

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.18072

基于线粒体 Cyt b 基因序列的绿鳍马面鲈 6 个野生群体的遗传结构分析

边力¹, 王鹏飞^{2,3}, 陈四清^{1,4}, 李凤辉^{1,5}, 张乐乐^{1,5}, 刘长琳^{1,4}, 葛建龙^{1,4}

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
2. 农业农村部北海渔业开发重点实验室, 广东 广州 510300;
3. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300;
4. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071;
5. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 利用线粒体细胞色素 b (cytochrome b, Cyt b) 基因分析了我国沿海绿鳍马面鲈(*Thamnaconus septentrionalis*) 6 个野生群体(大连、秦皇岛、蓬莱、日照、舟山和汕头)的遗传多样性和群体遗传结构。结果显示, 在 176 个个体 915 bp 的 Cyt b 部分序列中共检测到 32 个变异位点和 30 个单倍型; 6 个群体的单倍型多样性为 0.883~0.953, 核苷酸多样性 0.0032~0.0039; 群体间固定指数较小, 呈中低度分化; AMOVA 分析表明, 遗传变异主要来源于群体内, 群体间遗传分化未达到显著水平。群体历史动态分析表明, 绿鳍马面鲈在 16.9 万~42.2 万年前经历种群扩张。总体上, 各群体间的遗传分化较小, 并未形成相应的地理支系, 推测黑潮的输送作用以及绿鳍马面鲈的洄游习性维持了各群体间高强度的基因交流; 中更新世中晚期的气候波动对绿鳍马面鲈的种群扩张以及地理分布格局可能具有重要影响。本研究结果加深了人们对于绿鳍马面鲈资源情况的认识, 为绿鳍马面鲈资源的保护和合理利用提供了理论依据。

关键词: 绿鳍马面鲈; 细胞色素 b 基因; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: Q347; S931.5

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)04-0827-10

绿鳍马面鲈(*Thamnaconus septentrionalis*)俗称剥皮鱼、马面鱼, 为我国沿海较为常见的经济性鱼类。绿鳍马面鲈为外海暖温性底层鱼类, 栖息于水深 50~120 m 的海区; 喜集群, 杂食性, 主要摄食桡足类、介形类、端足类等浮游生物, 并兼食软体动物及底栖生物; 在我国主要分布于东海、南海、黄海、渤海和台湾沿海^[1]。1974 年绿鳍马面鲈成为我国东海的主要捕捞对象之一, 捕捞量在一段时间内仅次于带鱼(*Trichiurus lepturus*); 然而自 20 世纪 90 年代以来, 常年的过度捕捞以及产卵场的破坏致使其产量严重下滑, 东海

区域 1994 年产量仅为 3842 t, 资源量始终难以恢复^[2-3]。

群体遗传学通过对于遗传多样性、群体间基因流和有效群体大小等遗传学参数的评估, 推断群体遗传结构、种群扩张历史等群体遗传学特征, 在渔业资源管理方面具有重要参考价值。为加强绿鳍马面鲈资源的保护和管理, 有必要对其群体结构、遗传多样性等群体遗传参数进行分析和评估。目前关于绿鳍马面鲈的研究主要集中在生理学、功能基因、摄食习性和养殖特性^[4-8]等方面, 群体遗传学方面的研究较少。韩国学者 An 等^[9]

收稿日期: 2018-02-28; 修订日期: 2018-06-04.

基金项目: 农业部北海渔业开发重点实验室开放课题(LOF 2017-05); 中国水产科学研究院黄海水产研究所级基本科研业务费项目(20603022017014).

作者简介: 边力(1988-), 助理研究员, 博士, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: bianli@ysfri.ac.cn

通信作者: 陈四清, 研究员, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: chensq@ysfri.ac.cn

基于微卫星标记发现韩国东、西、南部沿海 6 个绿鳍马面鲈群体间存在着较小但显著的遗传分化。国内尚未见基于 DNA 分子标记手段的群体结构和遗传多样性研究报道。林新濯等^[10]利用标志放流技术研究了东海、黄海、日本海绿鳍马面鲈的洄游和分布情况,认为 3 个海区的绿鳍马面鲈为同一种群。丁民权^[11]基于 1974—1989 年江苏省海洋渔业公司在东海绿鳍马面鲈的渔获量,认为东海范围内存在东海群体、黄海群体和日本海群体 3 个地方群体。

线粒体 DNA 具有母系遗传、进化速度快、拷贝数多等特性^[12-13],已广泛应用于群体遗传学及系统发育研究。线粒体细胞色素 b (cytochrome b, Cyt b) 基因进化速度适中,部分片段就可包含从种内到种间甚至到科间级别的进化遗传信息^[14],是研究鱼类群体遗传结构、遗传多样性、系统进化关系的理想分子标记^[15-18];同时, Cyt b 可作为 DNA 条形码,辅助细胞色素氧化酶亚基 I 基因 (COI) 进行物种鉴定^[19-21]。本研究采集我国沿海 6 个群体的绿鳍马面鲈样本,基于 Cyt b 基因的变异情况分析我国沿海绿鳍马面鲈的遗传多样性和群体遗传结构,为保护绿鳍马面鲈的渔业资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验样品于 2017 年 3—5 月采集自大连(DL)、秦皇岛(QH)、蓬莱(PL)、日照(RZ)、舟山(ZS)和汕头(ST) 6 个地区的近海海域(表 1),通过联络当地渔船购得。渔船捕获样品后,放入-20℃冷冻室,隔日通过邮寄的方式寄回实验室。收到样品后,取每尾鱼背部肌肉组织保存于 95%乙醇,-20℃保存备用。

1.2 DNA 的提取,PCR 扩增与测序

依照天根生化科技(北京)有限公司海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒(TIANamp Marine Animals DNA Kit)的使用说明提取 DNA。利用 NanoDrop Lite 超微量分光光度计测量提取 DNA 的浓度及纯度,于-20℃存放备用。

依据绿鳍马面鲈线粒体基因组序列^[22](GenBank

表 1 绿鳍马面鲈采样信息
Tab. 1 Sampling information of *Thamnaconus septentrionalis*

群体 population	经度 E longitude	纬度 N latitude	采样时间 sampling date	样本数/尾 sampling size
大连 DL	38°43'48"	122°11'24"	2017-03	29
秦皇岛 QH	39°52'48"	120°32'24"	2017-03	28
蓬莱 PL	38°06'00"	121°07'12"	2017-04	30
日照 RZ	35°15'00"	120°19'48"	2017-05	29
舟山 ZS	29°54'36"	123°55'48"	2017-05	30
汕头 ST	22°48'36"	117°08'24"	2017-03	30

序列号: NC_011327), 利用 Oligo7 (Molecular Biology Insights Inc.) 软件设计 Cyt b 基因的引物,引物由华大基因科技服务有限公司合成。上游扩增引物为: Cytb-F: 5'-GTCATAATTCTCGCCCGGAT-3'; 下游扩增引物为: Cytb-R: 5'-GGATTTTAACCCTC-GGCCTC-3'。利用北京擎科新业生物技术有限公司 2×TSINGKE™ Master Mix 试剂进行 PCR 扩增反应,PCR 反应体系为 20 μL: 2×TSINGKE™ Master Mix 10 μL, Cytb-F (10 μmol/L) 0.4 μL, Cytb-R (10 μmol/L) 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, ddH₂O 8.2 μL。反应在 Bioer LifePro Thermal Cycler (TC-96/G/H(b)A) PCR 仪(杭州博日科技有限公司)上进行,反应条件为: 94℃预变性 5 min; 扩增过程 35 个循环, 94℃变性 30 s, 50℃退火 30 s, 72℃延伸 60 s; 最终 72℃延伸 10 min。利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,送青岛派森诺基因生物技术有限公司进行 PCR 扩增产物双向测序,测序引物为扩增引物。

1.3 序列整理与数据分析

使用 BioEdit 7.0.1 软件观察峰图,校对数据,对有杂峰、双峰的样品重新进行扩增测序。利用 SeqMan 7.1.0 对双向测序结果序列进行拼接。利用 ClustalX 2.1^[23]软件对获得的序列进行多重比对,由 DnaSP 5.10^[24]软件计算变异位点以及单倍型数、各群体的核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)、单倍型多样性(Haplotype diversity, H_d)等遗传多样性参数。以 MEGA 6.06 软件^[25]统计序列的平均碱基组成,计算基于 Kimura 双参数模型的群体间遗传距离,自举次数(bootstrap)为 1000 次。同时采用 Mega 软件的邻接法(neighbor-joining, NJ)构建绿鳍马面鲈各单倍型间的系统发

育关系树, 以黄鳍马面鲈(*Thamnaconus hypargyreus*)、中华单棘鲈(*Monacanthus chinensis*)为外类群, 以 Kimura 双参数法为替代模型, 自举次数(bootstrap) 1000 次。利用 Network 4.6 软件^[26]构建单倍型网络图。

借助 Arlequin 3.5^[27]进行 Tajima's D ^[28]及 Fu's F_s ^[29]中性检验, 基于 Kimura 双参数模型的群体间遗传距离估算群体间的固定指数 F_{st} , 其显著性通过重复 1000 次抽样法进行检验, 并采用 AMOVA 分析^[30]评估绿鳍马面鲈的群体遗传结构。此外, 进行核苷酸不配对分析并构建各个群体的核苷酸不配对分布图, 分析可以得到 5 个参数, 即 SSD (the sum of squared differences)、 H_{tr} (Harpending's raggedness indices)、 θ_0 、 θ_1 (种群扩张前后的母系有效种群大小估计值)和 τ 值 (用突变单位表示的种群扩张时间)。将此方法与 Tajima's D 、Fu's F_s 相结合推断是否发生过种群扩张。通过公式 $\tau=2ut$ 计算实际的扩张时间, 其中 u 是所研究的整个序列长度的突变速率($u=k\mu$, k 是所研究的序列长度, μ 是每个核苷酸的突变速率), t 是自种群扩张开始到现在的世代数。本研究采用

1%~2.5%每位点每百万年作为 Cyt *b* 基因的进化速率^[31-32]。绿鳍马面鲈的性成熟时间为 2 年, 因而选择 2 年作为绿鳍马面鲈的世代时间。最终依据 $T=\tau/\mu k$ (T 为种群扩张发生的时间; k 为序列长度; μ 为基因进化速率)推算群体发生扩张的年代。通过公式 $\pi=2N_e\mu$ 计算绿鳍马面鲈的有效群体大小(π 为核苷酸多样性, N_e 为有效群体大小(effective population size), μ 为基因进化速率)^[33-34]。

2 结果

2.1 序列变异特征

测序获得了 176 尾绿鳍马面鲈的部分 Cyt *b* 序列, 序列长度为 915 bp。序列已上传 GenBank, 登录号为 MG845689~MG845864。在 6 个群体中, 共获得变异位点 32 个, 变异比例为 3.50%。其中, 单一信息位点 6 个, 简约信息位点 26 个。变异均为转换和颠换, 无碱基的插入和缺失, 转换明显多于颠换(表 2), 转换与颠换的比值为 13.46。碱基组成方面, A、T、C 和 G 的平均频率分别为 23.4%、26.5%、33.5%和 16.5%, 表现出明显的反 G 偏倚特点。A+T 出现频率为 49.9%, C+G 为 50.1%。

表 2 绿鳍马面鲈 Cyt *b* 基因单倍型变异位点
Tab. 2 The variable sites of Cyt *b* haplotypes in *Thamnaconus septentrionalis*

单倍型 haplotype	变异位点 variable site																																	
	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	8	8				
	5	6	1	1	3	5	6	9	5	6	6	8	0	4	6	2	6	7	4	2	3	3	7	8	0	0	4	5	6	9	4	5		
	7	0	4	7	2	6	0	8	3	1	7	5	9	5	6	3	5	7	0	4	3	6	1	7	2	8	1	6	5	5	6	3		
H1	C	C	A	C	T	T	T	G	C	A	G	C	G	G	A	T	A	A	C	A	C	C	C	A	A	G	G	G	A	G	C	G		
H2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.		
H3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	G	.	.	.		
H4	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	G	.	.	.		
H5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.		
H6	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.		
H7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	A			
H8	T	.	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.			
H9	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.			
H10	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.			
H11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.			
H12	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.			
H13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.				
H14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.			

(待续 to be continued)

(续表 2 Tab. 2 continued)

单倍型 haplotype	变异位点 variable site																															
	5	6	1	1	3	5	6	9	5	6	6	8	0	4	6	2	6	7	4	2	3	3	7	8	0	0	4	5	6	9	4	5
	7	0	4	7	2	6	0	8	3	1	7	5	9	5	6	3	5	7	0	4	3	6	1	7	2	8	1	6	5	5	6	3
H15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	T	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
H16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	.
H17	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G	.	T	.	.
H18	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	.
H19	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
H20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	G	T	.	.	.	.	A	.	.	G	.	.	.	.
H21	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	A	.	.	G	.	.	.	.
H22	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
H23	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	.	G	.	.	A	.
H24	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
H25	.	.	G	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	.
H26	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	.
H27	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G	.	T	.	.
H28	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	G	C	.	.	.
H29	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
H30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	G	.	.	.	.	.

注：“.”表示所在位置碱基与参考序列相同。
Note: “.” indicates the nucleotide in this position is identical to the one in the reference sequence.

2.2 单倍型分布及遗传关系

6 个群体 176 个个体共检测到 30 个单倍型(图 1), 其中, Hap2、Hap3、Hap11 和 Hap14 为优势单倍型, 分别占到个体总数的 11.93%、11.93%、10.23%和 13.07%。Hap2、Hap3、Hap4 和 Hap14 这 4 种单倍型为 6 个群体所共享。Hap7、Hap9、Hap12、Hap17~Hap 20、Hap22、Hap26~Hap 30 出现频率较低, 仅在某一群体中出现 1 次。大连群体拥有的单倍型数最多(16 个), 蓬莱和舟山群体的单倍型数最少(11 个)。基于检测到的单倍型构建了 NJ (neighbor-joining)系统进化树(图 1), 结果显示 30 个单倍型并未形成明显的谱系分支, 6 个群体的单倍型广泛地分布于 NJ 树的各个分支上, 不存在单倍型与地理群体的明确对应关系。构建的单倍型网络图(图 2)呈现相同的结果, 存在多个主体单倍型, 其他单倍型辐射状分布在主体单倍型周围, 6 个群体包含的单倍型交替出现在网络图的各个分支, 并未依据各自群体而形成独立的分支。

2.3 群体遗传多样性和遗传分化

绿鳍马面鲈 6 个群体的遗传多样性参数列于表 3。6 个群体总体的单倍型多样性较高, 为 0.927 ± 0.007 , 而核苷酸多样性处于较低水平, 为 0.0037 ± 0.0001 。各个群体间遗传多样性水平差异较小, 且均显示出高单倍型多样性、低核苷酸多样性的特征。

由群体间的固定指数(表 4)可知, 大部分群体间的固定指数较小, 并未达到显著水平。蓬莱群体除与舟山群体外, 与其他各群体的固定指数均达到显著水平, 与汕头群体的遗传分化达到极显著水平。虽然蓬莱群体与其他群体(除舟山群体)遗传分化显著, 但固定指数较小($0.034\sim0.089$), 群体间为中低度分化。

AMOVA 分析结果列于表 5。将所有群体归为一个组群进行分析时, 群体间的遗传变异占总变异的 1.43%, 群体内的遗传变异占总变异的 98.57%, 遗传变异主要来源于群体内, 群体间遗传分化未达到显著水平($F_{st}=0.014, P>0.05$)。

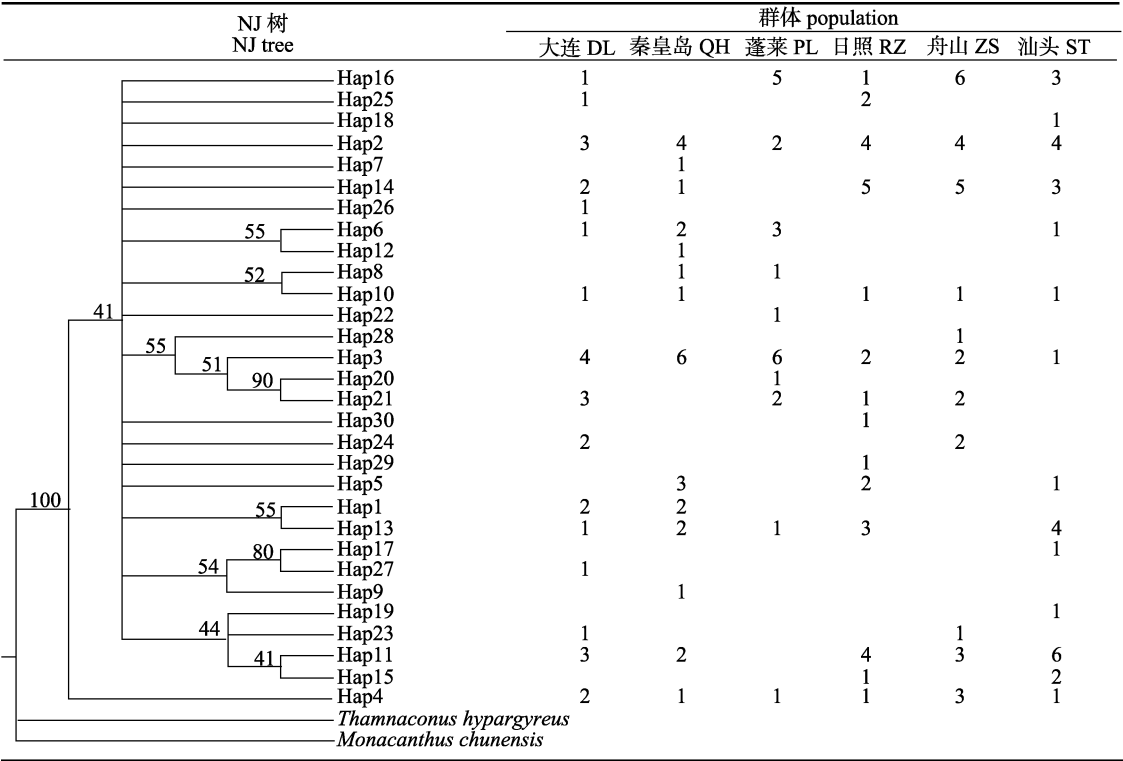


图 1 绿鳍马面鲀 Cyt *b* 基因单倍型 NJ 系统树及其在 6 个群体中的分布

Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree of Cyt *b* haplotypes and its distribution in 6 populations of *Thamnaconus septentrionalis*

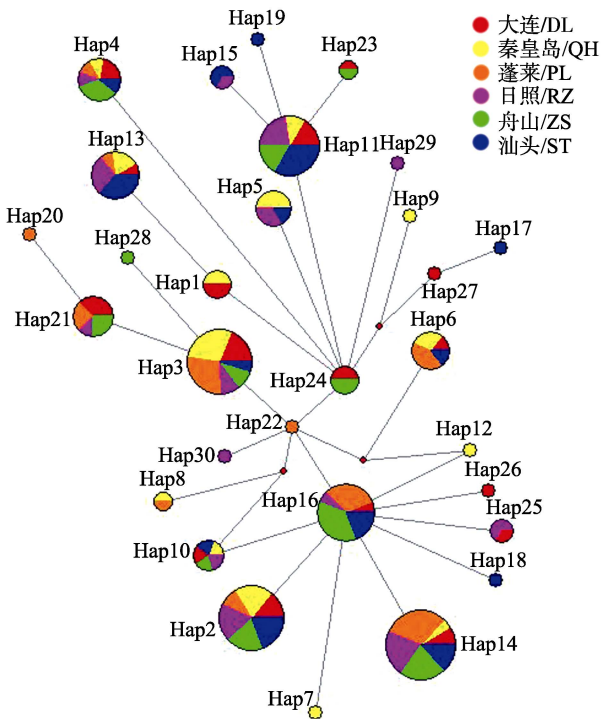


图 2 绿鳍马面鲀线粒体 Cyt *b* 基因单倍型网络图
圆圈面积与单倍型频率成正比。

Fig. 2 Network diagram of Cyt *b* haplotype in *Thamnaconus septentrionalis*

The sizes of circles are corresponded to haplotype frequency.

2.4 群体历史动态

表 6 列出了绿鳍马面鲀 6 个群体的 Tajima's D (D)、Fu's F_s (F_s) 和不配对分布检验所得到的参数值。结果显示, Tajima's D 及 Fu's F_s 检验值均为负值, F_s 值统计检验达到了显著水平; 不配对分布检验显示 Harpending's 指数(H_{ir})和 SSD 的统计检验值均未显著偏离种群扩张模型(growth expansion model) ($P>0.05$); 同时, 在不配对分布图中 (图 3), 绿鳍马面鲀 6 个群体形成了明显的单峰, 并与种群扩张模型下的预期分布相吻合, 以上检验结果说明本研究的绿鳍马面鲀群体历史上经历过种群扩张。基于 τ 值, 推算群体的扩张时间为 42.2 万~16.9 万年前, 处于中更新世中晚期。由公式 $\pi=2N_e\mu$ 计算绿鳍马面鲀的有效群体大小为 74000~185000。

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

物种的遗传多样性是其生存适应和发展进化的前提, 丰富的遗传多样性水平将具有更高的进

表 3 绿鳍马面鲈 6 个群体的遗传多样性参数

Tab. 3 Genetic diversity indices of six populations in *Thamnaconus septentrionalis*

	序列数 <i>n</i>	多态位点数 <i>S</i>	单倍型数 <i>H</i>	单倍型多样性 H_d	核苷酸多样性 π	平均碱基差异数 <i>k</i>
大连 DL	29	23	16	0.953±0.019	0.0039±0.0003	3.601
秦皇岛 QH	28	19	14	0.926±0.029	0.0038±0.0002	3.434
蓬莱 PL	30	17	11	0.883±0.032	0.0033±0.0004	3.000
日照 RZ	29	19	14	0.931±0.024	0.0039±0.0003	3.594
舟山 ZS	30	14	11	0.908±0.025	0.0032±0.0003	2.899
汕头 ST	30	21	14	0.922±0.026	0.0039±0.0003	3.566
总体 total	176	32	30	0.927±0.007	0.0037±0.0001	3.385

表 4 绿鳍马面鲈 6 个群体间固定指数 F_{st}

Tab. 4 The F_{st} value of six populations in *Thamnaconus septentrionalis*

群体 population	大连 DL	秦皇岛 QH	蓬莱 PL	日照 RZ	舟山 ZS	汕头 ST
大连 DL		-0.0179	0.0337*	-0.0142	0.0007	-0.0034
秦皇岛 QH			0.0400*	-0.0036	0.0246	0.0034
蓬莱 PL				0.0390*	0.0213	0.0889**
日照 RZ					-0.0108	-0.0150
舟山 ZS						0.0206
汕头 ST						

注：“*”表示 F_{st} 达到显著水平($P<0.05$), “**”表示 F_{st} 达到极显著水平($P<0.01$).

Note: “*” indicates the F_{st} reaches significant level at $P<0.05$; “**” indicates the F_{st} reaches significant level at $P<0.01$.

表 5 绿鳍马面鲈 6 个群体分子变异分析(AMOVA)

Tab. 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) of all the 6 populations of *Thamnaconus septentrionalis*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	变异组分 variance component	变异百分比/% percentage of variation	固定指数 fixation index
一个组群 one group					
群体间 among populations	5	11.965	0.024	1.43	
群体内 within population	170	285.571	1.680	98.57	
总计 total	175	297.536	1.704		$F_{st}=0.014$

表 6 绿鳍马面鲈 6 个群体的 Tajima’s D (D)、Fu’s F_s (F_s)和不配对分布检验

Tab. 6 Tajima’s D (D), Fu’s F_s (F_s), mismatch distribution test (SSD), corresponding P -value and the mismatch distribution parameter estimations for the six populations of *Thamnaconus septentrionalis*

6 个群体 6 populations	Tajima’s D		Fu’s F_s		不配对分布检验 mismatch distribution				
	D	P	F_s	P	SSD	H_{ir}	τ	θ_0	θ_1
	-1.132	0.127	-11.830**	0.004	0.008	0.028	3.859	0.004	65.545

注：“**”表示参数值达到极显著水平($P<0.01$).

Note: “**” indicates the parameter value reaches significant level at $P<0.01$.

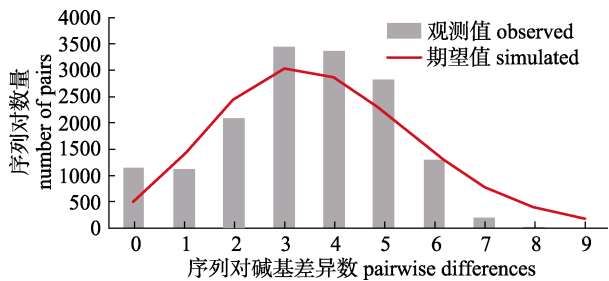


图 3 绿鳍马面鲈 6 个群体核苷酸不配对分布图

Fig. 3 Mismatch distributions for the six populations of *Thamnaconus septentrionalis*

化潜力及环境适应能力^[35]。本研究中 6 个绿鳍马面鲈群体遗传多样性相接近, H_d 均处于较高水平, 而 π 处于较低水平, 相似的遗传多样性特征还出现在我国沿海的松江鲈(*Trachidermus fasciatus*)、大泷六线鱼(*Hexagrammos otakii*)和棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)^[36-38]等鱼类的研究中。

本研究中绿鳍马面鲈具有高 H_d 低 π 的遗传多样性模式, 认为可能存在以下 3 方面原因: (1) 历史动态分析表明绿鳍马面鲈在近期经历了种群扩

张, 单倍型数量显著提高, 但尚未积累明显的核苷酸差异; (2) 20 世纪 60 年代东海、黄海主要底层经济鱼类[大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、小黄鱼(*Pseudosciaena polyactis*)以及带鱼(*Thamnaconus lepturus*)]资源量衰退, 竞争者的减少使得绿鳍马面鲈的种群数量短期内猛增^[39], 有利于产生更多的单倍型; (3) 绿鳍马面鲈具有的种群数量大、环境适应性强、性成熟时间短(2 年)等特征维持了自然种群内较高的单倍型多样性。

过度捕捞已被证实为多种海水鱼类遗传多样性下降的重要原因, 尤其当鱼类有效群体大小(N_e)较低并且群体遗传结构显著时, 过度捕捞会显著影响其遗传多样性^[40]。本研究得到绿鳍马面鲈有效群体大小为 74000~185000, 与我国沿海小黄鱼的有效群体大小处于相近水平(26172~261716)^[41]。自 20 世纪 70 年代至今, 我国沿岸的绿鳍马面鲈经历了近 50 年的高强度捕捞, 虽然本研究中 H_d 仍然处于较高水平, 但是不应认为遗传多样性未受到捕捞影响。一方面, 绿鳍马面鲈种群数量较大, 并且不同群体间基因交流频繁, 可以一定程度上抵消或者延迟人类活动对其影响的显现; 另一方面, 本研究中 Cyt *b* 基因参考的进化速率为 1%~2.5%每位点每百万年, 由捕捞导致的绿鳍马面鲈资源量大幅波动发生在最近几十年, 对于短期的群体数量波动, 基于 Cyt *b* 得到的遗传多样性水平有偏高的可能性。因此, 在绿鳍马面鲈渔业保护方面, 仍然需要严格控制捕捞规模, 加强产卵场的保护工作, 防止遗传多样性遭受破坏。

3.2 群体遗传结构和遗传分化

黑潮是沿北太平洋西部边缘向北流动的一支强边界流, 流经中国外海海域后向东北方向继续前进, 具有高温、高盐的特征。部分研究发现黑潮对海洋生物群体结构的形成具有促进作用, 黑潮及其分支形成了群体间天然的阻隔^[42-43]; 同样有部分研究结果显示黑潮对于营浮游生活生物的受精卵、幼体具有较强的输送作用, 有利于加强不同群体间的基因交流, 降低遗传分化^[44-45]。本研究中 6 个绿鳍马面鲈群体的遗传分化程度较低, 认为黑潮起到了关键作用。绿鳍马面鲈产沉性卵, 受精卵具黏性, 常黏附于海底的海藻、礁石上, 孵

化后幼体营浮游生活; 钓鱼岛西北部为东海绿鳍马面鲈重要的产卵场, 多个研究显示绿鳍马面鲈幼体可以借助流经该区域的黑潮向东海外海漂浮北上^[11, 46-47], 从而实现东海、黄海和渤海各个群体间的基因交流。另外, 绿鳍马面鲈具有洄游习性, 东海绿鳍马面鲈每年 4—5 月在钓鱼岛海域产卵后, 成鱼洄游至东海北部及黄海索饵, 冬季进入五岛列岛和对马岛附近海域越冬, 翌年再次南下至钓鱼岛附近产卵^[10], 海区范围内如此大规模的洄游同样可以降低各群体间的遗传分化。

3.3 群体历史动态

更新世出现了多次冰期与间冰期的交替, 西北太平洋海平面高度涨落频繁, 导致其范围内的海洋生物种群经历明显的收缩和扩张^[48]。本研究中绿鳍马面鲈群体在 42.2 万~16.9 万年前发生种群扩张, 处于中更新世中晚期。中更新世这一时期内海平面的剧烈变化可能对绿鳍马面鲈的种群扩张和地理分布格局具有显著影响。

伴随冰期中海平面的下降, 东海、黄海和渤海区域逐渐干涸, 南海和日本海区域仍保有大量水体, 为海洋生物提供了冰期避难所。多个研究显示冰期结束后, 海平面上升, 位于避难所海区的海洋生物群体可以进入到东海、黄海和渤海区域形成新的群体, 进而演化为现有地理分布格局^[49-51]。绿鳍马面鲈在南海和日本海范围内均有分布, 由于本研究的采样范围尚未涉及日本海区域, 南海区域仅收集了汕头沿海的样本, 因而不能推断绿鳍马面鲈是否具有上述的种群动态历史。为了更好地解析我国沿海绿鳍马面鲈的群体历史动态, 在未来的研究工作中需要加强这 2 个区域的样品收集工作。

参考文献:

- [1] Su J X, Li C S. Fauna Sinica: Osteichthyes—Tetraodontiformes, Pegasiformes, Gobiesociformes, Lophiiformes[M]. Beijing: Science Press, 2002: 125-132. [苏锦祥, 李春生. 中国动物志: 硬骨鱼纲——鲀形目、海蛾鱼目、喉盘鱼目、鲛鰈目[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 125-132.]
- [2] Chen P M, Zhan B Y. Age and growth of *Thamnaconus septentrionalis* and rational exploitation[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2000, 7(1): 35-40. [陈丕茂, 詹秉义. 绿鳍马面鲈年龄生长与合理利用[J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 35-40.]

- [3] Chen W Z, Li C S, Hu F. Application and improvement of virtual population analysis (VPA) in stock assessment of *Thamnaconus septentrionalis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(6): 522-526. [陈卫忠, 李长松, 胡芬. 实际种群分析法在绿鳍马面鲈资源评估中的应用和改进[J]. 水产学报, 2000, 24(6): 522-526.]
- [4] Miyajima-Taga Y, Masuda R, Yamashita Y. Feeding capability of black scraper *Thamnaconus modestus* on giant jellyfish *Nemopilema nomurai* evaluated through field observations and tank experiments[J]. Environmental Biology of Fishes, 2017, 100(10): 1237-1249.
- [5] Lee J A, Lee J S, Kim J H, et al. Relationship between water temperature and oxygen consumption rate of the black scraper *Thamnaconus modestus*[J]. Ocean and Polar Research, 2014, 36(1): 39-47.
- [6] Kim A R, Bae H J, Kim H G, et al. Age and growth of filefish, *Thamnaconus modestus* (Günther, 1877) off the Jeju Island of Korea[J]. Ocean Science Journal, 2016, 51(3): 355-362.
- [7] Wen H S, Ren Y Y, Zhang D Q, et al. Molecular cloning and expression patterns of the cytochrome CYP17-I gene during the reproductive cycle in *Navodon septentrionalis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(12): 1945-1955. [温海深, 任源远, 张冬茜, 等. 绿鳍马面鲈 CYP17-I 基因克隆及其在繁殖周期中的表达[J]. 水产学报, 2014, 38(12): 1945-1955.]
- [8] Liu K, Zhang L L, Zhang Q W, et al. Study on *Thamnaconus septentrionalis* under industrial aquaculture condition[J]. Fishery Modernization, 2017, 44(3): 35-40. [刘琨, 张乐乐, 张庆文, 等. 绿鳍马面鲈工厂化养殖研究[J]. 渔业现代化, 2017, 44(3): 35-40.]
- [9] An H S, Lee J W, Park J Y, et al. Genetic structure of the Korean black scraper *Thamnaconus modestus* inferred from microsatellite marker analysis[J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(5): 3445-3456.
- [10] Lin X Z, Gan J B, Zheng Y J, et al. The migration research of *Thamnaconus septentrionalis* in China[J]. Marine Fisheries, 1984(3): 99-108. [林新濯, 甘金宝, 郑元甲, 等. 绿鳍马面鲈洄游分布的研究[J]. 海洋渔业, 1984(3): 99-108.]
- [11] Ding M Q. On the stocks of filefish *Navodon septentrionalis* and their distributions in the East China Sea[J]. Journal of Fisheries of China, 1994, 18(1): 45-56. [丁民权. 东海绿鳍马面鲈群体及其分布[J]. 水产学报, 1994, 18(1): 45-56.]
- [12] Brown W M, George Jr M, Wilson A C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1979, 76(4): 1967-1971.
- [13] Brown W M, Prager E M, Wang A, et al. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution[J]. Journal of Molecular Evolution, 1982, 18(4): 225-239.
- [14] Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, 86(16): 6196-6200.
- [15] Zhang Z S, Hu B J, Ye X Y, et al. Genetic diversity of the pregnant's schizothoracin (*schizothorax prenanti*) based on partial mtDNA Cyt b sequences[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(3): 609-616. [张争世, 胡冰洁, 叶祥益, 等. 基于 mtDNA Cyt b 序列分析齐口裂腹鱼群体遗传多样性[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3): 609-616.]
- [16] Mcveigh H P, Davidson W S. A salmonid phylogeny inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences[J]. Journal of Fish Biology, 1991, 39(sA): 277-282.
- [17] Li Y F, Li Y Z, Chen G B, et al. Population analysis of *Thamnaconus hypargyreus* based on the mitochondrial Cyt b sequence[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(1): 23-32. [李玉芳, 李永振, 陈国宝, 等. 基于线粒体 Cyt b 基因的黄鳍马面鲈种群分析[J]. 水产学报, 2014, 38(1): 23-32.]
- [18] Qi D L, Li T P, Zhao X Q, et al. Mitochondrial cytochrome b sequence variation and phylogenetics of the highly specialized schizothoracine fishes (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibet plateau[J]. Biochemical Genetics, 2006, 44(5-6): 270-285.
- [19] Page T J, Hughes J M. Comparing the performance of multiple mitochondrial genes in the analysis of Australian freshwater fishes[J]. Journal of Fish Biology, 2010, 77(9): 2093-2122.
- [20] Li N, Wang J H, Han C H, et al. Application of COI and cytb gene in species identification of pufferfish[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(1): 6-11. [李楠, 王佳慧, 韩春卉, 等. COI 及 cytb 基因对河鲀鱼种鉴定的适用性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(1): 6-11.]
- [21] Mo B H, Qu L, Han S, et al. DNA barcoding identification I. Research progress and applied perspective of DNA barcoding[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2008, 27(2): 303-306. [莫帮辉, 屈莉, 韩松, 等. DNA 条形码识别 I. DNA 条形码研究进展及应用前景[J]. 四川动物, 2008, 27(2): 303-306.]
- [22] Yamanoue Y, Miya M, Matsuura K, et al. A new perspective on phylogeny and evolution of tetraodontiform fishes (Pisces: Acanthopterygii) based on whole mitochondrial genome sequences: basal ecological diversification?[J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8(1): 212.
- [23] Larkin M A, Blackshields G, Brown N, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0[J]. Bioinformatics, 2007, 23(21): 2947-2948.
- [24] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [25] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Bi-

- ology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [26] Bandelt H J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.
- [27] 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.
- [28] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [29] Fu Y. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. Genetics, 1997, 147(2): 915-925.
- [30] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. Genetics, 1992, 131(2): 479-491.
- [31] Kocher T D, Stepien C A. Molecular Systematics of Fishes[M]. New York: Academic Press, 1997: 113-128.
- [32] Maggio T, Andaloro F, Hemida F, et al. A molecular analysis of some Eastern Atlantic grouper from the *Epinephelus* and *Mycteroperca* genus[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2005, 321(1): 83-92.
- [33] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences[J]. Molecular Biology and Evolution, 1992, 9(3): 552-569.
- [34] Rogers A R. Genetic evidence for a pleistocene population explosion[J]. Evolution, 1995, 49(4): 608-615.
- [35] Shen H, Liu D Y. Summary of genetic diversity[J]. Journal of Biology, 2001, 18(3): 5-7. [沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志, 2001, 18(3): 5-7.]
- [36] Gao T X, Bi X X, Zhao L L, et al. Population genetic structure of roughskin sculpin *trachidermus fasciatus* based on the mitochondrial Cytb sequence[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 199-207. [高天翔, 毕潇潇, 赵林林, 等. 基于线粒体 Cytb 基因全序列的松江鲈群体遗传结构分析[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 199-207.]
- [37] 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.]
- [38] Shen Z, Guan H B, Zheng F R, et al. Analysis of genetic diversity between four populations of *Hexagrammos otakii* based on partial mtDNA cytb and D-loop[J]. Advances in Marine Science, 2017, 35(4): 524-534. [沈朕, 关洪斌, 郑风荣, 等. 基于 cytb 和 D-loop 的 4 个大泷六线鱼群体遗传多样性分析[J]. 海洋科学进展, 2017, 35(4): 524-534.]
- [39] Xu X L, Zheng Y J, Liu S. Estimation of stock size of filefish *Thamnaconus modestus* in the East China Sea and Yellow Sea[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1992, 23(6): 651-656. [许学龙, 郑元甲, 刘松. 东、黄海绿鳍马面鲈的资源评估[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(6): 651-656.]
- [40] Pinsky M L, Palumbi S R. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations[J]. Molecular Ecology, 2014, 23(1): 29-39.
- [41] Zhang B D, Xue D X, Wang J, et al. Development and preliminary evaluation of a genomewide single nucleotide polymorphisms resource generated by RAD-seq for the small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*)[J]. Molecular Ecology Resources, 2015, 16(3): 755-768.
- [42] He L, Takahiko M, Hou C K, et al. Biogeographical role of the Kuroshio Current in the amphibious mudskipper *Periophthalmus modestus* indicated by mitochondrial DNA data[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 15645.
- [43] Kuriwa K, Chiba S N, Motomura H, et al. Phylogeography of Blacktip Grouper, *Epinephelus fasciatus* (Perciformes: Serranidae), and influence of the Kuroshio Current on cryptic lineages and genetic population structure[J]. Ichthyological Research, 2014, 61(4): 361-374.
- [44] Xie S, Watanabe Y. Transport-determined early growth and development of jack mackerel *Trachurus japonicus* juveniles immigrating into Sagami Bay, Japan[J]. Marine and Freshwater Research, 2007, 58(11): 1048-1055.
- [45] Kasai A, Komatsu K, Sassa C, et al. Transport and survival processes of eggs and larvae of jack mackerel *Trachurus japonicus* in the East China Sea[J]. Fisheries Science, 2008, 74(1): 8-18.
- [46] Chen L F, Zheng Y J. On the early development, the spawning ground and spawning season of *Navodon septentrionalis* (Günther) in the Dong Hai[J]. Acta Ecologica Sinica, 1984, 4(1): 73-79. [陈莲芳, 郑元甲. 东海区绿鳍马面鲈的早期发育和产卵场、产卵期的探讨[J]. 生态学报, 1984, 4(1): 73-79.]
- [47] Fang R S, Zheng Y J. A study on the eddy off Diaoyu Island and its relationship to the fishing ground of filefish (*Navodon septentrionalis* Günther)[J]. Journal of Fisheries of China, 1986, 10(2): 161-176. [方瑞生, 郑元甲. 钓鱼岛近海的涡旋及其与马面鲈渔场的关系[J]. 水产学报, 1986, 10(2): 161-176.]
- [48] Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages[J]. Nature, 2000, 405(6789): 907-913.
- [49] Wang Z, Zhang Y, Zhao L, et al. Shallow mitochondrial phylogeographical pattern and high levels of genetic connectivity of *Thamnaconus hypargyreus* in the South China Sea and the East China Sea[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2016, 67: 110-118.
- [50] Yan S, Catanese G, Brown C L, et al. Phylogeographic study on the chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Northwest-

ern Pacific indicates the late Pleistocene population isolation[J]. Marine Ecology, 2015, 36(3): 753-765.
[51] Liu J X, Gao T X, Wu S F, et al. Pleistocene isolation in the

Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845)[J]. Molecular Ecology, 2007, 16(2): 275-288.

Population genetic structure of *Thamnaconus septentrionalis* in China's coastal waters based on mitochondrial Cyt *b* sequences

BIAN Li¹, WANG Pengfei^{2,3}, CHEN Siqing^{1,4}, LI Fenghui^{1,5}, ZHANG Lele^{1,5}, LIU Changlin^{1,4}, GE Jianlong^{1,4}

1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
2. Key Laboratory of Open-Sea Fishery Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China;
3. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;
4. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China;
5. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Genetic data have aided fishery conservation research and management by facilitating the detection of genetically distinct populations, the measurement of genetic connectivity, and the identification of the risks associated with demographic change and inbreeding. *Thamnaconus septentrionalis* is an important economic marine fish species in China and inhabits in the Bohai Sea, Yellow Sea, East China Sea and South China Sea. *T. septentrionalis* has become an important fishing target in the East China Sea since 1974. Its annual catches were once second only to *Trichiurus lepturus*. However, the resource of *T. septentrionalis* has declined sharply since 1990 due to overfishing and ocean environmental change. To provide better protection and effective recovery for this species, it is urgent to evaluate its population structure and genetic diversity. However, population surveys of *T. septentrionalis* in China's coastal waters were rare. No population structure research based on molecular markers was available. In this study, we amplified the partial mitochondrial Cyt *b* gene sequences of 176 individuals from six populations (Dalian, Qinhuangdao, Penglai, Rizhao, Zhoushan, and Shantou). The results showed that 32 polymorphic nucleotide sites and 30 haplotypes were detected among all the Cyt *b* sequences. The haplotype diversity ranged from 0.883 to 0.953, and the nucleotide diversity was 0.0032–0.0039. This genetic diversity pattern was probably caused by a recent demographic expansion in the Pleistocene, a rapid population growth after 1970, and the adaptable biological characteristics of *T. septentrionalis*. Although the haplotype diversity was high, the genetic diversity is still vulnerable to overfishing. AMOVA analysis showed that the genetic differentiation of *T. septentrionalis* mainly occurred within the population variation. The genetic differentiations among populations were weak and no groups were identified. The high gene exchange among populations is probably caused by the seasonal migration behaviors of the adults and the long-distance transportation of juveniles by the Kuroshio (Black) Current. Demographic history analysis showed that the six populations experienced rapid population growth 0.17–0.42 Mya. This time point was within the middle Pleistocene. During this period, sea levels changed dramatically due to unstable temperatures. We speculate that the sea level changes during the middle Pleistocene might have had significant influence on the population expansion of *T. septentrionalis*. To our knowledge, this is the first population genetics research on *T. septentrionalis* in China's coastal waters based on molecular markers. This study could deepen our understanding of how to optimize the utilization of the natural resources of *T. septentrionalis*.

Key words: *Thamnaconus septentrionalis*; cytochrome b; genetic diversity; genetic structure

Corresponding author: CHEN Siqing. E-mail: chensq@ysfri.ac.cn