

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00066

福建近海竹荚鱼线粒体 DNA 控制区和细胞色素 *b* 遗传多态性

牛素芳, 苏永全, 王军, 张丽艳, 曾华嵩, 张曼

厦门大学 海洋与环境学院, 福建 厦门 361005

摘要: 测定了捕自福建近海闽东渔场和闽南渔场竹荚鱼(*Trachurus japonicus*)的线粒体 DNA(mtDNA)控制区和细胞色素 *b* 基因(cyt *b*)序列。获得了长度为 861~866 bp 的控制区全序列。60 个样本中共检测到 66 个变异位点和 53 个单倍型, 平均单倍型多样性(*h*)为 0.993, 核苷酸多样性(π)为 1.093。930 bp 的 cyt *b* 部分序列共有 37 个变异位点, 从 41 个样本中得到 25 个单倍型, 平均单倍型多样性(*h*)和核苷酸多样性(*h*)分别为 0.937 和 0.336。cyt *b* 片段编码 330 个氨基酸, 氨基酸序列无变异位点, 仅有 1 个氨基酸单倍型。竹荚鱼闽南群体 mtDNA 序列的遗传多样性高于闽东群体。构建的单倍型系统树未出现明显的以地方群体为单位的家系式分支或者聚簇, 群体间的遗传距离(0.01)也较小。分子方差分析(AMOVA)显示, 2 个群体的遗传变异绝大部分来自群体内部, 群体间无显著遗传分化。中性检验和核苷酸不配对分析显示, 福建近海竹荚鱼近期经历过种群扩张。种群扩张、扩散能力和东海环流可能促进闽东渔场和闽南渔场竹荚鱼群体间频繁的基因交流, 并导致群体间较高的遗传同质性。[中国水产科学, 2011, 18(1): 66–74]

关键词: 竹荚鱼; 福建近海; 控制区; cyt *b*; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: Q958

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)01-0066-09

竹荚鱼 [*Trachurus japonicus*(Temminck et Schlegel)]属于鲈形目(Perciformes), 鲷科(Carangidae), 鲷亚科(Caranginae), 竹荚鱼属, 为暖温性中上层洄游性鱼类, 主要分布于中国、日本和朝鲜, 是福建沿海的常见经济鱼类^[1]。由于强大的捕捞压力, 东海区竹荚鱼资源遭到严重的破坏^[2], 分布区域大为缩小, 且种群以幼鱼为主, 种群结构较为脆弱。闽南—台湾浅滩渔场竹荚鱼的归属也存在争议^[2]。目前, 国内外对东海竹荚鱼的研究主要集中在渔业生物学、生长特性及捕捞生产等方面^[2-5], 相关的遗传结构和种群动态等研究较少, 东海竹荚鱼分子系统地理学和群体遗传学的相关研究未见报道。

物种的分布格局和遗传结构受环境因素的时空作用的影响, 历史上的气候波动、地貌变迁等

古气候和古地质事件, 以及当今的海洋水文分布状况和地质构造特征等环境因素, 都会对物种的分布扩散、基因交流和系统进化产生深刻影响^[6-7]。鱼类线粒体DNA(mtDNA)具有分子小、母系遗传、进化速率快等特点^[8], 并且不同区域进化速度存在一定的差异, 适合不同水平的进化研究, 是鱼类分子系统学和群体遗传结构研究的重要标记^[9]。对线粒体内不同基因序列的比较发现, 多数鱼类线粒体基因组中控制区的进化速率最快, 是研究种内群体间的遗传结构及遗传分化的首选序列^[10]。Zardoya等认为cyt *b*含有良好的系统发育信息, 是构建系统树和探讨遗传分化的良好指标^[11]。

本研究对采自东海区闽东渔场和闽南渔场竹荚鱼的 mtDNA 控制区和 cyt *b* 进行了分析, 首次探讨了 2 个群体的遗传多样性水平和遗传结构,

收稿日期: 2010-03-06; 修订日期: 2010-06-04.

基金项目: 福建省科技项目(2007I0005).

作者简介: 牛素芳(1987-), 女, 硕士. 专业方向为海洋生物生化与分子生物学. E-mail: wolf0487@126.com

通讯作者: 王军, 教授, 主要从事海洋生物生化与分子生物学研究. E-mail: junw@xmu.edu.cn

研究结果将为中国竹荚鱼种质资源现状的评价、管理和合理开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与 DNA 提取

2009 年 3–5 月份从闽东渔场和闽南渔场各采集竹荚鱼 32 尾。对竹荚鱼进行常规生物学测定后, 取背部新鲜肌肉置于无水乙醇中固定, 保存在 -20°C 冰箱中。从 2 个群体中分别随机抽取 30 个样品, 参考《分子克隆实验指南》中的酚/氯仿抽

提法提取基因组总DNA^[12]。

1.2 PCR 扩增与序列测定

2 个群体各取 30 个样品用于控制区分析, 闽东渔场 21 个样品、闽南渔场 20 个样品用于细胞色素*b*基因分析。用于线粒体DNA控制区扩增及测序的引物tRNA-T2 参考Poulin等^[13]的报道设计, 引物tRNA-T1 参考Poulin等^[13]的报道略作改进。用于线粒体DNA *cyt b*扩增和测序的引物为通用引物L14724 和H15915^[14](表 1)。以上引物均由上海生工生物工程公司合成。

表 1 PCR 扩增和测序引物
Tab.1 List of amplification and sequencing primers

基因 gene	引物名称 primer name	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	参考文献 reference
控制区	tRNA-T2	TGCTTGCGGGGCTTTCTA	[13]
control region	tRNA-T1	CAGAAAAAGGAGACTCTAACTCCT	[13]
细胞色素 <i>b</i>	L14724	GACTTGAAAAACCAACCGTTG	[14]
cyt <i>b</i>	H15915	CTCCGATCTCCGATTACAAGAC'	[14]

PCR扩增的反应体系分别为: 总反应体积为 50 μL , 其中 $10\times$ 反应缓冲液(含 Mg^{2+})5 μL , 引物 (10 $\mu\text{mol/L}$)各 1 μL , *Taq*酶 2.5 U, DNA模板(100 $\text{ng}/\mu\text{L}$)2 μL , dNTPs(2.5 mmol/L)在控制区和细胞色素*b*扩增体系中分别为 3 μL 和 2 μL , 灭菌超纯水补齐总体积。用 9700 型PCR仪进行扩增, 控制区反应程序为: 95°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 复性 90 s, 72°C 延伸 45 s, 进行 30 个循环; 最后 72°C 延伸 10 min。细胞色素*b*反应程序为: 94°C 预变性 4 min; 94°C 变性 45 s, 54°C 复性 45 s, 72°C 延伸 1 min, 进行 32 个循环; 最后 72°C 延伸 10 min。每次反应设立不含DNA模板的空白对照, 扩增产物用 1% TBE琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 产物经DNA纯化通用试剂盒(胶回收)纯化后送往上海博亚生物公司测序。

1.3 数据处理及分析

用CLUSTAL X^[15]软件对序列进行多重对位排列, 并辅以手工校正, 最后用ContigExpress软件拼接序列。MEGA 4.0 软件^[16]统计序列的平均碱基组成(base composition)、核苷酸变异位点(variable sites)和多态简约信息位点数(parsimony

informative polymorphic sites); 采用成对删除法计算转换/颠换比率(T_s/T_v ratios)及转换和颠换各自的百分比, 基于Kimura双参数模型计算遗传距离(genetic distance); 统计*cyt b*氨基酸链的三联密码子的使用个数及 3 个位点的碱基组成。DnaSP 4.0 软件^[17]统计单倍型数, 计算两地方群体的单倍型多样性(haplotype diversity, h)和核苷酸多样性(nucleotide diversity, π), 评价群体遗传多样性水平。

采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)和最小进化法(Minimum-Evolution, ME)构建单倍型关系树, 并以蓝圆鲹(*Decapterus maruadsi*)的同源序列(GenBank 登录号分别为 EU131015 和 EF512291)作为外类群。NJ 法和 ME 法均使用 MEGA 4.0 软件, 遗传距离模型选择 Kimura 双参数模型, 采用重复抽样 (bootstrap)1 000 次检验单倍型关系树各分枝的置信度。

用Arlequin 3.1 软件^[18]中的分子方差分析(AMOVA)方法估算遗传变异在群体间和群体内的分布及遗传变异固定指数(F_{st}), 1 000 次重复随机抽样重排后进行显著性检验。采用Fu's F_s ^[19]中

性检验和核苷酸不配对分布(mismatch distribution)^[20]来检测福建近海竹荚鱼群体的历史动态。群体历史扩张时间用参数 $\tau=2ut$ 进行估算,其中 u 是所研究的整个序列长度的突变率, t 是自群体扩张开始到现在的时间^[21]。本研究,控制区和cyt *b*序列的分化速率分别采用 3%~10%/MY(million year)^[22]和 2.5%/ MY^[23],世代时间则设置为 1 年^[2]。

2 结果与分析

2.1 序列分析

2.1.1 控制区 对所有控制区序列进行排序分析后,获得长度为 861~866 bp的线粒体控制区全序列(GenBank登录号为HM212543~HM212595)。所得序列共包含 66 个核苷酸变异位点,其中多态简约信息位点 44 个。大部分多态简约信息位点集中在 1 bp到 300 bp处,占全部简约信息位点的 75.6%。有 5 个插入/缺失位点。序列中的转换数明显高于颠换数, $T_s/T_v=4.573$,说明序列突变还未达到饱和。转换和颠换在A、T、C、G之间均有发生,其中A-G转换多于T-C, A-C和A-T颠换多于C-G和T-G。A、T、G、C碱基的平均含量分别为 31.2%、31.2%、15.8%、21.8%,其中A+T的含量(62.4%)明显高于G+C的含量(37.4%),表现出较明显的AT偏好和很强的反G偏倚。在 60 个个体中,共定义了 53 个单倍型,其中 2 群体共享单倍型仅 3 个,大部分单倍型为不同群体的特有单倍型。单倍型在群体间的差异不明显(表 2)。

2.1.2 细胞色素*b* 获得线粒体cyt *b* 930 bp的部分序列,位于cyt *b*全序列的 40~969 bp。所得的序列共包含 37 个核苷酸变异位点(4.0%),其中单核苷酸变异位点 26 个(2.8%),多态简约信息位点为 11 个(1.2%)。检测到的 37 个核苷酸变异位点都位于三联密码子的第 3 位,均为无义替换。所得序列 330 bp处有 1 个缺失位点。突变位点在群体间分布比较均匀,约占序列 2.4%。序列中的转换数明显高于颠换数, $T_s/T_v=9.34$ 。转换和颠换在A、T、C、G之间均有发生,其中A-G(47.28%)转换多于T-C(43.37%), A-C(2.73%)和A-T(2.38%)颠换多于C-G(2.29%)和T-G(1.94%)。A、T、G、C碱基的平均含量分别为 23.9%、27.0%、14.6%和 34.5%,其中A+T含量(50.9%)稍高于G+C的含量(49.1%),表现出很强的反G偏倚。41 个线粒体cyt *b*序列,共定义 25 个单倍型 (GenBank 登录号为HM212596~HM212620),其中仅 4 个单倍型为闽东和闽南群体所共有(表 2)。

2.2 细胞色素*b* 氨基酸序列分析

cyt *b* 氨基酸序列分析表明, 2 个群体竹荚鱼 cyt *b* 基因的氨基酸序列无变异位点,只有 1 个氨基酸单倍型,说明竹荚鱼的氨基酸多态性较低,证实了线粒体 cyt *b* 基因的高度保守性。

比较氨基酸密码子 3 个位点的碱基组成特征(表 3),发现第 1 位点无碱基使用偏倚;第 2 位点显示出 T 偏倚和反 G 偏倚;而第 3 位点的反 G 偏倚最明显,还显示出明显的 C 偏倚。从 cyt *b* 基因

表 2 竹荚鱼闽东、闽南群体的遗传多样性
Tab.2 Genetic diversity in Mindong and Minnan populations of *Trachurus japonicus*

基因 gene	遗传多样性指数 genetic diversity index							
	SS	SM	HN	$h\pm SD$	MS	PIS	IDS	$\pi\pm SD/\%$
控制区 control region	闽东 MD	30	27	0.986±0.016	50	22	2	1.050±0.068
	闽南 MN	30	29	0.998±0.009	56	29	4	1.133±0.061
	合计Total	60	53	0.993±0.006	66	44	5	1.093±0.048
细胞色素 <i>b</i> cyt <i>b</i>	闽东 MD	21	13	0.905±0.047	23	3	1	0.331±0.053
	闽南 MN	20	16	0.974±0.025	22	6	0	0.339±0.039
	合计Total	41	25	0.937±0.025	37	11	1	0.336±0.034

注: SS-样品来源; SM-样品数; HN-单倍型数; h -单倍型多样性; π -核苷酸多态性; SD-标准偏差; MS-突变位点; PIS-简约信息位点; IDS-插入或缺失位点。

Note: SS-source of sample, SM-sample number, HN-haplotye number, h -haplotype diversity, π -nucleotide diversity, SD-standard deviation, MS-mutant site, PIS-parsimony informative site, IDS-insert or deletion site.

密码子的使用情况可见, 4 种摆动形式的氨基酸三联密码子中, 第 3 位点碱基的使用有明显反G偏倚, T出现的频率稍低于A和C; 2 种摆动形式的氨基酸三联密码子中, 第 3 位点C多于T, A多于G(M密码子除外)(表 4), 这些特征在许多鱼类中甚至是脊椎动物中都基本相同^[24]。

表 3 Cyt *b* 基因密码子各位置的碱基含量
Tab.3 Nucleotide frequencies for different codon positions of cytochrome *b* gene

碱基 base	密码子位置 codon position			%
	第 1 位 first position	第 2 位 second position	第 3 位 third position	
T	23.2	39.0	18.7	
C	28.1	27.1	48.4	
A	22.3	20.6	28.7	
G	26.5	13.2	4.20	

2.3 2 个群体的遗传多样性

由于控制区的高变异性, 2 个群体间和群体内的单倍型多样性均高达 0.9 以上, 核苷酸多样性也都在 1%以上。闽南群体内的单倍型多样性(*h*)高达 0.998, 核苷酸多样性(π)为 1.133%, 稍高于闽东群体内的多样性值(*h* 和 π 分别为 0.986 和

1.050%)。cyt *b* 的单倍型多样性水平也较高(>0.9), 但相对于控制区, 其单倍型多样性和核苷酸多样性水平有所降低, 群体间和群体内的核苷酸多样性均在 0.5%之下, 说明竹荚鱼 cyt *b* 的变异程度较控制区弱(表 2)。总体来看, 相对于闽东群体, 闽南群体的遗传多样性比较丰富, 但群体间控制区和 cyt *b* 基因的单倍型多样性和核苷酸多样性差异均较小, 其遗传多样性并没有表现出明显的地理差异。

2.4 2 个群体的遗传结构

AMOVA分析结果显示, 群体间控制区和cyt *b*序列的遗传变异固定指数(F_{st})分别为 0.004 98 和 0.003 80, 且差异不显著($P>0.05$)。在整个遗传变异中, 群体间的变异所占的比例极小(<1%), 大部分变异(>99%)发生在群体内部。变异组成显示群体间低于群体内的遗传变异水平(表 5)。基于 Kimura双参数模型计算遗传距离, 群体内和群体间的平均遗传距离取相同的值, 控制区序列均为 0.01, cyt *b*序列Kimura双参数距离都为 0。以上结果显示, 闽东群体和闽南群体的遗传结构相似, 不存在显著的遗传分化。

表 4 竹荚鱼 cyt *b* 基因密码子的使用情况
Tab.4 Codon usage of cytochrome *b* gene for *Trachurus japonicus*

GC(AA)	UN(P)	GC(AA)	UN(P)	GC(AA)	UN(P)	GC(AA)	UN(P)
TTT(F)	7.1(0.52)	TCT(S)	2.0(0.63)	TAT(Y)	0.0(0.01)	TGT(C)	0.0(0.00)
TTC(F)	19.9(1.48)	TCC(S)	7.0(2.21)	TAC(Y)	13.0(1.99)	TGC(C)	3.0(2.00)
TTA(L)	1.0(0.12)	TCA(S)	7.2(2.28)	TAA(*)	0.0(0.00)	TGA(W)	8.0(1.79)
TTG(L)	0.0(0.00)	TCG(S)	2.8(0.88)	TAG(*)	0.0(0.00)	TGG(W)	1.0(0.21)
CTT(L)	13.0(1.59)	CCT(P)	4.0(0.94)	CAT(H)	1.0(0.20)	CGT(R)	0.0(0.01)
CTC(L)	20.0(2.45)	CCC(P)	7.0(1.65)	CAC(H)	9.0(1.80)	CGC(R)	2.0(1.13)
CTA(L)	12.0(1.47)	CCA(P)	5.9(1.39)	CAA(Q)	4.0(1.60)	CGA(R)	4.0(2.27)
CTG(L)	3.1(0.38)	CCG(P)	0.1(0.02)	CAG(Q)	1.0(0.40)	CGG(R)	1.0(0.59)
ATT(I)	10.0(1.00)	ACT(T)	4.0(0.77)	AAT(N)	3.1(0.36)	AGT(S)	0.0(0.00)
ATC(I)	10.0(1.00)	ACC(T)	9.0(1.71)	AAC(N)	13.9(1.64)	AGC(S)	0.0(0.00)
ATA(M)	2.0(0.82)	ACA(T)	8.0(1.51)	AAA(K)	5.0(1.67)	AGA(*)	0.0(0.00)
ATG(M)	3.0(1.18)	ACG(T)	0.0(0.01)	AAG(K)	1.0(0.33)	AGG(*)	0.0(0.00)
GTT(V)	3.5(0.70)	GCT(A)	4.1(0.61)	GAT(D)	2.0(0.40)	GGT(G)	4.0(0.73)
GTC(V)	8.5(1.69)	GCC(A)	10.9(1.62)	GAC(D)	8.0(1.60)	GGC(G)	9.0(1.64)
GTA(V)	8.0(1.61)	GCA(A)	12.0(1.77)	GAA(E)	3.0(1.98)	GGA(G)	9.0(1.63)
GTG(V)	0.0(0.00)	GCG(A)	0.0(0.00)	GAG(E)	0.0(0.02)	GGG(G)	0.0(0.01)

注: GC(AA)–密码子(编码的氨基酸), UN(P)–使用个数(百分比).
Note: GC(AA)–codon (the coded amino acid), UN(P)–number of usage (percentage of usage).

2.5 单倍型间遗传学关系

从竹荚鱼线粒体控制区 53 个单倍型和 *cyt b* 基因 25 个单倍型的邻接关系树(图 1)中可以看出, 2 个单倍型邻接树的大部分节点分支的支持率较

低(<50%), 图中并没有明显的以地方群体为单位的家系式分支或者聚簇出现, 群体间互相散布交叉现象比较普遍。ME 系统树(图略)的拓扑结构与 NJ 系统树的总体趋势相似, 每个群体的单倍型都

表 5 竹荚鱼 2 个群体间分子方差分析(AMOVA)
Tab.5 Analysis of molecular variance (AMOVA) among two populations of *Trachurus japonicus*

变异来源 variation source	控制区 control region			细胞色素 <i>b</i> <i>cyt b</i>		
	变异组成 variance component	变异百分比/% variance percentage	遗传变异固 定指数 F_{st}	变异组成 variance component	变异百分比/% variance percentage	遗传变异固 定指数 F_{st}
群体间 among populations	0.2458	0.5		0.594	0.38	
群体内 within population	4.91264	99.5		1.55672	99.62	
合计 total	4.93722	100	0.00498	1.56265	100	0.0038

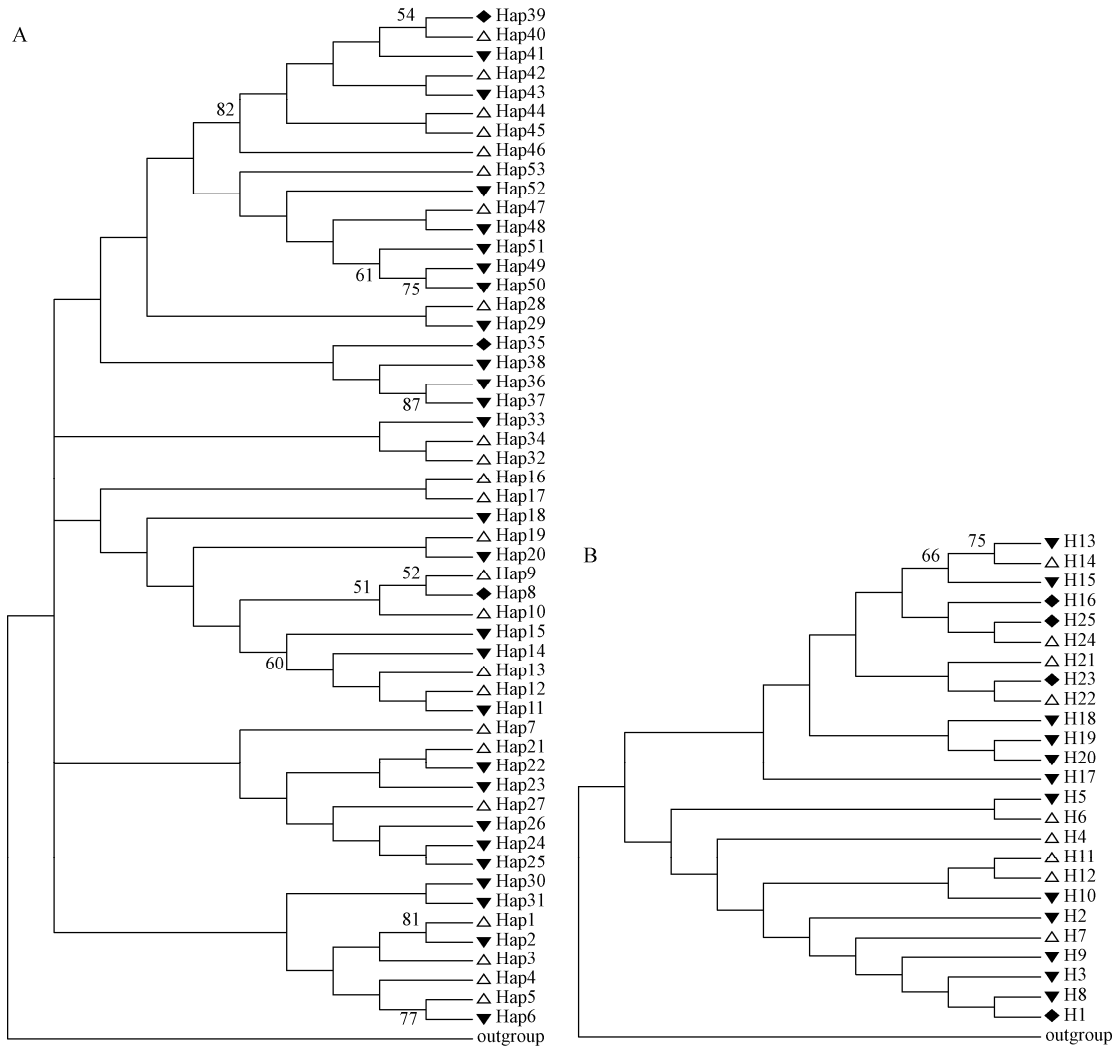


图 1 竹荚鱼线粒体控制区单倍型(A)和 *cyt b* 单倍型(B)的邻接关系树图
外类群均为蓝圆鲹(*Decapterus maruadsi*), 置信度小于 50%未显示。▼表示闽南群体独有单倍型, △表示闽东群体独有单倍型, ◆表示两群体共享单倍型。
Fig.1 NJ haplotype tree of *Trachurus japonicus* based on control region (A) and cytochrome *b* (B) haplotypes
Decapterus maruadsi was used as the outgroup, and the bootstrap values lower than 50% are not shown. ▼represent haplotypes belonging to Minnan population. △represent haplotypes belonging to Mindong population. ◆ represent haplotypes shared by the two populations.

广泛分布在单倍型 ME 系统树上, 不具有明显的地理结构。

2.6 群体历史过程

Fu's F_s 中性检验(表 6)产生绝对值较大的负 F_s 值, 且达极显著水平, 显著偏离中性突变。竹荚鱼控制区和 *cyt b* 的单倍型核苷酸不配对分析呈现出明显的单峰泊松分布, 并且与群体扩张模型下的预期分布非常吻合(图 2)。以上数据证明竹荚鱼群体经历了明显的近期群体扩张事件。竹荚鱼控制区和 *cyt b* 的 τ 值分别为 10.637 和 3.303, 据

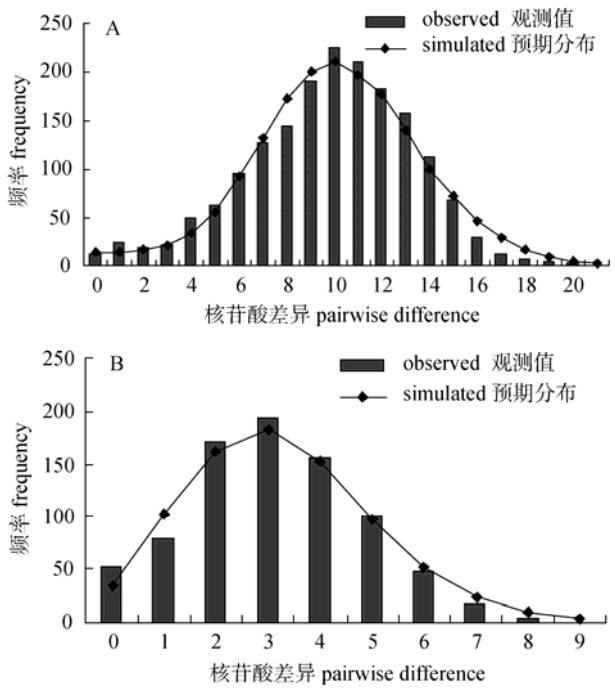


图 2 福建近海竹荚鱼控制区(A)和 *cyt b*(B)核苷酸不配对分布图

Fig.2 Distribution of pairwise differences for control region (above) and *cyt b* gene (under) of *Trachurus japonicus* in Fujian coastal waters

此推算福建近海竹荚鱼群体扩张时间在 62 000~205 000 年前。

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)是衡量物种或种群线粒体DNA变异程度的 2 个重要指标^[10]。本研究中竹荚鱼的遗传多样性总体水平表现出高 h 低 π 的特点。这种高 h 低 π 的遗传参数特征通常是由 1 个较小的有效种群经过近期快速扩张成 1 个大的种群所引起的^[25]。更新世冰盛期的东海海平面比现在海平面至少低 130 m^[26], 而竹荚鱼主要的生活区位于东海海域 100~200 m 处^[5], 因此在海平面上升的过程中, 竹荚鱼发生群体扩张进入东海大陆架区。在这种快速群体扩张过程中, 可产生许多新的突变, 积累了单倍型的多样性, 但尚缺乏足够的时间积累核苷酸序列的多样化^[25]。根据Fu's F_s 中性检验和核苷酸不配对分析结果, 可以推测东海竹荚鱼经历的群体扩张是导致其高 h 低 π 遗传多样性模式的原因。东海有些鱼类, 如小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)^[6]等也存在类似的遗传多样性模式。

单倍型多样度和核苷酸多样性分析表明, 福建近海竹荚鱼种群的遗传多样性目前仍处于较高水平, 这可能是由于竹荚鱼广阔的生境范围和福建海域相对中部的分布区^[27]所致。竹荚鱼在东海、黄海及南海海域均有分布, 广阔的生境范围使其面临的自然选择压力相对较小, 可以积累较多的遗传变异^[1-2,27]。研究表明, 自第四纪以来, 大幅度升降的全球性温度导致了物种遗传多样性的丢失, 处于物种分布区南北两边缘的群体遗传多样性损失最为严重^[28]。福建海域相对中部的分布区可能使得该海域竹荚鱼受到冰期气候波动的影响相对较小, 因此可以保留较高的遗传多样性。

表 6 福建近海 2 个竹荚鱼群体的中性检验
Tab.6 Neutrality tests of two populations of *Trachurus japonicus* in Fujian coastal waters

Fu's F_s 检验值 Fu's F_s test value	控制区 control region			细胞色素 <i>b</i> <i>cyt b</i>		
	闽东群体 MD	闽南群体 MN	总样品 total	闽东群体 MD	闽南群体 MN	总样品 total
F_s	-15.923	-20.752	-24.616	-6.198	-12.284	-20.537
P	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.001

种群之间的遗传变异程度也与其生态习性 & 生活史密切相关^[8]。竹荚鱼的洄游能力较强, 在洄游过程中不同群体间个体的混合可能导致群体间产生基因交流, 这种基因交流对于分布范围相对较小的闽南群体^[2]遗传多样性的影响相对较大。捕捞压力也对竹荚鱼的遗传多样性产生一定影响, 过度的捕捞将导致遗传多样性的丢失^[29]。体长等生物学特征提示闽南群体和闽东群体竹荚鱼资源均有所衰退, 而闽南群体的捕捞压力相对较小^[2]。据此推测, 群体大小和捕捞压力可能导致竹荚鱼闽南群体的单倍型多样性和核苷酸多样性水平高于闽东群体。

3.2 群体遗传结构

群体间的单倍型关系树、AMOVA 分析结果和平均遗传距离均表明, 闽东和闽南渔场的竹荚鱼是随机交配的群体, 两群体间无明显的遗传分化, 不存在显著的系统地理格局。

如果海洋生物种群间不存在遗传分化, 可能是种群还没有达到平衡状态或幼体具有较强的扩散能力^[30]。研究发现, 海平面上升后太平洋梭鱼 (*Liza haematocheila*)^[30]和小黄鱼^[6]在中国大陆架区发生了近期大范围栖息地扩张, 导致东海群体间无明显的遗传分化。可见, 更新世后的海平面上升事件对东海鱼类的 mtDNA 遗传结构具有重要影响。本研究中, 东海竹荚鱼栖息地扩张发生时间比较晚 (62 000~205 000 年前), 种群尚缺足够的时间在迁移和漂变之间取得平衡, 因此形成闽东和闽南群体相似的遗传结构。竹荚鱼具有明显的季节性洄游, 其产卵场和越冬场在东海中南部, 而索饵场在东海中北部和黄海部分海域^[2,5]。每年夏汛, 竹荚鱼卵和幼鱼随着黑潮流系和南海季风漂流向北漂流, 冬季又随着浙闽沿岸流洄游至东海中南部^[5], 促进了群体间的基因交流。此外, 福建沿海有黑潮主流、南海季风漂流和浙闽沿岸流等流系^[31], 这些径流加强了该海域生物的扩散。据此推测, 竹荚鱼较强的扩散能力和东海环流可能是闽东群体和闽南群体无遗传分化、具有较高遗传同质性的另一重要原因。

根据竹荚鱼的渔获量、形态特征和性成熟状

况, 日本学者认为闽南-台湾浅滩竹荚鱼是东海南部群的一部分^[2], 汪伟洋等^[32]通过对闽南-台湾浅滩渔场中上层鱼类的标志放流和洄游分布的研究, 认为闽南-台湾浅滩的中上层鱼类 (包含竹荚鱼) 属于闽南、粤东近海-台湾浅滩地方群系。基于线粒体 DNA 控制区和 *cyt b* 基因, 笔者认为闽南-台湾浅滩竹荚鱼是东海南部群的一部分, 与日本学者的观点相一致。

参考文献:

- [1] 朱元鼎. 福建鱼类志 (下卷) [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1985: 86-87.
- [2] 张秋华, 程家骅, 徐汉祥, 等. 东海区渔业资源及其可持续利用 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 2007: 256-263.
- [3] 黄美珍, 洪幼环. 闽南-台湾浅滩渔场六种中上层鱼类的食性 [C] // 闽南-台湾浅滩渔场上升流生态系统研究. 北京: 科学出版社, 1991: 619-631.
- [4] Xie S, Watanabe Y, Saruwatari T, et al. Growth and morphological development of sagittal otoliths of larval and early juvenile *Trachurus japonicus* [J]. *Fish Biol*, 2005, 66(6): 1704-1719.
- [5] Sassa C, Yamamoto K, Tsukamoto Y, et al. Distribution and migration of age-0 jack mackerel (*Trachurus japonicus*) in the East China and Yellow Seas, based on seasonal bottom trawl surveys [J]. *Fish Oceanogr*, 2009, 18(4): 255-267.
- [6] 吴仁协, 柳淑芳, 庄志猛, 等. 基于线粒体 *cyt b* 基因的黄海、东海小黄鱼 (*Larimichthys polyactis*) 群体遗传结构 [J]. *自然科学进展*, 2009, 19(9): 924-929.
- [7] Hewitt G M. The genetic legacy of the Quaternary ice ages [J]. *Nature*, 2000, 405: 907-913.
- [8] 吕国庆. 鱼类线粒体 DNA 多态研究和应用进展 [J]. *中国水产科学*, 1998, 5(3): 94-103.
- [9] 郭新红, 刘少军, 刘巧, 等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展 [J]. *遗传学报*, 2004, 31(9): 983-1000.
- [10] 陈骁, 杨圣云, 潘聪. 我国南部海域条纹斑竹鲨线粒体 DNA 控制区遗传多态性研究 [J]. *海洋学报*, 2008, 30(6): 115-121.
- [11] 陈姝君, 赫崇波. 硬骨鱼类线粒体基因系统发育信息效率分析 [J]. *中国水产科学*, 2008, 15(1): 12-21.
- [12] Sambrook J, Russell D W. 分子克隆实验指南 [M]. 第三版. 黄培堂, 王嘉玺, 朱厚础, 等译. 北京: 科学出版社, 2002: 461-469.
- [13] Poulin E, Cardenas L, Hernandez C E, et al. Resolution of

- the taxonomic status of Chilean and Californian jack mackerels using mitochondrial DNA sequence[J]. *Fish Biol*, 2004, 65(4): 1160–1164.
- [14] Xiao W H, Zhang Y P, Liu H Z. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia[J]. *Mol Phylogenetics Evol*, 2001, 18(2): 163–173.
- [15] 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[J]. *Nucl Acids Res*, 1997, 25(24): 4876–4882.
- [16] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis(MEGA) software Version 4.0[J]. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(8): 1596–1599.
- [17] Rozas J, Sanchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(18): 2496–2497.
- [18] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.01): An integrated software package for population genetics data analysis[J]. *Evol Bioinform Online*, 2005, 1: 47–50.
- [19] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. *Genetics*, 1997, 147(2): 915–925.
- [20] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences[J]. *Mol Biol Evol*, 1992, 9: 552–569.
- [21] Lecomte F, Grant W S, Dodson J J, et al. Living with uncertainty: genetic imprints of climate shifts in East Pacific anchovy(*Engraulis mordax*) and sardine(*Sardinops sagax*)[J]. *Mol Ecol*, 2004, 13: 2169–2182.
- [22] Lee W J, Conroy J, Howell W H, et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions[J]. *Mol Evol*, 1995, 41: 54–66.
- [23] Santos S, Hrbek T, Farias I P, et al. Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change[J]. *Mol Ecol*, 2006, 15(14): 4361–4373.
- [24] Broughton R E, Milam J E, Roe B A. The complete sequence of the zebrafish (*Danio rerio*) mitochondrial genome and evolutionary patterns in vertebrate mitochondrial DNA[J]. *Genome Res*, 2001, 11(11): 1958–1967.
- [25] 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]. *Heredity*, 1998, 89: 415–426.
- [26] 李乃胜, 赵松龄, 鲍瓦西里耶夫. 西北太平洋边缘海地质[M]. 哈尔滨: 黑龙江教育出版社, 2000: 53–66; 435–472.
- [27] 张丽艳, 苏永全, 丁少雄, 等. 福建近海蓝圆鲹种群遗传多样性的 AFLP 分析[J]. *水产学报*, 2010, 34(5): 680–687.
- [28] Hewitt G M. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation[J]. *Biol J Linn Soc*, 1996, 58: 247–276.
- [29] Allendorf F W, England P R, Luikart G, et al. Genetic effects of harvest on wild animal populations[J]. *Trends Ecol Evol*, 2008, 23(6): 327–337.
- [30] Liu J X, Gao T X, Wu S F, et al. Pleistocene isolation in the marginal ocean basins and limited dispersal in a marine fish, *Liza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845)[J]. *Mol Ecol*, 2007, 16: 275–288.
- [31] 曾刚. 福建近海沿岸水及其水文状况[J]. *海洋通报*, 1986, 5(8): 32–37.
- [32] 汪伟洋, 张壮丽, 叶孙忠, 等. 闽南、台湾浅滩渔场中上层鱼类资源监测[J]. *海洋渔业*, 1997, 19(3): 113–116.

Genetic polymorphism of mitochondrial control region and *cyt b* in *Trachurus japonicus* from Fujian coastal waters

NIU Sufang, SU Yongquan, WANG Jun, ZHANG Liyan, ZENG Huasong, ZHANG Man

College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract: *Trachurus japonicus* is a pelagic fish in Carangidae family mainly distributing in coastal waters of China, Japan and Korea. It has been an important commercially marine fish in China since 1960s. But the natural population genetics and resource quantity of *T. japonicus* have been declined rapidly due to over-fishing, degradation of its natural habitats and so on in recent years, whereas little knowledge is available about its population genetic structure. The distribution of genetic diversity and genetic structure in wild stocks of *T. japonicus* seems emergent and the conservation strategies should be developed nowadays. The complete mitochondrial DNA control region (861–866 bp) was amplified by means of PCR and sequenced from two *T. japonicus* populations collected from coastal waters in Eastern Fujian ($n=30$) and Southern Fujian ($n=30$). The result showed that 66 variable nucleotide sites were detected and 53 haplotypes were identified in two populations for control region sequence, but only three shared haplotypes were observed. The global haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) were 0.993 and 1.093, respectively. Thirty-seven variable sites were recoded in the aligned sequences of partial cytochrome *b* gene (930 bp), and 25 haplotypes were recovered in 41 specimens. The average haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) of two populations were 0.937 and 0.336, respectively. Cytochrome *b* gene encoded 330 amino acids and the amino acid chain had only one haplotype. Each population had good haplotypic diversity and low nucleotide diversity in both mtDNA control region and cytochrome *b*, and the genetic diversity in Southern Fujian population was higher than that in Eastern Fujian one. *Decapterus maruadsi* was chosen as out-group in this study, and neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree was constructed based on the haplotypes from the two populations of *T. japonicus*. The result showed that the two populations might have originated from one clade. Analysis of molecular variance (AMOVA) by ARLEQUIN version 3.1 revealed that the variation occurred mostly within the two populations for no significant population genetic structure existed throughout examined range, which was in consistent with neighbor-joining phylogenetic tree and haplotype network. The pairwise Kimura 2-parameter genetic distances calculated by MEGA version 4.0 were also small between the two populations. The demographic history of *T. japonicus* was examined by using neutrality tests and mismatch distribution analysis. The neutral test of Fu' F_s , which is devised specifically to detect population expansion and is sensitive to the presence of singletons in a sample, showed several highly significant negative values and the pairwise nucleotide differences distribution showed a singlet, indicating population expanded 62 000–205 000 years ago. The result showed that *T. japonicus* had low genetic diversity and genetically homogeneous population structure between the two populations, and this might be caused by population expansion, strong diffusion capacity and oceanographic current in East China. All these results would be very important and useful for making scientific strategy for the natural resource protection and genetic breeding of this fish. [Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(1): 66–74]

Key words: *Trachurus japonicus*; Fujian coastal waters; control region; *cyt b*; genetic diversity; genetic structure

Corresponding author: WANG Jun. E-mail: junw@xmu.edu.cn