

长江口邻近水域刀鲚的线粒体控制区 序列变异与遗传多样性

杨金权 胡雪莲 唐文乔* 林弘都

(上海水产大学省部共建种质资源发掘与利用教育部重点实验室 上海 200090;
上海市质量监督检验技术研究院 上海 200233; 成功大学生命科学研究所 台湾 701)

摘要: 经克隆测序获得了采自长江口九段沙、钱塘江口、舟山等 3 个地点 35 尾刀鲚 (*Coilia nasus*) 的 mtDNA 控制区全序列, 分析了控制区序列的变异和遗传结构。结果显示, 长江口邻近水域刀鲚的 mtDNA 控制区序列具有长度多态性, 全长为 1 214 ~ 1 291 bp, 主要是在第 358 位点处有以“CTA TGT ATT ATA TTA CAT ATA TTA TGG TAT AGT ACA TA” 38 bp 为单位的 1~2 次片段重复。种群遗传结构分析显示, 长江口邻近水域刀鲚的平均单倍型多样性 (h) 为 0.998 3, 3 个群体的平均核苷酸多样性 (π) 为 0.026 2, 表现出丰富的遗传多样性和较高的进化潜力。3 个刀鲚群体间的分化指数 F_{ST} 仅为 0.012 ~ 0.053, 而基因交流值 N_m 却达 9.90 ~ 40.62。群体间 K-2-P 遗传距离与 AMOVA 分析结果也表明, 长江口及毗邻地区的刀鲚没有发生地理分化。以线粒体 DNA 控制区全序列构建的 NJ 树揭示, 3 个群体的个体组成了 2 个谱系, 但这 2 个谱系与地理分群并不相关。依据分子钟理论, 推测这两个谱系的分化发生在更新世末期。

关键词: 刀鲚; 线粒体控制区; 遗传多样性; 长江口

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2008)01-08-08

mtDNA Control Region Sequence Variation and Genetic Diversity of *Coilia nasus* in Yangtze River Estuary and Its Adjacent Waters

YANG Jin-Quan HU Xue-Lian TANG Wen-Qiao* LIN Hung-Du

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Fisheries University, Ministry of Education, Shanghai 200090; Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233; Department of Life Sciences, Cheng-Kung University, Taiwan 701, China)

Abstract: We determined 35 complete mitochondrial control region sequences of *Coilia nasus* from 3 populations, which included Jiuduansha area (JJ) in Yangtze River estuary, Qiantangjiang River estuary (QT) and Zhoushan Island (ZS), to analyze their sequence variation and genetic structure. Sequence lengths of the control region in individuals of *C. nasus* were 1 214 - 1 291 bp, which revealed that the control region sequence of *C. nasus* had length polymorphism. Sequence length polymorphism caused mainly by one or two times of 38 bp of “CTA TGT ATT ATA TTA CAT ATA TTA TGG TAT AGT ACA TA” segment repeats. Genetic structure analysis showed a high level genetic diversity of *C. nasus* ($h = 0.998 3$, $\pi = 0.026 2$), which indicated that *C. nasus* had high evolutionary potential. The high level of N_m values (9.90 - 40.62) and very low F_{ST} values (0.012 - 0.053), the average K-2-P distances, as

基金项目 上海市科学技术委员会重大计划项目 (No. 04DZ19306), 上海市农业委员会攻关项目 [2003(1-4)] 和上海市重点学科建设项目 (Y1101);

*通讯作者, E-mail: wqtang@shfu.edu.cn;

第一作者介绍 杨金权, 男, 博士, 讲师; 主要从事鱼类分子进化和分子生态学研究; E-mail: jqyang@shfu.edu.cn.

收稿日期: 2007-06-11, **修回日期:** 2007-11-07

well as the AMOVA analysis all revealed that the *C. nasus* around Yangtze River estuary had no obviously geographical differentiation. However, the phylogenetic tree estimated by neighbor-joining (NJ) methods indicated that the individuals of *C. nasus* formed two monophyletic lineages, and the two lineages without correlation with geographical populations. Based on molecular clock theory, the two lineages might share a common ancestor approximately 35 - 47 thousand years ago.

Key words: *Coilia nasus*; mtDNA control region; Genetic diversity; Yangtze River estuary

要了解海洋鱼类的种群动态,必须掌握种群的繁殖、生长和维持力等现状,其中很重要的一个方面就是要了解种群的遗传结构^[1]。遗传多样性较低的珍稀物种和具有绝灭风险的物种一般具有较低的种群恢复潜力,因为种群遗传多样性能体现物种对环境变化的适应能力^[2,3]。了解物种的遗传多样性水平有助于我们了解物种的进化历史和种群恢复潜力,从而制定有针对性的保护和管理策略,因此是物种保护需要了解的重要内容^[4]。

刀鲚 (*Coilia nasus*) 隶属于鲱形目 (Clupeiformes) 鲚科 (Engraulidae) 鲚属 (*Coilia*), 分布于西北太平洋的东海、黄海和渤海等水域,是一种具有重要经济价值的洄游性鱼类。近年来,由于环境污染、过度捕捞以及产卵场遭到破坏,刀鲚资源日益衰竭^[5-8]。目前,溯江洄游中的刀鲚已成为长江口最名贵的水产品之一,也是近年热门的人工繁育与驯养对象。了解该物种的遗传结构,并制定具有针对性的保护措施已成为开发利用的首要任务。

线粒体 DNA (mtDNA) 以其严格的母系遗传和较快的进化速率,成为一种探讨物种起源、系统发生和种内遗传分化的有效遗传标记。

mtDNA 控制区 (D-loop) 为非编码区,因缺乏编码的选择压力而比其他线粒体基因的进化速率更快^[9],因此,线粒体 DNA 控制区序列在近缘物种、快速形成物种间的系统进化以及种群遗传多样性研究等方面应用颇为广泛^[8,10-14]。本研究旨在分析长江口邻近水域洄游型刀鲚 mtDNA 控制区全序列的变异和种群遗传结构,为制定该物种的资源保护和利用策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集 研究所用标本分别于 2006 年 4 月采自浙江慈溪的钱塘江口 (简称为 QT)、2006 年 5 月采自浙江定海 (ZS) 和 2005 年 10 月采自上海九段沙 (JJ)。标本均直接购自水上作业的渔船,每种标本每一采集地的采集量均在 30 尾以上,标本用 95 % 酒精或 10 % 的福尔马林固定后带回实验室鉴定。实验材料取自 95 % 酒精固定的全鱼或肌肉,取过样的标本保存在上海水产大学鱼类标本室。分析所用样本均为上颌骨长度明显超过鳃盖骨的 2 龄个体,具体的物种名、采集地点、样本数、单倍型数等信息见表 1。

表 1 3 个刀鲚群体的采集地、样本数、单倍型多样性 (h)、核苷酸多样性 ()

Table 1 Sample size, number of haplotypes, haplotype diversity (h), and nucleotide diversity () of three *Coilia nasus* populations

种群 Population	样本数 Sample size	单倍型数 No. of haplotypes	单倍型多样性 (Mean ±SD) Haplotype diversity (h)	核苷酸多样性 (Mean ±SD) Nucleotide diversity (, %)
九段沙 JJ	8 8*	16	1.000 0 ±0.022 1	2.61 ±1.34
钱塘江 QT	12	11	0.984 8 ±0.040 3	3.63 ±1.91
舟山 ZS	7	7	1.000 0 ±0.076 4	0.89 ±0.53
总计 Total	35	34	0.998 3 ±0.007 4	2.62 ±1.30

* 序列来自文献^[8]。 * Sequences used from Tang^[8] .

1.2 基因组总 DNA 提取、PCR 扩增及目标 DNA 的纯化 总 DNA 提取采用传统的“酚-氯仿”抽提法^[15]。PCR 反应体系为:10 ×buffer 5 μl, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μl, 引物各 1.0 μmol/L, *Taq* 酶 2.0 U, 模板 DNA 约 100 ng, 加灭菌双蒸水至 50 μl。扩增 mtDNA 控制区序列的引物序列同唐文乔等^[8]。PCR 反应条件为: 95 预变性 5 min; 95 变性 40 s, 55 退火 40 s, 72 延伸 1 min, 共 30 个循环; 最后 72 延伸 5 min。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后用上海生工生物工程公司的 UNIQ-10 柱式 DNA 回收试剂盒回收。

1.3 目的基因片段的克隆和测序 用购自 Promega 公司的连接试剂盒 (pGEM^R-T Vector System I) 将经纯化回收的目的基因片段与载体进行连接。将重组子转化至 DH5 感受态细胞中, 涂布于 LB 抗性平板, 经 37 过夜培养后, 挑取明显的白斑菌落进行 PCR 验证, 引物仍为控制区序列的扩增引物。对确认含有目的基因片段的重组质粒进行扩大培养, 之后每个个体挑选一个克隆送上海生工生物工程公司正反向测序。

1.4 数据分析 控制区序列的对位排列 (alignment) 使用 Clustal X 软件^[16], 并在 SEAVIEW 程序^[17] 中对序列辅以手工校正。遗传变异分析采用 Mega 3.1 软件^[18]。刀鲚各单倍型间系统发育关系的重建采用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ), 以凤鲚 (*C. mystus*) 和七丝鲚 (*C. grayii*) mtDNA 控制区序列 (GenBank 序列号分别为 EF419800 和 EF419828) 为外群, 以 Kimura 双参数法 (Kimura 2-parameter) 为替代模型, 采用 Mega 3.1 软件进行分析, 系统树分支的置信度采用自引导法 (bootstrap analysis, BP) 重复检测, 设置为 1 000 次重复。

Arlequin Ver. 3.01 软件^[19] 用于统计种群核苷酸多样性 (nucleotide diversity, π)、单倍型多样性 (haplotype diversity, h) 及其标准差 (SD)。采用分子变异分析方法 (analysis of molecular

variance, AMOVA), 以 10 000 次重复随机抽样单倍型, 重排后进行显著性检验, 用于估计刀鲚种群遗传结构及不同地理种群遗传变异的分布。群体间分化指数 (F_{ST}) 和基因交流值 (N_m) 利用 DnaSP Ver. 4.10 软件^[20] 分析。

2 结果

2.1 序列变异分析 经克隆后的单向测序反应可以获得 900 bp 以上清晰可读的碱基, 双向测序后的序列拼接有约 400 ~ 600 bp 的重叠部分, 可提高控制区全序列的准确性。共新获得了 27 尾长江口邻近水域刀鲚 mtDNA 控制区序列的 26 个单倍型, GenBank 序列号为 EU084006 ~ EU084032, 与唐文乔等^[8] 8 尾采自长江口的洄游型刀鲚序列一起分析 (GenBank 序列号为 EF419805, EF419807 ~ EF419809, EF419817, EF419818, EF419820, EF419824)。序列同源比对显示, 刀鲚 mtDNA 控制区序列的全长为 1 214 ~ 1 291 bp, 其中 4 尾为 1 214 bp, 占 11.4%; 24 尾为 1 251 ~ 1 254 bp, 占 68.6%; 7 尾为 1 289 ~ 1 291 bp, 占 20%。序列共发生了 7 次 1 ~ 4 bp 的小片段插入或缺失, 而序列的长度多态性主要发生在第 358 位点处, 有以“CTA TGT ATT ATA TTA CAT ATA TTA TGG TAT AGT ACA TA”38 bp 为单位的 1 ~ 2 次片段重复。此外, 钱塘江口的 1 尾个体在 38 bp 片段重复后有一长 34 bp 的片段缺失 (图 1)。

长江口邻近水域刀鲚的平均 A、T、G、C 碱基含量分别为 33.3%、33.2%、19.3% 和 14.2%。其中 G + C 的含量仅为 33.5%, 表现出显著的碱基组成偏向性。在 1 295 个序列位点中, 有 99 个多态位点, 其中 36 个为简约性信息位点。所有序列间转换为 11 个, 颠换 2 个, 平均转换与颠换比 (Ti/Tv 值) 为 5.3。3 个群体内的平均 Kimura 双参数遗传距离 (Kimura 2-parameter distance, $K 2-P$) 为 0.009 ~ 0.012, 群体间的平均 $K 2-P$ 遗传距离为 0.009 ~ 0.011, 与群体内基本一致 (表 2)。

以 3 个群体分别聚类,而是每个谱系都包括了 3 个群体的部分个体。从图 2 可见,长江口邻近水域以谱系 A 为优势谱系,在所分析的 35 尾个体中有 26 尾,比例为 74.3%,而谱系 B 仅占 25.7%的比例。为了检验两个谱系间是否存在显著的分化,我们对这两个谱系间的 K 2-P

遗传距离、 F_{ST} 和 N_m 进行了估算,并进行了 AMOVA 分析。结果显示,两个谱系间的 K 2-P 遗传距离为 1.4%、 F_{ST} 为 0.273、 N_m 值为 0.67,谱系间的变异为 28.86%,谱系内的变异为 71.14% ($P < 0.05$),表明这两个谱系间发生了显著的分化。

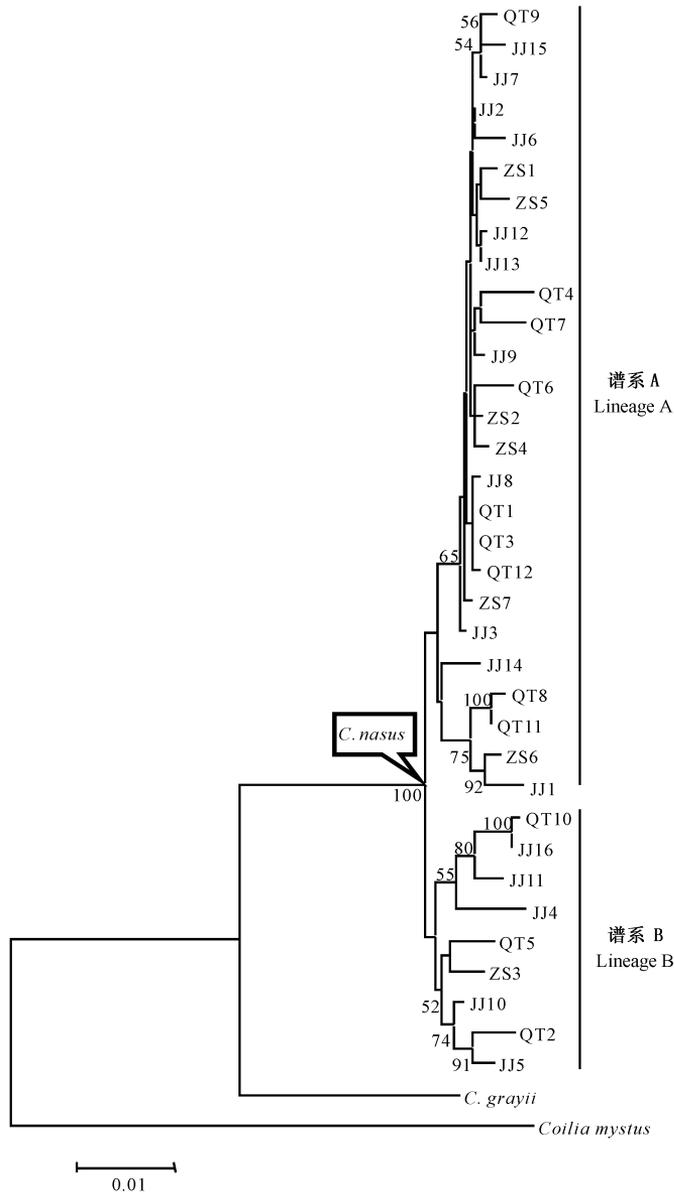


图 2 基于线粒体 DNA 控制区序列变异构建的 3 个刀鲚群体邻接树

Fig. 2 Neighbor-Joining tree based on the mtDNA control region sequence variation of three *C. nasus* populations
节点处的数值为 1 000 次 bootstrap 检验的支持率(仅显示支持率大于 50%的数据)。

Numbers at the nodes indicate bootstrap values with 1 000 replicates (given for bootstrap values greater than 50%).

3 讨 论

3.1 刀鲚种群遗传多样性 mtDNA 控制区序列因插入、缺失、串联重复等变异常常导致序列长度的多态性^[21]。本研究获得的刀鲚个体间的控制区序列差异,主要源于以 38 bp 为基本单位的 1~2 次片段重复,这一结果与唐文乔等^[8]的报道基本一致,差异主要在于片段的重复次数,这与本研究未包括短颌鲚(*C. brachygnathus*)和湖鲚(*C. nasus taihuensis*)等淡水定居种群有关。序列的这种片段重复可产生快速变异,从而造成不同类群间整个 mtDNA 控制区的巨大差异。这种差异不但可以弥补由于遗传漂变和选择造成的遗传多样性丧失,也可能是某些鱼类增加遗传变异的一种方式,对维持物种的生存有一定的作用^[8,21,22]。因此,刀鲚可能也是通过这种方式在一定程度上增加其遗传多样性,从而提高对环境变化的适应能力。以前的研究已证实,分布于长江水系的短颌鲚和湖鲚均是刀鲚适应淡水定居生活的生态型,也表明刀鲚具有较高的适应能力和进化潜力^[8,23~25]。

遗传多样性不仅是形成生物多样性的基础,也是物种进化潜能的保证。遗传多样性的降低或丧失,对于生活在多变环境中的野生群体是一个极大的威胁^[1~3]。本研究测定的 35 个刀鲚样本中共获得了 34 个单倍型,除钱塘江口的 2 尾个体共享一个单倍型外,其余 33 个样本均一一对应其唯一的单倍型,单倍型多样性 h 达 0.998 3,核苷酸多样性 为 0.026 2,表现出非常丰富的遗传多样性。这与大多数的海洋鱼类所表现的较低的核苷酸多样性这一特性并不相符^[1]。即使与同一目的沙丁鱼类(*Sardines*)和鲱属(*Engraulis*)的一些种类相比,长江口邻近水域的刀鲚核苷酸多样性也较高^[1,11]、比东海和黄海的日本鲱(*E. japonicus*)($h=0.958$, $=0.006 4$)也高^[26]。这一结果表明,虽然由于环境污染、过度捕捞以及水利设施兴建等人为因素造成了长江口邻近水域刀鲚种群数量的减少^[5~8],但其遗传多样性仍很丰富。

3.2 群体分化状况 种群分化指数(F_{ST})常用

来表示两个种群间的遗传分化程度,在 0~1 的范围内, F_{ST} 值越大,两种群间的分化程度越高。而种群基因交流值(N_m),则用来表示种群间的基因交流程度。若 N_m 值大于 1,表明种群基因漂变不足以造成基因分化^[27]。但若 N_m 大于 4,表明种群之间是一随机交配的群体^[28]。若该值很小($N_m < 1$),则有可能预示着隔离的产生^[29]。在本研究中,3 个群体之间的种群分化指数(F_{ST})都很小(0.012~0.053),而基因交流值(N_m)均远大于 4(9.90~40.62)。从序列的变异来看,3 个群体间的平均 K2-P 遗传距离也与种群内的平均遗传距离处于同一水平上。AMOVA 分析的结果也显示,变异全部分布在群体内,而群体之间无变异。这些结果均表明,长江口邻近水域的刀鲚 3 个群体基因交流频繁,并未发生种群的分化,这与 Yu 等对黄海和东海日本鲱(*E. japonicus*)种群遗传结构的研究结果类似^[26]。长江口邻近水域刀鲚作为一个大种群,其个体可能没有固定的繁殖地点,长江、钱塘江等都是其随机的产卵场所。

以邻接法构建的刀鲚单倍型系统发育关系表明,长江口邻近水域的刀鲚聚为两个谱系及多个支系。但这两个谱系与地理分布并不相关,表明刀鲚正处于谱系排序(lineage sorting)状态,而且谱系 A 为长江口及邻近区域的优势群体。至于引起两个谱系群体大小差异的原因,尚需要通过更深入地研究种群的历史去解释。种群分化指数(F_{ST})、种群基因交流值(N_m)和 AMOVA 分析均表明,这两谱系发生了一定程度的分化和基因交流阻隔,但两者在形态上并没有出现显著差异,遗传差异的出现可能源于产卵过程中存在的某种隔离机制。Bowen 等认为(15%~20%)/百万年的线粒体控制区进化速率比较适合于沙丁鱼^[11]。如果将该进化速率应用于近缘的刀鲚,那么长江口邻近水域刀鲚两个谱系间的分化时间约为 3.5~4.7 万年前,可能是由于更新世晚期海平面的升降导致了这两个谱系的隔离与分化。

3.3 下一步研究计划 生物保护的最终目标

是区分和保护不同的历史种群或者考虑物种种群内及种群间的多样性形式,从而加以针对性的保护^[2]。本研究仅应用了线粒体 DNA 控制区非编码序列作为分子标记评估了长江口及邻近水域刀鲚的遗传变异水平,揭示了长江口及邻近水域的刀鲚具有丰富的遗传多样性,并没有发生明显的地理分化。但由于在遗传上分化为两个谱系,提示我们在保护该物种时需要采取一些针对性措施,以保护这种谱系的多样化。

近年来,一些研究对仅用一个非编码序列作为分子标记所作的物种遗传多样性评估提出了质疑,认为该方法并不能真实反应种群的遗传多样性水平^[30~32]。因此,下一步研究需要扩大刀鲚的采样范围和样本数,并结合 1~2 个编码基因或微卫星标记,对刀鲚的遗传多样性水平、种群历史进行更深入的分析。

致谢 承上海水产大学李思发教授、李家乐教授、复旦大学傅萃长副教授提供有益的建议,江苏省靖江市渔政站顾树信站长、沈林宏工程师、上海九段沙湿地自然保护区陈秀芝署长、郑麟工程师和浙江海洋学院赵盛龙教授协助采集标本,在此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] Grant W S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Hered*, 1998, **89** (5): 415 ~ 426.
- [2] Vrijenhoek R C. Genetic diversity and fitness in small populations. In: Loeschke V, Tomiuk J, Jian S K eds. *Conservation Genetics*. Basel: Birkhäuser, 1994, 37 ~ 53.
- [3] Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 2002.
- [4] Na-Nakorn U, Sukmanom S, Nakajima M, et al. mtDNA diversity of the critically endangered Mekong giant catfishes (*Pangasianodon gigas* Chevey, 1913) and closely related species: implications for conservation. *Anim Conserv*, 2006, **9**: 483 ~ 494.
- [5] 袁传宓, 秦安龄. 中国近海刀鲚生态习性及其产量变动状况. *海洋科学*, 1984, (5): 35 ~ 37.
- [6] 袁传宓. 长江中下游刀鲚资源和种群组成变动情况及其原因. *动物学杂志*, 1988, **23**(3): 12 ~ 15.
- [7] 张敏莹, 徐东坡, 刘凯等. 长江下游刀鲚生物学及最大持续产量研究. *长江流域资源与环境*, 2005, **14**: 694 ~ 698.
- [8] 唐文乔, 胡雪莲, 杨金权. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性. *生物多样性*, 2007, **15** (3): 224 ~ 231.
- [9] Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, et al. Mammalian mitochondrial D-loop region structure analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 1997, **205**: 125 ~ 140.
- [10] Zhu D, Jamieson B G, Hugall A, et al. Sequence evolution and phylogenetic signal in control region and cytochrome b sequences of rainbow fishes (Melanotaeniidae). *Mol Biol Evol*, 1994, **11**: 672 ~ 683.
- [11] Bowen B W, Grant W S. Phylogeography of the sardines (*Sardinops* spp.): assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. *Evolution*, 1997, **51**(5): 1601 ~ 1610.
- [12] Mboum T, Arnason E. Genetic diversity and population history of two related seabird species based on mitochondrial DNA control region sequences. *Mol Ecol*, 2001, **10**: 2463 ~ 2478.
- [13] Verheyen E, Salzburger W, Snoeks J, et al. Origin of the superflock of cichlid fishes from lake Victoria, East Africa. *Science*, 2003, **300**: 325 ~ 329.
- [14] Bowen B W, Muss A, Rocha L A, et al. Shallow mtDNA coalescence in Atlantic pygmy angelfishes (genus *Centropyge*) indicates a recent invasion from the Indian Ocean. *J Hered*, 2006, **97**(1): 1 ~ 12.
- [15] Köcher T D, Thomas W K, Meyer A, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *PNAS*, 1989, **86**: 6196 ~ 6200.
- [16] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. *Nucl Acids Res*, 1997, **25**: 4876 ~ 4882.
- [17] Galtier N, Gouy M, Gautier C. SEAVIEW and PHYLO-WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Comp Appl Biosci*, 1996, **12**: 543 ~ 548.
- [18] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief Bioinf*, 2004, **5**: 150 ~ 163.
- [19] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinf Online*, 2005, **1**: 47 ~ 50.
- [20] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP,

- DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 2006, **19**:2 496 ~ 2 497.
- [21] 刘焕章. 鱼类线粒体 DNA 控制区的结构和进化:以鳊鱼为例. 自然科学进展, 2002, **12**(3):266 ~ 270.
- [22] 张四明, 邓怀, 汪登强等. 中华鲟 (*Acipenser sinensis*) mtDNA 个体间的长度变异与个体内的长度异质性. 遗传学报, 1999, **26**:489 ~ 496.
- [23] 刘文斌. 中国鲚属 4 种鱼的生化和形态比较及其系统发育的研究. 海洋与湖沼, 1995, **26**:558 ~ 565.
- [24] 程起群, 韩金娣. 刀鲚两种群的形态变异和综合判别. 湖泊科学, 2004, **16**:356 ~ 364.
- [25] 程启群, 温俊娥, 王云龙等. 刀鲚与湖鲚线粒体细胞色素 *b* 基因片段多态性及遗传关系. 湖泊科学, 2006, **18**(4):425 ~ 430.
- [26] Yu Z N, Kong X Y, Guo T H, et al. Mitochondrial DNA sequence variation of Japanese Anchovy *Engraulis japonicus* from the Yellow Sea and East China Sea. *Fish Sci*, 2005, **71**:299 ~ 307.
- [27] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 1985, **236**:787 ~ 792.
- [28] Hartl D L, Clark A G. Principle of Population Genetics, 2nd edn. Sunderland: Sinauer, 1989.
- [29] Neigel J E. Is FST obsolete? *Conserv Genet*, 2002, **3**:167 ~ 173.
- [30] Reed D H, Frankham R. How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis. *Evolution*, 2001, **55**:1 095 ~ 1 103.
- [31] van Tienderen P H, de Haan A A, van der Linden C G, et al. Biodiversity assessment using markers for ecologically important trait. *Trend Ecol Evol*, 2002, **17**:577 ~ 582.
- [32] Bekessy S A, Ennos R A, Burgman M A, et al. Neutral DNA markers fail to detect genetic divergence in an ecologically important trait. *Biol Conserv*, 2003, **110**:267 ~ 275.

途经甘肃的 3 种水鸟新纪录

2007 年 10 月 13 日至 11 月 5 日进行敦煌市湿地鸟类调查时,分别在南湖湿地与候鸟自然保护区及党河水库使用 Leica apo 77 高倍望远镜观察到 3 种水鸟,在以往文献资料中未见其分布于甘肃的报道,应为甘肃鸟类新纪录。笔者用 500 mm 镜头分别拍下 3 种水鸟的照片。

1. 赤颈鲼 (*Podiceps grisegena*)

2007 年 10 月 13 日 13:30 时,在南湖湿地与候鸟自然保护区的阳关水库(渥洼池)记录到 2 只赤颈鲼。当时水面上同时有凤头鲼 (*P. cristatus*)、黑颈鲼 (*P. nigricollis*) 以及大量鸭类、潜鸭类游离活动,赤颈鲼体形较凤头鲼小,而又明显比黑颈鲼大。其中一只赤颈鲼的繁殖羽还未退去,可清楚地观察到其颈部显著的红色特征。10 月 18 日 14:00 时我们重返阳关水库调查,发现两只赤颈鲼依然在水面游栖。11 月 5 日调查未见到任何鲼,应该都已向南迁徙。赤颈鲼在我国数量稀少,分布于黑龙江、吉林、辽宁、河北、北京、浙江、福建、广东东部。在甘肃应属于罕见旅鸟。

2. 三趾鸥 (*Rissa tridactyla*)

2007 年 11 月 5 日 12:00 时,在南湖湿地与候鸟自然保护区的黄水坝记录到 1 只三趾鸥第一年幼鸟。其嘴黑色,头顶和枕部具灰色斑,后颈有灰黑色带;飞行时上体具深色不完整“W”形斑纹,尾端具黑色横带。时而飞起低头寻找水中食物,时而在水面上游栖,当时水面上同时有黄脚银鸥 (*Larus cachinnans*) 以及大量鸭类、潜鸭类游离活动。三趾鸥繁殖于北极地区,在中国为较罕见冬候鸟,分布于辽宁、河北、北京、四川、江苏、上海、浙江、广东、香港、海南。在甘肃应属于罕见迷鸟或旅鸟。

3. 长尾鸭 (*Clangula hyemalis*)

2007 年 10 月 28 日 17:00 时,在敦煌市党河水库记录到一对长尾鸭。当时两只长尾鸭都为非繁殖羽,频繁潜入水中寻找食物。水面上同时有绿头鸭 (*Anas platyrhynchos*)、凤头潜鸭 (*Aythya fuligula*) 活动。在我国,长尾鸭数量比较稀少,分布于黑龙江、吉林、辽宁东部、河北东北部、北京、天津、湖南、福建。近年在新疆东部的多处湿地曾记录到长尾鸭,以及笔者在甘肃敦煌的发现,说明其迁徙时也会路过中国内陆,停歇于干旱地区的湿地。长尾鸭在甘肃应属于罕见旅鸟。

李 飞 邱观华 孙志成 吴三雄

(北京林业大学自然保护区学院 北京 100083; 甘肃敦煌西湖国家级自然保护区管理局 敦煌 736200)