

基于 D-LOOP 基因的中国沿海鳊鱼(*Ilisha elongata*) 种群遗传结构研究*

吴常文 许逸天 吕振明 张建设

(浙江海洋学院 舟山 316004)

提要 采用线粒体控制区基因序列测定技术, 分析了我国沿海重要经济鱼类鳊鱼 4 个地理群体的遗传结构及其变异。结果表明, 我国的鳊鱼资源经过度捕捞后仍保持着丰富的遗传多样性, 在检测的 45 个鳊鱼个体中共得到 44 个单倍型, 单倍型多样性指数(H)高达 0.964—1.000, 平均核苷酸多样性指数(P_i)高达 0.0100—0.0152, 鳊鱼种群的多样性还表现在线粒体控制区的序列长短上, 研究表明, 鳊鱼线粒体控制区存在一个 40bp 长度的重复序列, 依据重复次数的多寡而造成鳊鱼个体间的显著差异, 对鳊鱼群体的遗传结构进行检测发现, 我国鳊鱼群体内部存在明显的遗传分化, 青岛群体与广州、厦门、舟山 3 个群体之间分化系数 F_{st} 达 0.5284($P < 0.01$), 群体间基因流则仅有 0.4463, 而 3 个群体内部则基因流明显; AMOVA 检测和聚类分析也证实了上述观点, 遗传距离分析表明青岛群体和其它 3 个群体净遗传距离达到 0.034, 仍属于种内群体之间的分化水平, 依据分子钟理论推断两群体间的分化时间为更新世晚期, 可能由更新世晚期海平面的反复升降导致了这两个类群的隔离与分化, 并依靠鳊鱼本身的生物学特性维持至今。

关键词 鳊鱼, D-LOOP 基因, 遗传变异

中图分类号 Q953

对鱼类种群遗传结构的研究和了解是当前渔业资源管理的重要组成部分(Tudela *et al*, 1999)。对种群遗传结构的研究不仅可以为鱼类资源的种群识别(Amaral *et al*, 2007; Beheregaray *et al*, 2001)、谱系发生(王成辉等, 2004)、扩散规律(Lintas *et al*, 1998)、适应性判定(Frankham, 1995)提供基本信息, 同时也为鱼类资源的保护、种群恢复等人工措施提供理论基础(Han *et al*, 2008a, b)。近年来, 随着国际社会对近岸和海洋鱼类资源开发和管理的不断深入, 鱼类种群结构和遗传变异的研究再一次成为人们关注的焦点, 以形态、染色体及基因组 DNA 为基础的种群遗传变异已在浅海鱼类、深海鱼类(权洁霞等, 1999)及岛礁鱼类(Han *et al*, 2008a, b)中得到广泛研究。

我国海域地处西北太平洋, 有着独特的生物区系, 孕育着我国丰富的渔业资源, 多年来为了对我国

海洋鱼类资源进行有效的开发和管理, 许多学者对黄渤海、东海和南海的鱼类种群结构和遗传变异进行了广泛的研究(蒙子宁等, 2003; 王伟继等, 2000; 韩志强等, 2006; Shang *et al*, 2008, 为我国鱼类资源的健康和持续发展作出了重要贡献, 但迄今为止, 在同样是重要经济鱼类的鲱科鱼类上, 类似的研究相对较少。

鳊 *Ilisha elongata* 是我国沿海一种重要的鲱科鱼类, 又名曹白鱼、鲞鱼, 属鲱形目、鲱科、鳊属, 广泛分布于黄渤海、东海、南海水域, 其肉味鲜美, 营养丰富, 是我国传统名贵鱼类, 鳊鱼的干制品, 如广东的曹白鱼鲞、浙江的糟鲞已久负盛名。鳊鱼在我国沿海资源相当丰富, 一直是沿海居民重要的渔获对象, 其产量常年维持在数万吨, 1999 年我国鳊鱼产量达到历史最高水平 11.04 万吨, 占当时全国捕捞渔

* 国家科技支撑计划项目, 2007BAD43B00; 浙江省重大科技计划国际合作项目, 2006C14017。吴常文, 教授, E-mail: wucw08@126.com

收稿日期: 2008-05-15, 收修改稿日期: 2008-07-18

业总产量的 1%(张秋华等, 2006)。但尽管如此, 我国对鳊鱼的基础生物学和资源状况的了解相对较少, 仅见部分文献对局部海域鳊鱼性腺发育(龚启祥, 1989)、性比(倪海儿, 1994)、年龄和生长等基本生物学特征及种群动态等的调查(陈必哲等, 1993), 而从种群遗传结构角度对鳊鱼群体在我国沿海的分布规律和种群关系的研究还一直未有人涉及, 这大大影响我国对鳊鱼资源的长期有效管理。近年来, 随着沿海渔业资源开发力度不断加强, 我国鳊鱼资源也已呈现过度开发的现象, 资源量衰退严重(陈必哲等, 1993), 使人们必须从更深层次对我国鳊鱼资源进行了解, 以利其深入开发和保护, 这无疑也需要鳊鱼种群遗传结构信息。

在这种背景下, 本文采用线粒体基因测序技术对我国鳊鱼资源的种群遗传结构进行研究, 选取了变异快、多态性高、适于种内遗传结构分析的线粒控制区序列(D-LOOP 基因), 从线粒体 DNA 入手, 检测鳊鱼群体中常规形态学无法反映的微细遗传结构, 从而为今后鳊鱼更合理的开发、管理奠定基础, 同时也对多年来的过度捕捞对鳊鱼种群遗传变异产生的潜在影响进行探索, 为今后的有效保护提高基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

鳊鱼(*Ilisha elongata*)取自黄、渤海、东海和南海海域, 具体见表 1, 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。

表 1 鳊鱼样品采集地点和样本数
Tab.1 The location and number of samples of *I. elongata*

所属海域	采集地点	样本数
黄、渤海	山东青岛	10
东海	浙江舟山	11
东海	福建厦门	12
南海	广东广州	12

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 DNA 提取参考《分子克隆实验指南》, 采用常规酚-氯仿方法进行(Sambrook *et al.*, 1989), DNA 样品加 50 μ l 双蒸水溶解, 置于 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 D-LOOP 基因扩增 线粒控制区序列的扩增参照 Atarhouch 等(2006)的方法进行, 稍加改进。具体方法为: 扩增引物 DL-S, 5'-TGTAATCCGGAGATCGGAGGTT-3'; DL-R, 5'-GGCCCTGAAATAGGAAC

CA-3'; 序列扩增采用 50 μ l 反应体系, 其中含 2.0mmol/L MgCl₂、0.2mmol/L 每种 dNTPs、0.2 μ mol/L 每个引物、50ngDNA 模板、4U *Taq* 酶及 1 \times 缓冲液; PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min 后, 94 $^{\circ}$ C 变性 1min, 51 $^{\circ}$ C 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7min, 共 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5min。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。

1.2.3 测序 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。

1.2.4 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 DNAsp4.10 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, 系统树采用 NJ 模型进行构建, 并采用 bootstrap(重复次数 1000)检验聚类树各分支置信度; 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 1000), 群体间基因流 Nm 由公式 $Nm = (1 - F_{st})/2F_{st}$ 计算而得。采用 Tajima's D 检验和 Fu's F_s 检验来检测中性假说是否成立, Tajima's D 和 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(Han *et al.*, 2008a, b)。

2 结果

2.1 鳊鱼 D-LOOP 基因的序列组成及变异

采用 Clustal w1.83 软件对 4 个鳊鱼群体共 45 个个体的 D-LOOP 序列进行比对, 获得了一个长度为 739bp 长度的同源序列, 经分析, 该序列的 T、C、A、G 碱基含量分别为 35.3%、15.7%、37.5%和 11.6%。A+T 含量(72.8%)大大高于 G+C(27.2%)的含量, 符合 D-LOOP 基因的一般特点。DNAsp4.10 软件分析显示, 45 个个体共检测到 90 个多态位点(简约信息位点 51 个), 占分析位点总数的 12.2%, 主要发生在 D-LOOP 基因的两端区域, 其中转换位点 76 个, 颠换位点 6 个, 转换与颠换共同存在的位点 8 个(图 1), 共检测到 175 个插入和缺失位点, 占分析位点总数的 23.7%, 碱基插入主要发生在 374-534bp 之间的中央区域, 为大片段插入, 在各群体中均普遍存在, 主要是以 TATATG CATTATTATACATATATATATGGTATAGTACATA 40bp 的重复片段的形式进行, 每个个体至少含有一个片段, 但最多含有 5 个连续重复片段。如图 2 所示。

	1222238999	11111111	111111112	222222222	222222222	222223333	333345555	556666666	666666667
	9012319234	9900113446	6777778880	0011122223	3333444555	7789901222	2348226667	8800112235	5666789901
	CTGCATTTCT	TTCAAGCACCC	TCAATAAGTA	TAAACCCAAG	AACGATATCG	CATCTCATTG	ATCCCATAGG	TGATATGAAA	CTATACACGA
G01	..A.GA..	..T..	..A.G..	..T..	..G..	..G..	..G.A..	..A..T..	..TT..
G02	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..TT..
G03	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..GC..	..G..	..A.C..	..T..TT..
G04	..AGA..	..A..T..	C..A.G..	..T..	..G..	..G..	..G..	..A..T..	..TT..
G05	..GGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..T..	..A..	..A..	..G..TT..
G06	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G.TC..	..A..	..A..G	..TT..
G07	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..TT..
G08	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..TT..
G09	..AGG..	..T..	..ACG..	..G..	..G..	..G..	..A..	..AG..	..TTA..
G10	..AGA..	..T..	..GGA..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..T..TT..
G11	..AGA..	..GT..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..C..TT..G
G12	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..T..	..C..	..A..	..TT..
X01	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..TT..
X02	..AGA..	..GT..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..C..TT..G
X03	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..TT..
X04	..AGA..	..GT..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..C..TT..G
X05	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G.T..	..T..A..	..A..	..TT..
X06	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..G.T..	..A..	..A..	..T..TT..
X07	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..CA..C..G	..A..	..TT..
X08	TGAAGA..T	..T..	..A.G..	..GT..	..A..	..G..	..G.A..	..A..T..	..TC..TT..G
X09	..AGA..ATG	GG..TT	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..C..	..A..	..TT..
X10	..AGG..	..T..	..G..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G..	..A..T..	..TT..
X11	..AGA..	..T..	..A..	..G..	..G..	..GC..	..G..	..A..	..TT..
X12	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..GC..	..G..	..A..	..T..TT..
Z01	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G.A..	..A..G..	..TT..
Z02	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..A..	..T..	..A..	..A..	..G..TT..
Z03	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G.T..	..G..	..A..	..TT..
Z04	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G.A..	..A..G..	..TT..
Z05	..AGA..	..TT..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..TT..
Z06	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..TTA..
Z07	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..G..	..A..A..	..TTA..
Z08	..GA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..T..TT..
Z09	..AGA..	..T..	..G..A.G..	..G..	..G..	..G.T..	..G..	..A..CA..	..TT..
Z10	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G.T..	..G..	..A..	..TT..
Z11	..AGA..	..T..	..A.G..	..G..	..G..	..G..	..A..	..A..	..TT..
Q01	..AGAC..	..T..TT	..G..A.G..	CGG..T..	GG..GC..CTA	..C..C..A	..CG..A	..A..G..A..	..TT..
Q02	..AGA..	..AT..TT	..G..A.G..	GG..T..	GG..GC..CTA	..C..GC..A	..CG..A	..A..G..A..	..TT..
Q03	..AGA..	..GAT..TT	..G.C..A.G..	GG..T..	GG..GC..CTA	..C..TGC..A	..CG..A	..A..G..A..	..TT..
Q04	..AGA..	..AT..TT	..G..A.G..	GG..T..	GG..GC..CTA	..C..GC..A	..G..A	..A..G..A..	..TT..
Q05	..AGA..	..T..TT	GG..A.G..	G..T..	G..C..CTA	..C..GC..A	TTT-CG..A	..A.CG..AG..	..G..TT..
Q06	..AGA..	..AT..TT	..G..A.G..	GG..T..	GG..GC..TA	..C..GC..A	CG..A	..A..G..AG..	..TT..
Q07	..AGA..	..T..TT	..G..A.G..	G..T..	GG..C..CTA	..C..GC..A	CG..A	..A.CG..AG..	..G..TT..
Q08	..AGA..	..G..AT..TT	..G.C..A.G..	GG..T..	GG..CC..CTA	..C..GC..A	CG..A	..A..G..A..	..TT..
Q09	..AGA..	..AT..TT	..G.C..A.G..	GG..T..	GG..GC..CTA	..C..GC..A	CG..A	..A..G..A..	..TT..
Q10	..AGA..	..AT..TT	..G..A.G..	GG..T..	GG..GC..CTA	..C..GC..A	CG..A	..A.CG..A..	..TT..

图1 鳊鱼 45 个个体 D-LOOP 序列的变异位点(未记插入或缺失)

Fig.1 Variable sites in segments of mtDNA control region in 45 individuals of *I. elongata*

注：图中数值代表变异位点位置；G 代表广州群体；X 代表厦门群体；Z 代表舟山群体；Q 代表青岛群体

2.2 鳊鱼种群的遗传结构分析

采用 DNAsp4.10 和 Arlequin 3.01 软件对 4 个鳊鱼群体 45 个个体的 D-LOOP 序列进行分析, 共检测出 44 个单倍型, 其中广州群体 12 个, 厦门群体 12 个, 舟山群体 10 个; 青岛群体 10 个, 不同群体间均无共享单倍型, 且不同单倍型在许多位点上表现出明显特异性。对各群体的遗传变异参数进行统计, 结果如表 2 所示, 各群体单倍型多样性指数 (H) 在 0.964—1.000 之间, 核苷酸多样性指数 (P_i) 在 0.0100—0.0152 之间, 平均核苷酸差异数 (K) 在 5.800—9.803 之间, 多样性参数从北向南有依次递增的趋势。对 4 个群体中性假说检验结果表明, Tajima's D 和 Fu's F_s 在 4 个群体中均为负值, 且 4 个群体 Fu' F_{st} 检验均达到显著 ($P < 0.05$), Tajima's D 检验除舟山群体外也均达到显著 ($P < 0.05$), 因此均支持 4 个群体遗传结构偏离中性假说, 内部存在自然选择作用。

对 4 个群体间的分化指数和基因流进行计算, 结果如表 3 所示, 青岛群体与其它 3 个群体均存在显著的遗传分化 ($F_{st} P < 0.01$), 基因流 Nm 均小于 1; 而其它 3 个群体之间遗传分化均不显著 ($F_{st} P > 0.05$), 基因流 Nm 在 14.8186—35.4971 之间。说明青岛群体与其它群体之间亲源关系较远, 而其它 3 个群体亲源关系较近; 将青岛群体归为一个类群, 而将其它 3 个群体归为一个类群, 再次进行遗传分化和基因流计算, 结果表明两者的遗传分化 F_{st} 值达到 0.5284, 且极显著 ($P < 0.01$), 基因流 Nm 为 0.4463。经 AMOVA 分析鳊鱼群体中 52.84% 的差异存在于群体间, 而有 47.16% 的差异存在于群类的个体之间, 说明群体间确实存在遗传分化。

2.3 遗传距离估算和聚类分析

采用 Mega 3.1 软件对 45 个个体进行 NJ 聚类分析, 为了更清楚分析两类群间的分化情况, 引入 Genbank 中已报道的同科鱼类大西洋鲱 (*Clupea*

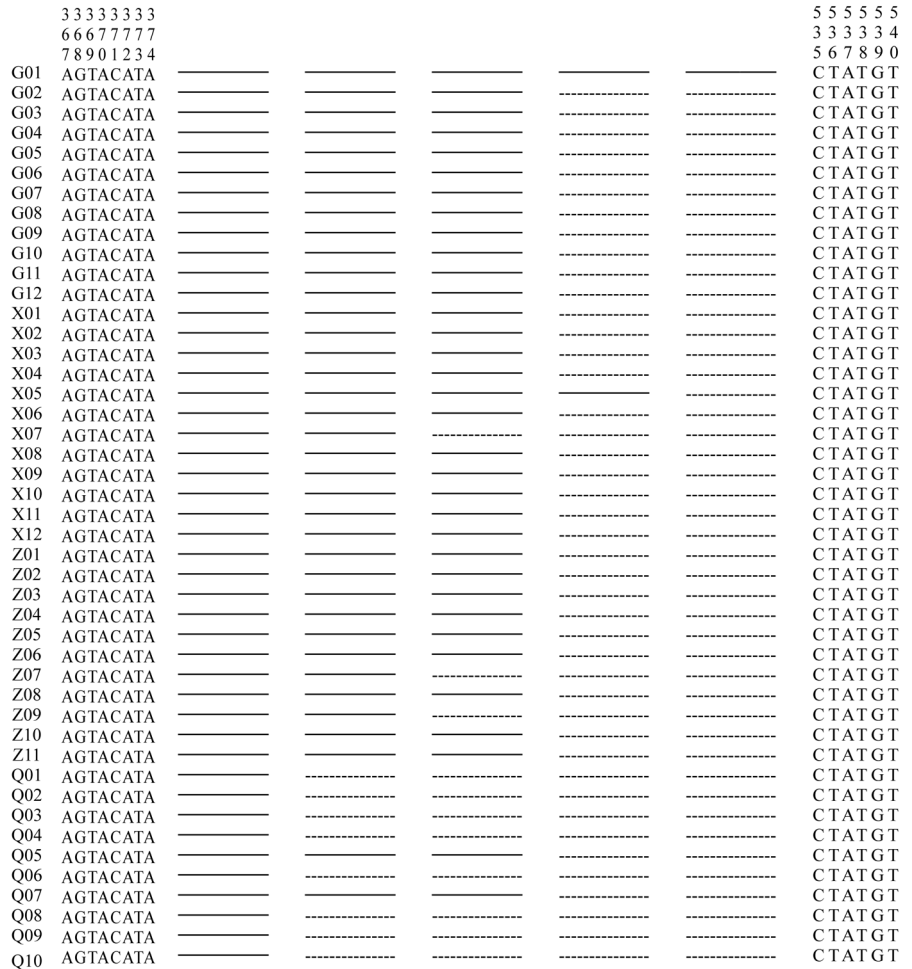


图 2 鳊鱼线粒体控制区重复序列的排序示意图

Fig.2 The diagram of aligned repeated segments in mtDNA control region of *I. elongata*
注: “—————” 代表 TATATGCATTATTATACATATATATATGG TATAGTACAT 插入序列,
“-----” 代表相应的缺失

harengus) (登陆号为 NC_009577) 和同属鱼类西非鳊 (*Ilisha africana*) (登陆号为 NC_009584) 作为外群, 并采用 bootstrap (重复次数 1000) 检验聚类树各分支置信度, 结果表明, 45 个个体明显可聚为两大支, 一支由青岛群体组成 (Clade A), 另一支舟山、厦门和广州群体组成 (Clade B), 两支的置信度均达到 84% 以上; 而两分支内部, 青岛群体 10 个个体能单独聚成一支; 而舟山、厦门和广州群体中的个体则在群间混杂交聚群, 经计算两支间的净遗传距离达到 0.034。

3 讨论

3.1 鳊鱼线粒体控制区序列的特征

线粒体 DNA 是动物体内惟一发现的核外遗传物质, 由于其结构简单、稳定、世代间没有基因重组且进化速度较快, 能更直观保存群体突变的发生特点,

表 2 鳊鱼种群的遗传变异参数统计
Tab.2 Statistics in parameter of genetic variation in *I. elongata* populations

变异参数	广州群体	厦门群体	舟山群体	青岛群体
个体数	12	12	11	10
单倍型数(N_{Hap})	12	12	10	10
单倍型多样性指数(H)	1.000 ± 0.034	1.000 ± 0.040	0.964 ± 0.051	1.000 ± 0.045
核苷酸多样性指数(P_i)	0.0152 ± 0.0018	0.0136 ± 0.0025	0.0113 ± 0.0015	0.0100 ± 0.0019
平均核苷酸差异数(K)	9.803	8.152	6.609	5.800
Tajima's D 检验统计量	- 1.95259 ($P < 0.05$)	- 1.87495 ($P < 0.05$)	- 1.38274 ($P > 0.05$)	- 1.60819 ($P < 0.05$)
Fu' F_{st} 检验统计量	- 4.96369 ($P < 0.05$)	- 5.95974 ($P < 0.01$)	- 3.34682 ($P < 0.05$)	- 5.28942 ($P < 0.05$)

表 3 鳊鱼种群的遗传分化和基因流
Tab.3 Genetic divergence and gene flow among *I. elongata* populations

种群	广州群体	厦门群体	舟山群体	青岛群体
广州群体	—	12.2226	16.8611	0.3205
厦门群体	0.0393 ($P > 0.05$)	—	21.7222	0.6547
舟山群体	0.0288 ($P > 0.05$)	0.0225 ($P > 0.05$)	—	0.8340
青岛群体	0.6094 ($P < 0.01$)	0.4330 ($P < 0.01$)	0.3748 ($P < 0.01$)	—

因而被广泛运用于物种的遗传变异中, 本文选取了线粒体基因组中碱基序列和长度变异最大、碱基替换速率快的非编码区 D-LOOP 基因作为衡量我国鳊鱼群体遗传结构的分子标记, 取得了较好的分析效果。结果表明鳊鱼不同个体和群体间不仅存在位点序列的变异, 而且还存在序列长度的多态性, 这种序列长度的多态性由一个 40bp 的核苷酸片段经不同次数重复造成。D-LOOP 基因存在这种多次重复序列, 在大西洋鳕(*Gadus morhua*)、美洲黄盖鲈(*Limanda ferruginea*)、美洲拟鲈(*Pseudopleuronectes americanus*)、美洲拟庸鲈(*Hippoglossoides platessoides*) (Woo-Jai *et al.*, 1995) 及美洲白鲟(*Acipenser transmontanus*) (Buroker *et al.*, 1990) 中都有发现, 而在一个群体的不同个体存在重复次数的差异, 报道较少, 但在鲱形目鱼类中颇有几例: 杨金权等(2008)报道了中国长江口刀鲚(*Coilia nasu*) 3 个群体的 D-LOOP 基因的遗传变异, 发现刀鲚个体间 D-LOOP 基因存在着一个 38bp 的重复序列造成了基因长度多态性; 唐文乔等(2007)报道了我国短颌鲚(*C. brachygnathus*) 和湖鲚(*C. nasustaihuensis*) 群体 D-LOOP 基因的遗传多样性, 也发现 2 种鱼类种内个体间存在显著的基因长度多态性; Bentzen 等(1988)在美洲西鲱(*Alosa sapidissima*) 中也有相同的报道, 因而这种重复序列造成的线粒体控制区长度多态性可能是鲱形目鱼类的一个显著特征。关于这种重复序列长度多态性的来源, Buroker 等(1990)认为可能与重复序列本身在 DNA 复制过程

形成的稳定二级结构造成复制出错有关, 而 Wilkinson 等(1991)则认为可能与分子间和分子内重组、滑动错配(Slipped misPairing)、非正常延长(Illegitimate elongation)和转座(Transposition)等因素有关。张四明等(1999)认为, 正是这种序列重复次数的差异可以造成物种不同类群间整个 mtDNA 控制区的巨大差异, 这种差异不但可以弥补由于遗传漂变和选择造成的遗传多样性丧失, 也可能是某些鱼类增加遗传变异的一种方式, 对维持物种的生存有一定的作用。

3.2 中国沿海鳊鱼种群遗传多样性与历史动态

采用 D-LOOP 基因对黄渤海、东海、南海鳊鱼 4 个地理群体的遗传结构进行研究, 结果发现, 鳊鱼群体中存在较高的遗传多样性。这种多样性不仅反映在上述基因序列长短和位点变异上, 而且也反映在各遗传参数统计量上, 其中单倍型多样性指数(H)和核苷酸多样性指数(P_i)是两个最能反映遗传多样性的指标(杨博等, 2008)。从单倍型多样性指数(H)值来看, 在所检测的 45 个鳊鱼个体中, 除舟山群体中有 2 个个体共享一个单倍型外, 其它个体均独占一个单倍型, 因而造成各群体的单倍型多样性指数在一个非常高的水平(0.964—1.000), 这种丰富的单倍型多样性是陆生生物中很少见的, 但在海洋鱼类中, 特别是鲱形目鱼类中则相当普遍(杨金权等, 2008; 唐文乔等, 2007; Atarhouch *et al.*, 2006)。从 P_i 值来看, 各群体的 P_i 值在 0.0100—0.0152 之间, 高于许多海洋性鱼

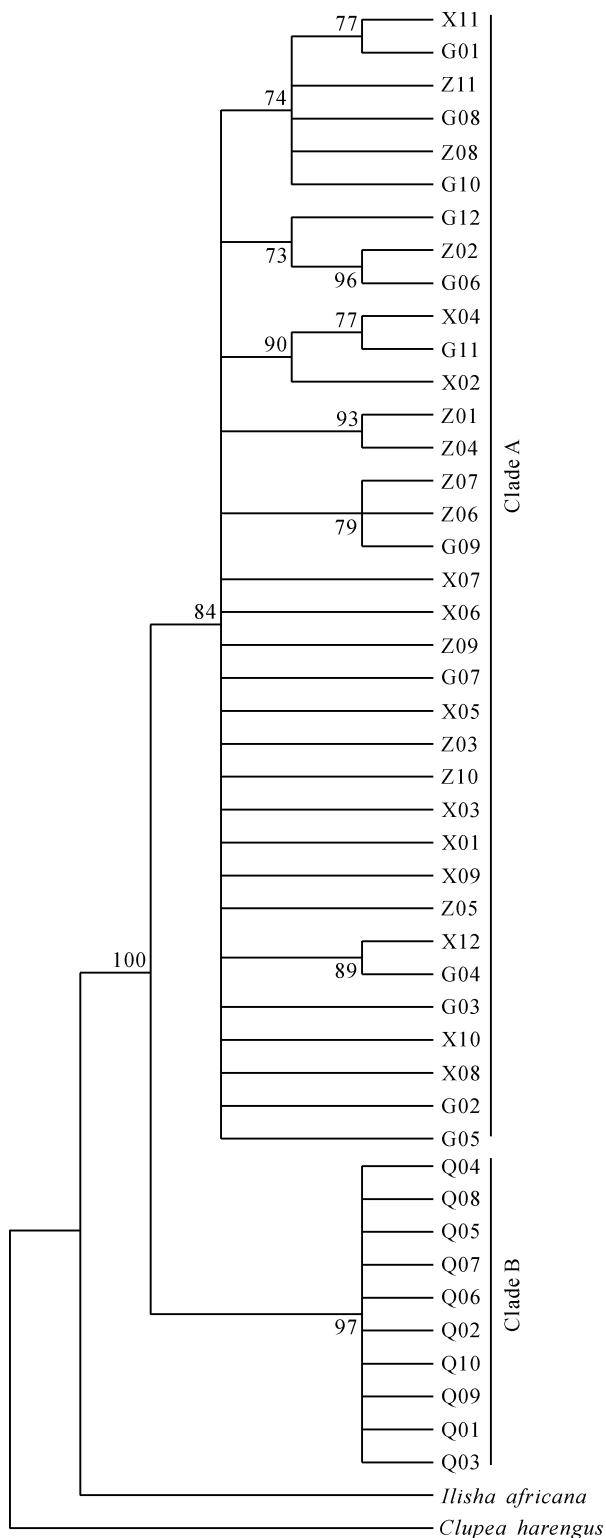


图3 鳊鱼不同个体的 NJ 聚类分析

Fig.3 Neighbor-joining tree constructed from genetic distance among *I. elongata* individuals

注: G 代表广州群体; X 代表厦门群体; Z 代表舟山群体; Q 代表青岛群体; *Ilisha africana* 为与鳊同属的西非鳊; *Clupea harengus* 为与鳊同科的大西洋鲱

类,甚至高于同目的鳊属和鲱属的部分种类(*Engraulis japonicus*、*Coilia nasu*) (Bowen *et al*, 1997; 杨金权等, 2008); 这些都说明, 尽管我国沿海鳊鱼群体从 20 世纪 80 年代后就开始经历严酷的过度捕捞, 资源量急剧下降, 但其遗传多样性还保持在较高的水平。尽管如此, 相对于极高的 H 值而言, P_i 值仍相对偏低, 这种高 H 值和低 P_i 值反映了鳊鱼种群确实经历过瓶颈效应, 但随后经历了种群的迅速扩张, 种群通过变异积累了单倍型多态性, 但却还未能积累核苷酸序列的多样性(Avise, 2000), Tajima's D 和 Fu's F_s 检验也同样证明了鳊鱼群体在历史上的群体扩张事件, 这可能与地球间冰期造成物种种群的普遍增长有关 (Han *et al*, 2008a, b)。

3.3 中国沿海鳊鱼种群的分化和地理格局

对 4 个鳊鱼群体的遗传分化和基因流计算结果表明, 我国鳊鱼群体内部已经发生了明显的遗传分化, 4 个群体中的青岛群体与其它 3 个群体的分化系数达到 0.5284, 且达到极显著($P < 0.01$)。Nm 值也说明了这一点, 一般认为, 群体之间的 $Nm < 1$ 说明群体可能由于遗传漂变而发生了分化(Millar *et al*, 1991); 而 $Nm > 1$ 表明群体间的基因流的水平较高, 群体间遗传分化较小; 当 $Nm > 4$ 时, 种群间的基因交流更为充分, 遗传分化更小。本研究中舟山、厦门和广州 3 个群体间的 Nm 值均大于 14, 说明这 3 个群体之间有着广泛的基因交流, 但青岛群体与其它 3 个群体间的 Nm 值却仅有 0.4463, 说明两者之间确实发生了明显的遗传分化。该结论同样被随后的 AMOVA 检测和聚类分析的结果所证实。为了更好地展示 4 个鳊鱼群体的分化程度, 引入同属鱼类西非鳊和同科的大西洋鲱作为外群进行聚类, 结果发现本研究中的 4 个鳊鱼群体个体与西非鳊和大西洋鲱有着更明显的遗传差异, 结合青岛群体与其它 3 个群体间遗传差异水平与已研究的许多海洋鱼类群体间差异相当(Liu *et al*, 2007; Han *et al*, 2008a, b), 因此认为鳊鱼两个类群的分化仍属种内群体间的分化; 至于两个类群的分化时间, Bowen 等(1997)提出了同目的沙丁鱼线粒体控制区的进化速率为 15%—20%/百万年, 如果将该进化速率应用于近缘的鳊鱼上, 那么本研究中的两个类群的分化时间大体在 11.5—15.3 万年前的更新世晚期, 可能正是由于更新世晚期海平面的反复升降导致了这两个类群的隔离与分化, 分化后的群体在随后的时间里可能由于某种特殊的因素而使这种分化维持至今。对当前鳊鱼群体资源学的分析也表明, 青岛群体

所在的黄、渤海海域鳊鱼组成了一个群系, 并仅局限于在海洲湾、山东半岛南岸、黄海北部和渤海三湾等有限的区域中进行洄游和扩散(张秋华等, 2006), 可能正是这种生物学特性强化黄、渤海群体与其它群体的隔离, 并将分化维持至今。但对于上述群体分化的确切原因和具体过程还需要结合更多的地理历史学和生物学方面资料才能加以阐明。

参 考 文 献

- 王成辉, 李思发, 邹曙明, 2004. 中国红鲤四群体线粒体 DNA 遗传多样性、起源及分化. 水产学报, 28(6): 640—644
- 王伟继, 孔 杰, 庄志猛等, 2000. 真鲷野生群体和人工繁殖群体的同工酶遗传差异. 生物多样性, 8(4): 391—396
- 权洁霞, 戴继勋, 尚 迅, 1999. 海洋生物遗传多样性研究现状. 青岛海洋大学学报, 29(2): 283—288
- 杨 博, 陈小勇, 杨君兴, 2008. 白鱼线粒体 DNA 控制区结构和种群遗传多样性分析. 动物学研究, 29(4): 379—385
- 杨金权, 胡雪莲, 唐文乔等, 2008. 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. 动物学杂志, 43(1): 8—15
- 张四明, 邓 怀, 汪登强等, 1999. 中华鲟(*Acipenser sinensis*)mtDNA 个体间的长度变异与个体内的长度异质性. 遗传学报, 26(5): 489—496
- 张秋华, 程家骅, 徐汉祥, 2006. 东海区渔业资源及其可持续利用. 上海: 复旦大学出版社, 299—305
- 陈 骁, 杨圣云, 潘 聪, 2008. 中国南部沿海条纹斑竹鲨遗传多样性研究. 厦门大学学报, 47(4): 580—584
- 陈必哲, 张澄茂, 1993. 厦门近海鳊鱼生殖群体生长与资源状况. 福建水产, 4: 35—38
- 倪海儿, 1994. 东海鳊鱼雌雄性状比较及其鉴别. 浙江水产学院学报, 13(2): 94—98
- 唐文乔, 胡雪莲, 杨金权, 2007. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性. 生物多样性, 15(3): 224—231
- 龚启祥, 1989. 东海鳊鱼精巢的周年变化. 浙江水产学院学报, 8(2): 87—94
- 韩志强, 庄志猛, 高天翔等, 2006. 半滑舌鳎 DNA 的群体遗传变异. 中国水产科学, 13(1): 13—19
- 蒙子宁, 庄志猛, 金显仕等, 2003. 黄海和东海小黄鱼遗传多样性的 RAPD 分析. 生物多样性, 11(3): 197—203
- Amaral A, Sequeira M, Mart í nez-Cedeira J *et al*, 2007. New insights on population genetic structure of *Delphinus delphis* from the northeast Atlantic and phylogenetic relationships within the genus inferred from two mitochondrial markers. Marine Biology, 151(5): 1967—1976
- Atarhouch T, Ruber L, Gonzalez E G *et al*, 2006. Signature of an early genetic bottleneck in a population of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*). Molecular Phylogenetics and Evolution, 39(2): 373—383
- Avise J C, 2000. Phylogeography the History and Formation of Species. Cambridge, Massachusetts London, England: Harvard University Press, 447—448
- Beheregaray L B, Sunnucks P, 2001. Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*. Mol Eco, 11(12): 2849—2866
- Bentzen P, Leggett W C, Brown G C, 1988. Length and restriction site heteroplasmy in the mitochondrial DNA of American shad (*Alosa sapidissima*). Genetics, 118: 509—518
- Bowen B W, Grant W S, 1997. Phylogeography of the sardines (*Sardinops* spp.): assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. Evolution, 51(5): 1601—1610
- Buroker N E, Brown J R, Gilbert T A *et al*, 1990. Length heteroplasmy of sturgeon mitochondrial DNA: an illegitimate elongation model. Genetics, 124: 157—163
- Frankham R, 1995. Conservation genetics. Annual Review of Genetics, 29: 305—327
- Han Z Q, Gao T X, Takashi Y *et al*, 2008a. Genetic population structure of *Nibea albiflora* in Yellow Sea and East China Sea. Fisheries Science, 74: 544—552
- Han Z Q, Li Y Z, Chen G B *et al*, 2008b. Population genetic structure of coral reef species *Plectorhynchus flavomaculatus* in South China Sea. African Journal of Biotechnology, 7(11): 1774—1781
- Lintas C, Hirano J, Archer S, 1998. Genetic variation of the European eel (*Anguilla anguilla*). Molecular Marine Biology and Biotechnology, 7(4): 263—269
- Liu J X, Gao T X, Wu S F *et al*, 2007. Pleistocene isolation in the Northwest Pacific marginal seas and limited dispersal in marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845). Molecular Ecology, 16: 275—288
- Millar C L, Libby W J, 1991. Strategies for Conserving Clinal, Ccotypic, and disjunct Population Diversity in Widespread Species. In: Fald D A, Holsinger K E ed. Genetics and Conservation of Rare Plants. New York: Oxford University Press, 149—170
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY
- Shang Y, Liu V, Tomoyuki Kokita, *et al*, 2008. Population genetic structure of the neon damselfish (*Pomacentrus coelestis*) in the northwestern Pacific Ocean. Mar Biol, 154: 745—753
- Tudela S, Garca-Marn J L, Pla C, 1999. Genetic structure of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the north-west Mediterranean. J Exp Mar Biol Ecol, 234: 95—109
- Wilkinson G S, Chapman A, 1991. Length and sequence variation in evening bat D-loop mtDNA. 128: 607—617
- Woo-Jai L, Janet C W, Huntting H *et al*, 1995. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. J Mol Evol, 41: 54—66

POPULATION GENETIC STRUCTURE OF *ILISHA ELONGATA* IN CHINA COASTAL WATER BASED ON D-LOOP GENE ANALYSIS

WU Chang-Wen, XU Yi-Tian, Lü Zhen-Ming, ZHANG Jian-She
(Zhejiang Ocean University, Zhoushan, 316004)

Abstract Population genetics is important for successful and sustainable long-term fishery resources management. The genetic structure and genetic variation of four populations of *Ilisha elongata* in China coastal water are investigated by applying mitochondrial control region gene sequencing technology. Results show that despite long-time over-fishing, genetic variation of the fish yet remains plentiful in natural resources. 44 hapotypes were detected out of 45 individuals from the four populations. The hapotype diversity (H) and mean nucleotide diversity (Pi) are 0.964—1.000 and 0.0100—0.0152, respectively. The high genetic variation can be also reflected by the sequence length variation in mitochondrial control region. Results revealed a 40bp length repetitive sequence in the mitochondrial control region. Individuals differed from each other in frequency and length of the repetitive sequences, which contributed much to the genetic diversity. Molecular variance analysis reveals a strong genetic structure among populations. High F_{st} value (0.5284, $P < 0.01$) and Nm (0.4463) indicate high genetic differentiation between Qingdao population and populations of Guangzhou, Xiamen, and Zhoushan, while no genetic differentiation was detected among the latter three populations. AMOVA test and NJ tree construction have also proved the genetic structure between Qingdao and other 3 populations. The net genetic distance between the two lineage was 0.034, suggesting a moderate and none sub-species differentiation. The two lineages may diverge in late Pleistocene indicated by molecular clock analysis. The divergence might be resulted from sea level fluctuation in late Pleistocene, which was maintained and further reinforced by the biological nature of *I. elongata* itself.

Key words *Ilisha elongata*, D-LOOP gene, Genetic variation