

7 处移植公鱼种类的分子鉴定

龚小玲, 吴 颖, 崔忠凯, 鲍宝龙*

(上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 公鱼属种类曾在中国被广泛移植, 但被移植的种类却存在一定的争议, 实验利用 *CO I* 基因序列片段对来自黑龙江、新疆和云南 3 地 7 处移植公鱼属种类进行了鉴定, 并对它们之间的遗传关系进行了探讨。与 GenBank 和 DNA Barcoding 鉴定中心的条形码网站 BOLD Systems 进行比对, 发现 3 地 7 处的移植公鱼均与西太公鱼序列相似度达到 99% 以上; 移植公鱼及西太公鱼群体间和群体内的遗传距离均在 0.1%~0.3%, 与公鱼属其它种类的种间遗传距离则在 10% 以上; 在 NJ、Bayesian 系统树上, 移植公鱼、西太公鱼聚为同一单系, 支持率超过 98%; 以上结果都证明这些移植公鱼均为西太公鱼。研究表明, 7 处移植公鱼都受到环境的选择压力, 但群体间的遗传分化不显著 ($P = 0.066\ 47 > 0.05$)。在单倍型网络结构图中, 它们之间遗传关系和移植路径不明晰, 而多次和交叉移植可能是原因之一。

关键词: 移植公鱼; 西太公鱼; 物种鉴定; *CO I* 基因

中图分类号: Q 958.8; S 917.4

文献标志码: A

公鱼是公鱼属(*Hypomesus*)种类的统称, 属胡瓜鱼目(Osmeriforms), 胡瓜鱼科(Osmeridae)。因形态相似, 生物习性相近, 分布广泛, 导致公鱼属鱼类分类困难, 分类史复杂, 种类界定长期以来备受争议^[1-6]。按 Ilves 等^[2]与 Fishbase(<http://www.fishbase.org/search.php>)提供的最新信息, 公鱼属鱼类有池沼公鱼(*H. olidus*)、日本公鱼(*H. japonicus*)、海公鱼(*H. pretiosus*)、越洋公鱼(*H. transpacificus*)和西太公鱼(*H. nipponensis*)5 种。其中, 池沼公鱼分布最广, 从美国阿拉斯加州一直到俄罗斯等广泛水域均有分布, 包括中国; 越洋公鱼分布区域最小, 仅见于北美^[7]; 西太公鱼和日本公鱼是否是中国本土物种并不确定(<http://www.fishbase.org/search.php>), 而海公鱼仅见于美国和加拿大^[8]。目前, 西太公鱼和池沼公鱼为中国常见种, 主要分布在东北地区, 为银白色的小型个体, 肉嫩油多而味美, 多为一年生, 亲体产卵后大多死亡。因其适温广(0~28℃)又是广盐性鱼类, 繁殖力、适应性强, 后

来在中国被广泛移植。利用形态学特征分析, 解玉浩^[9]认为在中国进行广泛移植的是“海公鱼”, 而曹晓霞等^[10]认为是“西太公鱼”, 史为良等^[11]则认为有池沼公鱼和西太公鱼 2 种。*CO I* 是线粒体细胞色素氧化酶 I 型基因, 在物种内不同个体之间只有 1%~2% 的差异, 而近缘种间的差异较大, 目前已成为分子分类的标准基因, 被定义为“DNA 条形码”, 在物种鉴定中得到了广泛的应用^[12-14]。本研究采集黑龙江、新疆、云南几处移植公鱼样本, 利用线粒体 DNA 条形码 *CO I* 基因序列对我国移植公鱼种类进行鉴定, 同时探讨它们之间的遗传关系, 为我国公鱼产业的持续发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采集的公鱼样本统称为“移植公鱼”(简称为“YZG”), 新疆和黑龙江样本采集时间为 2009 年, 云南样本采集时间为 2011 年, 本研究同时从 NCBI

收稿日期: 2012-05-14 修回日期: 2012-08-26

资助项目: 上海市科技攻关项目(10dz1200804); 上海市自然科学基金项目(09ZR1421700); 上海教委创新项目(09YZ279); 上海市重点学科(S30701)

通讯作者: 鲍宝龙, E-mail: blbao@shou.edu.cn

中获取了池沼公鱼、日本公鱼、海公鱼、美洲胡瓜鱼(*Osmerus mordax*) *CO I* 基因序列, 样本还包括 2010 年本实验室在长江口三甲港和东海大桥采集

的有明银鱼(*Salanx ariakensis*)(简称 YMY), 它们与公鱼享有共同的祖先, 可以作为分析外群, 详细样本信息见表 1。

表 1 样本名录及相关信息
Tab.1 Species, catalog numbers, and collecting sites of samples in this study

类群 group	简称 abbreviation	来源地(简称) collecting site(abbreviation)	数量 number	实验编号 catalog No.
移植公鱼 transplanted <i>Hypomesus</i>	YZG	新疆博斯腾湖(XJB)	4	XJB1-XJB4
		新疆二连洼地(XJE)	9	XJE1-XJE9
		新疆吉力湖小海子(XJJ)	10	XJJ1-XJJ10
		新疆福海水库(XJF)	9	XJF1-XJF9
		新疆乌伦古湖大海子(XJW)	10	XJW1-XJW10
		黑龙江镜泊湖(HLJ)	5	HLJ1-HLJ5
西太公鱼 <i>H. nipponensis</i>	XTG	云南柴河水库(YNC)	5	YNC1-YNC5
		NCBI 数据库: FJ205567、FJ205569	2	XTG1-XTG2
池沼公鱼 <i>H. olidus</i>	CZG	NCBI 数据库: FJ205572、HQ115081、HQ115098、HQ115114、 HQ115116、HQ115129、HQ115156、HQ115171、HQ115175、 HQ115180、HQ115182、HQ115185	12	CZG1-CZG12
日本公鱼 <i>H. japonicus</i>	RBG	NCBI 数据库: FJ205564、FJ205565	2	RBG1-RBG2
海公鱼 <i>H. pretiosus</i>	HGY	NCBI 数据库: GU440349	1	HGY
美洲胡瓜鱼 <i>O. mordax</i>	MZH	NCBI 数据库: HQ115186	1	MZH
有明银鱼 <i>S. ariakensis</i>	YMY	上海三甲港	4	YMS1-YMS4
		上海东海大桥	2	YMD1-YMD2

1.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增及序列测定

基因组提取采用常用的酚/氯仿法^[15]。PCR 扩增目的片段是 *CO I* 基因靠近 5'末端的长度为 750 bp 左右的序列, 扩增和测序引物均为 VF2(5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGCAC-3')和 VR1(5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AATCA-3')。PCR 反应体系总体积为 50 μ L, 其中 2 \times *Taq* PCR MasterMix 25 μ L, 引物各 1.25 μ L(5 μ mol/L), DNA 模板 100 ng。PCR 反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min。扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 产物由上海杰李生物技术有限公司测序, 测序引物为 VR1。

1.3 数据分析

选取测序信号稳定、无杂峰区域进行分析。序列经 Bioedit^[16]比对, 用 Mega 3.1 软件^[17]将碱基序列转换成氨基酸序列进行比对, 比对齐整后转回碱基序列; 碱基组成、碱基变异频率、简约信息位点等, 种内、种间遗传距离采用 Kimura's 2-Parameter 模型, 并构建基于 K2P 模型的 NJ 树, 系统发生树采用 1 000 次内部分支检验来评估各自分支置信度, 以

上分析软件均为 Mega 3.1; 根据 Modeltest 3.6^[18]软件估算出数据最优模型为 GTR+I+G。以 Mrbayes 3.1.2 软件^[19]构建贝叶斯(Bayesian)树, 设置替换模型 $nst=6$ (GTR 模型), 位点速率变异模型为 $rates=gamma$, 其它参数为 $partition\ region = 3$, $number\ of\ generations(代数) = 1\ 000\ 000$, $number\ of\ chains=4$, $sample\ of\ frequency = 100$, $starting\ tree = random$, $burn\ in = 100$, 在舍弃老化样本后, 根据剩余样本构建一致树, 系统树各分支的置信度评估以后验概率表示。单倍型网络图以 Network 4.610(<http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>)构建。

采用 Arlequin 3.01 软件中的分子变异分析(AMOVA) 估算移植公鱼群体间的分化水平(F_{st}), 以揭示遗传分化程度, 用其中的 Tajima's D 中性检验方法进行 F_{st} 的显著性检验。

2 结果

2.1 移植公鱼物种鉴定及群体间的遗传分化

序列比对 经过测序、碱基纠正和序列比对, 最后选用 *CO I* 靠近 5' 端 591 个碱基序列进行分析, 没有碱基的缺失, 共编码 197 个氨基酸。各序列经

NCBI(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 比对, 与西太公鱼 *CO I* 序列(序列号 FJ205569、HM151598、HM106489、FJ205568、FJ205567)相似度在 99%~100%, 与池沼公鱼 *CO I* 序列(序列号 FJ205572、HQ115081、HQ115098、HQ115114 等)的相似度在 88%~89%。进一步在 DNA barcoding 鉴定中心的条形码网站 BOLD Systems(<http://www.boldsystems.org/views/login.php>)进行序列比对, 得到了类似的结果。初步判断本实验采集的公鱼样本均为西太公鱼。

序列碱基信息分析 移植公鱼 7 个群体 *CO I* 基因分析序列不存在碱基的缺失, 转换和替换发生的概率比较高; C、T、A、G 百分含量分别在 28.21%~28.38%、31.02%~31.13%、20.26%~

20.30%、20.29%~20.32%之间, 与从 NCBI 上获得的西太公鱼 *CO I* 基因的 C(28.26%)、T(31.08%)、A(20.36%)、G(20.30%)含量非常接近, 各碱基百分含量差异最大也不超过 0.06%。而与池沼公鱼 *CO I* 基因的 C、T、G 百分含量差异均超过 1%, 移植公鱼 *CO I* 基因的 C、T、G 百分含量与日本公鱼(RBG)、海公鱼(HGY)的差异介于西太公鱼(XTG)和池沼公鱼(CZG)之间。公鱼属的各种类间以及胡瓜鱼属的美洲胡瓜鱼(MZH)之间 C、T、A、G 含量相近, A+T 含量略高于 G+C 含量, 而它们的 C、T 百分含量与有明银鱼却差异较大, 有明银鱼 A+T 的含量低于 G+C 含量; 在所分析的样本中, 所有类群 *CO I* 基因 G 的百分含量都是最低的, 表现出明显的反 G 偏倚(表 2)。

表 2 各类群 *CO I* 基因的碱基信息及不同密码子位点的平均 GC 含量
Tab. 2 The variation and GC content for species of osmerforms in all positions and each codon position

类群 group	Tajima's D	P(Tajima's D)	C/%	T/%	A/%	G/%	平均 GC 含量/% average GC content			全部位点 all positions
							1 st codon	2 nd codon	3 rd codon	
XJB	-0.780 1	0.309 2	28.21	31.13	20.26	20.39	55.3	44.1	46.4	48.6
XJE	-1.362 4	0.088 8	28.28	31.11	20.32	20.29	55.4	44.1	46.2	48.6
XJJ	-0.822 3	0.234 2	28.31	31.08	20.29	20.32	55.4	44.1	46.4	48.6
XJF	-1.293 8	0.104 9	28.31	31.10	20.29	20.30	55.3	44.1	46.4	48.6
XJW	0.384 5	-0.353 8	28.38	31.02	20.29	20.32	55.4	44.1	46.6	48.7
HLJ	-0.816 5	0.297 2	28.29	31.10	20.30	20.30	55.4	44.1	46.3	48.6
YNC	0.000 0	-1.000 0	28.26	31.13	20.30	20.30	55.4	44.1	46.2	48.6
XTG	/	/	28.26	31.05	20.36	20.30	55.4	44.1	46.2	48.6
CZG	/	/	29.68	30.03	20.98	19.30	56.3	44.1	46.4	49.0
RBG	/	/	29.86	30.54	19.88	19.71	56.4	44.1	48.3	49.6
HGY	/	/	28.93	31.13	19.12	20.81	55.8	44.1	49.3	49.7
MZH	/	/	28.60	30.46	20.98	19.97	56.4	44.1	45.2	48.6
YMY	-0.1893 8	0.4760 9	33.73	26.40	20.08	19.80	57.8	44.1	58.5	53.5

利用 Arlequin 计算移植公鱼各群体的 Tajima's D 值, 并进行显著性检验(表 2), 除 XJW(新疆乌伦古湖大海子)外, 其余 6 个移植公鱼群体的 Tajima's D 值都为负值, 不显著, 表明这些群体都存在选择作用的信号。

移植公鱼 7 个群体的遗传变异 95.52%来自群体间, 仅 4.48%来自群体内, 群体间的遗传分化值 F_{st} 为 0.044 84, 遗传分化不显著($P=0.066 47>0.05$, 表 3)。

单倍型分析 对单倍型进行搜索, 移植公鱼各群体单倍型多少不一, 新疆博斯腾湖(XJB)4 个个体就有 4 个单倍型, 而云南柴河水库(YNC)5 个个体仅 1 个单倍型; 7 个采样群体 52 个个体共有 13 种单倍型, 其中 5 种单倍型分别被 29、7、3、3、2

个个体共享, 占分析样本的 84.62%。而 29 个个体共享的单倍型又与西太公鱼(XTG, FJ205569)单倍型相同。将本研究所获得的单倍型提交 NCBI 数据库, 获得相应的序列号(表 4)。

遗传距离 种间和种内遗传距离大小是物种鉴定的主要标准。基于 *CO I* 基因序列计算公鱼属及其相关类群种内和种的遗传距离见表 5。西太公鱼和移植公鱼 7 个采样群体内和群体间的遗传距离为 0.1%~0.3%, 显著低于 Hebert 等^[6]所推荐的利用 *CO I* 基因序列进行物种鉴定最小的种间遗传距离 2%。而移植公鱼、西太公鱼与公鱼属的池沼公鱼、日本公鱼、海公鱼的遗传距离均在 10%, 依据移植公鱼 7 个群体 52 个分析样本共有的 13 种单倍型构建网络图(图 1), 单倍型 XJB1 处在

表 3 移植公鱼 7 个群体遗传差异的分子方差分析(AMOVA)
Tab. 3 The AMOVA analysis of seven populations of transplanted *Hypomesus*

变异来源 source of variation	自由度 <i>df</i>	平方和 sum of squares	变异组成 variance components	变异百分比 percentage of variation	<i>F_{st}</i>	<i>P</i>
群体间 among populations	6	4.061	0.023 67 Va	4.48	0.044 84	0.066 47
群体内 within populations	45	22.689	0.504 20 Vb	95.52		
合计 total	51	26.750	0.527 87			

表 4 移植公鱼各类群的单倍型数目及共享单倍型
Tab. 4 The number of haplotype and the shared- haplotype in the populations of transplanted *Hypomesus*

类群 group	单倍型 haplotype	共享单倍型 shared- haplotype	共享单倍型的简并 abbreviation of shared- haplotype	各单倍型的序列号 GenBank no. of each haplotype
XJB	4	无		XJB1\JQ899424 XJB2\JQ899425 XJB3\JQ899426 XJB4\JQ899427
XJE	3	XJE1=XJE2=XJE3=XJE4=XJE6=XJE7=XJE8	XJE1(7)	XJE5\JQ899428 XJJ7\JQ899429
XJJ	5	XJJ2=XJJ5=XJJ6=XJJ8=XJJ9=XJJ10	XJJ2(6)	XJJ1\JQ899430 XJJ4\JQ899431
XJF	5	XJF1=XJF5=XJF7=XJF8, XJF4=XJF6	XJF1(4), XJF4(2)	XJF3\JQ899432 XJF9\JQ899433
XJW	5	XJW1=XJW2=XJW3=XJW7, XJW4=XJW9, XJW6=XJW8	XJW1(4),XJW4(2),XJW6(2)	XJE9\JQ899434 XJW10\JQ899435
HLJ	2	HLJ2=HLJ3=HLJ4=HLJ5	HLJ2(4)	HLJ1\JQ899436
YNC	1	YNC1=YNC2=YNC3=YNC4=YNC5	YNC1(5)	
YZG	13	XJB1=XJE1(7)=XJJ2(6)=XJF1(4)=XJW4(2)=HLJ2(4)=YNC1(5),XJB4=XJF4(2), XJE9=XJJ3=XJF2=XJW1(4), XJJ1=XJW6(2), XJJ4=XJW5		

表 5 胡瓜鱼目几种类群种间和种内遗传距离
Tab. 5 Genetic distance within each species and pairwise distance between species in osmerforms

类群 group	XJB	XJE	XJJ	XJF	XJW	HLJ	YNC	XTG	CZG	RBG	HGY	MZH	YMY	种内遗传距离 genetic distance within group
XJB														0.3
XJE	0.2													0.1
XJJ	0.3	0.1												0.2
XJF	0.3	0.1	0.2											0.2
XJW	0.3	0.2	0.2	0.3										0.3
HLJ	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2									0.1
YNC	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2								0.1
XTG	0.3	0.1	0.2	0.2	0.3	0.1	0.3							0.2
CZG	13.3	13.2	13.3	13.3	13.4	13.1	13.4	13.3						0.4
RBG	16.3	16.3	16.4	16.3	16.5	16.2	16.5	16.4	12.4					0.7
HGY	14.4	14.4	14.4	14.4	14.5	14.3	14.5	14.4	11.9	8.9				/
MZH	16.3	16.3	16.3	16.3	16.3	16.2	16.5	16.3	12.3	13.0	14.7			/
YMY	21.3	21.2	21.3	21.3	21.2	21.2	21.5	21.2	21.8	19.4	20.1	20.6		0.7

网络图的中心, 共享个体最多(29 个), 且这些个体分布在 7 个移植群体中; 除单倍型 XJJ1、XJJ7 外, 其余单倍型支链都直接被 XJB1 所链接, 这些个体来自相同的祖先, 是最原始的单倍型。

与美洲胡瓜鱼(MZH)和有明银鱼(YMY)的遗传距离则更大。这也进一步证明本次采集的公鱼样本均为西太公鱼。池沼公鱼、日本公鱼种内的遗传距离均在 1%以下(海公鱼只有单一样本无法计算

种内遗传距离), 而种间遗传距离也都在 10%以上。

2.2 系统关系

利用 CO I 基因序列的序列单倍型, 以有明银鱼为外群, 构建公鱼属西太公鱼、池沼公鱼、日本公鱼、海公鱼, 胡瓜鱼属美洲胡瓜鱼的 NJ 和 Bayesian 树(图 2), 各类群在 3 种系统树上的系统关系完全一致, 仅在节点支持率(置信度)上存在微小差异, 但都在 98%以上; 有明银鱼作为外群, 处在系统树的基部; 移植公鱼与来自 NCBI 中西太公鱼的单倍型聚为单系, 其它各物种也各自聚为单系; 日本公鱼与海公鱼有着最近的遗传关系; 公鱼属和胡瓜鱼属没有形成独立的 2 支, 美洲胡瓜鱼

(MZH)处在公鱼属聚类支内, 与海公鱼和日本公鱼有着较近的亲缘关系。

3 讨论

3.1 关于移植公鱼的种类

公鱼属鱼类分布于北太平洋中、高纬度地带, 我国天然分布有黑龙江的池沼公鱼, 而较早早在长春净月水库、大连大西山水库、王家店水库和鸭绿江的公鱼均为 20 世纪 40 年代初移入^[11], 张玉玲^[20]认为这些移植公鱼是西太公鱼, 这一观点也被史为良等^[11]进一步证实。解玉浩^[9]认为在中国进行广泛养殖的是亚洲公鱼(*H.transpacifus nipponensis*), 从学名上看, 应该是西太公鱼的一个亚种。但长期以来, 在中国吉林、黑龙江、河北、北京、天津、新疆、山西、内蒙、山东、安徽、湖北、云南等十多个省、市、自治区的 110 多座水库被广泛移植的公鱼普遍被认为是池沼公鱼^[21], 尽管曹晓霞等^[10]利用形态学指标对我国移植公鱼指证为“西太公鱼”, 但并没有引起广泛的注意。从本研究的 CO I 基因序列分析的序列相似性和聚类关系看, 都一致证明来自新疆、黑龙江和云南等处的公鱼都是西太公鱼。

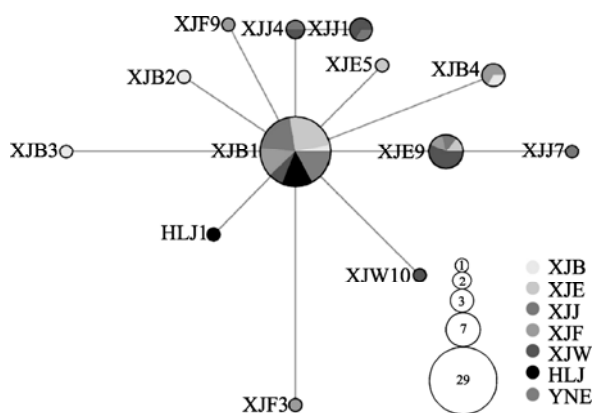


图 1 公鱼 7 移植群体基于 CO I 单倍型网络结构图

Fig.1 Median-joining haplotype network for 7 transplant populations of *Hypomesus*

showing haplotype connections and distribution. Colors correspond to different populations.

3.2 COI 基因序列对公鱼种类的鉴定

黑龙江镜泊湖公鱼是 1982—1987 年从辽宁省水丰水库、大西山水库及黑龙江萝北等地移入^[22], 而新疆公鱼是 1989 年由吉林省移植到新疆后, 经进一步移植推广, 已经广泛分布在博斯腾湖、天池、乌伦古湖、石城子水库处^[23]。云南昆明柴河水库的公鱼可能是由滇池流入的, 滇池的公鱼是在 20 世纪 90 年代初被引进^[24]。在物种漫长的进化过程中, 这些区域公鱼 20~40 年被移植的历史只是很短的一段时间, 但公鱼 1 龄性成熟, 在此期间繁殖了 20~40 代, 历经环境的压力和适应, 在 CO I 基因序列上, 这些群体都存在选择作用的信号, 但并没有明显的碱基区域特征的变化及遗传距离的分化, 尤其是云南柴河水库的公鱼, 常年生活在温暖的水域, 与其天然的冷水性生活环境差异较大, 但基于 CO I 基因序列的种群内和种群间的遗传距离仍然都在 0.3%以下, 与近缘种间的遗传距离均在 10%以上。Hebert 等^[12]提出利用 CO I 序列有效地进行物种鉴别的关键点是种间的遗传距离必须大于种内的遗传距离, 并且距离差异大约为 10 倍, 种内距离一般小于 1%。公鱼属及其与近缘种

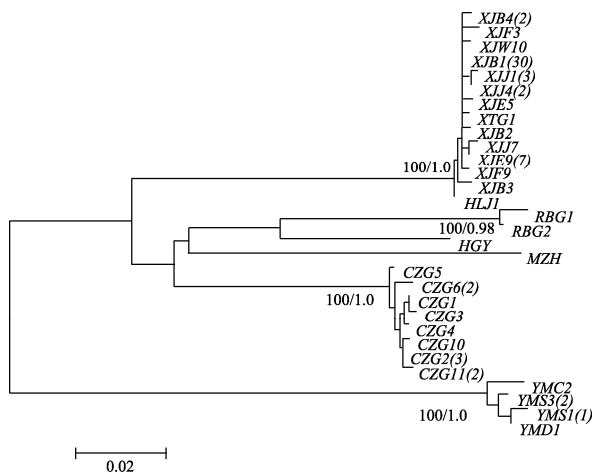


图 2 基于 CO I 基因序列构建西太公鱼及其近缘种的 NJ 和 Bayesian 系统树

Fig. 2 NJ and Bayesian trees based on partial sequence of CO I gene of osmerforms

The numbers on branches are NJ bootstrap values (>95%) and Bayesian posterior probabilities (>0.95) from left to right, respectively.

的研究结果与 Hebert 等^[12]得到的结论一致, 说明 *CO I* 基因序列能对公鱼属鱼类进行有效的鉴定。但从单倍型网络图和系统关系树上, 难以分析本研究 7 处公鱼群体明确的移植路线, 这可能是由于多次、交叉移植造成的, 当然 *CO I* 基因提供信息不够丰富也是重要原因之一, 从侧面也反应了 *CO I* 基因序列尽管种间变异大, 但种内却相对稳定, 受环境影响小, 所以它能作为 DNA 条形码进行物种的分子分类。

3.3 系统关系

基于 *CO I* 基因序列构建胡瓜鱼科相关种类的 NJ、Bayesian 系统树(图 2), 各类群均聚为支持率 98% 以上的单支, 公鱼 7 个移植群体样本与来自 NCBI 数据库中西太公鱼的样本聚在同一单系上, 支持率均为 100%, 再次证明它们为西太公鱼。在聚类树上, 美洲胡瓜鱼与日本公鱼和海公鱼聚为一小支, 然后与池沼公鱼和西太公鱼聚类, 这与 Ilves 等^[25]利用 3 个线粒体和 3 个核基因序列所构建的胡瓜鱼科 Bayesian 和 maximum likelihood(ML) 系统关系除美洲胡瓜鱼外是一致的, 在 Ilves 等^[25]所构建的系统树上, 公鱼属所有种类聚为一支, 而胡瓜鱼属则单独聚为一支, 这可能与本研究引用胡瓜鱼属种类少, 序列少, 采用的 *CO I* 基因序列变异小所导致。

新疆和黑龙江公鱼样本分别由上海海洋大学刘其根教授, 中国科学研究院黑龙江水产研究所张玉勇先生提供, 云南公鱼样本在滇池管理处晏翼琨先生协助下采集完成的, 在此谨致谢忱!

参考文献:

- [1] Ilves K L, Taylor E B. Are *Hypomesus chishimaensis* and *H. nipponensis* (Pisces: Osmeridae) distinct species? A molecular assessment using comparative sequence data from five genes[J]. *Copeia*, 2007, 1: 180–185.
- [2] Ilves K L, Taylor E B. Evolutionary and biogeographical patterns within the smelt genus *Hypomesus* in the north Pacific Ocean[J]. *Journal of Biogeography*, 2008, 35(1): 48–67.
- [3] Klyukanov V A. Morphological basis of the classification of smelts of the genus *Hypomesus*[J]. *Zoologicheskii Zhurnal*, 1970, 49: 1534–1542.
- [4] McAllister D E. A revision of the smelt family, Osmeridae[M]. Ottawa: Dept. of Northern Affairs and National Resources, 1963: 1–53.
- [5] Saruwatari T, Lopez J A, Pietsch T W. A revision of the osmerid genus *Hypomesus* Gill (Teleostei: Salmoniformes), with the description of a new species from the Southern Kuril Islands[J]. *Species Diversity*, 1997, 2(1): 59–82.
- [6] Sidorov L K, Pichugin Y. Morphological traits of lacustrine forms of smelts of the genus *Hypomesus* (Salmoniformes) from the Southern Kurils[J]. *Journal of Ichthyology*, 2004, 44(6): 433–443.
- [7] Page L M, Burr B M. A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico[M]. Boston: Houghton Mifflin Company, USA. 1991: 432.
- [8] Eschmeyer W N, Herald E S, Hammann H. A field guide to Pacific coast fishes of North America[M]. Boston: Houghton Mifflin Company, USA. 1983: 336.
- [9] 解玉浩. 我国的公鱼[J]. *大自然*, 1992(4): 40.
- [10] 曹晓霞, 董仕, 杨正玲, 等. 关于移植公鱼的种类问题[J]. *河北渔业*, 2009(6): 10–12.
- [11] 史为良, 毋全富, 攀全胜. 我国池沼公鱼(*H. olidus*)和西太公鱼(*H. nipponensis*)的来源和比较[J]. *水利渔业*, 1987(2): 5–9.
- [12] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identification through DNA barcodes[J]. *Proceedings of the Royal Society of London-Series B: Biological sciences*, 2003, 270: 313–321.
- [13] 彭居刚, 王绪祯, 王丁, 等. 基于线粒体 *CO I* 基因序列的 DNA 条形码在鲤科鲈属鱼类物种鉴定中的应用[J]. *水生生物学报*, 2009, 33(2): 271–276.
- [14] 孙娜, 郭晓华, 刘广纯. 金龟子部分种类 *COI* 基因序列比较分析[J]. *沈阳农业大学学报*, 2009, 40(6): 688–692.
- [15] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*[M]. 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [16] 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: 95–98.
- [17] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2004, 5(2): 150–163.
- [18] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution[J]. *Bioinformatics*, 1998, 14(9): 817–818.
- [19] Huelsenbeck J P, Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny[J]. *Bioinformatics*, 2001, 17(8): 754–755.
- [20] 张玉玲. 中国鱼类新纪录[J]. *动物分类学报*, 1982, 7(3): 328.
- [21] 王德芬. 我国池沼公鱼移植现状及发展前景[J]. *中国水产*, 1994(1): 9.
- [22] 王彦文, 唐荣庆, 董杰武. 镜泊湖移植放养池沼公鱼效果分析[J]. *黑龙江水产*, 1994, 58(4): 24–26.
- [23] 田永胜, 张发昌, 李兴玖, 等. 池沼公鱼在新疆大水面的移植推广研究[J]. *新疆农业大学学报*, 1997, 20(3): 58–62.

- [24] 何强, 徐定章, 达明泽, 等. 曲靖地区水库大范围移植太湖新银鱼和池沼公鱼初获成功小结[J]. 水利渔业, 1994, 73(5): 31-33.
- [25] Ilves K L, Taylor E B. Molecular resolution of the systematics of a problematic group of fishes (Teleostei: Osmeridae) and evidence for morphological homoplasy[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2009, 50(1): 163-178.

Molecular identification of transplanted *Hypomesus* species in seven places

GONG Xiao-ling, WU Ying, CUI Zhong-kai, BAO Bao-long*

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: The fishes of smelt genus *Hypomesus* lives in fresh water, brackish water and coastal seas, distributes in the Northern Hemisphere. Now, the Japanese smelt *H. nipponensis* and the pond smelt *H. olidus* are the common species and mainly distributed in the northeast region in China. Their bodies are small with silvery white. The life span of the fishes is short and their age of sexual maturity is above 1 year and they dies after spawning. They have strong adaptability and have been transplanted widely in China as the important commercial fishes. However, it is strange that there still exist disputation so far on which species of *Hypomesus* ever been transplanted widely in China. In this study, transplanted *Hypomesus* collected from seven places locating in Heilongjiang, Xinjiang and Yunnan province are identified using *CO I* gene, which is a popular DNA barcoding for species identification in the world. Comparative analysis showed that *CO I* gene sequence from all above collected somelts shared more than 99% similarity with that from *H. nipponensis*, which was published on the webs of GenBank and DNA barcoding Center. Genetic distance within each group and pairwise distance between transplanted smelt and *H. nipponensis* both ranged from 0.1% to 0.3%, and were rather smaller than those genetic distances between transplanted smelt and other species of *Hypomesus* (all more than 10%). The topology of each final tree further revealed that all individuals of transplanted smelt and *H. nipponensis* formed a strong monophyletic group. Taken together, these results all showed that the transplanted smelt were Japanese smelt *H. nipponensis*. In addition, even the genetic differentiation in transplanted smelt populations was not significant ($P = 0.06647 > 0.05$), six populations of transplant Japanese smelt endured somewhat selection pressure of environment based on Tajima's *D* value. Median-joining haplotype network for *Hypomesus* 7 transplanted populations can not tell us too much about their genetic relation and the transplant routes. Cross-transplanted or/and multi-transplanted might be the reason.

Key words: transplant *Hypomesus*; *Hypomesus nipponensis*; species identification; *COI* gene

Corresponding author: BAO Bao-long. E-mail: blbao@shou.edu.cn