

中国沿海鳊不同地理群体 16S rRNA 基因的遗传变异分析

吕振明, 许逸天, 吴常文, 樊甄姣, 张建设

(浙江海洋学院 浙江省海洋养殖装备与工程技术重点实验室, 浙江 舟山 316000)

摘要: 为阐述过度捕捞后中国现存鳊(*Ilisha elongata*)资源的种质状况, 采用 16S rRNA 基因测序技术对青岛、舟山、厦门和广州 4 个鳊地理群体的种群结构及遗传变异进行研究。通过对 4 个鳊群体共 45 个个体的线粒体 16S rRNA 基因进行测序, 获得 1 个长度为 657 bp 的同源序列。45 个个体中共检测到 32 个多态位点, 多态位点比例达 4.88%, 其中插入或缺失位点 10 个; 45 个个体中检测出 20 个单倍型, 单倍型多样性指数(H) 达 0.812, 核苷酸多样性指数(P_i) 达 0.0031, 平均核苷酸差异数(K) 达 2.016。结果表明, 中国现存鳊种群仍具有较高的遗传多样性水平。对 4 个群体的遗传结构进行检测表明, 青岛群体与其他 3 个群体间存在显著的遗传分化, 两个类群间存在 1 个固定位点的核苷酸差异, 分化系数(F_{st}) 达 0.385 2 ($P < 0.01$), 基因流(N_m) 为 0.798 0; 而舟山、厦门和广州这 3 个群体内部则无显著遗传分化 ($P > 0.01$); AMOVA 检测显示, 69.48% 的遗传差异存在于群体内部, 而 30.52% 的遗传差异存在于群体间; 聚类分析结果和单倍型网络关系图也证实上述鳊群体的地理分化。推测青岛群体的分化可能与晚更新世以来频繁的海平面变化有关。[中国水产科学, 2010, 17(3): 463-470]

关键词: 鳊; 16S rRNA 基因; 遗传变异

中图分类号: S91

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)01-0463-08

鳊(*Ilisha elongata*) 是中国沿海重要的经济鱼类, 又名曹白鱼、鲞鱼, 属鲱形目、鲱科、鳊属, 广泛分布于中国黄、渤海、东海和南海水域^[1]。其肉质鲜美, 营养丰富。自 20 世纪 40 年代末, 鳊一直是中国重要的渔业捕捞对象^[2]。但近年来, 随着鳊资源开发的进一步深入, 这一传统渔业资源已呈现过度开发的态势, 大多传统鳊渔场已形不成渔汛, 资源严重衰退^[3-4], 如何合理开发和保护中国现有鳊资源已成为维持其产业可持续发展的关键。

对渔业资源种群结构和遗传变异的研究是渔业资源保护和合理开发的第一步, 遗传变异信息不仅有助于对渔业资源的种群生态适应性作出准确判断, 而且还可以为制定科学合理的保护和开发措施提供指导^[5-6]。当前, 许多渔业资源保护和开发的成功先例都得益于对种群结构和遗传变异的深入研究。例如美国对濒危物种菲尔角银光鱼(*Notropis*

mekistocholas)^[7] 和红点鲑(*Salvelinus confluentus*) 的保护^[8], 加拿大对大西洋鳕(*Gadus morhua*) 的开发和保护^[9], 挪威对大西洋鲑(*Salmo salar*) 的开发和保护等^[10]。但目前关于中国鳊自然资源种群结构和遗传变异的研究还属空白, 这大大影响了对其资源的合理保护和开发。有资料显示, 中国的鳊资源依据其洄游路线和繁殖习性及其渔场分布可能分为若干不同群体^[2], 如黄、渤海海域的鳊群体主要洄游于海洲湾、山东半岛南岸、黄海北部和渤海三湾, 在每年的 5-6 月进行繁殖; 分布于中国南海的鳊群体主要洄游于中国的北部湾、雷州半岛以及珠江口附近, 在每年的 3-5 月进行繁殖; 而分布于东海长江口外和舟外渔场的鳊主要洄游于黄海南部、长江口及舟山诸岛, 在每年的 5-7 月进行繁殖等; 但从遗传学角度对鳊资源的种群结构和遗传变异的研究尚未涉及。

本研究拟采用线粒体基因测序技术对中国鳊资

收稿日期: 2009-04-03; 修订日期: 2009-06-09.

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD43B00); 浙江省重大科技攻关国际合作项目(2006C14017).

作者简介: 吕振明(1976-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为海洋生物遗传育种. E-mail: nblzmn@163.com

源的种群遗传结构进行研究。线粒体DNA (mtDNA) 由于具有分子量小、结构简单、进化速度快、表现为母系遗传等特点,非常适于动物群体遗传学和系统进化研究^[11-12]。本研究从线粒体16S rRNA基因入手,对中国现有鳊种群的多样性特征和地理分布格局进行研究,探讨中国现有鳊资源种群结构和生态适应性,对中国鳊资源的保护和管理提出合理性建议,旨在为鳊资源长期有效开发和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

鳊取自中国黄、渤海、东海和南海海域。采集地点分别是青岛沙子口海区(10尾),舟山东极海区(11尾),厦门青屿岛海区(12尾)和广州南沙区海区(12尾)的鱼码头或农贸市场。所取样品鳊体长26.2~34.7 cm,体质量245.8~521.5 g。样本解剖后取新鲜肌肉样品放入70%酒精固定液中保存,带回实验室备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA的提取 采用常规酚-氯仿方法^[13]进行, DNA样品加50 μL双蒸水溶解,置于4℃保存备用。

1.2.2 16S rRNA基因的扩增和测序 16S rRNA基因的扩增参照Li等^[14]的方法,稍加改进。扩增引物DL-S: 5'-TTTACCAAAAACATCGCCTC-3'; DL-R: 5'-YAYTCCGGTCCTTTC GTACT-3'; 序列扩增采用50 μL反应体系,其中含2.0 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTPs, 0.2 μmol/L各引物, 50 ng DNA模板, 4 U Taq酶及1×缓冲液; PCR反应程序: 94℃预变性5 min; 94℃变性1 min, 51℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 共40个循环; 最后72℃延伸5 min。所得PCR产物在1.5%琼脂糖凝胶上进行电泳检测,凝胶成像系统拍照观察。扩增产物采用上海Watson公司的Gel Extraction mini kit试剂盒进行纯化,并送往上海Invitrogen公司进行测序。

1.2.3 数据分析 所得序列采用Clustal W1.83软件进行编辑、校对和排序,采用DNAsp 4.10软件对多态位点数、单倍型数、转换与颠换数、核苷酸多

样性指数(P_i)、单倍型多样性指数(H)、平均核苷酸差异数(K)等遗传多样性参数进行计算;采用Mega 3.1软件进行遗传距离计算和聚类分析,系统发生树采用UPGMA模型进行构建;采用简化的中介网络法^[15]构建单倍型网络关系图。此外,用Arlequin3.01软件估算遗传变异在群体内和群体间的分布(AMOVA法),并计算群体间遗传分化系数 F_{st} 及显著性(重复次数1 000),群体间基因流 N_m 由公式 $N_m = (1 - F_{st}) / 2 F_{st}$ 计算而得。采用Fu's F_s 检验^[6]来检测中性假说是否成立, Fu's F_s 中性检验结果如为负值并且显著偏离中性,则可能是由于群体扩张引起的。

2 结果与分析

2.1 鳊群体16S rRNA基因序列比对与多态性

对来自4个鳊群体共45个个体的16S rRNA序列进行测定,经Clustal W1.83软件编辑和比对后,获得了1个长度为657 bp的同源序列,经Mega 3.1软件分析,该序列的T、C、A和G碱基含量分别为29.9%、20.9%、23.1%和26.1%。A+T含量(53.0%)略高于G+C的含量(47.0%)。DNAsp 4.10软件分析显示,45个个体共检测到32个多态位点(简约信息位点9个),占分析位点总数的4.88%,主要存在于16S rRNA序列的两端,其中转换位点共17个,颠换位点15个(表1),而中间区域则相对较为保守。同时还检测到10个插入或缺失位点。多态性遗传参数统计显示,45个个体共检出20个单倍型,其中青岛群体4个,厦门群体7个,舟山群体9个,广州群体3个;单倍型多样性指数(H)为0.812,核苷酸多样性指数(P_i)0.003 1,平均核苷酸差异数(K)为2.016,显示出较丰富的遗传多样性。

2.2 鳊群体的遗传结构

对4个群体的16S rRNA基因序列进行比较,结果表明4个群体之间存在一定的遗传差异。4个群体在序列碱基组成上有一定差别,其中青岛群体与其他3个群体相比存在1个固定位点的差异,即在388位点存在固定的C→T转换。遗传

表1 鳊 16S rRNA 基因序列单倍型及在群体中的分布
Tab. 1 Haplotypes of 16S rRNA and their distribution in four populations of *Ilisha elongata*

单倍型 Haplotype	变异类型和发生位点* Sequence variations and corresponding sites*				群体名称 Group			
					GZ	XM	ZS	QD
	1	2	2	2				
	1 2 2 2 2 2 3 3 3	3 4 4 4 4 4 4 5 5 8	3 3 4 4 6 6 6 6 6 6	66				
	8 8 1 2 4 5 6 3 6 7	8 0 1 2 4 7 8 0 6 0	8 8 0 6 0 2 3 3 3 3	34				
			6 8 4 1 1 7 1 2 4 6	80				
H1	CTTG TAC ACC	- G A C T A T T G T	G C A T A C T A A G	T-				8
H2	- T-				1
H3	. A	- --				2
H4	A	--				1
H5	- C	. T T				1
H6	- T-	10	4		2
H7	- T C-		1		1
H8	- T C T T A	.-				1
H9	. . A . . - T . .	- A .	. T-				1
H10	. . . T G G T . .	- A .	. T-				1
H11 A	C A	A T-				1
H12	C T-				1
H13	T T-				1
H14	- C	. T-		2		
H15 T	T - . . C G G A . .	. T-		1		
H16	- T . . . T-		1		
H17 T . T	- T . C-		1		
H18 T	- - G A T-		1		
H19	- T C T . .	AC	1			
H20	- T G-	1			

注:“*”表示变异发生位点的数字须竖读;GZ、XM、ZS、QD分别代表广州、厦门、舟山、青岛群体“-”代表该位点缺失;“.”代表该位点与代表序列相同。

Note:“*” Figures representing sequence variation sites need to be vertically read. GZ, XM, ZS, QD represent *Ilisha elongata* populations from Guangzhou, Xiamen, Zhoushan and Qingdao ocean areas, respectively. “-” represents gaps; “.” represents identical nucleotides with the representative hyplotype.

参数统计表明,4个群体在多态位点比例、单倍型多样性指数(H)、核苷酸多样性指数(P_i)、平均核苷酸差异数(K)上也存在一定的差异。各群体多态位点比例在0.47%~2.89%之间;单倍型多样性指数在0.318~0.978之间;核苷酸多样性指数在0.0010~0.0045之间;平均核苷酸差异数在0.636~2.911之间(表2)。对4个群体进行分化系数(F_{st})和基因流(N_m)检测,结果表明,4个群体已产生一定程度的分化,特别是青岛群体与其他3个群体的分化系数达到0.3516~0.5537,分化均达到显著水平(P<0.01),基因流N_m也均小于1;而厦门、舟山、广州这3个群体内部,群体分化系数则较

小,在0.0139~0.0326之间,分化均未达到显著水平(P>0.05),基因流N_m也均大于1(表3)。将青岛群体作为1个类群,将舟山、厦门和广州3个群体作为另1个类群再1次进行分化系数(F_{st})和基因流(N_m)检测,结果表明,两类群间分化系数达0.3852(P<0.01),基因流为0.7980,N_m小于1;AMOVA进一步分析显示两类群间的差异有69.48%存在于群体内部,30.52%存在于群体之间,进一步证实了两类群间的分化。

2.3 聚类分析和种群动态

采用Mega 3.1软件对上述4个群体进行遗传距离计算,结果表明,青岛群体与其他3个群体的净遗

表2 4个鳊群体的遗传变异参数
Tab. 2 Genetic variation parameters of four *Ilisha elongata* populations

参数 Parameter	广州群体 Guangzhou group	厦门群体 Xiamen group	舟山群体 Zhoushan group	青岛群体 Qingdao group
个体数 Sample size	12	11	10	12
多态位点比例/% Polymorphic locus rate	0.61	2.89	2.28	0.47
单倍型数 Haplotype number	3	7	9	4
单倍型多样性指数(H) Haplotype diversity	0.318±0.027	0.873±0.089	0.978±0.054	0.561±0.154
核苷酸多样性指数(P_i) Nucleotide diversity	0.0010±0.0006	0.0036±0.0012	0.0045±0.0012	0.0010±0.0003
平均核苷酸差异数(K) Average number of nucleotide differences	0.667	2.364	2.911	0.636
Fu's F_s 检验统计量 Fu's F_s test	-1.09519 ($P<0.05$)	-2.13658 ($P<0.05$)	-5.11912 ($P<0.05$)	-1.58986 ($P<0.05$)

表3 4个鳊群体间的遗传分化和基因流
Tab. 3 Genetic divergence and gene flow between four *Ilisha elongata* populations

群体名称 Population name	广州群体 Guangzhou population	厦门群体 Xiamen population	舟山群体 Zhoushan population	青岛群体 Qingdao population
广州群体 Guangzhou population	—	35.4971	18.3750	0.4030
厦门群体 Xiamen population	0.0139 ($P>0.05$)	—	14.8186	0.7883
舟山群体 Zhoushan population	0.0265 ($P>0.05$)	0.0326 ($P>0.05$)	—	0.9221
青岛群体 Qingdao population	0.5537 ($P<0.01$)	0.3881 ($P<0.01$)	0.3516 ($P<0.01$)	—

注: 对角线以下代表群体分化系数 F_{st} 及显著性检验结果 ($P<0.05$ 为显著分化; $P<0.01$ 为极显著分化); 对角线以上代表基因流 N_m 。

Note: Figures below diagonal represent genetic divergence (F_{st}) and corresponding significance test of divergence between populations ($P<0.05$ means statistical significance; $P<0.01$ means extreme significance); while figures above diagonal represent gene flow (N_m) between populations.

传距离为0.002, 而3个群体内部的净遗传距离为0; 根据4个群体净遗传距离的UPGMA聚类分析结果进一步表明, 舟山、厦门和广州3个群体遗传距离较近首先聚在一起, 而后与遗传关系较远的青岛群体进行聚类(图1)。采用简化的中介网络法对各类群单倍型网络关系图进行构建, 结果也支持聚类分析的结果。如图2所示, 网络关系图中青岛群体4个单倍型以H1主体单倍型为中心聚为一支, 而舟山、厦门和广州3个群体以其共有主体单倍型H6为中心聚为另一支。单倍型网络关系图的星状放射结构表明, 这2个类群在历史上可能均经历过种群扩张。Fu's

F_s 检验统计也均为负值, 且检验显著 ($P<0.05$), 也表明鳊种群可能经历过种群扩张事件。

3 讨论

物种的遗传变异往往能体现物种对环境变化的适应能力, 一般遗传变异较低的物种具有较低的种群恢复潜力和较高的种群灭绝风险, 而遗传变异较高的物种则相反, 具有较高的进化潜能和生态适应性, 因而对物种遗传变异水平的了解有助于制定有针对性的保护和开发策略^[16]。本研究通过对4个鳊群体的16S rRNA基因序列的研究和比较, 发现尽

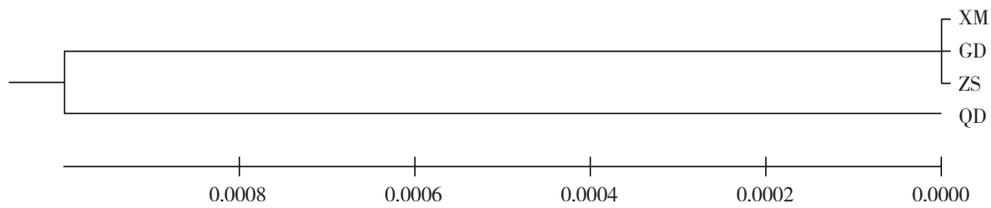


图1 4个鳎群体的UPGMA聚类分析

GD、XM、ZS、QD分别代表广州、厦门、舟山、青岛群体。

Fig. 1 UPGMA tree constructed from genetic distances between 4 populations of *Ilisha elongata*. GD, XM, ZS, QD represent Guangzhou, Xiamen, Zhoushan, Qingdao population, respectively.

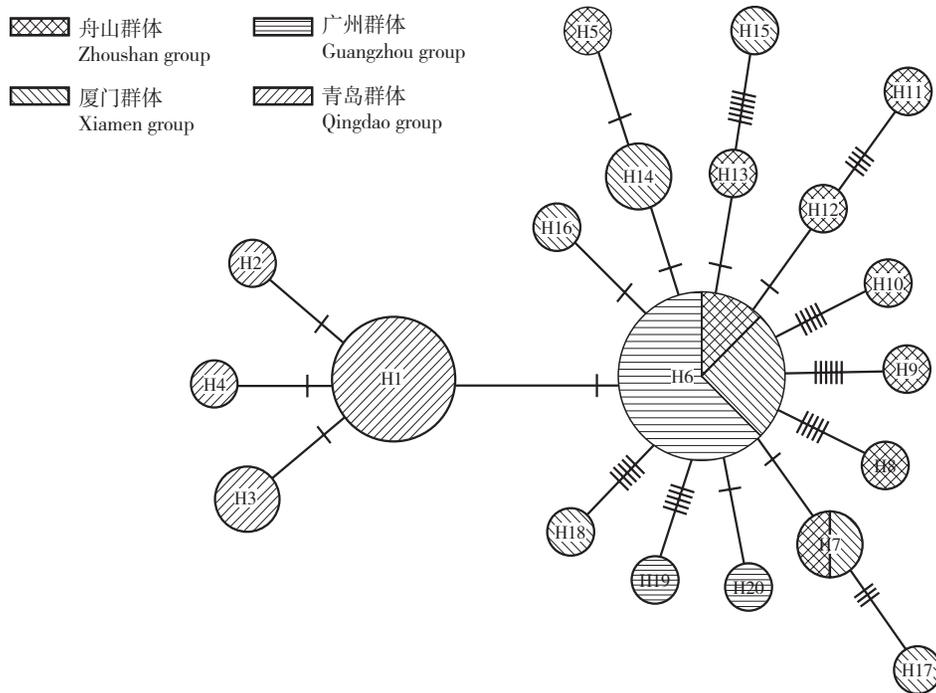


图2 鳎单倍型网络关系图

圆圈面积与单倍型频率成正比,短划线代表单倍型间的核苷酸替换数目。

Fig. 2 Reduced median network of haplotypes showing genetic relationship among haplotypes in *Ilisha elongata*. Area of circle is proportional to haplotype frequency. Short perpendiculars on lines show number of nucleotide substitutions between haplotypes.

管从20世纪80年代以来,中国鳎种群就开始经受长年的过度捕捞,因而资源锐减,但其群体中仍保存着较高的遗传多样性。单倍型多样性指数(H)和核苷酸多样性指数(P_i)是2个最能反映物种遗传多样度的指标,从单倍型多样性指数(H)来看,中国鳎群体的总体单倍型多样性指数(H)为0.812,远远高于同海域海洋鱼类如凤鲚(*Coilia mystus*)^[17]、黄姑鱼(*Nibea coibor*)^[18]、带鱼(*Trichiurus lepturus*)、小带

鱼(*Eupleurogrammus muticus*)^[19]等;也高于国内已报道的常见海洋贝类和虾类^[20-23];而从核苷酸多样性指数(P_i)来看,中国鳎种群的总体核苷酸多样性指数为0.003 1,与已报道的上述海洋生物种类相当。这种资源退化物种仍维持较高遗传多样性的现象在刀鲚(*Coilia nasu*)^[16]、湖鲚(*Coilia.nasustaihuensis*)^[24]、菲尔角银光鱼(*Notropis mekistocholas*)^[8]等鱼类中均有报道。鳎较高的遗传多样性反映了中国鳎资源具有较好的

保护和开发前景。

对4个群体的种群结构分析表明,中国鳊群体不仅蕴藏着丰富的变异,而且还存在显著的群体分化。特别是青岛群体与舟山、厦门和广州3个群体之间分化尤其明显。从序列组成来看,青岛群体与其他3个群体间在388位点存在固定的C→T的转换,可以做为青岛群体的分子标记。从单倍型的分布来看,青岛群体与其他3个群体无共享单倍型,而其他3个群体之间则有共享的主单倍型H6。从遗传分化系数和基因流参数统计而言,青岛群体与其他3个群体的分化达到了极显著水平($P < 0.01$),基因流 $N_m < 1$ 。一般认为,群体之间的 $N_m < 1$ 说明群体可能由于遗传漂变而发生了分化^[25];而 $N_m > 1$,表明群体间的基因流水平较高,群体间遗传分化较小;当 $N_m > 4$ 时,种群间的基因交流就更为充分,遗传分化更小;舟山、厦门和广州3个群体之间基因流 N_m 均大于14,表明它们之间高度的均质性。聚类分析和单倍型网络关系图也证实了青岛群体和其他3个群体的分化,尽管青岛群体与其他3个群体之间的净遗传距离并不大,仅0.2%,这可能与16S rRNA基因较高的相对保守性有关,但两者的分化趋势则是显而易见的。

一般而言,海洋鱼类与陆生生物相比,其种群结构和遗传分化相对匮乏,这种匮乏缘于海洋环境缺乏象陆地环境一样阻止生物种群扩散和交流的有效屏障^[26-27]。这种现象在具有长距离扩散能力的海洋鱼类中表现得尤为突出^[28]。但近年来越来越多的研究表明,具有较强扩散能力的海洋鱼类也可以产生丰富的遗传结构。海域变迁历史^[6,28-29]、独特的生态特征和生活史^[30-31]都会使海洋鱼类群体产生显著的遗传分化。鳊就是一种长距离扩散的鱼类,长距离的扩散本该使鳊在大范围内形成遗传结构的均一化;但从鳊的洄游路线来看,中国的鳊群体的扩散能力仍可能是有限的,各群体只局限于一定区域洄游^[2],这种有限的种群扩散能力可能正是造成鳊群体分化的一个重要因素。但这还不足以解释为何广州、舟山和厦门3个群体之间仍存在高度的均一性,

因为有资料表明,这3个地理群体也有相对独立的洄游模式和生殖季节^[2]。一种可能的解释是这3个群体与青岛群体的分化最初可能并非来源于地理隔离,而可能与某些地理历史事件有关。有资料显示中国海域在更新世以来的确经历了反复海平面升降,在更新世冰期,中国海平面下降了120~140 m,使中国整个黄、渤海及1/2以上东海裸露成陆地,而在间冰期又通过海进造成海平面的抬升。这种海平面的反复变化造成海洋生物种群分化在中国已多有报道^[28-29]。就本研究而言,可能正是由于晚更新世(按线粒体基因进化速率一般为2%/百万年^[32]计算,两类群的分化可能为更新世晚期)以来,黄、渤海群体的反复迁出和重植造成了青岛群体的分化,而其他3个群体可能在冰期中所受影响相对较小,因而并未形成显著分化。

本研究结果对中国鳊资源开发和保护具有重要的启示。由于鳊群体在中国沿海可能存在群体分化,因而对中国的鳊开发和保护须区别对待。青岛群体与其他群体相比有显著的遗传分化,其本身遗传多样性较低,因此在今后的开发和保护中应引起特别关注。东海内部群体虽然无种群间的分化,但其较高的遗传多样性表明可能是中国鳊种群遗传变异的中心,因此从种质资源的保护出发,今后对这些资源的开发和保护也须谨慎。

参考文献:

- [1] 孟庆闻, 缪学祖, 俞泰济, 等. 鱼类学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 205-207.
- [2] 张秋华, 程家骅, 徐汉祥. 东海区渔业资源及其可持续利用[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2006: 299-306.
- [3] 陈必哲, 张澄茂. 厦门近海鳊鱼生殖群体生长与资源状况[J]. 福建水产, 1993, 4: 35-38.
- [4] 王雪辉, 邱永松, 杜飞雁. 珠江口水域鳊鱼生长和死亡参数估算[J]. 热带海洋学报, 2004, 23(4): 42-48.
- [5] Frankham R. Conservation genetics [J]. Annu Rev Genet, 1995, 29: 305-327.
- [6] Han Z Q, Gao T X, Takashi Y, et al. Genetic population structure of *Nibea albiflora* in Yellow Sea and East China Sea [J]. Fish Sci,

- 2008, 74: 544–552.
- [7] Han Z Q, Gao T X, Takashi Y, et al. Genetic population structure of *Nibea albiflora* in Yellow Sea and East China Sea [J]. Fish Sci, 2008, 74: 544–552.
- [8] Burrige C P, John R G. Conservation genetic studies of the endangered cape fear shiner, *Notropis mekistocholas* (Teleostei: Cyprinidae) [J]. Conserv Genet, 2003, 4: 219–225.
- [9] Spruell P, Hemmingsen A R, Howell P J. Conservation genetics of bull trout: Geographic distribution of variation at microsatellite loci [J]. Conserv Genet, 2003, 4: 17–29.
- [10] Ruzzante D E, Taggart C T, Cook D. A nuclear DNA basis for shelf- and bank-scale population structure in northwest Atlantic cod (*Gadus morhua*): Labrador to Georges bank [J]. Mol Ecol, 1998, 7: 1663–1680.
- [11] Wilbur A, Orbacz E A, Wakefield J R, et al. Mitochondrial genotype variation in a siberian population of the Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay) [J]. J Shellfish Res, 1997, 16(2): 541–545.
- [12] Canapa A, Barucca M, Marinelli A, et al. Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) [J]. J Mol Evol, 2000, 50: 93–97.
- [13] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. 2nd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [14] Li C H, Orti G. Molecular phylogeny of Clupeiformes (Actinopterygii) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 2007, 44: 386–398.
- [15] Bandelt H J, Forster P, Sykes B C, et al. Mitochondrial portraits of human populations using median networks [J]. Genetics, 1995, 141: 743–753.
- [16] 杨金权, 胡雪莲, 唐文乔, 等. 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 [J]. 动物学杂志, 2008, 43(1): 8–15.
- [17] Cheng Q Q, Ma C Y, Cheng H P, et al. Mitochondrial DNA diversity of *Coilia mystus* (Clupeiformes: Engraulidae) in three Chinese estuaries [J]. Environ Biol Fish, 2008, 83: 277–282.
- [18] 童馨, 杜博, 喻达辉. 浅色黄姑鱼线粒体 16S rRNA 基因片段序列特征分析 [J]. 海洋水产研究, 2007, 28(3): 85–91.
- [19] 蒙子宁, 庄志猛, 金显仕, 等. 黄海带鱼、小带鱼 RAPD 和线粒体 16S rRNA 基因序列变异分析 [J]. 自然科学进展, 2003, 13(11): 1170–1176.
- [20] 邱高峰, 常林瑞, 徐巧婷, 等. 中国对虾 16S rRNA 基因序列多态性的研究 [J]. 动物学研究, 2000, 21(1): 35–40.
- [21] 杨建敏, 李琪, 郑小东. 中国沿海脉红螺 (*Rapana venosa*) 自然群体线粒体 DNA 16S rRNA 遗传特性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(3): 257–262.
- [22] 刘亚军, 喻子牛, 姜艳艳, 等. 栉孔扇贝 16S rRNA 基因片段序列的多态性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(5): 477–483.
- [23] 苏天凤, 江世贵, 朱彩艳, 等. 广西钦州湾养殖牡蛎线粒体 16S rRNA 基因片段序列变异分析 [J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 1–4.
- [24] 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 [J]. 生物多样性, 2007, 15(3): 224–231.
- [25] Millar C L, Libby W J. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species [M]// Fald D A, Holsinger K E. Genetics and conservation of rare plants. New York: Oxford University Press, 1991: 149–170.
- [26] Ward R D, Woodwark M, Skibinski D F. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes [J]. J Fish Biol, 1994, 44: 213–232.
- [27] Stabile J, Waldman J R, Parauka F, et al. Stock structure and homing fidelity in Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) based on restriction fragment length polymorphism and sequence analysis of mitochondrial DNA [J]. Genetics, 1996, 144: 767–775.
- [28] Liu J X, Gao T X, Wu S F, et al. Pleistocene isolation in the Northwest Pacific marginal seas and limited dispersal in marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845) [J]. Mol Ecol, 2007, 16: 275–288.
- [29] Han Z Q, Gao T X, Takashi Y, et al. Deep phylogeographic break among white croaker *Pennahia argentata* (Sciaenidae, Perciformes) populations in North-western Pacific [J]. Fish Sci, 2008, 74: 770–780.
- [30] Lourie B A, Green D M, Vincent A C. Dispersal, habitat differences, and comparative phylogeography of Southeast Asian seahorses (Syngnathidae: *Hippocampus*) [J]. Mol Ecol, 2005, 14: 1073–1094.
- [31] Riginos C, Victor B C. Larval spatial distributions and other early life history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes [J]. Proc R Soc Lond B, 2001, 268: 1931–1936.
- [32] Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA [M]// Nei M, Koehn R K. Evolution of genes and proteins. Sunderland, MA: Sinauer, 1983: 62–88.

Genetic variation in different populations of *Ilisha elongata* in China coastal water based on 16S rRNA gene analysis

LV Zhenming, XU Yitian, WU Changwen, FAN Zhenjiao, ZHANG Jianshe

(Key Laboratory for Marine Culture Equipment and Technology Exploitation of Zhejiang Province, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China)

Abstract: To know the resource status of *Ilisha elongata* after long-term of overfishing, mitochondrial DNA (mtDNA) sequence of 16S rRNA was used to investigate the genetic structure and genetic variation of four populations of *Ilisha elongata* in coastal waters of China. Partial sequence of 657 bp was obtained through sequencing the 16S rRNA gene of 45 individuals from four *I. elongata* populations. Thirty-two polymorphic sites were detected in the 657 bp nucleotide, accounting for 4.88% of total sites of 16S rRNA gene sequence. Ten insertion/deletion sites were also observed. Twenty haplotypes were detected out of 45 individuals from four populations. The haplotype diversity index (H), mean nucleotide diversity index (P_i) and average number of nucleotide differences (K) reached 0.812, 0.003 1 and 2.016, respectively. Results above showed that despite long time of overfishing, *Ilisha elongata* still keeps plentiful genetic variation in its natural populations. Molecular variance analysis revealed significant genetic divergence between Qingdao population and other three populations. A fixed nucleotide substitute was detected in 16S rRNA gene region between samples from Qingdao population and those from other three populations of Guangzhou, Xiamen and Zhoushan. Genetic divergence F_{st} and gene flow N_m between the two lineages reached 0.385 2 ($P < 0.01$) and 0.798 0, while no significant divergence was detected between Guangzhou, Xiamen and Zhoushan populations ($P > 0.05$). AMOVA test showed that 69.48% genetic variation lies in intra-populations and 30.52% lies in intra-populations. UPGMA tree and reduced median network of haplotypes also proved the genetic differentiation between Qingdao population and other three populations. It was postulated that the frequent oscillation of sea level during the late Pleistocene might be the cause of differentiation between the two lineages. These findings will act as a stepstone for better protection and development of *I. elongata* resources in China in the near future. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (3): 463–470]

Key words: *Ilisha elongata*; 16S rRNA gene; genetic variation