

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2021.20127

基于线粒体 Cyt *b* 基因序列的棘头梅童鱼种群遗传结构

张帅^{1,2}, 李敏^{1,3}, 闫帅¹, 孔啸兰¹, 朱江峰², 徐姗楠¹, 陈作志^{1,3}

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部外海渔业开发重点实验室, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300;
2. 上海海洋大学海洋科学学院 上海 201306;
3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(广州) 广东 广州 511458

摘要: 选取线粒体细胞色素 *b* (cytochrome *b*, Cyt *b*) 基因序列作为分子标记, 分析了中国沿海棘头梅童鱼 (*Collichthys lucidus*) 的种群遗传结构。2019 年 9–11 月在中国沿海 9 个采样点共采集棘头梅童鱼 342 尾, 共检测到 174 个单倍型。通过构建单倍型网络连接图和单倍型进化树发现, 棘头梅童鱼可分为北方支系和南方支系。分子方差分析(AMOVA)结果显示, 棘头梅童鱼的南北群体存在显著的遗传分化。核苷酸错配分布分析和中性检验结果显示, 棘头梅童鱼在更新世经历过种群快速扩张, 且估算北方群体和南方群体的种群扩张时间分别在 0.799 万~1.999 万和 2.631 万~6.577 万年前。根据净遗传距离推算出北方群体和南方群体的分化时间在 34.5 万~86.25 万年前。综上所述, 中国沿海棘头梅童鱼可分为南北两个种群, 在渔业资源开发和管理上需要区别对待。

关键词: 棘头梅童鱼; 种群遗传结构; 细胞色素 *b* 基因; 渔业管理

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)01-0090-10

棘头梅童鱼广布于中国沿海各大河口, 是河口生态系统的重要组成部分^[1-2]。在近海渔业资源被过度开发的情况下, 棘头梅童鱼等小型渔业资源逐渐得到重视, 因其肉质鲜美, 产量高^[3], 已是中国沿海重要的经济鱼类, 并被列入国家重点保护经济水生动植物资源名录^[4]。因此, 探究中国沿海棘头梅童鱼的渔业资源种群现状, 对合理开发其渔业资源具有重要意义。

目前, 关于棘头梅童鱼的研究报道主要集中于种群结构^[5-13]、渔业资源^[3, 14]和生物学特性^[15-16]等。对于棘头梅童鱼种群结构已开展较多研究, 郑德锋等^[9-10]通过对线粒体控制区和 AFLP 的研究发现, 棘头梅童鱼可分为南北两个群体。Song 等^[8]通过对线粒体控制区的研究发现, 棘头梅童

鱼可分为 3 个支系。赵明等^[7]通过线粒体 COI 的研究发现, 棘头梅童鱼可分为南北两个类群。宋炜等^[6]通过对核基因 SSR 标记的研究发现, 南北群体并无显著的遗传分化。梁述章等^[5]通过对线粒体控制区的研究发现, 南北群体具有明显的遗传差异, 但是梁述章等^[11]通过鱼体形态却发现南北群体不存在显著的遗传分化, 而刘晓慧等^[13]通过对鱼体形态的研究发现福州群体与北方的群体存在分化。Zhao 等^[12]通过耳石形态对北方 3 个棘头梅童鱼群体的研究发现其存在一定的差异。

综合以上研究发现, 对于棘头梅童鱼现有渔业种群结构尚不十分明确, 并且缺乏涵盖中国沿海重要河口的系统研究。同时, 线粒体 Cyt *b* 基因序列是研究群体遗传的典型分子标记之一, 棘头

收稿日期: 2020-05-01; 修订日期: 2020-05-23.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0900902); 南方海洋科学与工程广东省实验室(广州)人才团队引进重大专项(GML2019ZD0605); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2019TS26).

作者简介: 张帅(1989–), 男, 博士后, 从事分子生态和渔业资源保护研究. E-mail: zhangshuai@scsfri.ac.cn

通信作者: 陈作志(1978–), 男, 博士, 研究员, 从事渔业资源和海洋生态研究. E-mail: zzchen2000@163.com

梅童鱼尚无此标记的报道。因此,本研究拟选取中国沿海重要河口的棘头梅童鱼为研究对象,线粒体 Cyt b 基因序列作为分子标记,探明棘头梅童鱼的种群遗传结构,为其渔业资源的科学管理和开发提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究于 2019 年 9—11 月采集棘头梅童鱼 342 尾,采集点涵盖中国沿海 9 个不同河口/海域(图 1)。具体采样信息见表 1。棘头梅童鱼购买于当地的码头或市场,经形态学鉴定后,随机挑取新鲜的样本,冷冻寄回实验室,−20 °C 保存。

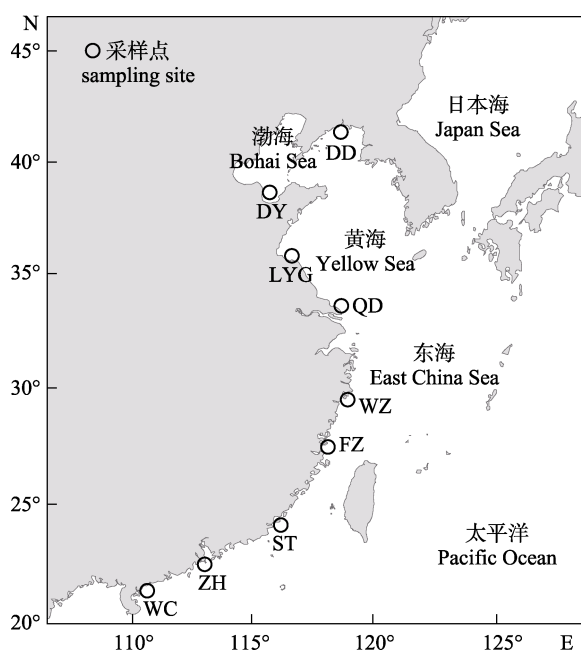


图 1 棘头梅童鱼采样点示意图

DD: 丹东; DY: 东营; LYG: 连云港; QD: 启东; WZ: 温州;

FZ: 福州; ST: 汕头; ZH: 珠海; WC: 吴川。

Fig. 1 Sampling sites of *Collichthys lucidus*

DD: Dandong; DY: Dongying; LYG: Lianyungang;
QD: Qidong; WZ: Wenzhou; FZ: Fuzhou; ST: Shantou;
ZH: Zhuhai; WC: Wuchuan.

1.2 实验方法

剪取棘头梅童鱼背部白色肌肉组织,按照基因组提取试剂盒(天根, DP-324)的说明书提取总 DNA,−40 °C 保存备用。

参考棘头梅童鱼线粒体 Cyt b 基因全序列

(GenBank 登录号: JN857362),设计并筛选出一对用于扩增 Cyt b 基因序列的引物: CLCB-F (5'-TGCCCTGAGGCCAAATATCC-3')和 CLCB-R (5'-TGCTCCCCAATGAAGCACTC-3')。PCR 反应体系: 2×Taq PCR Mix (Tiangen) 12.5 μL, 正向和反向引物各 1 μL, 模板 DNA 1 μL, 加超纯水至总体积 25 μL。PCR 反应程序: 94 °C 4 min; 94 °C 30 s, 57 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 7 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送测序公司双向测序,测序引物同扩增引物。

1.3 数据处理和分析

获得测序结果后,使用软件 SeqMan 组装拼接正反序列,根据峰图人工校正。采用软件 BioEdit 3.3^[17]编排所得序列,用软件 MEGA 6.0^[18]对序列进行多重排列比对(Align by Clustal W),参数设置为程序默认值。

选用软件 MEGA 6.0 中的 Models 模块,基于最大似然法(maximum likelihood)从 24 种核苷酸替代模型中选出最适模型,筛选结果为 Tamura-Nei 模型(TN93+G+I, G=0.85, I=0.66);采用 Tamura-Nei 模型基于邻接法(neighbor joining method)构建单倍型系统进化树。采用软件 DnaSP 5.10^[19]计算不同地理群体的遗传多样性指数;基于序列信息使用基因流分析模块(gene flow and genetic differentiation)计算两两群体间的基因流(N_m)^[20]。采用软件 PopART 1.7^[21]构建单倍型中间网络连接图(median joining network)^[22]。

采用软件 Arlequin 3.5^[23]进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA),检测群组遗传分化与地理格局的相关性,分组方式如下:东营、丹东、连云港和启东归为北方群组,温州、福州、汕头、珠海和吴川归为南方群组。遗传结构协方差的显著性通过 5000 次重复抽样来检验,并计算两两群体间的遗传分化系数(F_{ST});采用种群分化测试检验单倍型在两两群体间分布频率的差异,通过抽样来检验显著性(10000 次重复);通过核苷酸错配分布分析(mismatch distribution)以判断棘头梅童鱼种群历史上是否存在群体扩张;中性检验采用 Tajima's D ^[24]检验和 Fu's F_s ^[25]检验来

检测种群进化是否遵循中性理论。

通过公式($\tau=2ut$)来估算群体扩张的时间(t),其中 τ 为扩张时间参数, u 为序列的突变速率($u=2\mu k$, μ 表示单个核苷酸位点的突变速率, k 表示目的片段长度), Cyt b 基因核苷酸突变速率选取每百万年 1%~2.5%^[26]。采用软件 DnaSP 5.10, 基于 Tamura-Nei 模型通过公式 $d_A=d_{XY}-(d_X+d_Y)/2$ 计算净遗传距离, 其中 d_A 表示净遗传距离, d_{XY} 表示组间遗传距离, d_X 和 d_Y 分别表示不同组的组内遗传距离。根据 d_A 值和 Cyt b 基因核苷酸突变速率计算遗传分化时间。

2 结果与分析

2.1 序列特征

本研究共采集 9 个地理群体的棘头梅童鱼 342 尾, 所得线粒体 Cyt b 基因序列片段长度为 1014 bp。所有序列共检测到 167 个变异位点, 159 个多态性位点, 88 个简约信息位点。突变类型包括 133 个转换位点, 31 个颠换位点, 5 个插入/缺失位点。平均碱基组成为: A=28.7%, T=28.8%, C=29.5%, G=13.0%, 显示 A^T 碱基偏好和反 G 偏倚现象, 该现象在海洋鱼类中普遍存在^[26-27]。

2.2 遗传多样性

所有样本共获得 174 个单倍型, 其中大部分为个体特异单倍型(141 个, 占比 81.0%), 共享单

倍型有 33 个(占比 19.0%), 共享比例较高的单倍型有 H2(56 个)、H36(49 个)、H39(11 个)和 H50(9 个)。其中单倍型 H2 共享群体最多, 包括东营、丹东、连云港和启东, 其次是单倍型 H36, 包括温州、福州、汕头、珠海和吴川。

不同地理群体间的遗传差异多样性见表 1, 总体呈现高的单倍型多样性(0.9504)和较低的核苷酸多样性(0.0197)。

2.3 系统发生关系

棘头梅童鱼 Cyt b 基因序列单倍型网络连接图和单倍型进化树见图 2, 结果显示棘头梅童鱼群体可分为两大支系, 分别为 N 支系(Clade N)和 S 支系(Clade S), 两个支系分别对应北方群组(N 支系)和南方群组(S 支系), 即 N 支系的单倍型均来自北方群体组的样本, 而 S 支系的单倍型仅 H39 是来自北方群体的样本(启东)为, 其余均来自南方群组。N 支系和 S 支系均呈星状发射结构, 同时内部存在交联, 说明 2 个支系均经历过群体扩张, 且支系内部的基因交流频繁。

2.4 遗传结构

棘头梅童鱼各地理群体的遗传分化系数见表 2, 两两群体的遗传分化系数在-0.0074(丹东-连云港)~0.9369(丹东-福州)之间。北方群组与南方群组间均存在显著的遗传分化($P>0.05$), 北方群组内部存在显著遗传分化的群体有 4 对(东营-丹东,

表 1 棘头梅童鱼采样信息和遗传多样性指数
Tab. 1 Sampling information and genetic diversity parameters of *Collichthys lucidus*

采样点 sampling site	经纬度 longitude and latitude	样本量 sample size	单倍型数 number of haplotypes (H)	多态性位点数(S) number of polymorphic sites	单倍型多样性 ($h\pm SD$) haplotype diversity	核苷酸多样性 ($\pi\pm SD$) nucleotide diversity
北方群组 north group		152	77	102	0.8758 $\pm$ 0.0261	0.0041 $\pm$ 0.0022
东营 DY	118°54'E, 37°17'N	32	17	30	0.8931 $\pm$ 0.0451	0.0050 $\pm$ 0.0028
丹东 DD	124°10'E, 39°50'N	40	21	33	0.8013 $\pm$ 0.0670	0.0021 $\pm$ 0.0013
连云港 LYG	119°20'E, 34°45'N	40	24	33	0.8782 $\pm$ 0.0491	0.0025 $\pm$ 0.0015
启东 QD	121°35'E, 32°03'N	40	24	64	0.8795 $\pm$ 0.0492	0.0063 $\pm$ 0.0034
南方群组 south group		190	104	98	0.9418 $\pm$ 0.0136	0.0033 $\pm$ 0.0018
温州 WZ	120°52'E, 27°56'N	39	29	44	0.9622 $\pm$ 0.0208	0.0036 $\pm$ 0.0020
福州 FZ	119°36'E, 26°07'N	36	18	35	0.8444 $\pm$ 0.0574	0.0033 $\pm$ 0.0019
汕头 ST	116°46'E, 23°19'N	40	34	44	0.9795 $\pm$ 0.0157	0.0041 $\pm$ 0.0023
珠海 ZH	113°34'E, 22°17'N	40	28	45	0.9487 $\pm$ 0.0271	0.0036 $\pm$ 0.0020
吴川 WC	110°38'E, 21°14'N	35	21	42	0.8639 $\pm$ 0.0562	0.0042 $\pm$ 0.0023
合计 total		342	174	159	0.9504 $\pm$ 0.0074	0.0211 $\pm$ 0.0103

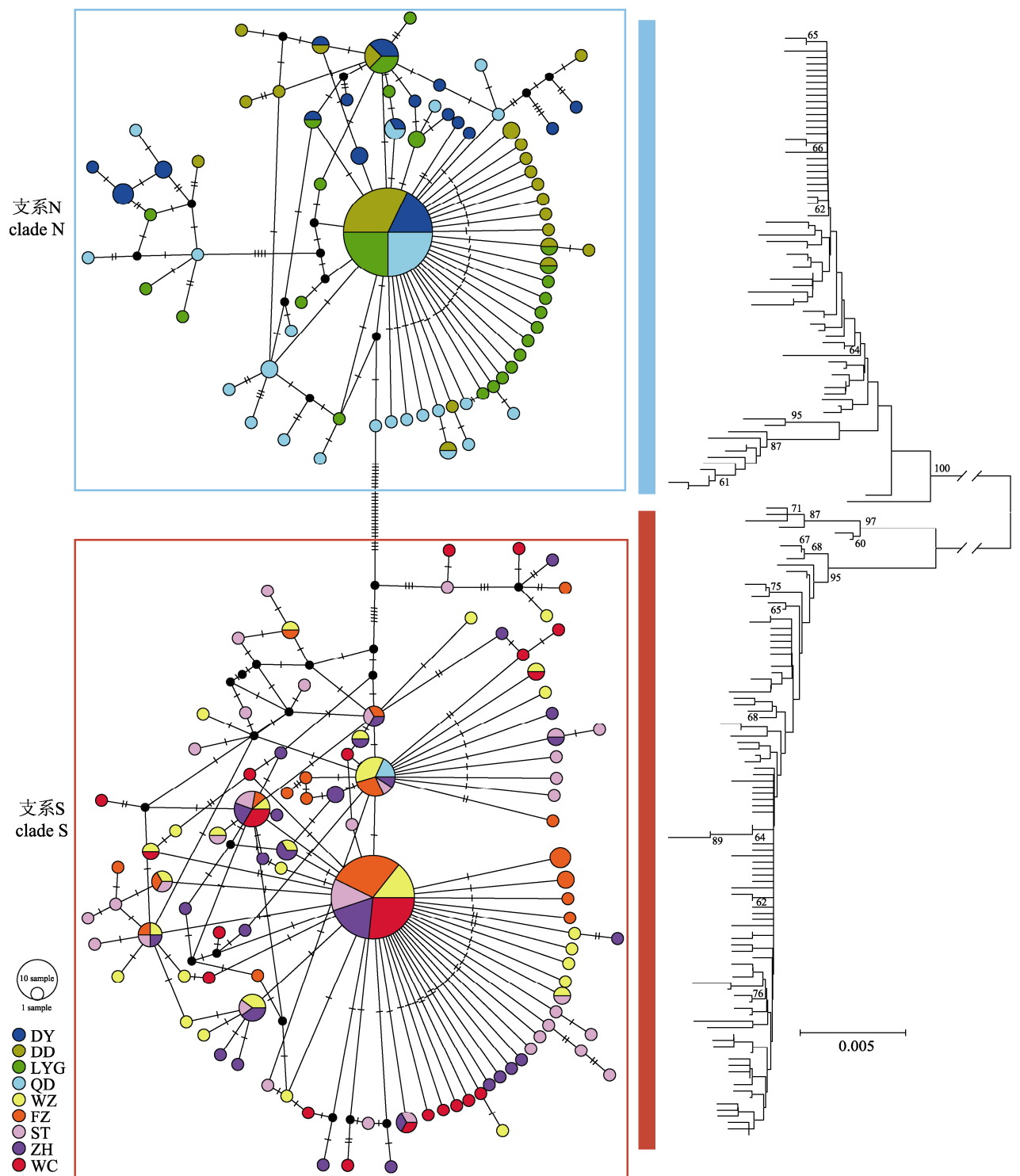


图 2 棘头梅童鱼 Cyt *b* 基因序列的单倍型中间网络连接图(左)和单倍型系统发育树(右)
蓝色方框和竖线表示 N 支系, 红色方框和竖线表示 S 支系; 节点处数值为分支标记大于 60% 的自展值。
Fig. 2 Haplotype median-joining network (left) and phylogenetic tree (right) for *Collichthys lucidus* based on Cyt *b* gene sequences
Blue box and vertical line represent clade N; red box and vertical line represent clade S; bootstrap supports of >60% are shown at nodes.

东营-连云港, 东营-启东和丹东-启东), 南方群组内部均不存在显著遗传分化($P<0.05$)。Wright^[28]认为遗传分化系数 $F_{ST}>0.25$, 则说明种群间具备非常高的遗传分化。然而棘头梅童鱼南北群组间的遗传分化系数 $F_{ST}>0.8622$ (启东-吴川), 同时群组内部的遗传分化系数 $F_{ST}<0.0746$ (东营-丹东), 表

明棘头梅童鱼种群遗传结构为南北地理种群格局。

两两地理群体间随机交配的显著性结果显示(未展示), 南北群组之间均为非随机交配群体, 北方群组间两两随机交配的群体有 4 对(东营-丹东, 东营-连云港, 丹东-连云港和丹东-启东), 南方群组均为两两随机交配群体。表明北方群组和南方群组的遗传差异明显, 并且北方群组内部可能存在遗传分化。

综合遗传结构和系统发生关系结果, 表明中国沿海的棘头梅童鱼群体基本可分为两个种群, 即北方种群和南方种群。

棘头梅童鱼两两群体间的基因流(N_m)见表 2, 南北群组间的基因流极小($N_m=0.06$), 北方群组内

的基因流在 4.61~20.30 之间, 南方群组内的基因流在 13.47~26.59 之间。根据 Millar 等^[29]的结论, 若群体间的基因流 $N_m<1$, 说明群体间可能发生了分化; 若 $N_m>4$ 时, 则说明群体间的基因交流充分。结果表明南北群组间已发生遗传分化, 基因交流少, 但是南北群组内的基因交流频繁。

对 9 个地理群体的棘头梅童鱼群组进行 AMOVA 分析的结果见表 3, 大部分遗传变异(90.56%)来自群组间, 群组间和种群内遗传分化极显著($P<0.01$), 但是群组内遗传分化也具有极显著差异($P<0.01$)。表明南北群组之间具有极显著的遗传分化, 同时群组内部可能也存在一定的遗传分化。

表 2 棘头梅童鱼 9 个地理群体间的遗传分化系数(F_{ST})和基因流(N_m)

Tab. 2 Pairwise genetic differentiation coefficient (F_{ST}) and gene flow (N_m) among 9 geographical populations of *Collichthys lucidus*

群体 population	DY	DD	LYG	QD	WZ	FZ	ST	ZH	WC
东营 DY		4.61	6.80	6.43	0.14	0.13	0.15	0.16	0.15
丹东 DD	0.0746**		20.30	10.87	0.10	0.08	0.11	0.11	0.10
连云港 LYG	0.0429**	-0.0014		11.37	0.12	0.10	0.11	0.14	0.11
启东 QD	0.0366**	0.0204**	0.0172		0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
温州 WZ	0.8980**	0.9311**	0.9274**	0.8682**		26.59	26.09	24.74	21.87
福州 FZ	0.9027**	0.9369**	0.9330*	0.8713*	-0.0074		17.86	19.99	19.17
汕头 ST	0.8923**	0.9254**	0.9217**	0.8628**	-0.0056	0.0006		14.53	13.47
珠海 ZH	0.8996**	0.9322**	0.9284**	0.8696**	-0.0050	-0.0012	0.0091		19.80
吴川 WC	0.8930**	0.9283**	0.9243**	0.8622**	-0.0059	-0.0042	0.0067	-0.0022	

注: 对角线下方为遗传分化系数, 对角线上方为基因流。*表示具有显著遗传差异($P<0.05$), **表示具有极显著遗传差异($P<0.01$)。

Note: F_{ST} values are below the diagonal and N_m values are above the diagonal. * indicate significant genetic differentiation ($P<0.05$), ** indicate extremely significant genetic differentiation ($P<0.01$).

表 3 棘头梅童鱼不同地理群体细胞色素 *b* 基因序列遗传变异的分子方差分析

Tab. 3 Analysis of molecular variance of geographical populations of *Collichthys lucidus* based on cytochrome *b* gene sequences

突变来源 source of variation	自由度 degree of freedom	平方和 sum of squares	突变组分 variance components	突变百分比 percentage of variation	遗传分化系数 F
群组间 among groups	1	3023.85	17.88744 V_a	90.56	$F_{st} = 0.9069^{**}$
群组内 within groups	7	19.97	0.02673 V_b	0.14	$F_{sc} = 0.0143^{**}$
地理群体内 within populations	333	612.337	1.83885 V_c	9.31	$F_{ct} = 0.9055^{**}$

注: 群组划分为北方群组(东营、丹东、连云港和启东)和南方群组(温州、福州、汕头、珠海和吴川)。 V_a 为群组间的方差组分, V_b 为群组内群体间的方差组分, V_c 为地理群体内的方差组分。 **表示具有极显著遗传差异($P<0.01$)。

Note: Groups are divided into North group (DY, DD, LYG and QD) and South group (WZ, FZ, ST, ZH and WC). V_a is variance component among groups, V_b is variance component among populations within groups, V_c is variance component within populations. ** indicate extremely significant genetic differentiation ($P<0.01$).

2.5 历史动态

棘头梅童鱼 Cyt *b* 基因序列的核苷酸错配分布的参数估计值见表 4, 北方群组、南方群组以及所有群体的核苷酸错配分布均符合快速扩张模型和空间扩散模型的假设($P>0.05$), 表明棘头梅童鱼种群既有数量上的快速增长, 同时还有空间尺度上的扩散。

中性检验结果如表 4 所示, Tajima's *D* 值和 Fu's *F_s* 值均为显著或极显著的负值(仅东营的

Tajima's *D* 值无显著性), 显著偏离中性理论下的 Wright-Fisher 模型, 说明棘头梅童鱼群体基本符合快速扩张模型。通过 Arlequin 计算获得北方群组($\tau=0.811$)和南方群组($\tau=2.668$)的扩张时间参数, 估算出北方群组的扩张时间为 0.799 万~1.999 万年前, 南方群组的扩张时间为 2.631 万~6.577 万年前。根据 MEGA 计算的净遗传距离(0.345), 推算南北群组的遗传分歧时间为 34.5 万~86.25 万年前。

表 4 棘头梅童鱼线粒体细胞色素 *b* 基因序列核苷酸错配分布的参数估计值和中性检验的统计值
Tab. 4 Mismatch distribution parameter estimates and neutrality tests statistics for *Collichthys lucidus* based on mtDNA cytochrome *b* gene sequences

采样点 sampling site	错配分布 mismatch distribution				中性检验 neutrality test			
	快速扩张模型 sudden expansion model		空间扩散模型 spatial expansion model		Tajima's <i>D</i>		Fu's <i>F_s</i>	
	粗糙指数 HRI	<i>P</i>	粗糙指数 HRI	<i>P</i>	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>F_s</i>	<i>P</i>
北方群组 north group	0.0316	0.9988	0.0316	0.5429	-2.4430	0.0001	-25.6824	0.0000
东营 DY	0.0242	0.8669	0.0242	0.9181	-1.0709	0.1430	-4.8371	0.0314
丹东 DD	0.0555	0.4949	0.0555	0.5386	-2.4752	0.0000	-17.8689	0.0000
连云港 LYG	0.0718	0.2220	0.0718	0.2240	-2.2921	0.0014	-22.0640	0.0000
启东 QD	0.0129	1.0000	0.0129	0.9563	-2.0523	0.0040	-9.1652	0.0036
南方群组 south group	0.0311	0.5315	0.0311	0.5358	-2.4733	0.0000	-25.9320	0.0000
温州 WZ	0.1121	0.0009	0.1121	0.0012	-2.3364	0.0006	-26.8567	0.0000
福州 FZ	0.2209	0.0026	0.2209	0.0454	-2.2493	0.0021	-8.5006	0.0009
汕头 ST	0.0474	0.0430	0.0474	0.0500	-2.1986	0.0012	-25.8023	0.0000
珠海 ZH	0.1366	0.0004	0.1366	0.0005	-2.3932	0.0002	-24.6322	0.0000
吴川 WC	0.1076	0.0201	0.1076	0.2029	-2.2394	0.0020	-10.8981	0.0002
合计 total	0.0153	0.3142	0.0153	0.8064	-0.5282	0.3451	-23.5275	0.0096

3 讨论

3.1 棘头梅童鱼的遗传多样性与历史动态

遗传多样性与鱼类适应环境的能力成正相关, 同时也是维持生物多样性的重要基础。本研究发

现中国沿海棘头梅童鱼的单倍型多样性较高(0.8013~0.975)。这与前人通过 D-loop^[10-11]和 COI^[6]标记研究的结论基本一致。核苷酸多样性(π)也是衡量物种遗传多样性的重要指标, Lan 等^[30]认为当 π 值小于 0.0047 时, 表示遗传多样性水平较低。因此, 中国沿海棘头梅童鱼仅东营($\pi=0.0050$)和启东($\pi=0.0063$)群体的遗传多样性较高, 其他地理群体的遗传多样性偏低($\pi<0.0047$)。南海外海尚

未充分捕捞的鳶乌贼[*Sthenoteuthis oualaniensis* (Lesson, 1830)]群体其 π 值明显较高(0.1496)^[31]。

棘头梅童鱼所有群体的遗传多样性均呈现高 *h* (0.9504)低 π (0.0211)的模式^[32], 说明种群经历过瓶颈效应, 随后经历了快速扩张期, 因此积累了单倍型多样性, 未能积累足够的核苷酸多态性。Tajima's *D* 和 *F_s* 的中性检验结果显示 *D* 值和 *F_s* 值为负数且显著, 进一步证明棘头梅童鱼经历过种群的快速扩张。推算种群扩张时间在 0.799 万~6.577 万年前, 处于第四纪的更新世最后一个间冰期(1.5 万至 6.5 万年前), 可能是由于更新世冰期-间冰期的交替出现, 使棘头梅童鱼种群在冰期时区域性灭绝, 在间冰期又重新扩张^[33-34]。

3.2 棘头梅童鱼的种群遗传结构和地理格局

海洋鱼类由于缺乏地理屏障, 基因交流频繁, 通常难以形成明显的遗传结构^[32]。本研究发现棘头梅童鱼的遗传结构可分为北方群组和南方群组。对其他中国沿海海洋鱼类的研究也有类似的发现, 如凤鲚(*Coilia mystus*)^[35-36]、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)^[37]和鲻(*Mugil cephalus*)^[38]等。同时根据估算的棘头梅童鱼南北群组分化时间可知, 南北群组形成于更新世时期。这可能是由于更新世冰期-间冰期的交替出现, 在冰期海平面会大大降低, 使得渤海和黄海成为陆地, 东海收缩成狭长的海槽, 台湾海峡成为陆地, 南海则成为半封闭的海湾, 仅通过巴士海峡与太平洋相连^[33-34]。因此, 冰期海洋面积的缩小会导致群体的区域性灭绝, 在间冰期幸存者又会重新扩张到新出现的海域, 如此反复, 这可能是棘头梅童鱼南北地理格局产生的历史原因。综合以往的研究发现, 中国海洋鱼类的地理格局都不同程度受到了更新世地质事件的影响^[26,35-41]。同时, 棘头梅童鱼为河口定居鱼类, 主动扩散能力弱, 以及中国沿海的沿岸流和季风带的特征, 可能是南北地理格局维持下来的现实原因。也有研究发现其他海洋鱼类并无显著遗传分化, 如日本鲭(*Scomber japonicus*)^[42]和龙头鱼(*Harpodon nehereus*)^[43], 这可能是由于不同鱼类生活特性和迁移能力的不同所导致的。

本研究棘头梅童鱼的南北地理格局模式与之前对棘头梅童鱼 D-loop^[10-11]、COI^[12]和 AFLP^[9]标记的研究结果基本一致。但 Song 等^[8]认为棘头梅童鱼存在 3 个支系, 本研究与其有所差别。这可能是由于以下 3 个原因: (1) 样本的覆盖范围不一且采样点有差异; (2) 选择分子标记位点的差异; (3) 分子标记的分辨率过低, 不同的解读方式带来的差别。基于微卫星标记^[6]和鱼体形态^[11]的研究结果显示, 南北群组没有显著遗传分化, 与本研究结论不一致, 可能需要进一步验证。

棘头梅童鱼在中国沿海分布广泛, 不同河口捕捞强度不同, 如闽江口^[10]和长江口^[5]已发现棘头梅童鱼的种群处于过度开发状态, 因此需进行

保护开发。分子标记是大尺度的进化标记, 难以呈现鱼类种群的精细结构和短期历史动态。在后续研究中可以采用其他微小尺度的标记, 如寄生虫标记^[44]或者耳石微量元素标记^[45], 结合分子标记进行整体分析, 为制定更科学的渔业资源管理措施提供支撑。

参考文献:

- [1] Zhang T, Zhuang P, Zhang L Z, et al. Composition and diversity of fish species in the coast of the Yangtze River estuary[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2010, 16(6): 817-821. [张涛, 庄平, 章龙珍, 等. 长江口近岸鱼类种类组成及其多样性[J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(6): 817-821.]
- [2] Zhan H G. Study on fish community structure in the Zhujiang estuary and adjacent waters[J]. Acta Oceanologica Sinica, 1998, 20(3): 91-97. [詹海刚. 珠江口及邻近水域鱼类群落结构研究[J]. 海洋学报, 1998, 20(3): 91-97.]
- [3] Hu Y, Zhang T, Yang G, et al. Assessment of resource situation of *Collichthys lucidus* in coastal waters of the Yangtze estuary[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(9): 2867-2873. [胡艳, 张涛, 杨刚, 等. 长江口近岸水域棘头梅童鱼资源现状的评估[J]. 应用生态学报, 2015, 26(9): 2867-2873.]
- [4] Fisheries Bureau of the Ministry of Agriculture. List of China State Key Protected Commercial Sources of Aquatic Animals and Plants (first batch)[EB/OL]. (2007-12-12). http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201006/t20100606_1538153.htm. [农业部渔业局. 国家重点保护经济水生动物植物资源名录(第一批)[EB/OL]. (2007-12-12). http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201006/t20100606_1538153.htm.]
- [5] Liang S Z, Song W, Ma C Y, et al. Genetic structure of *Collichthys lucidus* populations from China coastal waters based on mtDNA control region[J]. Marine Fisheries, 2019, 41(2): 138-148. [梁述章, 宋炜, 马春艳, 等. 基于线粒体控制区的中国近海棘头梅童鱼群体遗传结构研究[J]. 海洋渔业, 2019, 41(2): 138-148.]
- [6] Song W, Meng Y Y, Jiang K J, et al. Analysis of genetic diversity among seven wild *Collichthys lucidus* populations by using microsatellite marker[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(1): 31-39. [宋炜, 孟永永, 蒋科技, 等. 棘头梅童鱼七个野生群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产学报, 2017, 41(1): 31-39.]
- [7] Zhao M, Song W, Ma C Y, et al. Population genetic structure of *Collichthys lucidus* based on the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequence[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(2): 233-242. [赵明, 宋炜, 马春

- 艳, 等. 基于线粒体 COI 基因序列的棘头梅童鱼 7 个野生群体遗传结构分析[J]. 中国水产科学, 2015, 22(2): 233-242.]
- [8] Song N, Ma G Q, Zhang X M, et al. Genetic structure and historical demography of *Collichthys lucidus* inferred from mtDNA sequence analysis[J]. Environmental Biology of Fishes, 2014, 97(1): 69-77.
- [9] Zheng D F, Zhao J L, Zhou W Y, et al. Genetic structure of *Collichthys lucidus* populations from China coastal areas by AFLP analysis[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2011, 42(3): 443-447. [郑德锋, 赵金良, 周文玉, 等. 我国沿海棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)群体遗传结构的 AFLP 分析[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(3): 443-447.]
- [10] Zheng D F, Zhao J L, Zhou W Y. mtDNA control region sequence variation and genetic structure of *Collichthys lucidus* populations[J]. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(2): 34-40. [郑德锋, 赵金良, 周文玉. 棘头梅童鱼线粒体控制区的序列变异与群体遗传结构[J]. 渔业科学进展, 2011, 32(2): 34-40.]
- [11] Liang S Z, Song W, Zhao M, et al. Morphology of seven *Collichthys lucidus* populations near the coast of the Yellow Sea and East China Sea[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(3): 576-585. [梁述章, 宋炜, 赵明, 等. 黄海、东海近海七个棘头梅童鱼地理群体的形态差异分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(3): 576-585.]
- [12] Zhao B, Liu J H, Song J J, et al. Otolith shape analysis for stock discrimination of two *Collichthys* genus croaker (Pisces: Sciaenidae), from the northern Chinese coast[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2018, 36(3): 981-989.
- [13] Liu X H, Song N, Liu H Y, et al. Preliminary analysis on morphological characteristics of 5 *Collichthys lucidus* geographical populations[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2015(2): 59-67. [刘晓慧, 宋娜, 刘鸿雁, 等. 棘头梅童鱼 5 个地理群体的形态学初步分析[J]. 海洋湖沼通报, 2015(2): 59-67.]
- [14] Huang L M, Li J, Xie Y J, et al. Study of the *Collichthys lucidus* fisheries resources of the Minjiang Estuary and its adjacent waters[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2010, 29(2): 250-256. [黄良敏, 李军, 谢仰杰, 等. 闽江口及其附近海域棘头梅童鱼资源的研究[J]. 台湾海峡, 2010, 29(2): 250-256.]
- [15] Huang L M, Xie Y J, Li J, et al. Biological characteristics of *Collichthys lucidus* in Minjiang River estuary and its adjacent waters[J]. Journal of Jimei University (Natural Science), 2010, 15(4): 248-253. [黄良敏, 谢仰杰, 李军, 等. 闽江口及附近海域棘头梅童鱼的生物学特征[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2010, 15(4): 248-253.]
- [16] Shan L Z, Shao X B, Yan M C. The study on biological characteristics of *Collichthys lucidus* (Richardson)[J]. Journal of Aquaculture, 2007, 28(6): 4-5. [单乐州, 邵鑫斌, 闫茂仓. 棘头梅童鱼幼鱼生物学特性的初步观察[J]. 水产养殖, 2007, 28(6): 4-5.]
- [17] Hall T. 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.
- [18] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [19] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [20] Nei M. Evolution of human races at the gene level[J]. Progress in Clinical & Biological Research, 1982, 103(Pt A): 167-181.
- [21] Leigh J W, Bryant D. POPART: Full-feature software for haplotype network construction[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2015, 6(9): 1110-1116.
- [22] Bandelt H J, Forster P, Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.
- [23] Excoffier L, Lischer H E. 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.
- [24] Tajima F. Statistical-method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [25] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. Genetics, 1997, 147(2): 915-925.
- [26] Li M, Huang Z R, Xu Y W, et al. Population genetic structure of brushtooth lizardfish (*Saurida undosquamis*) based on mitochondrial cytochrome *b* gene sequences[J]. South China Fisheries Science, 2019, 15(6): 41-48. [李敏, 黄梓荣, 许友伟, 等. 基于线粒体 *cytb* 序列的花斑蛇鲷种群遗传结构研究[J]. 南方水产科学, 2019, 15(6): 41-48.]
- [27] Xiong D, Li M, Li Y Z, et al. Sequence analysis of the mitochondrial cytochrome *b* gene and identification of the *Priacanthus macracanthus* population in the South China Sea[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(1): 188-197. [熊丹, 李敏, 李永振, 等. 南海短尾大眼鲷线粒体 Cyt *b* 基因序列及种群判别分析[J]. 中国水产科学, 2016, 23(1): 188-197.]
- [28] Wright S. Evolution and the Genetics of Population: Variability within and among Natural Population[M]. Chicago:

- University of Chicago Press, 1978: 79-103.
- [29] Millar C I, Libby W J. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species[M]//Falk D A, Holsinger K E. Genetics and Conservation of Rare Plants. Oxford: Oxford University Press, 1991: 149-170.
- [30] Lan H, Shi L M. The origin and genetic differentiation of native breeds of pigs in southwest China: An approach from mitochondrial DNA polymorphism[J]. Biochemical Genetics, 1993, 31(1-2): 51-60.
- [31] Li M, Zhang P, Zhang J, et al. Genetic differentiation of the purpleback flying squid, *Sthenoteuthis oualaniensis*, in the South China Sea: Population or species divergence[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(1): 133-140. [李敏, 张鹏, 张俊, 等. 南海鳶乌贼的遗传差异: 种群分化还是种间分化[J]. 中国水产科学, 2019, 26(1): 133-140.]
- [32] Grant W A S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415-426.
- [33] Lambeck K, Esat T M, Potter E K. Links between climate and sea levels for the past three million years[J]. Nature, 2002, 419(6903): 199-206.
- [34] Wang P X. Response of Western Pacific marginal seas to glacial cycles: Paleooceanographic and sedimentological features[J]. Marine Geology, 1999, 156(1-4): 5-39.
- [35] Yan X L, Tang W Q, Yang J Q. Population genetic structure of tapertail anchovy (*Coilia mystus*) in coastal waters of southeast China based on mtDNA control region sequences[J]. Biodiversity Science, 2009, 17(2): 143-150. [阎雪岚, 唐文乔, 杨金权. 基于线粒体控制区的序列变异分析中国东南部沿海凤鲚种群遗传结构[J]. 生物多样性, 2009, 17(2): 143-150.]
- [36] Cheng Q Q, Ma C Y, Zhuang P, et al. Genetic structure and evolution characters in three populations of *Coilia mystus* based on cytochrome *b* gene segment sequence of mitochondrial DNA[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(1): 1-7. [程起群, 马春艳, 庄平, 等. 基于线粒体 *cyt b* 基因标记探讨凤鲚 3 群体遗传结构和进化特征[J]. 水产学报, 2008, 32(1): 1-7.]
- [37] Liu J X, Gao T X, Yokogawa K, et al. Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 39(3): 799-811.
- [38] Liu J Y, Brown C L, Yang T B. Population genetic structure and historical demography of grey mullet, *Mugil cephalus*, along the coast of China, inferred by analysis of the mitochondrial control region[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2009, 37(5): 556-566.
- [39] Li M, Li Y, Zhang P, et al. Analysis of population genetic structure of bullet tuna (*Auxis rochei*) in the South China Sea based on mitochondrial control region sequences[J]. South China Fisheries Science, 2016, 12(4): 88-95. [李敏, 李玉芳, 张鹏, 等. 基于线粒体控制区序列的南海圆舵鲣种群遗传结构分析[J]. 南方水产科学, 2016, 12(4): 88-95.]
- [40] Li M, Zhang P, Li Y F, et al. Population genetic structure and genetic diversity of frigate tuna (*Auxis thazard*) in the South China Sea[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(5): 82-89. [李敏, 张鹏, 李玉芳, 等. 南海扁舵鲣种群遗传结构和遗传多样性评价[J]. 南方水产科学, 2015, 11(5): 82-89.]
- [41] Xiong D, Li M, Chen Z Z, et al. Genetic structure of *Priacanthus macracanthus* population from the South China Sea[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(2): 27-34. [熊丹, 李敏, 陈作志, 等. 南海短尾大眼鲷的种群遗传结构分析[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 27-34.]
- [42] Yan S, Catanese G, Brown C L, et al. Phylogeographic study on the chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Northwestern Pacific indicates the late Pleistocene population isolation[J]. Marine Ecology, 2015, 36(3): 753-765.
- [43] Guo Y J, Yang T Y, Meng W, et al. The genetic structure of the Bombay duck (*Harpodon nehereus*) based on mitochondrial *Cyt b* gene[J]. 水生生物学报, 2019, 43(5): 945-952. [郭易佳, 杨天燕, 孟玮, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的龙头鱼群体遗传结构分析[J]. 水生生物学报, 2019, 43(5): 945-952.]
- [44] MacKenzie K, Abaunza P. Parasites as biological tags[M]//Cadrin S X, Friedland K D, Waldman J R. Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science. Amsterdam: Elsevier, 2014: 185-203.
- [45] Tanner S E, Reis-Santos P, Cabral H N. Otolith chemistry in stock delineation: A brief overview, current challenges and future prospects[J]. Fisheries Research, 2016, 173: 206-213.

Population genetic structure analysis of big head croaker (*Collichthys lucidus*) based on mitochondrial cytochrome *b* gene sequences

ZHANG Shuai^{1,2}, LI Min^{1,3}, YAN Shuai¹, KONG Xiaolan¹, ZHU Jiangfeng², XU Shannan¹, CHEN Zuozhi^{1,3}

1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Open-Sea Fishery Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology Environment, Guangzhou 510300, China;
2. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory, Guangzhou 511458, China

Abstract: With the collapse of inshore fishery resources, small economic fishes have become the major fish resource in the coastal waters of China. As one of the most important fish resources, big head croaker (*Collichthys lucidus*) has a wide distribution and high production in Chinese estuaries and is included on the List of China State Key Protected Commercial Sources of Aquatic Animals and Plants. However, the population structure of *C. lucidus* is still unclear, and knowledge of this is essential for decision-makers to sustainably develop the fishery industry. In the present study, the population genetic structure of *C. lucidus* in the coastal waters of China was examined based on mitochondrial cytochrome *b* gene sequences. A total of 342 individuals were sampled from nine localities from September to November 2019, and 174 haplotypes were subsequently identified. The median-joining network and neighbor-joining tree of haplotypes show two significantly divergent clades, Clade N and Clade S, which correspond to the geographical North group and South group, respectively. Analyses of molecular variance (AMOVA) also revealed significant genetic differentiation between the North and South groups ($P < 0.01$). The genetic diversity results indicated that the haplotype diversity of the South group was higher than that of the North group (0.9418 vs. 0.8758); however, the results of nucleotide diversity showed the opposite outcome (0.0036 vs. 0.0041). Analyses of pairwise F_{ST} and N_m revealed significant genetic differentiation between the North and South group populations ($P < 0.05$), with little gene exchange ($N_m = 0.06$). The results of mismatch distribution and neutrality tests show that population expansion occurred for big head croaker along the coast of China in the Pleistocene era, and the expansion times of the North and South groups were estimated to be 7990–19900 and 26310–65770 years ago, respectively. The divergence time of big head croaker between the North and South groups was estimated at 345000–862500 years ago based on genetic distances. Historical events, biological characteristics, and other extrinsic forces (i.e., coastal currents) may all be associated with the current phylogeographic pattern of big head croaker in the coastal areas of China. In conclusion, the population structure of big head croaker along the coastal waters of China consist of the North group and the South group, which should be exploited and managed individually in fisheries.

Key words: *Collichthys lucidus*; population genetic structure; cytochrome *b* gene; fisheries management

Corresponding author: CHEN Zuozhi. E-mail: zzchen2000@163.com