缘关系较近,镇江丹徒(Dtq)和镇江扬中(Yzq)、苏州张家港(Zjg)亲缘关系最远(图1)。

表6 7个美洲鲟群体间Nei's遗传距离(左下角)和遗传一致性(右上角)

Tab. 6 Nei's genetic distance (below diagonal) and genetic consistency (above diagonal) of seven *A. sapidissima* populations

群体 Population	镇江丹徒 Dtq	镇江扬中 Yzq	苏州张家港 Zjg	苏州相城 Xcq	南通中洋 Zyq	常州溧湖 Ghq	常州武进 Czq
镇江丹徒 Dtq		0.747	0.823	0.851	0.900	0.930	0.913
镇江扬中 Yzq	0.291		0.875	0.678	0.672	0.696	0.744
苏州张家港 Zjg	0.195	0.134		0.748	0.785	0.820	0.844
苏州相城 Xcq	0.161	0.389	0.291		0.866	0.864	0.774
南通中洋 Zyq	0.106	0.397	0.242	0.144		0.944	0.875
常州溧湖 Ghq	0.073	0.363	0.198	0.146	0.058		0.915
常州武进 Czq	0.092	0.296	0.169	0.256	0.134	0.089	

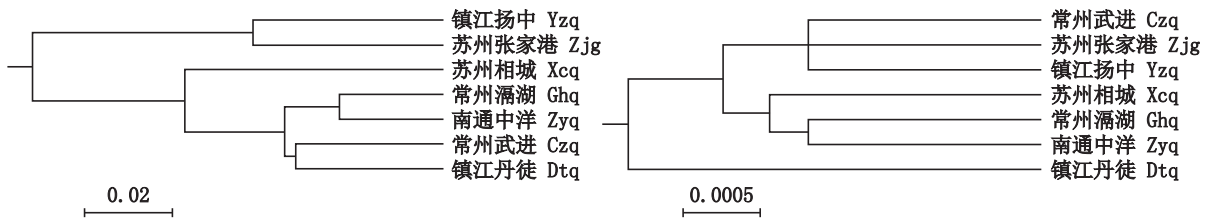


图1 7个美洲鲟群体基于微卫星标记(左)和D-loop序列(右)遗传分析的UPGMA聚类树

Fig. 1 UPGMA trees among seven *A. sapidissima* populations based on D-loop sequences (left) and microsatellite markers (right)

此外,基于2种分子标记进一步对7个群体进行遗传方差(AMOVA)分析,结果发现基于SSR序列,7个群体间的遗传分化指数为0.060,变异来源主要为群体内(93.97%)。基于D-loop序列,7个群体间遗传分化指数为0.125,变异来源也主要为群体内(87.48%),说明变异主要发生在群体内,而群体间的遗传分化水平不高(表8)。

3 讨论

3.1 基于SSR位点的群体遗传多样性

多态性信息含量和杂合度作为衡量物种遗传多样性高低的重要标准,其值越大,代表遗传丰度越高^[27]。本研究中,15个SSR标记的PIC值为0.490~0.844;参考BOTSTEIN等^[26]设定标准,除Asa-12位点(PIC=0.490)属中度多态外,其余位点均为高度多态位点(PIC>0.5)。根据QIN等^[28]的介绍,当杂合度为0.5~0.8时,可判定种群具高度的遗传多样性,且观测杂合度容易受到样

本量大小影响,期望杂合度可更好地说明种群遗传多样性。本研究中,7个群体期望杂合度均介于0.5~0.8,这与AUNINS等^[29]对詹姆斯流域和WRIGHT等^[30]对大西洋海岸的野生鲟群体期望杂合度研究结果相近(H_e 分别为0.60~0.82和0.77~0.81),表明7个美洲鲟群体保留了较高的遗传多样性,具有一定的选育潜力。

遗传分化指数 F_{ST} 常用来反映群体间遗传差异程度的大小^[31]。根据SSR分型结果计算7个群体间的遗传分化指数为0.066,说明群体间存在较小程度的遗传变异。 N_m 可以反映群体间基因的交流情况,当 $N_m > 1$,说明群体间基因交流频繁,遗传相似度高^[32]。本研究中,7个群体各位点的 N_m 平均值为3.815,可认为群体间存在着频繁的基因交流。基于Nei's遗传距离构建的个体NJ进化树也反映出210尾美洲鲟个体未因群体差异或来源不同而出现明显的分群,进一步说明各群体间的个体在一定程度上存在种质的遗传混杂现象。

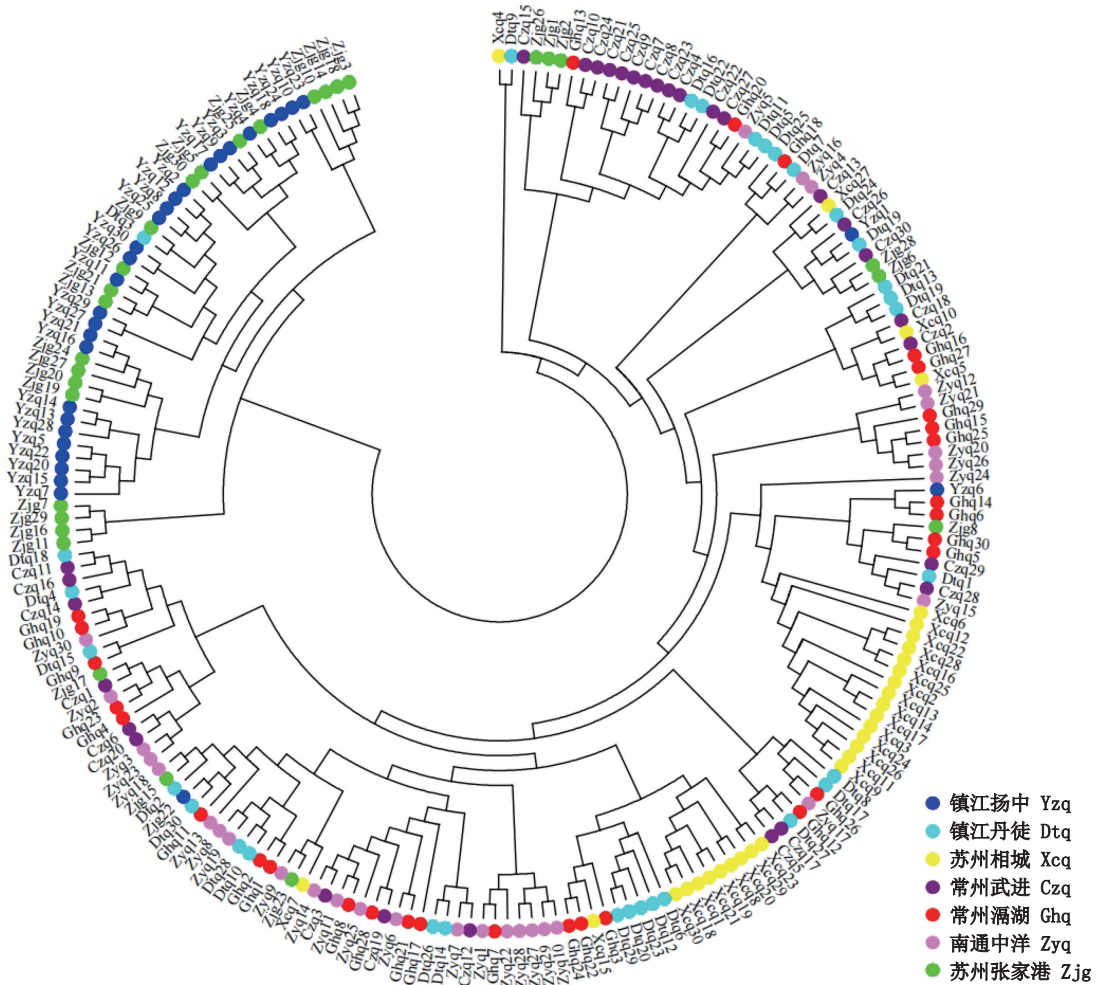


图2 基于Nei's遗传距离构建的210尾美洲鲈个体的NJ聚类树
Fig. 2 NJ tree of 210 *A. sapidissima* individuals based on Nei's genetic distance

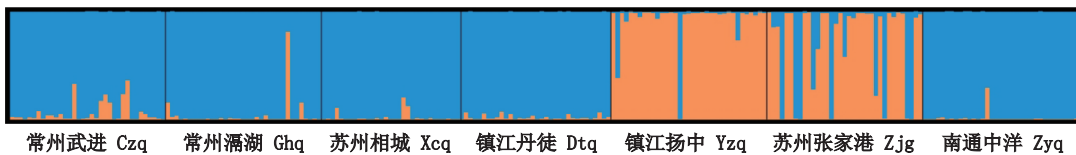


图3 美洲鲈7个群体的遗传结构图(K=2)
Fig. 3 Genetic structure map of 7 populations of *A. sapidissima* (K=2)

表7 7个美洲鲈群体间K2P遗传距离(左下角)和遗传分化指数 F_{ST} (右上角)
Tab. 7 K2P genetic distance (below diagonal) and genetic differentiation index F_{ST} (above diagonal) among seven *A. sapidissima* populations

群体 Population	镇江丹徒 Dtq	镇江扬中 Yzq	苏州张家港 Zjg	苏州相城 Xcq	南通中洋 Zyq	常州溇湖 Ghq	常州武进 Czq
镇江丹徒 Dtq		0.002	0.018	0.283**	0.305**	0.150*	-0.001
镇江扬中 Yzq	0.005		0.031	0.358**	0.425**	0.220*	0.088
苏州张家港 Zjg	0.005	0.003		0.201*	0.257**	0.066	0.092
苏州相城 Xcq	0.006	0.005	0.004		0.033	0.023	0.450**
南通中洋 Zyq	0.006	0.005	0.004	0.003		0.040	0.479**
常州溇湖 Ghq	0.006	0.004	0.004	0.004	0.003		0.271**
常州武进 Czq	0.004	0.003	0.003	0.004	0.004	0.003	

注:**表示极显著分化水平($P < 0.01$), *表示显著分化水平($P < 0.05$)。

Notes: “**” shows extremely significant difference ($P < 0.01$), “*” shows significant difference ($P < 0.05$).

表8 7个美洲鲟群体基于SSR位点和D-loop序列的AMOVA分析
 Tab. 8 Analyses of molecular variance (AMOVA) based on SSR markers and D-loop sequences in seven *A. sapidissima* populations

分子标记 Molecular marker	变异来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance component	百分率 Percentage of variation/%
SSR 标记 SSR marker	群体间 Among populations	152.652	0.336	6.03
	群体内 Within populations	2 167.617	5.248	93.97
	总变异 Total variation	2 320.269	5.584	
D-loop 序列 D-loop sequence	群体间 Among populations	7.980	0.036	12.54
	群体内 Within populations	50.933	0.251	87.48
	总变异 Total variation	58.973	0.287	

群体间的亚群数可通过 K 值来反映,在 ΔK 最大时所对应的 K 值即为合适的亚群数^[33]。本研究中,7个群体被分为两个亚群,其中,常州武进、常州溇湖、苏州相城、镇江丹徒和南通中洋群体中更多个体属亚群1,镇江扬中(Yzq)和苏州张家港群体中更多个体属亚群2,说明常州武进、常州溇湖(Ghq)、苏州相城(Xcq)、镇江丹徒和南通中洋(Zyq)群体的遗传关系较近,镇江扬中(Yzq)和苏州张家港(Zjg)群体的遗传关系较近,这与进化树结果一致,我们推测镇江扬中和苏州张家港群体的亲本可能来源于同一苗种场。此外,SSR位点结果也说明7个群体的遗传多样性水平较高,亲缘关系较近,群体的遗传分化主要来自群体内部(93.97%),由此推测他们是由一个或几个“小”而高效的群体发展而来。

3.2 基于线粒体D-loop序列的群体遗传多样性

单倍型多样性和核苷酸多样性是衡量群体遗传多样性高低的重要指标,通常 $H_d = 0.5$ 和 $\pi = 0.005$ 为划定多样性高低的阈值^[34]。本研究中,从单倍型多样性($H_d = 0.618 \sim 0.945$, 平均0.818)和核苷酸多样性($\pi = 0.003 \sim 0.008$, 平均0.005)结果来看,与张帝等^[10]对大口黑鲈引进群体、养殖群体的结果($H_d = 0.882$, $\pi = 0.0034$ 和 $H_d = 0.267$, $\pi = 0.0005$),以及赵静霞等^[35]对澜沧江上游短尾高原鳅的结果($H_d = 0.837 \sim 0.942$, $\pi = 0.0051 \sim 0.0057$)相似,说明7个群体的多样性均较高。同时,除镇江丹徒(Dtq)群体外,其余6个群体均表现为高单倍型,低核苷酸的遗传多样性模式,这与国内对鲤^[36]和南方白甲鱼(*Onychostoma gerlachi*)^[37]群体的遗传分析结果相似。我们推测这主要是在人为因素干扰下,群体

通常能够在短时间内迅速扩张而成所导致。此外,Tajima's D 中性检验结果发现除常州溇湖群体外,其余群体均为负值的现象,也证实上述推测。

遗传距离和遗传分化指数可以有效地反映群体间分化程度^[38]。本研究发现7个群体的遗传距离较小(0.003 ~ 0.006),这与李雨欣等^[39]对波纹唇鱼(*Cheilinus undulatus*)和李珊^[40]对斑鳊(*Siniperca scherzeri*)的分析结果(0.00525 ~ 0.00698, 0.007 ~ 0.010)相似,说明各群体间亲缘关系较近。分子方差分析结果显示,遗传分化指数 $F_{ST} = 0.125$,遗传变异来源与微卫星分析结果相似,几乎所有的变异均发生于群体内(87.48%),7个群体间差异明显小于群体内差异,群体间遗传分化水平较低,再次表明以上群体可能是由一个或几个“小”而高效的群体发展而来。

3.3 综合两种方法分析7个群体遗传多样性

对群体开展遗传研究可提高对其遗传多样性的理解,进而为遗传资源保护、管理及育种计划提供一定指导;遗传多样性高的群体具有较强的生存和适应能力,反之则可能导致种群衰退^[41-42]。在本研究中,我们同时采用SSR和D-loop技术对7个鲟群体进行了遗传多样性分析,两种方法的结果基本一致,均发现7个群体具较高的遗传多样性,具有选育的空间和潜力。

然而,部分结果也存在一些差异,如在利用SSR标记分析时,发现苏州张家港在7个群体中多样性相对较高($H_e = 0.758$, $PIC = 0.723$);而D-loop序列显示镇江丹徒在7个群体中多样性相对较高($H_d = 0.876$, $\pi = 0.008$);基于K2P遗传距离构建群体间遗传进化树与基于Nei's遗传距离构

建的群体间进化树也并不完全一致。这些现象与KE等^[27]对珠江流域泥鳅群体和赵立祥等^[43]对宝石鲈(*Scortum barcoo*)群体的遗传多样性报道结果类似,推测可能与线粒体为母系遗传特性有关,遗传过程中未进行基因重组;而对于亲缘关系较近的群体来说,用于分析种群遗传多样性存在一定局限性。

此外,两种方法均显示7个群体的遗传分化主要来自群体内,群体间遗传变异处于较低水平。使用两种方法分析时,发现多数群体出现杂合子缺失现象,且7个群体有效等位基因数仅为3.607,群体间的遗传距离较小,推测可能是与长时间无外源引进受精卵补充的因素有关^[44]。此外,所选择的群体可能经历了长期人工选择压力,不断发生亲缘近交,而使7个群体间遗传分化偏低。同时,也警示我们,在接下来的选育工作中应及时补充有效亲本数量,避免亲缘关系较近的群体之间的近亲交配。

4 结论

本研究利用SSR标记和线粒体D-loop序列分析了7个美洲鲥群体的遗传多样性,结果显示群体间遗传分化程度较低,遗传距离小。同时,7个群体均保持较高的遗传多样性,具有一定的选育潜力。本研究可为下一步美洲鲥的种质改良和品种选育提供理论依据。

参考文献:

- [1] 税春,施永海,陆根海,等. 工厂化养殖美洲鲥幼鱼的生长特性及消化酶活性变化[J]. 水产科技情报, 2022, 49(5): 266-271.
SHUI C, SHI Y H, LU G H, et al. Changes of growth characteristics and digestive enzyme activity of American shad (*Alosa sapidissima*) fingerlings in a factory farming pool [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2022, 49(5): 266-271.
- [2] BAYSE S M, REGISH A M, MCCORMICK S D. Survival and spawning success of American shad (*Alosa sapidissima*) in varying temperatures and levels of glochidia infection[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2021, 47(6): 1821-1836.
- [3] 高晓华,高玮,张明辉. 40种中草药对美洲鲥源温和气单胞菌的体外抑菌作用研究[J]. 饲料工业, 2023, 44(12): 67-73.
GAO X H, GAO W, ZHANG M H. The antibacterial effect of 40 kinds of Chinese herbal medicines on *Aeromonas sobria* from *Alosa sapidissima* in vitro [J]. Feed Industry, 2023, 44(12): 67-73.
- [4] 施永海,曹祥德,徐嘉波. 上海及周边地区美洲鲥养殖产业绿色发展调研报告(上)[J]. 科学养鱼, 2020, 42(8): 5-6.
SHI Y H, CAO X D, XU J B. Investigation report on green development of American shad culture industry in Shanghai and surrounding area (continued) [J]. Scientific Fish Farming, 2020, 42(8): 5-6.
- [5] 刘青华,郑玉红,孟涵,等. 美洲鲥鱼养殖现状和产业发展展望[J]. 河北渔业, 2017, 286(10): 48-50.
LIU Q H, ZHENG Y H, MENG H, et al. Current situation and prospect of industrial development in American shad [J]. Hebei Fisheries, 2017, 286(10): 48-50.
- [6] 李勇. 近代苏南渔业发展与渔民生活[D]. 苏州: 苏州大学, 2007.
LI Y. The research on fishery development and fishermen's lives of southern Jiangsu in modern times [D]. Suzhou: Soochow University, 2007.
- [7] 于爱清,施永海,徐嘉波,等. 美洲鲥脑转录组多态性EST-SSR的规模化开发与利用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2023, 51(11): 1-12.
YU A Q, SHI Y H, XU J B, et al. Development and application of polymorphic EST-SSR markers in cultured American shad (*Alosa sapidissima*) based on brain transcriptome datasets [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2023, 51(11): 1-12.
- [8] 李文文,王炳谦,黄天晴,等. 鱼类生长分子标记的研究进展[J]. 水产学杂志, 2022, 35(5): 111-117.
LI W W, WANG B Q, HUANG T Q, et al. Research progress on molecular markers of fish growth: a review [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2022, 35(5): 111-117.
- [9] ZHOU Y, TONG J G, WANG J R, et al. Development of microsatellite markers and genetic diversity in wild and cultured populations of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) along the Yangtze River [J]. Aquaculture International, 2020, 28(5): 1867-1882.
- [10] 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]. 水产科学, 2022, 29(9): 1277-1289.
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.
- [11] 傅建军,徐如卫,薛婷,等. 3种泥鳅微卫星标记和D-Loop部分序列遗传变异分析[J]. 水产学报, 2015, 39(4): 465-474.
FU J J, XU R W, XUE T, et al. Genetic analysis of three stocks of loach with microsatellite markers and D-loop

- partial sequences[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(4): 465-474.
- [12] 张显波, 傅建军, 胡锦丽, 等. 基于D-loop序列和SSR的从江田鱼与6个鲤群体的遗传分析[J]. *贵州农业科学*, 2021, 49(12): 76-85.
ZHANG X B, FU J J, HU J L, et al. Genetic diversity of Congjiang *Cyprinus carpio* and 6 *C. carpio* populations based on D-loop sequence and SSR marker[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2021, 49(12): 76-85.
- [13] 严银龙, 张之文, 施永海, 等. 美洲鲟室内人工育苗技术初探[J]. *水产科技情报*, 2020, 47(3): 121-125.
YAN Y L, ZHANG Z W, SHI Y H, et al. Preliminary study on indoor artificial propagation of *Alosa sapidissima* [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2020, 47(3): 121-125.
- [14] 宓国强, 练青平, 汪亚平, 等. 美洲鲟的胚胎发育研究[J]. *江西农业大学学报*, 2014, 36(6): 1343-1348, 1356.
MI G Q, LIAN Q P, WANG Y P, et al. A study on embryonic development of *Alosa sapidissima* [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2014, 36(6): 1343-1348, 1356.
- [15] 胡春晖, 张沈鸣, 杨吉平. 美洲鲟帆布池塘大棚养殖试验[J]. *水产科技情报*, 2022, 49(2): 77-81.
HU C H, ZHANG S M, YANG J P. Culture experiment of *Alosa sapidissima* in greenhouse canvas pool[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2022, 49(2): 77-81.
- [16] 张德康. 孟加拉鲟种群结构与遗传多样性分析及美洲鲟对温度胁迫的应激生理响应[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
ZHANG D K. Analysis of population structure and genetic diversity in *Tenualosa ilisha* populations and physiological response of *Alosa sapidissima* to temperature stress [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [17] FARIA R, WALLNER B, WEISS S, et al. Isolation and characterization of eight dinucleotide microsatellite loci from two closely related clupeid species (*Alosa alosa* and *A. fallax*) [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4(4): 586-588.
- [18] HASSELMAN D J, RICARD D, BENTZEN P. Genetic diversity and differentiation in a wide ranging anadromous fish, American shad (*Alosa sapidissima*), is correlated with latitude[J]. *Molecular Ecology*, 2013, 22(6): 1558-1573.
- [19] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [20] LIU K J, MUSE S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128-2129.
- [21] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [22] 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.
- [23] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945-959.
- [24] HALL T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT[J]. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999, 41(41): 95-98.
- [25] ROZAS J, SÁNCHEZ-DELBARRIO J C, MESSEGUER X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(18): 2496-2497.
- [26] 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.
- [27] KE X L, LIU J, GAO F Y, et al. Analysis of genetic diversity among six dojo loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) populations in the Pearl River Basin based on microsatellite and mitochondrial DNA markers [J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 27: 101346.
- [28] QIN Y, SHI G, SUN Y. Evaluation of genetic diversity in *Pampus argenteus* using SSR markers [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2013, 12(4): 5833-5841.
- [29] AUNINS A W, EPIFANIO J M, BROWN B L. Genetic evaluation of supplementation-assisted American shad restoration in the James River, Virginia [J]. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, 2014, 6(1): 127-141.
- [30] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations. A treatise in four volumes. Volume 4. Variability within and among natural populations [J]. *Journal of Biosocial Science*, 1972, 4(2): 253-256.
- [31] 纪达. 稻田金背鲤种质特性与遗传多样性探究[D]. 贵州: 贵州大学, 2022.
JI D. Germplasm characteristics and genetic diversity of golden-backed carp in rice fields [D]. Guizhou: Guizhou University, 2022.
- [32] 曲若竹, 侯林, 吕红丽, 等. 群体遗传结构中的基因流[J]. *遗传*, 2004, 26(3): 377-382.
QU R Z, HOU L, LYU H L, et al. The gene flow of population genetic structure [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2004, 26(3): 377-382.
- [33] 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.
- [34] 李潇轩,郑端端,罗明坤,等. 不同体色锦鲤和“福瑞鲤2号” mtDNA D-loop 序列遗传变异分析[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(2): 266-274.
- LI X X, ZHENG D D, LUO M K, et al. Genetic variation analysis of mtDNA D-loop sequences in different body color koi carp and FFRC No. 2 strain common carps [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, 32(2): 266-274.
- [35] 赵静霞,熊合勇,吴俊颖,等. 云南澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性分析[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(1): 52-60.
- ZHAO J X, XIONG H Y, WU J J, et al. Genetic diversity analysis of *Triplophysa brevicauda* in the upper reaches of Lancang River in Yunnan Province [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, 31(1): 52-60.
- [36] 董在杰,刘念,傅建军,等. 6个野生与选育鲤群体的微卫星遗传分析[J]. 南方水产科学, 2018, 14(4): 46-55.
- DONG Z J, LIU N, FU J J, et al. Genetic analysis for six wild and selection populations of common carp (*Cyprinus carpio*) using microsatellites [J]. *South China Fisheries Science*, 2018, 14(4): 46-55.
- [37] 张浩然,代应贵,袁振兴,等. 都柳江南方白甲鱼群体 mtDNA D-loop 序列及遗传多样性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(4): 1513-1518.
- ZHANG H R, DAI Y G, YUAN Z X, et al. Analysis of D-loop sequence and genetic diversity for *Onychostoma gerlachi* population in Duliu River [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(4): 1513-1518.
- [38] 张赛赛. 中国辽宁地区刀鲚(*Coilia nasus*)遗传多样性研究[D]. 大连:大连海洋大学, 2016.
- ZHANG S S. The genetic diversity study of *Coilia nasus* of Liaoning Province in China [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016.
- [39] 李雨欣,王秀英,张国庆. 基于 mtDNA 控制区的波纹唇鱼的4个不同地理群体的遗传多样性[J]. 海南大学学报自然科学版, 2017, 35(4): 359-365.
- LI Y X, WANG X Y, ZHANG G Q. Genetic diversity and divergence of *Cheilinus undulates* from four different geographic populations based on mtDNA control region [J]. *Natural Science Journal of Hainan University*, 2017, 35(4): 359-365.
- [40] 李珊. 清水江斑鳅种群遗传结构及其遗传多样性研究[D]. 贵州:贵州大学, 2018.
- LI S. Genetic structure and genetic diversity of *Siniperca scherzeri* population in Qingshuijiang River [D]. Guizhou: Guizhou University, 2018.
- [41] 李珊,郭健康,安苗,等. 锦江河3种鳅的遗传变异及其多样性评价[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(5): 666-673.
- LI S, GUO J K, AN M, et al. Genetic diversity and variation of three Sinipercine fishes in Jinjiang River [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2018, 27(5): 666-673.
- [42] FANG D A, HE M, REN Y F, et al. Assessment of genetic diversity of the Salangid, *Neosalanx taihuensis*, based on the mitochondrial CO I gene in different Chinese river basins [J]. *Biology*, 2022, 11(7): 968.
- [43] 赵立祥,董浚键,孙成飞,等. 结合线粒体 D-loop 序列和 SSR 标记对宝石鲈养殖群体遗传多样性的分析[J]. 淡水渔业, 2019, 49(3): 37-46.
- ZHAO L X, DONG J J, SUN C F, et al. Mitochondrial D-loop sequences and simple sequence repeat markers combination analysis of genetic diversity in reared *Scortum barcoo* populations [J]. *Freshwater Fisheries*, 2019, 49(3): 37-46.
- [44] 施永海,曹祥德,徐嘉波. 新冠肺炎疫情对中国美洲鲈产业的影响及对策建议[J]. 中国农学通报, 2022, 38(9): 151-156.
- SHI Y H, CAO X D, XU J B. Effect of COVID-19 epidemic on *Alosa sapidissima* production in China and the countermeasures [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2022, 38(9): 151-156.

Genetic diversity analysis of seven American shad (*Alosa sapidissima*) populations in southern Jiangsu, China

LI Yulin¹, LUO Mingkun², FENG Bingbing³, ZHU Wenbin², FU Jianjun², LIANG Zhengyuan^{1,4}, XIE Xudong⁵, MIAO Linghong², DONG Zaijie^{1,2}

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, Jiangsu, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, Jiangsu, China; 3. Fisheries Technology Extension Center of Jiangsu Province, Nanjing 210036, Jiangsu, China; 4. Wuxi Raysun Fishery Science and Technology Co., Ltd., Wuxi 214001, Jiangsu, China; 5. Zhenjiang Xinrun Agricultural Development Co., Ltd., Zhenjiang 212115, Jiangsu, China)

Abstract: To investigate the status of germplasm resources and the level of genetic diversity of American shad (*Alosa sapidissima*) breeding populations in southern Jiangsu, a total of 210 individuals from seven different populations including Zhenjiang Dantu (Dtq), Suzhou Zhangjiagang (Zjg), Suzhou Xiangcheng (Xcq), Nantong Zhongyang (Zyq), Zhenjiang Yangzhong (Yzq), Changzhou Gehu (Ghq) and Changzhou Wujin (Czq) were analyzed using 15 microsatellite markers and mitochondrial D-loop sequences in this study. With the exception of Asa-12, the findings revealed that all 15 SSR loci exhibited high polymorphism ($PIC > 0.5$). Among them, the expected heterozygosity (H_e) of the seven populations ranged from 0.615 to 0.758, and the polymorphic information content PIC ranged from 0.568 to 0.723, both of which were highest in the Zjg population. A total of 32 mutation loci and 20 haplotypes were defined for the D-loop sequence analysis, with the Zjg population having the most haplotypes (11). The haplotype diversity and nucleotide diversity indices for the seven populations ranged from 0.618 to 0.945 and from 0.003 to 0.008, respectively. The genetic distance of Nei's (0.058) and the genetic K2P distance (0.003) between the Ghq and Zyq populations, determined by genetic distance analysis using SSR and D-loop sequences, were the lowest and were lower than the genetic distances between other populations (0.073–0.397 and 0.003–0.006, respectively). We conducted a thorough investigation and discovered that genetic variation among the seven populations was low, despite the fact that they were genetically diverse. The gene flow $N_m > 1$ and the mosaic arrangement of the different evolutionary trees supported the strong connectivity of the seven groups. This study provides a theoretical basis for further breeding efforts and a preliminary understanding of the status of American shad germplasm in southern Jiangsu Province.

Key words: *Alosa sapidissima*; microsatellite; D-loop; genetic diversity