

我国沿海棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)群体遗传结构的 AFLP 分析*

郑德锋¹ 赵金良¹ 周文玉² 严骏骢¹

(1. 农业部水产种质资源与利用重点开放实验室 上海海洋大学 上海 201306;

2. 上海市水产研究所 上海 200433)

提要 利用 AFLP 技术分析了我国沿海棘头梅童鱼 8 个地理群体(山东荣成、江苏南通、启东、上海芦潮港、浙江温州、瑞安、福建福州和广州番禺)的遗传结构特征。10 对引物组合在 8 个群体 160 尾个体中共扩增出 272 个位点, 多态位点 72 个, 多态位点比例为 26.47%。8 个地理群体的多态位点比例、Nei 遗传多样性指数分别为 8.82%—15.07%、0.0291—0.0514, 表明棘头梅童鱼群体遗传多样性水平较低。AMOVA 分析表明, 群体间差异对群体遗传总变异的贡献率为 47.91%, 群体内差异的贡献率为 52.09%。8 个群体间的遗传分化指数(F_{st})为 0.1151—0.5995 ($P < 0.05$), 存在显著分化。聚类分析表明, 荣成与南通群体聚为一支, 启东、芦潮港、瑞安群体聚为一支, 温州、福州和番禺群体聚为一支。我国沿海棘头梅童鱼群体初步呈现南北分化的格局, 但不同类群间尚存在交叉分布。

关键词 棘头梅童鱼, 群体, 遗传结构, AFLP

中图分类号 Q346

棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus* Richardson)属鲈形目(Perciformes)、石首鱼科(Sciaenidae)、梅童鱼属(*Collichthys*), 为温水性、近底层小型海水经济鱼类, 栖息于近海、河口和港湾的低盐度水域, 自然分布于中国沿海、朝鲜西海岸、日本和菲律宾(朱元鼎等, 1963)。目前, 棘头梅童鱼的研究主要集中在资源调查、胚胎发育、仔幼鱼生长和人工繁殖等方面(吴常文等, 1991; 谢起浪等, 2006; 吴振兴等, 1990; 单乐州等, 2006, 2007)。

由于长期过度捕捞, 我国近海大、中型经济鱼类资源破坏严重, 如石首科的大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)、小黄鱼(*P. polyactis*)等(凌建忠等, 2006)。近年来, 小型经济鱼类棘头梅童鱼资源也出现了不同程度的破坏(王金辉等, 2007), 但相比而言, 棘头梅童鱼自然资源仍保持相对完整。因此, 棘头梅童鱼群体遗传学研究对深入了解我国近海鱼类, 特别是石首科鱼类的群体遗传结构具有极其重要的参考价值。

AFLP 技术具有信息量大、多态性丰富、重复可靠性高等优点(Vos *et al.*, 1995), 广泛应用于鱼类遗传多样性分析、种质鉴定、遗传图谱构建等领域(Liu *et al.*, 2004)。迄今, 国内已有应用 AFLP 分析真鲷、大黄鱼、黄姑鱼、褐牙鲷、紫红笛鲷、条斑星鲷等海水鱼类(王志勇等, 2002; 刘必谦等, 2005; 韩志强等, 2006; 张全启等, 2004; 张俊彬等, 2004; 马洪雨等, 2008)以及贝类(张龙岗等, 2009)遗传多样性的研究报道。本研究从分子水平分析棘头梅童鱼不同地理群体的遗传结构, 为我国沿海棘头梅童鱼种质资源保护与利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)样品于 2009 年 4 月和 5 月分别采集于山东荣成、江苏南通、启东、上海芦潮港、浙江瑞安、温州、福建福州、广州番禺海

* 上海市科技兴农重点攻关项目资助, 沪农科攻字(2007)第 4-2 号; 上海市重点学科建设项目资助, Y1101 号。郑德锋, E-mail: donaldzdf@163.com

通讯作者: 赵金良, 博士, 教授, E-mail: jlzhao@shou.edu.cn

收稿日期: 2009-10-28, 收修改稿日期: 2009-12-26

域, 每个群体随机取 20 尾样品, 取背部肌肉、尾鳍等组织, 酒精固定保存。

1.2 AFLP 实验

采用蛋白酶 K 和盐析法提取基因组 DNA, 限制性内切酶 *EcoR* 和 *Mse* 进行双酶酶切, 参照 Qi 等 (1997) 的方法设计接头、预扩增引物和选择性扩增引物。AFLP 反应体系与扩增条件参照 Vos 等 (1995)。预实验后, 选取 10 组引物组合: E-ACA/M-CAC、E-AGG/M-CAC、E-ACA/M-CTT、E-ACT/M-CTC、E-ACT/M-CAG、E-AAC/M-CAT、E-AAC/M-CAA、E-ACA/M-CAA、E-ACC/M-CAT、E-AAC/M-CTT 进行群体扩增。选择性扩增产物用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶, 在 2000V 恒电压下垂直电泳, 采用硝酸银染色、氢氧化钠快速显色法显带。

1.3 数据分析

读取清晰的 AFLP 图谱以 1、0 分别表示条带的有无, 将 AFLP 图谱转化为 0、1 数字矩阵。利用 Popgene1.32 (Yeh *et al.*, 1997) 软件, 计算以下遗传参数: 多态位点比例、Nei's 基因多样性、Shannon 信息指数以及 Nei 遗传距离 (D)。应用 Arlequin3.1 (Excoffier *et al.*, 1992) 软件进行分子方差分析 (AMOVA), 估算群体间的遗传分化指数 (F_{st})。聚类分析运用 MEGA3.0 (Kumar *et al.*, 2004) 软件构建 UPGMA 系统树。

2 结果

2.1 群体遗传多样性

10 对 AFLP 选择性扩增引物组合在棘头梅童鱼 8 个地理群体 160 尾样品中共扩增得到 272 个位点 (主要分布于 300—700bp 之间), 每对引物组合扩增平均位点数为 27.2 个, 其中多态性位点 72 个, 平均多态位点比例 26.47%, 未发现群体间特异性位点 (表 1)。其中, 引物组合 E-ACA/M-CAC 扩增位点数最多, 为

37 个, E-ACA/M-CAA 扩增位点数最少, 为 22 个。多态位点比例最高的引物组合是 E-AGG/M-CAC, 为 34.62%, 最低的是 E-ACA/M-CTT, 为 19.23%。

表 1 棘头梅童鱼 10 对 AFLP 引物组合扩增结果
Tab.1 Amplified bands of *C. lucidus* by 10 AFLP primer sets

引物组合	扩增位点数	多态位点数	多态位点比例 (%)
E-ACA/M-CAC	37	12	32.43
E-AGG/M-CAC	26	9	34.62
E-ACA/M-CTT	26	5	19.23
E-ACT/M-CTC	24	6	25.00
E-ACT/M-CAG	30	7	23.33
E-AAC/M-CAT	26	7	26.92
E-AAC/M-CAA	29	8	27.59
E-ACA/M-CAA	22	6	27.27
E-ACC/M-CAT	29	6	20.69
E-AAC/M-CTT	23	6	26.09
总数	272	72	26.47

棘头梅童鱼 8 个群体的多态性位点比例、Nei's 基因多样性和 Shannon 信息指数具有相同的变化趋势 (表 2)。除瑞安群体遗传多样性略偏低外, 其他群体的遗传多样性基本处于同一水平。

2.2 群体间遗传相似度和遗传距离

棘头梅童鱼 8 个群体间的遗传相似度为 0.9318—0.9892, 遗传距离为 0.0109—0.0706 (表 3)。福州和番禺群体之间遗传相似度值最大, 为 0.9892, 遗传距离值最小, 为 0.0109; 而福州与荣成群体之间遗传相似度值最小, 为 0.9318, 遗传距离值最大, 为 0.0706。

2.3 群体间遗传分化

应用分子方差分析 (AMOVA) 表明, 在 8 个群体的总变异量中, 群体间差异的贡献率为 47.91%, 群体内差异的贡献率为 52.09%。从遗传分化指数 (F_{st})

表 2 棘头梅童鱼 8 个群体的遗传多样性指数
Tab.2 Genetic diversities of 8 *C. lucidus* populations

群体	多态位点数	多态位点比例 (%)	Nei's 基因多样性 (H)	Shannon 信息指数 (I)
荣成	41	15.07	0.0514±0.1304	0.0778±0.1929
南通	35	12.87	0.0399±0.1174	0.0606±0.1727
启东	36	13.24	0.0406±0.1165	0.0622±0.1723
芦潮港	32	11.76	0.0368±0.1116	0.0563±0.1656
温州	33	12.13	0.0380±0.1173	0.0574±0.1707
瑞安	24	8.82	0.0291±0.1072	0.0430±0.1541
福州	32	11.76	0.0345±0.1052	0.0537±0.1581
番禺	33	12.13	0.0383±0.1100	0.0592±0.1660

表 3 棘头梅童鱼 8 个群体的遗传相似度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Tab.3 Genetic similarities (above diagonal) and genetic distances (below diagonal) among 8 *C. lucidus* populations

群体	荣成	南通	启东	芦潮港	温州	瑞安	福州	番禺
荣成	—	0.9477	0.9504	0.9547	0.9336	0.9496	0.9318	0.9387
南通	0.0538	—	0.9605	0.9515	0.9374	0.949	0.9393	0.9446
启东	0.0508	0.0403	—	0.9804	0.9596	0.9706	0.955	0.9656
芦潮港	0.0463	0.0497	0.0198	—	0.9537	0.9827	0.9528	0.9497
温州	0.0687	0.0646	0.0413	0.0474	—	0.9538	0.9833	0.979
瑞安	0.0518	0.0523	0.0298	0.0174	0.0473	—	0.959	0.9566
福州	0.0706	0.0627	0.046	0.0484	0.0168	0.0418	—	0.9892
番禺	0.0633	0.0569	0.035	0.0516	0.0212	0.0444	0.0109	—

看, 群体间两两比较的遗传分化指数变化范围为 0.1151—0.5995, 最大值 0.5995 出现在温州和瑞安群体之间, 最小值 0.1151 出现在福州与番禺群体之间, 各群体间存在显著差异($P < 0.05$)(表 4)。

依据 AFLP 数据构建了棘头梅童鱼 8 个地理群体 UPGMA 遗传关系树(图 1)。8 个群体聚为三大支: 荣成与南通群体聚为一支(北方类群); 启东、芦潮港、瑞安群体聚为一支(中部类群); 温州、福州与番禺群体聚为一支(南方类群)。

3 讨论

3.1 遗传多样性水平

遗传多样性是评价生物资源状况的一个重要依据, 它是物种适应环境变化、维持生存与进化的遗传基础。一般认为, 平均多态位点比例和基因多样性是衡量生物群体遗传多样性高低的重要参数(Richards *et al.*, 1996)。本研究发现, 我国沿海棘头梅童鱼 8 个地理群体的多态位点比例为 8.82%—15.07%、Nei's 基因多样性为 0.0291—0.0514。与其它已研究鱼类 AFLP 数据(表 5)相比, 棘头梅童鱼群体遗传多样性处

于较低水平, 特别是显著低于同科的大黄鱼官井洋野生群体(王志勇等, 2002)、浙江岱衢族群体(刘必谦等, 2005)、黄姑鱼群体(韩志强等, 2006)。这种现象一方面可能与棘头梅童鱼为石首科鱼类中分化较晚形成的种类, 尚未积累足够的遗传变异有关(蒙子宁等, 2004)。另一方面, 棘头梅童鱼生命周期短, 1 龄即达性成熟, 生殖群体以初次性成熟的补充群体为主、剩余群体为辅, 年龄结构组成简单, 资源破坏易、恢复快(吴常文等, 1991), 这些也可能是导致棘头梅童鱼遗传多样性维持较低水平的原因。

除瑞安群体遗传多样性略偏低外, 我国沿海棘头梅童鱼其它群体的遗传多样性处于同一水平。浙江飞云江口附近海域捕捞强度过大、资源量锐减明显, 且该海域产卵群仅有春宗群体(谢起浪等, 2006)可能是该群体遗传多样性偏低的主要原因。

3.2 群体遗传结构关系

棘头梅童鱼群体间的遗传距离变化范围为 0.0109—0.0706, 地理邻近群体间的遗传亲缘关系一般表现较近, 如广东番禺群体与福建福州群体间的遗传距离最小, 为 0.0109; 浙江瑞安群体与上海芦潮

表 4 棘头梅童鱼 8 群体间的遗传分化指数

Tab.4 Genetic divergence indexes among 8 *C. lucidus* populations

群体	荣成	南通	启东	芦潮港	温州	瑞安	福州
南通	0.4815*						
启东	0.4457*	0.4595*					
芦潮港	0.4533*	0.5349*	0.2739*				
温州	0.5872*	0.5964*	0.4594*	0.5204*			
瑞安	0.5308*	0.5661*	0.4271*	0.3440*	0.5995*		
福州	0.5488*	0.5539*	0.4580*	0.4976*	0.2839*	0.5161*	
番禺	0.5140*	0.5138*	0.3700*	0.4952*	0.3107*	0.5126*	0.1151*

*表示 $P < 0.05$

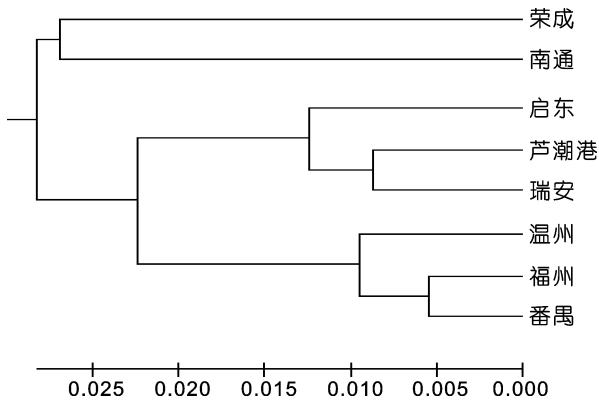


图1 棘头梅童鱼8个群体的UPGMA遗传关系

Fig.1 Genetic relationship of 8 *C. lucidus* populations by UPGMA

港群体的遗传距离为0.0174, 上海芦潮港群体与江苏启东群体的遗传距离为0.0198。但也有例外, 如浙江温州群体与瑞安群体间的遗传距离较大(0.0473)。但8个群体间遗传距离与其地理距离间无明显的相关性。

AMOVA分析表明, 棘头梅童鱼群体间总变异中的47.91%来源于群体间变异, 不同群体间的遗传分化指数为0.1151—0.5995, 群体间存在显著差异($P < 0.05$)。聚类分析结果表明, 我国沿海棘头梅童鱼大致分为3个大类群: 荣成与南通群体为北方类群, 启东、芦潮港和瑞安群体为中部类群; 温州、福州和番禺群体为南方类群, 不同海域棘头梅童鱼地理群体间初步呈现南北分化的格局。

表5 几种鱼类的遗传参数比较

Tab.5 Comparison of genetic parameters among some fish

种类	平均多态位点比例(%)	Nei's 基因多样性(H)	资料来源
棘头梅童鱼 <i>Collichthys lucidus</i>	8.82—15.07	0.0291—0.0514	本文
大黄鱼 <i>Pseudosciaena crocea</i>	69.20—76.60		王志勇等, 2002
大黄鱼 <i>Pseudosciaena crocea</i>	55.80		刘必谦等, 2005
黄姑鱼 <i>Nibea albiflora</i>	51.70—51.99	0.0996—0.1022	韩志强等, 2006
牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	40.07—46.18		张全启等, 2004
金龙鱼 <i>Scleropages formosus</i>	12.70—15.60		Yue <i>et al.</i> , 2004
紫红笛鲷 <i>Lutjanus argentimaculatus</i>	41.89—57.14		张俊彬等, 2004
条斑星鲽 <i>Verasper moseri</i>	15.60—29.14	0.0658—0.1225	马洪雨等, 2008
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	28.52—41.06		赫崇波等, 2008

棘头梅童鱼是近海底栖性鱼类, 对温度、盐度的适应能力较强。该鱼为短距离洄游性鱼类, 冬季群体主要栖息在外侧海区及分散在各岛屿附近, 春季进入沿岸海域繁殖、栖息, 秋后再返回原处索饵越冬, 主动扩散能力不强(吴常文等, 1991; 单乐州等, 2007); 此外, 我国沿海不同海域的生境(温度、盐度、饵料、捕食者等)差异可能是棘头梅童鱼地理群体间遗传分异产生和保持的重要原因。另一方面, 由于我国近海受到中国沿岸流、东海暖流、南海暖流、台湾暖流、黄海暖流等不同洋流的交替影响, 一定程度上造成了棘头梅童鱼群体随洋流运动而被动扩散。尽管棘头梅童鱼不同地理群体显现南北分化的大格局, 但相互间缺乏明显的地理分隔界线, 被动扩散导致群体间有一定的基因交流, 不同类群间分布存在交叉。

参 考 文 献

马洪雨, 陈松林, 田永胜等, 2008. 我国引进条斑星鲽群体遗传多样性的 AFLP 分析. 水产学报, 32(3): 321—327
王志勇, 王艺磊, 林利民等, 2002. 福建官井洋大黄鱼 AFLP

指纹多态性的研究. 中国水产科学, 9(3): 198—202
王金辉, 孙亚伟, 刘材材等, 2007. 长江口鱼卵仔鱼资源现状的调查与分析. 海洋学研究, 25(4): 40—51
朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖, 1963. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述. 上海: 上海科学技术出版社, 70—73
刘必谦, 董闻琦, 王亚军等, 2005. 岱衢族大黄鱼种质的 AFLP 分析. 水生生物学报, 29(4): 413—416
吴振兴, 吴常文, 1990. 浙江近海棘头梅童鱼生长规律与群体组成的研究. 水产科技情报, 17(6): 170—174
吴常文, 王伟宏, 1991. 浙江近海棘头梅童鱼的分布生物学与资源变动. 海洋渔业, 13(1): 6—10
张龙岗, 杨建敏, 刘相全等, 2009. 短蛸(*Octopus ocellatus*)四个地理群体遗传特性的 AFLP 分析. 海洋与湖沼, 40(6): 803—807
张全启, 徐晓斐, 齐洁等, 2004. 牙鲆野生群体与养殖群体的遗传多样性分析. 中国海洋大学学报, 34(5): 816—820
张俊彬, 黄良民, 2004. 紫红笛鲷遗传多样性的 AFLP 分析. 热带海洋学报, 23(5): 50—55
单乐州, 邵鑫斌, 闫茂仓, 2007. 棘头梅童鱼幼鱼生物学特性的初步观察. 水产养殖, 28(6): 3—5
单乐州, 邵鑫斌, 谢起浪等, 2006. 棘头梅童鱼人工繁殖及育

- 苗技术研究. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 25(3): 266—271
- 凌建忠, 李圣法, 严利平, 2006. 东海区主要渔业资源利用状况的分析. 海洋渔业, 28(2): 111—118
- 韩志强, 高天翔, 王志勇等, 2006. 黄姑鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析. 水产学报, 30(5): 640—646
- 谢起浪, 单乐州, 王铁杆等, 2006. 浙南飞云江口棘头梅童鱼的资源调查和研究. 渔业现代化, (1): 35—37
- 蒙子宁, 庄志猛, 丁少雄等, 2004. 中国近海 8 种石首鱼类的线粒体 16S rRNA 基因序列变异及其分子系统进化. 自然科学进展, 5(14): 514—521
- 赫崇波, 陈姝君, 高祥刚等, 2008. 斑点叉尾鮰中国养殖群体遗传多样性的 AFLP 分析. 中国水产科学, 15(5): 723—731
- Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M, 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131: 479—491
- Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA 3.0: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics, 5: 150—163
- Liu Z J, Cordes J F, 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238: 1—37
- Qi X, Lindhout R, 1997. Development of AFLP markers in barley. Mol General Genet, 254: 330—336
- Richards C, Lekberg P L, 1996. Temporal changes in allele frequencies and a population's history of severe bottlenecks. Conserve Biology, 10: 832—839
- Vos P, Hogers R, Reijmans M, 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23(21): 4407—4414
- Yeh F C, Boyle T J B, 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian Journal of Botany, 129: 157
- Yue G H, Li Y, Lim L C *et al*, 2004. Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and microsatellites. Aquaculture, 237: 89—102

GENETIC STRUCTURE OF *COLLICHTHYS LUCIDUS* POPULATIONS FROM CHINA COASTAL AREAS BY AFLP ANALYSIS

ZHENG De-Feng¹, ZHAO Jin-Liang¹, ZHOU Wen-Yu², YAN Jun-Cong¹

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Utilization Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306; 2. Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai, 200433)

Abstract The genetic structure of *Collichthys lucidus* populations from eight China coastal areas (Rongcheng, Nantong, Qidong, Luchaogang, Ruian, Wenzhou, Fuzhou and Panyu) was analyzed by amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique. A total of 272 loci were generated with 10 primer combinations in 160 individuals of the eight populations, of which 72 (26.47%) were polymorphic loci. The results showed the genetic diversity of *C. lucidus* was relatively low, the proportion of polymorphic loci and Nei's genetic diversity index for eight populations were 8.82%—15.07% and 0.0291—0.0514, respectively. AMOVA showed the variance of intra-populations (52.09%) was similar to that of inter-populations (47.91%), and there were significant differences among inter-populations and intra-populations. The genetic divergence index F_{st} values among eight populations were in the range of 0.1151—0.5995 ($P < 0.05$), significant differentiation existed among different populations. UPGMA dendrogram showed that Rongcheng and Nantong populations formed the first clade, Qidong, Luchaogang and Ruian populations formed the second clade, and Wenzhou, Fuzhou and Panyu populations formed the third clade. Though south-north divergence was observed among the *C. lucidus* populations, there was no distinct boundary for these clades because of gene exchanges.

Key words *Collichthys lucidus*, Population, Genetic structure, Amplified fragment length polymorphism (AFLP)